

Polyhydroxylierte Thiazolidinlactame als Peptidbausteine

Dissertation zur Erlangung des
Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr.rer.nat.)

Naturwissenschaftliche Fakultät Chemie und Pharmazie
Universität Regensburg

Peter Tremmel
aus Westernhausen

2004

Diese Arbeit wurde angeleitet von Prof. Dr. A. Geyer

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht am 18.8.2004

Das Kolloquium fand statt am 16.9.2004

Prüfungsausschuß: Prof. Dr. H.-H. Kohler (Vorsitzender)
Prof. Dr. A. Geyer (Erstgutachter)
Prof. Dr. B. König (Zweitgutachter)
Prof. Dr. A. Buschauer

Der experimentelle Teil dieser Arbeit wurde im Juli 2000 in der Naturwissenschaftlichen Sektion, Fachbereich Chemie, der Universität Konstanz begonnen, und im Sommer 2003 in der Naturwissenschaftlichen Fakultät Chemie und Pharmazie, am Institut für Organische Chemie der Universität Regensburg beendet.

Mein erster ganz besonderer Dank gebührt Prof. Dr. Armin Geyer. Zunächst natürlich für das Thema meiner Dissertation, welches mir und meiner Art zu arbeiten mehr als gelegen kam, und bis zum Schluß immer Spaß gemacht hat, insbesondere wegen der wissenschaftlichen Freiheit, welche mir hierin gewährt wurde. Des weiteren für viele produktive und konstruktive Diskussionen, und generell für seine Unterstützung während der gesamten Arbeit, sei ihm mein Dank gewiß.

Danken möchte ich auch den Mitgliedern des Prüfungskomitees, daß sie bereit waren, sich hierfür Zeit zu nehmen:

Prof. Dr. B. König, als Zweitgutachtenr, Prof. Dr. A. Buschauer als 3. Prüfer sowie Prof. Dr. H.-H. Kohler als Vorsitzender.

Die nächsten Menschen denen mein Dank gebührt, wären natürlich die Mitarbeiter unserer Arbeitsgruppe, und hier vor allem den Personen, welche das fragwürdige Glück hatten, mit mir in ein Labor gesperrt zu werden, den zweifelsohne weltbesten Laborkollegen aller Zeiten. Mein erster besonderer Dank gilt hierbei Daniela Fischer, die mich am längsten von allen ertragen mußte. Durch ihre Hilfe mit diesen Drecksboxen, welche nur in Einsen und Nullen denken können, Ihre Ratschläge im Umgang mit unseren Spektrometern, ihre Führung durch den Unidschungel und vieles, vieles mehr, hatte sie zweifelsohne einen großen Anteil am Gelingen dieser Arbeit, wenn man dann noch bedenkt, daß Sie dieses hier vorgelegte Machwerk auch noch Korrekturlesen mußte, ist der Umstand, daß Sie an dieser Stelle einen besonderen Dank verdient, mehr als gerechtfertigt.

Aber auch den zwei „Kleinen“, mittlerweile natürlich vielversprechenden Jungdoktoranden, gebührt mein Dank. Harald Seger (schön zu wissen, daß jemand mit „meinen“ Molekülchen weiterwurstelt, ohne sie dabei sinnlos zu quälen) und Dominik Kohr, durch ihre Fragen, welche sie höflicherweise zuweilen an mich alten Sack richteten, ist es ihnen gelungen, mir tatsächlich manchmal das Gefühl zu geben, als hätte ich allen Ernstes Ahnung von dem was ich da tue.

Nikola Kastner-Pustet danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und die Aufnahme der CD-Spektren.

Erwähnen sollte man auch noch „unseren“ Postdoc Dr. Karoly Agoston, welcher unsere Arbeitsgruppe durch seine Art auf jeden Fall bereichert hat.

Der nächsten Person, welcher ich Dank sagen möchte, ist Anke Friemel, welche ganz zu Beginn meiner Arbeit noch meine seltsamen Verbindungen vermessen hat, und mich dann später in das Mysterium der „dicken Magnetboxen“ eingeweiht hat.

Herzlich danken möchte ich auch der NMR-Abteilung um Dr. Thomas Burgemeister, mit Fritz Kastner, Annette Schramm und Georgine Stühler, für die gute Zusammenarbeit, und daß mir die Möglichkeit gewährt wurde, ihre Maschinchen aufs intensivste zu quälen.

Die HPLC-Abteilung mit Dr. Rudolf Vasold und Ernst Lautenschlager, welche mir aus der Patsche half, wenn ich einmal mit meinen Säulenkünsten am Ende war, verdienen ebenfalls einen besonderen Dank.

Einen überaus herzlichen Dank, möchte ich Dr. Volker Knapp und Dr. Jörg Brand aussprechen, die neben ihrer eigenen Dissertation in Konstanz noch Zeit gefunden haben, sich meinen Molekülchen von der kristallographischen Seite zu nähern.

Um bei den Röntgenbildchen zu bleiben, gebührt der nächste Dank nun der kristallographischen Abteilung in Regensburg, mit Dr. Manfred Zabel und Sabine Stempfhuber, welche selbst in Phasen, wenn ich sie mit Kristallen zugemüllt habe, ihre konsequent freundliche Linie nicht verlassen haben, und kompetent, schnell und zuverlässig mein Zeug abgearbeitet haben.

Für die freundliche und kompetente Erledigung meiner Massenanalysen, erfolgt mein nächster Dank nun an die Regensburger Massenabteilung mit Dr. K. K. Mayer, Josef Kiermaier und Wolfgang Söllner, sowie Klaus Hägele, welcher in Konstanz meine Massenspektren aufgenommen hat.

Dank auch der mikroanalytischen Abteilung für die C,H,N-Analysen.

Als nächstes möchte ich allen Konstanzer „Nasen“ danken, die mich während meiner Zeit dort begleitet haben, ohne diese illustre Gesellschaft, welche in ihrer Zusammensetzung so wohl einzigartig war, ist es sehr fraglich, ob ich tatsächlich bis zum bitteren Ende durchgehalten hätte, und nicht vielleicht doch irgendwann alles hingeworfen hätte.

Für die Finanzierung meiner Dissertation bedanke ich mich bei der DFG.

Zuletzt danke ich noch meiner Familie, welche mir das Studium überhaupt erst ermöglicht hat.

*„Der vernünftige Mensch paßt sich der Welt an;
der unvernünftige besteht auf dem Versuch, die Welt
sich selber anzupassen.
Deshalb hängt aller Fortschritt von den Unvernünftigen ab.
George Bernard Shaw*

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung

1. Peptide und Proteine **1**
2. Peptidmimetika **3**
 - 2.1. Gerüstmimetika **5**
3. Strukturen **8**
 - 3.1 Struktur induzierende Methoden **9**
 - 3.1.1. α -Helix **9**
 - 3.1.2. β -Faltblätter **10**
 - 3.1.3. β -Schleifen **12**
 - 3.2 Oligomere mit einer definierten Konformation **18**
4. NMR-sektroskopische Methoden **22**
5. Ausgangspunkt dieser Arbeit **24**
6. Ziel dieser Arbeit **27**

B. Die Arbeit

1. Die Bausteine **29**
 - 1.1. Synthesen und Strukturanalysen bizyklischer Dipeptidisostere **29**
 - 1.1.1. Der 7,5-Bizyklus **29**
 - 1.1.1.1. Synthesen **29**
 - 1.1.1.2. Strukturanalyse **31**
 - 1.1.2. Variation der Konfiguration am Carboxyterminus **36**
 - 1.1.2.1. Synthesen **36**
 - 1.1.2.2. Strukturanalyse **39**
 - 1.1.2.3. Schlußbetrachtung und Ausblick **41**
 - 1.1.3. Ein 6,5-Bizyklus **42**
 - 1.1.3.1. Synthesen **44**
 - 1.1.3.2. Strukturanalyse **47**
 - 1.1.4. Ein 5,5-Bizyklus **58**
 - 1.1.4.1. Synthesen **59**
 - 1.1.4.2. Strukturanalyse **64**
 - 1.1.4.3. Nachtrag **70**
 - 1.2. Mechanistische Studien **72**
 - 1.2.1. Kondensation zum Bizyklus **73**
 - 1.2.2. Azideinführung **78**
 - 1.3. Selektive Modifikation der bizyklischen Bausteine **85**
 - 1.3.1. Selektive Modifikation am 6,5-Bizyklus **85**

- 1.3.1.1. Synthesen **85**
 - 1.3.1.2. Strukturanalyse **87**
 - 1.3.2. Selektive Modifikation am 7,5-Bizyklus **89**
 - 1.3.2.1. Synthesen **89**
 - 1.3.2.2. Strukturanalyse **93**
 - 1.3.3. Modell und Synthese eines Bausteins, welcher als Grundlage eines Proteaseinhibitors dienen könnte. **97**
 - 1.3.3.1. Synthesen **98**
 - 1.3.3.2. Strukturanalyse **102**
 - 1.3.3.3. Nachtrag **106**
- 2. Modellpeptide 108**
- 2.1. Peptide der 6,5-Bizyklen **108**
 - 2.1.1. Synthesen **108**
 - 2.1.1.1. Ein Problem **108**
 - 2.1.1.2. Die Lösung **110**
 - 2.1.2. Nachtrag **116**
 - 2.2. Ein Homooligomer des 7,5-Bizyklus **117**
 - 2.2.1. Synthesen **118**
 - 2.2.2. Zuordnung **120**
 - 2.2.3. Strukturanalyse **123**
 - 2.3. Peptide der 7,5-Bizyklen **127**
 - 2.3.1. Zyklische Peptide **128**
 - 2.3.1.1. Synthesen **128**
 - 2.3.1.2. Strukturanalyse **131**
 - 2.3.1.2.1. Zuordnung der zyklischen Hexapeptide am Beispiel von zyκλο(7,5Bic-DPhe-7,5Bic-Gly) **132**
 - 2.3.1.2.2. Die Grundstruktur der zyklischen Hexapeptide **136**
 - 2.3.1.2.3. Strukturanalyse des zyklischen Hexapeptids zyκλο(7,5Bic-DPhe-7,5Bic-Gly) **141**
 - 2.3.1.2.4. Vergleich der zyklischen Peptide **155**
 - 2.3.1.2.4.1. zyκλο(7,5Bic-LPhe-7,5Bic-Gly) **159**
 - 2.3.1.2.4.2. zyκλο(7,5Bic-LPhe-7,5Bic-DPhe) **166**
 - 2.3.1.2.4.3. Die symmetrischen zyklischen Hexapeptide **168**
 - 2.3.1.2.4.4. Das Modell **173**
 - 2.3.1.3. Intermezzo **175**
 - 2.3.1.3.1. Synthesen **175**
 - 2.3.1.3.2. Strukturanalyse **177**
 - 2.3.2. Lineare Peptide **183**
 - 2.3.2.1. Synthesen **183**
 - 2.3.2.2. Zuordnung **184**

- 2.3.2.3. Strukturanalyse **187**
- 2.3.2.4. Copolymere des 7,5Bizykluses mit Glycin als Aminosäure **208**
 - 2.3.2.4.1. Synthesen **208**
 - 2.3.2.4.2. Strukturanalyse **210**

- 3. Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Arbeit **217**

C. Experimenteller Teil

- 1. Allgemeines **219**
- 2. Synthesevorschriften und analytische Daten der Verbindungen dieser Arbeit **222**

D. Literaturstellen 327

Abkürzungen

abs.	absolut
äqu.	Äquivalent
AS	Aminosäure
BnBr	Benzylbromid
Boc	tert-Butyloxycarbonyl
Boc ₂ O	Boc-Anhydrid
COSY	Correlated Spectroscopy
Cys	Cystein
d	Tag
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	N,N-Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DQF-COSY	Double Quantum Filtered Correlated Spectroscopy
EDC	N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethyl-carbodiimid
EE	Essigsäureethylester
Et ₂ O	Diethylether
EtOH	Ethanol
FAB-MS	Fast Atom Bombardement Massenspektrometrie
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
Fmoc-OSu	Fmoc-Succinimid
Gly	Glycin
HATU	1-[Bis(Dimethylamino)-metylen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium-3-oxid hexafluorosphat
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HOAT	1-Hydroxy-7-Azabenztriazol
HOBT	1-Hydroxybenztriazol
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HV	Hochvakuum
kat.	katalytisch
konz	konzentriert

LM	Lösungsmittel
Lsng.	Lösung
MeOH	Methanol
MD	Moleküldynamik
NBA	3-Nitrobenzylalkohol
Nd.	Niederschlag
NEt ₃	Triethylamin
NMM	N-Methylmorpholin
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
NPY	Neuropeptid Y
OBn	Benzyloxy
PE	Petrolether
Pfp	Pentafluorphenyl
Ph	Phenyl
Phe	Phenylalanin
PyBOP	Benzotriazolo-yl-oxy-tripyrrolidino-phosphonium-hexafluorophosphat
Py	Pyridin
quant	quantitativ
quart	quartär
R _f	Retentionsfaktor
ROESY	Rotating Frame Overhauser Enhancement Spectroscopy
RT	Raumtemperatur
T	Temperatur
^t Bu	tert-Butyl
Tf	Trifluormethansulfonyl/Triflat
Tf ₂ O	Trifluormethansulfonsäureanhydrid/Triflatanhydrid
TFA	Trifluoressigsäure
Tol	Toluol
TOCSY	Total Correlated Spectroscopy
Tos	p-Toluolsulfonyl
TosCl	p-Toluolsulfonylsäurechlorid
TSP	3-(Trimethylsilyl)-propionsäure-d ₄ Na-Salz
ÜZ	Übergangszustand
watergate	Water suppression through Gradient Tailored Excitation
-wg	siehe watergate

A Einleitung

1. Peptide und Proteine

Ein häufig angewandtes Stilmittel wenn die Behandlung wissenschaftlicher Themen ansteht, ist der Gebrauch von Metaphern, und eine, wenn nicht sogar die klassische Metapher in den Naturwissenschaften überhaupt, wäre jene, von der DNA als „das Buch des Lebens“ zu sprechen.

Führt man dieses Bild dann weiter, und fragt jetzt nach dem Inhalt, der eigentlichen Handlung, dieses Drehbuches, gelangt man im nächsten Schritt zu den Proteinen und Peptiden, den Protagonisten dieser Geschichten, deren Anzahl, Art und Zusammenspiel schlußendlich den Unterschied in den einzelnen Lebensformen bedingen.

Beide Seiten sind selbstredend wichtig und von großem wissenschaftlichen Interesse. Folglich gibt es zum einen jene Gruppe von Forschern, welche sich hauptsächlich mit der Lektüre dieses Drehbuchs beschäftigen, wobei deren Arbeit dann in der Interpretation dieses riesigen Textes besteht, so versuchen sie zu entschlüsseln, was sich hinter diesen Buchstaben verbirgt, und welche Unterschiede in den einzelnen Werken auftreten.

Aber nicht nur interpretierend, sondern auch aktiv eingreifend, wird hier vorgegangen. Zwar ist man weit davon entfernt auch nur eines der simpelsten dieser Drehbücher zu schreiben, so besteht dennoch eine Möglichkeit zu intervenieren, indem man bekannte Versatzstücke von anderen Werken nimmt, und diese dann in einen Text hineinschreibt, in welchem sie ursprünglich so nicht vorhanden waren (Im übertragenen Sinne verwandeln sich jetzt also König Lear's Töchter urplötzlich in Nashörner, und diejenigen welche dafür verantwortlich sind, beobachten nun gespannt welchen Einfluß diese Veränderung auf den weiteren Fortgang der Geschichte hat)

Als zweite Gruppe gibt es dann noch jenen Zweig, welchem im übrigen auch diese Arbeit zugeordnet werden kann, der sein Hauptaugenmerk auf das richtet, was zuvor als „Handlung“ bezeichnet wurde.

Auch hier geht es zum einen um das reine Verständnis dieses komplexen Ablaufs, so fokussieren etliche Arbeitsgruppen ihr Interesse auf das Wirken der großen Charakterdarsteller, der Proteine, und andere wiederum versuchen z.B. zu verstehen welche Rolle den kleinen Nebendarstellern, den Peptiden, zukommt, und worin deren Einfluß auf den Gang des Geschehens besteht, wobei der Übergang hier selbstredend fließend ist.

Aber auch in der Protein- und Peptidforschung ist aktives Eingreifen möglich, so wird z.B. der Versuch unternommen, das Wirken einzelner dieser hier agierenden Protagonisten soweit einzuschränken (→ inhibieren), daß diese für das weitere Geschehen nicht mehr von Bedeutung sind, oder, da ihre Rolle für das Gesamtsystem unerläßlich ist, dieses, durch die erfolgte Intervention, am Ende zum Kollabieren gebracht werden soll (z.B. Bekämpfung eines Krankheitserregers durch Inhibition eines wichtigen Enzyms).

Möglich ist auch der umgekehrte Fall, indem jetzt ein neuer Schauspieler (der Mime wird hier zum Mimetikum) in das Geschehen eingeführt wird, welcher z.B. einen Darsteller der ausgefallen ist ersetzen soll, oder aber man erhofft sich von ihm, daß der Effekt welcher dieser neue Akteur zu erzielen imstande ist, den des Originals noch übertrifft.

Um die immense Bedeutung von Proteinen und Peptiden nun etwas genauer darzustellen, folgt tabellarisch ein kurzer Überblick, welche Aufgaben diese in lebenden Organismen übernehmen.

- Reaktionskatalyse (Enzyme)
- Bindung (Enzyminhibitoren, z.B. BPTI, Antikörper)
- Stofftransport (z.B. Hämoglobin)
- Abwehr (Immunoglobuline, Toxine)
- Speicherung (Casein)
- Struktur (Collagen)
- Mechanik (Actin, Myosin)
- Regulation (Hormone)
- Signaltransduktion (Membranrezeptoren)
- Membrankanäle (Transporter, Porine)
- Elektronentransport (Atmungskette, Photosynthese)

Zusammengefaßt zeigt sich somit, daß Proteine und Peptide praktisch an allen für das Leben essentiellen Vorgängen beteiligt sind.

2. Peptidmimetika

Beim Begriff Peptidchemie oder Synthese von Peptiden denkt man zunächst sicher daran, native Peptide aus den essentiellen Aminosäuren aufzubauen, ein Verfahren welches seit Einführung der Festphasenchemie [1] und Automatisierung durch Peptidsynthesizer mittlerweile in den allermeisten Fällen als reine Routine angesehen werden kann. Insofern mag es zunächst erstaunlich erscheinen, daß weltweit eine beträchtliche Anzahl von Arbeitsgruppen, welche im Bereich der organischen Synthese beheimatet sind, just dies als ihr Interessensgebiet vorweisen.

Diese Tatsache liegt dann darin begründet, daß es hierbei nun eben nicht um native Peptide geht, sonder um Modifikationen dieser Verbindungen, bis hin zur Synthese komplett nicht-peptidischen Strukturen [2]-[4].

Am anschaulichsten ist dies Abweichen von der nativen Form im Falle der Peptidantagonisten, denn will man z.B. ein Enzym inhibieren, als dessen Substrat ein bestimmtes natives Peptid fungiert, muß sich das zu diesem Zwecke synthetisierte Molekül zwangsläufig vom eigentlichen Substrat unterscheiden.

So, hat man als Ziel, eine Protease, ein Enzym dessen Aufgabe es ist peptidische Bindungen zu spalten, zu blockieren, können Moleküle eingesetzt werden, welche dem eigentlichen Substrat in seinem räumlichen Bau und der Art der funktionellen Gruppen zwar ähneln, und somit an das Enzym binden, aber von diesem dann, aufgrund bestimmter hier erfolgter Modifikationen (z.B. an jener Position, an der im Original sich die zu spaltende Amidbindung befunden hat, liegt nun eine andere Funktionalität vor) nicht umgesetzt werden können.

Als Beispiel sei in der nächsten Abbildung ein HIV Proteaseinhibitor, Ritonavir [142] von Abbot, gezeigt.

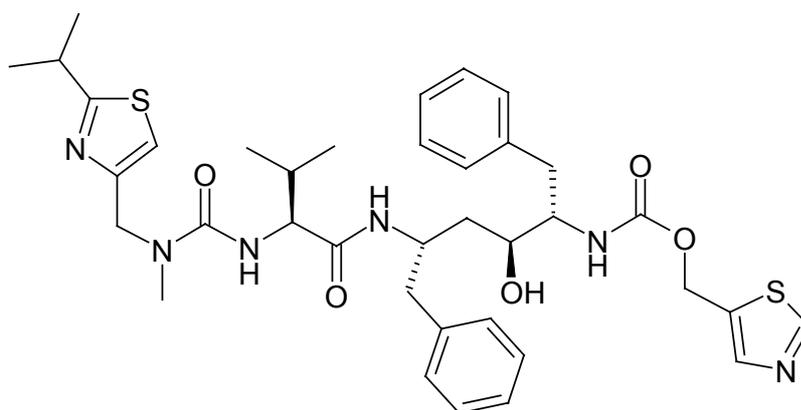


Abbildung A.-1.: HIV Proteaseinhibitor Ritonavir

Die Wirkungsweise dieses Inhibitors, beruht darauf, daß durch die sekundäre Hydroxylgruppe der tetraedrischen Übergangszustand während der Proteolyse nachgeahmt wird, womit diese Verbindung zwar an das Enzym zu bindet, aber, da an er eigentlichen Spaltstelle jetzt keine Amidbindung vorliegt, eine Umsetzung dieses Substrates nun nicht mehr erfolgen kann.

Weniger offensichtlich, warum hier nicht die Originalverbindungen eingesetzt werden, ist dies im Fall der Agonisten, Moleküle welche den selben Effekt erzielen sollen wie das native Peptid.

Die Ursache, das auch hier nicht auf das ursprüngliche Substrat zurückgegriffen wird, liegt in der schlechten Bioverfügbarkeit der Peptide begründet. Hierunter versteht man, daß diese leicht im Magen-Darm-Trakt abgebaut werden können, z. Teil keine Transportsysteme vorhanden sind, und auch schnell durch Leber oder Niere wieder ausgeschieden werden können, insgesamt somit eine sehr geringe biologische Halbwertszeit aufweisen, so daß ihre Wirkung gar nicht, oder nur in sehr hohen Dosen zum tragen kommen kann.

Um dies zu umgehen, kommen daraufhin auch hier modifizierte Peptide, oder komplett nicht-peptidische Substanzen, zum Einsatz.

Eines der ersten und auch bekanntesten komplett nichtpeptidischen Mimetika war eine Substanz, welche 1898 von Bayer als Hustensaft unter dem Markennamen Heroin unters Volk gebracht wurde (Es wurde später wieder von der Produktpalette gestrichen)

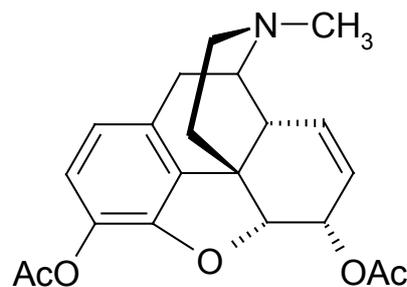


Abbildung A.-2.: Heroin

Dieser Verbindungstyp, so hat sich später gezeigt, bindet an den Opiatrezeptor, dessen eigentliche Substrate die Endorphine (Peptide mit 20-30 AS, Name abgeleitet von endogene Morphine) darstellen.

Ein weiter Grund dafür, Peptide durch andere Substanzen zu ersetzen, besteht darin, daß diese Verbindungen konformationeller Dynamik unterliegen, was bedeutet, daß sie nicht nur in der biologisch aktiven Konformation vorliegen, sondern ein Gleichgewicht verschiedener Konformationen vorherrscht.

Aber nicht nur, daß native Peptide partiell inaktive Konformationen einnehmen können, so ist es weiter möglich, daß sie auch für andere Rezeptoren aktive Konformationen populieren, und somit unerwünschte biologische Effekte, sprich Nebenwirkungen, hervorrufen können. Aus diesen Gründen ist man bemüht, Ersatzstoffe mit einer möglichst rigiden Struktur zu finden, Verbindungen welche dann praktisch nur in der postulierten biologisch aktiven Konformation vorliegen, und somit selektiv nur an den einen Rezeptor oder ein bestimmtes Enzym binden.

Solche rigiden Bausteine mit definierter Konformation können auch generell zur Untersuchung von Enzymen oder Rezeptoren herangezogen werden, da bei bekannter Konformation des Substrats, wiederum Informationen über die strukturellen Gegebenheiten der Bindungsstellen erhalten werden können.

Im folgenden Kapitel soll jetzt näher auf einen speziellen Typ von Peptidmimetikum eingegangen werden, anhand dessen auch zu sehen ist, wie die angesprochenen Probleme nativer Peptide, z.B. die schlechte Bioverfügbarkeit oder auch die Dynamik in der Konformation, durch Einsatz dieser Verbindungen nun, zumindest teilweise, umgangen werden könne.

2.1. Gerüstmimetika

Da angenommen wird, daß sich für eine Bindung an einen Rezeptor oder Enzym hauptsächlich die Seitenketten verantwortlich zeige, und das Peptidrückgrat mehr oder weniger als Träger dieser Gruppen fungiert, haben einige Arbeitsgruppen den Weg beschritten, ganz von peptidischen Grundstrukturen abzuweichen, und sich statt dessen nach Molekülen umzuschauen welche die Rolle eines Gerüsts zu übernehmen in der Lage sind, mit der Option, dieses dann mit den für die Bindung relevanten Seitenketten zu modifizieren.

Hiermit soll nicht nur der biologische Abbau des Peptids vermieden werden, sondern man kann hierdurch auch das Problem, welches sich durch die Flexibilität eines linearen Peptids ergibt, in den Griff bekommen

In Anbetracht von Letzterem versteht es sich dann von selbst, daß man nicht von einer Molekülkette, jener des Peptids, jetzt wiederum auf eine, wie auch immer geartete, Kette als Gerüst zurückgreift, sondern auf einen, wenn man es so ausdrücken will, möglichst starren Molekülblock, welcher die Eigenschaft besitzt, pharmakophore Gruppen räumlich definiert ausrichten zu können.

Das erste Molekül, mit welchem diese Richtung eingeschlagen wurde, war das in Abbildung A.-3. gezeigte Mimetikum [5], welches als Agonist des schon angesprochenen Opiatrezeptors fungierte.

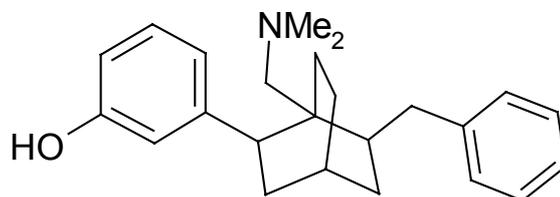


Abbildung A.-3.: Ein Gerüstmimetikum

Denkt man des weiteren an einen möglichen therapeutischen Einsatz, so sind dann solche Verbindungen vorzuziehen, deren orale Bioverfügbarkeit bekannt ist, wie bei dem ersten Beispiel in Abbildung A.-4., einem auf einem Steroid basierenden Gerüstmimetikum von Hirschmann et al. [6], welches mit einer Guanidinium- und Carboxylgruppe modifiziert, Arginin und Aspartat nachempfinden soll, und so die β -Schleife im Bereich der RGD-Sequenz des Fibrinogens, eines potenten Antagonisten des Adhäsionsrezeptors (GpIIb/IIIa), imitiert.

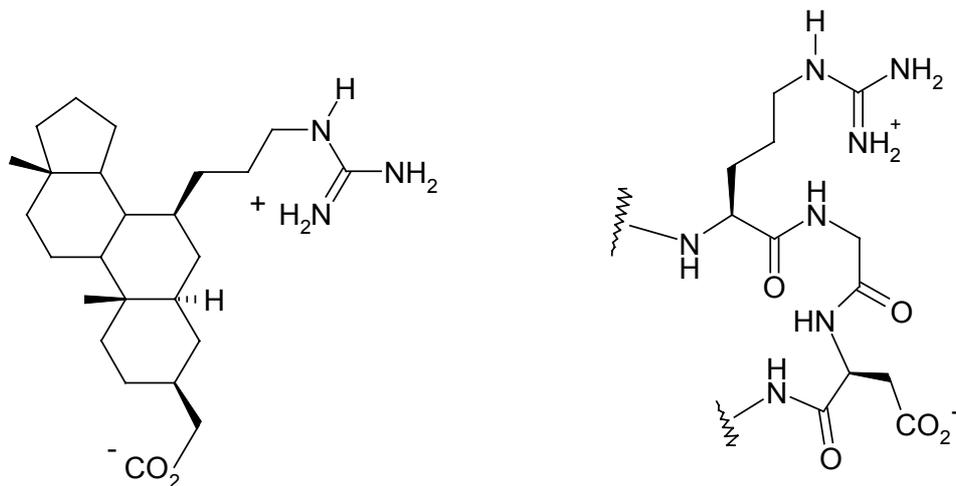


Abbildung A.-4.: Gerüstmimetikum von Hirschmann et al., basierend auf einem Steroid
links das Mimetikum und rechts die Peptidschleife welche es zu imitieren versucht

Nun handelt es sich bei Molekülen wie den Steroiden nicht unbedingt um Muster einfach zu modifizierender Verbindungen, weswegen dieses Beispiel hier auch ein Einzelfall geblieben sein dürfte. Daß es weitaus geeignetere Kandidaten für dieses Unterfangen gibt, soll im folgenden Kapitel gezeigt werden.

Schaut man sich nach einer Substanzklasse um, deren orale Bioverfügbarkeit bekannt ist, die bezüglich ihres räumlichen Baus in vielen Variationen vorliegt, und auch noch vergleichsweise einfach zu modifizieren ist, kommt man an der Verbindungsklasse der Kohlenhydrate nicht vorbei. So läßt sich bezüglich der Zucker auf eine über hundertjährige Syntheseerfahrung zurückgreifen, ein Fachwissen welches noch durch unzählige Arbeitsgruppen Jahr für Jahr weiter ausgebaut wird.

Spricht man von Modifizierung, ist hierbei vor allem an die Hydroxylgruppen gedacht, welche diesbezüglich ein breites Spektrum zulassen, so stellen zum Beispiel Veretherungen eine einfache Möglichkeit dar, Seitenketten einzubringen, mit einer simplen Benzylierung läßt sich so schon die Seitenkette von Phenylalanin nachahmen.

Auch bietet der Einsatz von verschiedenen Zuckern eine Variation in der räumlichen Ausrichtung dieser Hydroxylgruppen, und schlußendlich somit auch der möglichen pharmakophoren Gruppen, wobei zusätzlich durch Übergang von der Pyranose- auf die Furanoseform, von einem eher rigiden auf ein flexibleres Gerüst umgestiegen werden kann, wobei im Allgemeinen, aus schon erwähnten Gründen, dem starrereren Gerüst, also der Pyranose, Vorzug gegeben wird.

Einschränkend sei hierbei allerdings zu erwähnen, daß diese Bevorzugung nur einer Konformation, je mehr man von der D-Glucose mit ihren alläquatorialen Substituenten abweicht, nicht mehr zwangsläufig gegeben ist, und unerwünschter Konformationswechsel in Form von Ringinversion auftreten kann, dies „Gefahr“ besteht vor allem, wenn axiale Hydroxylgruppen mit großen Substituenten versehen werden.

Sucht man nun ein Beispiel solch eines Gerüstmimetikums welches einen Zucker als Ausgangspunkt hat, so kommt man um das von Hirschmanns Arbeitsgruppe synthetisierte Somatostatinmimetikum nicht herum [7].

Hier wurde das Peptidhormon Somatostatin, bestehend aus 14 Aminosäuren, durch eine modifizierte Glucose, welche lediglich die für die Rezeptorbindung postulierten verantwortlichen Seitenketten trägt, erfolgreich ersetzt.

Anhand dieses Beispiel ist sehr schön zu sehen, wie das Originalpeptid immer mehr auf seine für die Rezeptorbindung wesentlichen Gruppen reduziert wurde, bis am Ende eine komplett nichtpeptidische Struktur zurückbleibt, welche immer noch einen Effekt bezüglich des Rezeptorsystems zu zeigen in der Lage ist.

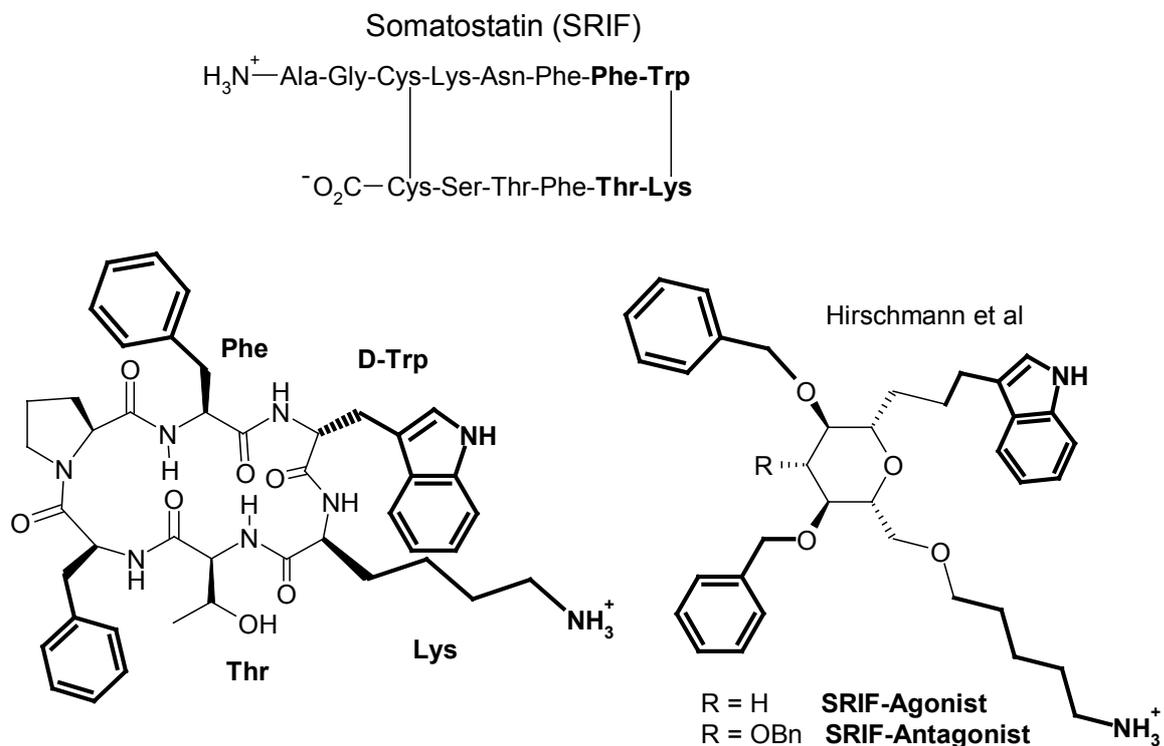


Abbildung A.-5.: Somatostatinmimetika: vom Original (oben) zum reduzierten Peptid (links) bis zum komplett nichtpeptidischem Mimetikum auf Zuckerbasis (rechts). Fett: Seitenketten welche für die Rezeptorbindung als relevant erachtet wurden.

Zunächst wurde das zyklische, über eine Disulfidbindung verbrückte, Tetradekapeptid auf seine mutmaßlich relevanten Aminosäuren Phe, Trp, Lys, und Thr reduziert. Um diese 4 Aminosäuren nun in der gewünschten bioaktiven Konformation, einem β -Turn, zu fixieren, wurde diese Sequenz in ein zyklisches Hexapeptid eingebaut, wobei L-Trp durch D-Trp ersetzt wurde, welches in der $i+1$ Position stabilisierende auf diese β -Schleife wirken soll. Dieses so konzipierte Peptid zeigte sich dann auch als wirksamen Agonist [8].

Wurde im ersten Schritt das ursprünglich native Peptid auf seine wesentlichen Aminosäuren „zusammengestutzt“, ging Hirschmann dann noch einen Schritt weiter, indem jetzt, mit β -D-

Glucose als Gerüst, auch auf das Peptidrückgrat verzichtete wurde, und nur durch Veretherung der Hydroxylgruppen mit den entsprechenden Seitenketten ein Molekül erhalten wurde, welches sich ebenfalls als biologisch aktiv erwies, und die mangelhafte Bioverfügbarkeit von SRIF dahingehend verbessern könnte, daß zumindest ein Abbau durch Proteasen nicht zu befürchten ist, und gegenüber dem Hexapeptid, daß für einen auf Glucose aufbauenden Baustein eher Transportwege vorhanden sein sollten, als für zyklische Peptide, deren therapeutischer Einsatz aufgrund u.a. eben dieses Mankos, und der hieraus resultierenden unakzeptablen oralen Bioverfügbarkeit praktisch nicht gegeben ist.

Basierend auf diesem erfolgreichen Versuch, wurden in den folgenden Jahren noch weitere Gerüstmimetika publiziert, deren Ausgangspunkt ein Zucker darstellte [9] - [12]

3. Strukturen

Spätestens seit der Entdeckung der DNA Doppelhelix durch Watson und Crick [13] dürfte klar sein, welche Bedeutung dem Wissen über die räumliche Struktur eines Moleküls zukommt. Denn nicht nur, daß hier die Struktur dieses wichtigsten Moleküls des Lebens erschlossen wurde, sondern, und dies war von viel größerer Tragweite, daß es hierdurch jetzt möglich war, den Mechanismus der Vererbung aufzuklären, war das eigentlich Wesentliche dieser Arbeit.

Aber auch im Falle der Proteine ist das Wissen über ihre dreidimensionale Struktur von immenser Bedeutung.

So kann z.B. die Aktivität eines Enzyms nicht alleine durch die Art seiner funktionellen Gruppen begründet werden, sondern vielmehr beruht seine biologische Wirksamkeit auf der speziellen definierten räumlichen Ausrichtung aller an diesem Prozeß beteiligten Molekülgruppen, und ist somit direkt abhängig von den architektonischen Gegebenheiten des entsprechenden Proteins, seinen Sekundärstrukturelementen und deren Summe, seiner Tertiärstruktur.

Dies gilt für alle Proteine und Peptide, so sind ihre jeweiligen Eigenschaften unabdingbar mit ihrer Struktur verknüpft, geht diese verloren, bleibt eine nutzlose Kette aus Aminosäuren zurück.

Erste Erkenntnisse über ihre Struktur wurden 1951, kurz vor der Entdeckung der Doppelhelix, durch Linus Pauling erzielt, welcher als erster die α -Helix, die Konformation eines wichtigen Sekundärstrukturelements, postulierte [14] [15].

Ging es in den ersten Jahren zunächst darum, etwas über die Struktur der Peptide und Proteine zu erfahren, ein Bereich welcher auch heute weiterhin von sehr großem wissenschaftlichen Interesse ist, wobei die Röntgenstrukturanalyse später noch durch das Aufkommen der NMR Technik ergänzt wurde, so wird seit einiger Zeit vermehrt das Augenmerk auch darauf gelegt, jetzt selbst Strukturen oder Strukturelemente zu synthetisieren.

Dieses Generieren von Strukturen kann man nun unterteilen, so wird zum einen versucht, durch Modifikationen, durch Einbringen bestimmter Bausteine, sog. Templaten, in ein Peptid, definierte Strukturen zu induzieren, und zum anderen werden Moleküle aus bestimmten Untereinheiten synthetisiert, welche als Ganzes dann eine definierte Konformation einnehmen können.

3.1. Struktur induzierende Methoden

Um Strukturen zu induzieren gibt es mehrere Möglichkeiten, eine simple Maßnahme kann z.B. darin bestehen eine L- durch eine D-Aminosäure auszutauschen, welche in der $i+1$ Position einer β -Schleife stabilisierend auf diese wirken kann.

Ein weiterer Ansatz ist dann jener, durch rigide Bausteine eine Sekundärstruktur zu induzieren, wofür in den nächsten kleinen Unterkapiteln kurz einige Beispiele anhand der wichtigsten Sekundärstrukturen vorgestellt werden sollen.

3.1.1. α -Helix

Die α -Helix war nicht nur die erste Sekundärstruktur welche postuliert wurde, sondern gehört auch zu den wichtigsten, und ist überdies jener Helixtyp, welcher am häufigsten in natürlichen Peptiden oder Proteinen anzutreffen ist, und stellt mit ziemlicher Sicherheit ferner das am intensivsten untersuchte Sekundärstrukturelement dar.

Deshalb versteht es sich von selbst, daß es von großem wissenschaftlichen Interesse ist, dieses Strukturelement auch nachzuahmen, und es jetzt auch außerhalb des Kontextes eines Proteins oder großen Peptids zu generieren.

Ein erstes Beispiel in welcher Weise dies angegangen werden kann ist in Abbildung A.-6. gezeigt, wo durch den Einbau eines trizyklischen Bausteins eine α -Helix in der folgenden Peptidkette eingeleitet wird [16]-[18]. Die Carbonyle dienen hier als H-Brücken-akzeptoren für die Amidprotonen des Peptidrestes.

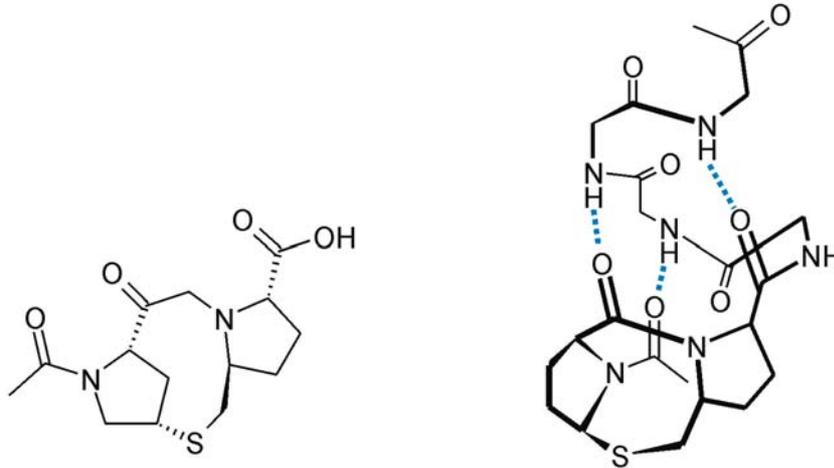


Abbildung A.-6.: Templat mit α -Helix induzierendem Charakter von Kemp et al.

Die nächste Abbildung zeigt ein weiteres diesbezügliches Templat, welches von der Arbeitsgruppe Bartlett [19] vorgestellt wurde, diesmal ein bizyklischer Baustein.

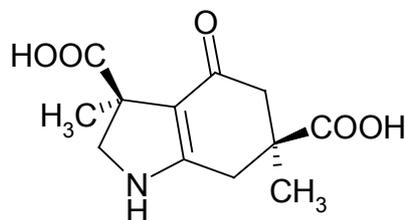


Abbildung A.-7.: Helixtemplat von Bartlett et al.

Auch bei diesem zweiten Beispiel ist die Idee, daß die drei Carbonylgruppen als Amidprotonenakzeptoren fungieren, und auf diese Weise die α -Helix stabilisieren.

Das hier gezeigte Grundprinzip besteht demgemäß darin, Bausteine zu synthetisieren, welche in der Lage sind, funktionelle Gruppen räumlich definiert auszurichten, die dann wechselwirkend mit der folgenden Peptidkette jetzt eine Struktur einleiten, in der Architektur würde man wohl von Längs- und Querstreben oder ähnlichem sprechen.

3.1.2. β -Faltblätter

Eine weitere wichtige Sekundärstruktur stellen die sogenannten β -Faltblätter dar, welche, ebenso wie die α -Helix, ein häufig anzutreffendes Strukturelement in Proteinen ist.

Und ebenfalls wie die α -Helices existiert diese Sekundärstruktur nur in Proteinen oder größeren Peptiden (mindestens 20 AS).

Um nun auch in kleinere Peptiden solche β -Faltblattstrukturen zu erzwingen, kann man jetzt wiederum sogenannte Template in eine Peptid einbauen, welche induzierend, strukturstabilisierend auf dieses einwirken sollen.

Das erste Beispiel hierfür ist von Bartlett et al. [20], ein alternierend aus einer AS und einer Azacyklohexenoneinheit aufgebautes „Pentapeptid“, für welches Dimerisierung über eine β -Faltblattstruktur in CHCl_3 beobachtet wurde.

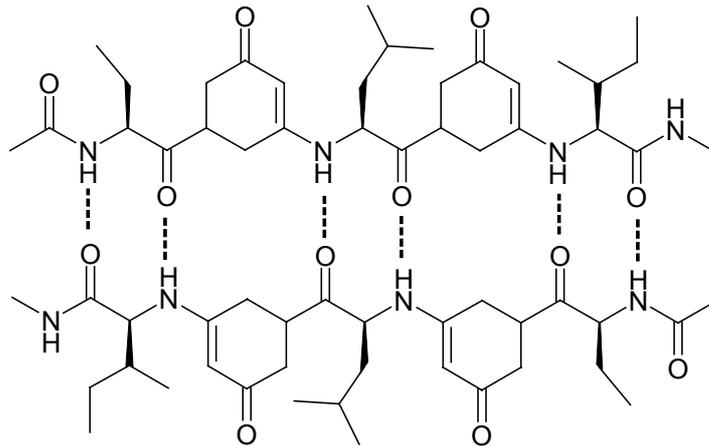


Abbildung A.-8.: β -Faltblatt Mimetikum von Bartlett et al.

Bewegte sich dieses alternierend aufgebaute Peptid im Grenzbereich der zuvor erfolgten Unterteilung, in, zum einen, Konformationen, welche durch strukturinduzierende Bausteine erhalten werden, indem solch ein Templat, in der Regel ein einziger Baustein, dirigierend auf eine Polypeptidkette einwirkt [21], und zum anderen in Konformationen bei denen die Gesamtheit der Untereinheiten, und nicht ein singuläres strukturdominantes Molekül, zu einer Struktur führt, so ist das folgende Beispiel wieder eindeutiger diesem Kapitel zuzuordnen.

Abbildung A.-9. zeigt ein Molekülarrangement, von Nowick et al. [22], von welchem berichtet wird, daß es in der Lage ist, in Chloroform einen Peptidstrang aus zwei Aminosäuren in ein β -Faltblatt einzubinden.

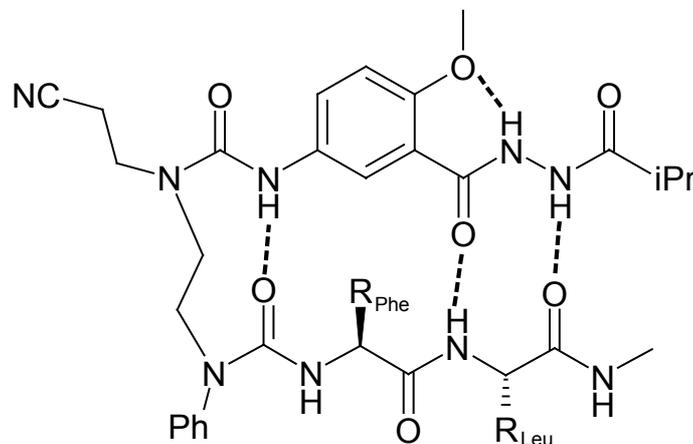


Abbildung A.-9.: β -Faltblattstruktur von Nowick et al.

Das letzte Beispiel ist eine Struktur von C. Bonauer [23], aus der Arbeitsgruppe König [24] [25]. Hier wird die Ausbildung des β -Faltblattes durch den sog. MOPAS (Methoxypyrrrol Aminosäure) Baustein unterstützt.

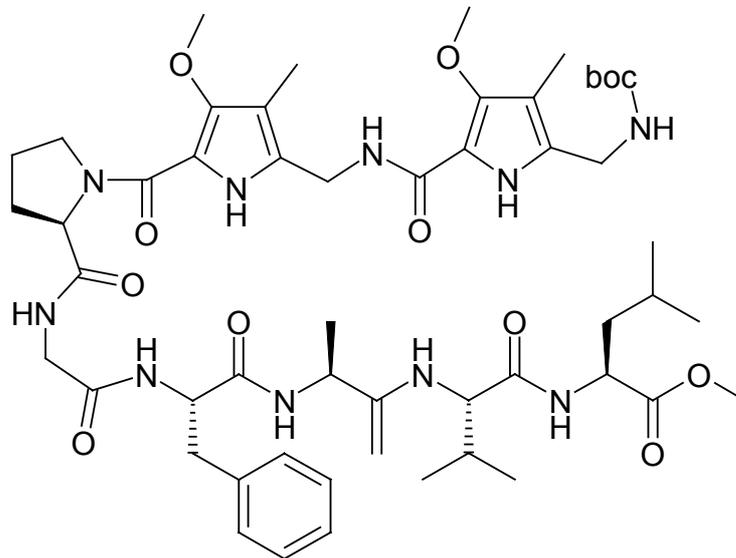


Abbildung A.-10.: β -Faltblattemitikum von C. Bonauer

Aber nicht nur der Aromat soll hier stabilisierend auf diese Struktur einwirken, sondern es wurde noch eine zweite Variante angewandt, welche das Potential in sich birgt, eine Faltblattstruktur zu induzieren. So ist bekannt, daß die Sequenz DPro-Gly eine β -Schleife begünstigt [26], und darin besteht ein weiterer Weg, indem durch eine β -Schleife der Peptidstrang wieder zurückgeführt wird, um so das erwünschte Faltblatt auszubilden.

Mit genau diesen β -Schleifen wird sich dann der letzte Teil dieses Kapitels beschäftigen.

3.1.3. β -Schleifen

Neben Helices und Faltblättern bilden die Schleifen die dritte wichtige Sekundärstruktur. Diese, im Vergleich zu den beiden anderen Typen etwas unspektakulären Strukturen, so besteht der am häufigsten vorkommende Turn, die β -Schleife, aus lediglich vier Aminosäuren, sind nichtsdestotrotz von nicht unbedeutendem wissenschaftlichen Interesse. So befinden sich ein Viertel aller Aminosäuren in Proteinen in diesen Strukturelementen, und stellen so etwas wie ein Bindeglied zwischen den Helices und Faltblättern dar, z.B befindet sich am Kopfende einer Faltblattstruktur sehr häufig eine diesbezügliche β -Schleife.

Das diese Strukturen ferner von sehr speziellem Interesse aus Sicht der pharmazeutischen Chemie sind, beruht darauf, daß ihnen bei vielen wichtigen biologischen Prozessen eine Schlüsselrolle zukommt. So dienen z.B. Schleifenstrukturen häufig als Erkennungssequenz bei der Rezeptorbindung.

Der am häufigsten auftretende Schleifentyp ist die schon erwähnte β -Schleife.

β -Schleife

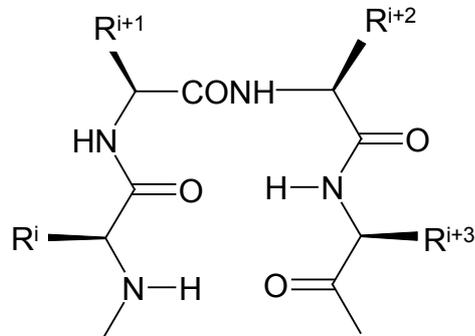


Abbildung A.-11.: Strukturmotiv der β -Schleife

Dieser Strukturtyp kann nun wiederum in verschiedene Untereinheiten eingeteilt werden wobei $\beta I/\beta I'$ sowie $\beta II/\beta II'$ hierbei jene sind, welche am häufigsten zu beobachten sind.

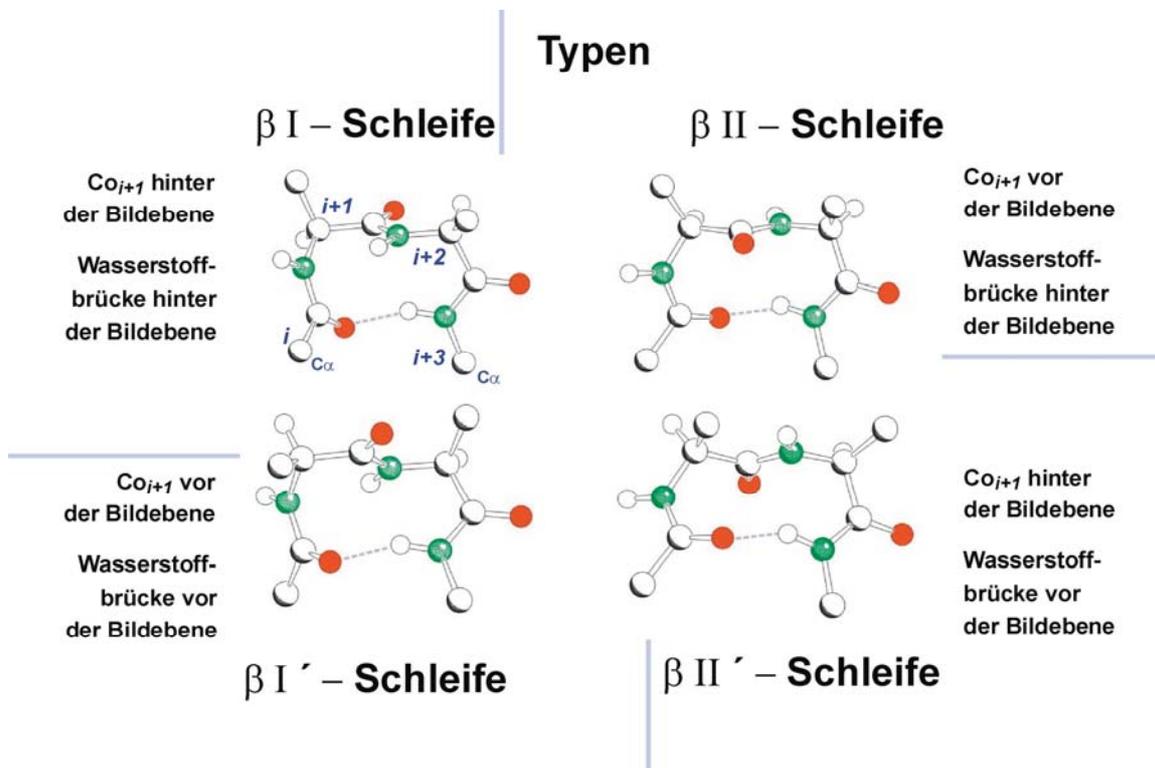


Abbildung A.-12.: Konformationen verschiedener Schleifentypen

Um jetzt solche Strukturen zu induzieren kann dies, wie schon erwähnt, ganz simpel durch den Austausch einer L- durch eine D-Aminosäure erfolgen.

Aber wie bei den Beispielen zuvor, gibt es wiederum die Möglichkeit, durch rigide Bausteine, welche Freiheitsgrade im Peptidrückgrat einschränken, nun ebenfalls dieses weitere spezielle Strukturelement zu erzwingen oder nachzuahmen.

Besagtes wird dann auch auf vielfältigste Weise versucht, so daß die hierbei synthetisierten Verbindungen, man spricht dabei von Turn-Mimetika, jene der beiden anderen Sekundärstrukturtypen in ihrer Zahl klar übertreffen [27] - [41].

Im folgenden soll nun anhand einiger Beispiele gezeigt werden, wie dies Problem dann aufs Unterschiedlichste angegangen werden kann.

Eine erste Option besteht in der Synthese von macrozyklischen Verbindungen, welche mehr oder weniger ein peptidisches Rückgrat aufweisen, wobei die Grundgedanke darin besteht, durch die zyklische Struktur Freiheitsgrade einzuschränken, um somit die gewünschte Konformation zu stabilisieren [42].

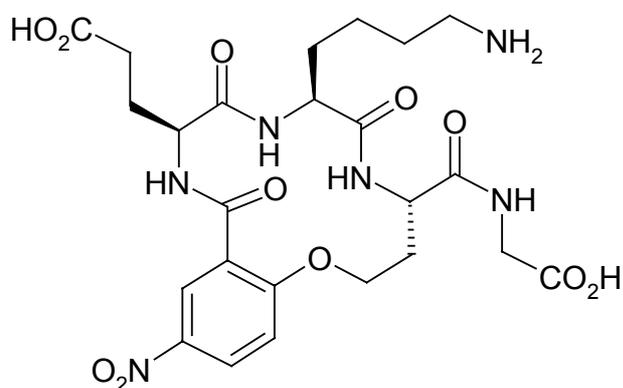


Abbildung A.-13.: Macrozyklisches Schleifenmimetikum

Konformation zu stabilisieren [42].

Als Beispiel für diese Strategie ist in Abbildung A.-13. ein solcher Macrozyklus von Park und Burgess [43] dargestellt.

Hier wurde eine kleine Bibliothek von 30 Verbindungen synthetisiert, deren Strukturanalyse nahelegte, daß hier bevorzugt eine Konformation der β I-Schleife populieren wird.

Die hier dargestellte Verbindung zeigt ein Mimetikum welches versucht, die Schleifenstruktur des NGF (nerve growth fak-

tor) nachzuahmen, wobei erste biologische Tests erfolgreich verliefen.

Ein weiteres diesbezügliches Beispiel ist in Abbildung A.-14. gezeigt, in diesem Fall ein etwas kleinerer Zyklus, ein Zehnring, von Katzenellenbogen [44], welchem ebenfalls das Potential bescheinigt wurde, eine β I-Schleife zu induzieren.

Zum Abschluß folgt noch ein Beispiel, wie dieses Problem über den Weg der kombinatorischen Synthese angegangen werden kann.

Ellman et al. [45] gelang es über Festphasensynthese 1152 verschiedene Verbindungen des hier gezeigten Typs darzustellen (Abbildung A.-15.).

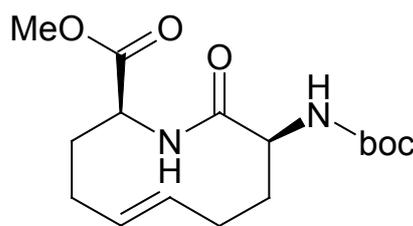


Abbildung A.-14.: Schleifenmimetikum von Katzenellenbogen et al.

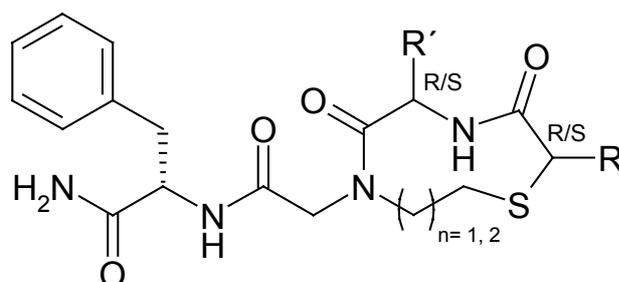
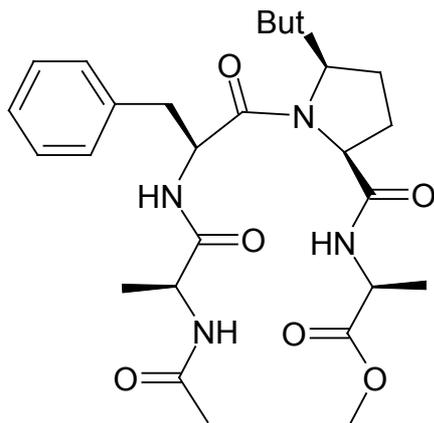


Abbildung A.-15.: Grundgerüst eines β -Turn Mimetikums
Variation: R/S, R, R' und n ergibt 1152 Verbindungen



Eine weitere, vergleichsweise einfache Variante Schleifen zu induzieren besteht darin, substituierte Prolinderivate einzusetzen [46].

Abbildung A.-16. zeigt ein solches Beispiel von Lubell et al. [47]. So konnte hier über NMR und CD gezeigt werden, daß dieses hier abgebildete Tetrapeptid in Lösung eine Schleife des Typs VIa bevorzugt.

Abbildung A.-16.:
Turninduzierung durch t-Bu-substituiertes Prolin

Als nächstes folgt nun eine Substanzklasse, welche man in diesem Kontext weniger erwarten würde, die Kohlenhydrate. Der Grund hierfür ist natürlich, daß, denkt man daran Zucker zu verknüpfen, einem zunächst in erster Linie die Methode der Glycosilierung in den Sinn kommt, eine Strategie, welche in der Peptidchemie dann weniger gefragt ist, wo selbstredend die Amino- und Carboxylfunktion, und die hieraus resultierende Amidbindung, die Hauptrolle spielen.

Dennoch gibt es aber auch Zucker, welche genau diese angesprochenen funktionellen Gruppen aufweisen (z.B. die Neuraminsäure oder die Muraminsäure), und so zumindest theoretisch auch in die Peptidchemie Eingang finden könnten, man spricht hier von Zuckeramino-säuren [48].

In der Praxis werden dann, schon weil diese speziellen Zucker eher selten, und damit auch teuer sind, modifizierte Kohlenhydrate eingesetzt, welche aus billigeren Formen, vorrangig natürlich Glucose, gewonnen werden.

Die erste diesbezügliche Verbindung, die Glucosaminuronsäure, wurde 1955 von K. Heyns und H. Paulsen synthetisiert [49].

In den folgenden Jahren konnten dann fast alle denkbaren Variante (α -, β -, γ -, δ - der furanoiden sowie α -, β -, γ -, δ - und ϵ - der pyranoiden Form) dieses Verbindungstyps dargestellt werden [50]-[57].

Als erstes fanden die Zuckeramino-säure in der Arbeitsgruppe Kessler Eingang in die Peptidchemie. Hierbei handelte es sich um den sog. Gum-Baustein (der Name wurde von Glucosyl-uronsäure-methylamin abgeleitet) welcher von E. Graf von Rödern in ein Peptid eingebaut wurde [58] [59]. Es wurde hier u.a. ein zyklisches Hexapeptid synthetisiert, in welchem Gum als Dipetidbaustein zwei Aminosäuren ersetzt.

Wie die Strukturanalyse dieser Verbindung ergab, nimmt das Peptid zykl(Gum-LPhe-DPro-LAla-LPhe), Abbildung A.-17., eine Vorzugskonformation mit zwei gegenüberliegenden β II'-Schleifen ein, mit Gum in der i+1 und i+2 Position der einen Schleife und D-Pro, wie es die Intention war, in i+1 Position der gegenüberliegenden Schleife.

In der angesprochenen Arbeit, wurde dann auch noch ein Pentapeptid synthetisiert, hier befand sich dieser Baustein selbst in keiner Schleife mehr, sondern diente innerhalb dieser Verbindung mehr als eine Art Klammer, so daß durch dessen konformationell einschränkende Wirkung die restlichen drei AS einen für zyklische Pentapeptide typischen γ -Turn ausbilden.

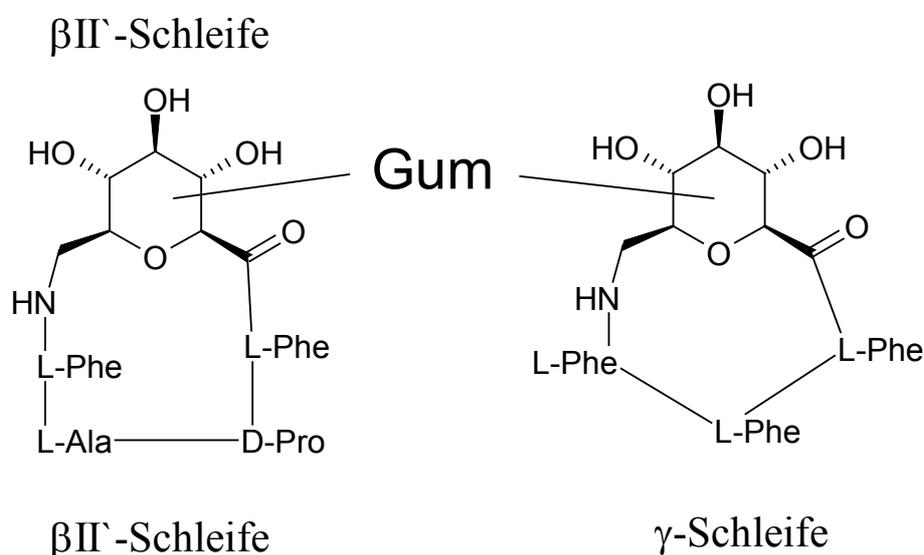


Abbildung A.-17.: Die ersten Peptide mit einer Zuckeramino säuren als Baustein

Nach diesem erfolgversprechendem Anfang, war es praktisch zwangsläufig, daß hierauf nun zahlreiche Verbindungen synthetisiert wurden, welche dieses hier gezeigte Konzept zum Vorbild nahmen [60]-[62].

Das Hauptaugenmerk wurde jetzt, nachdem die beiden Originalpeptide als reine Modellverbindungen zu betrachten sind, auf Strukturen gelenkt, von welchen man sich einen pharmakologischen Effekt erhoffte. So wurden danach z. B. Somatostatin Analoga [63], RGD-Peptide [64] oder PFT-Inhibitoren [65] veröffentlicht.

Zum Abschluß dieses Teils folgt nun ein Verbindungstyp, welchem der Großteil der publizierten β -Turn-Mimetika zugeordnet werden kann.

Im Jahr 1985 [66] wurde von Nagai und Sato eine Verbindung veröffentlicht, welche man als „die Mutter aller bizyklischen Turn-Mimetika“ bezeichnen könnte.

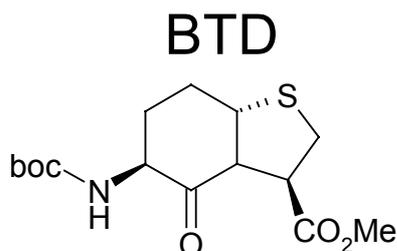


Abbildung A.-18.: BTD das erste bizyklische Schleifen Mimetikum von Nagai und Sato

Diese als BTD (Bicyclic Turned Dipeptid) [67] bekannte Verbindung war das Vorbild für viele ähnliche Turn-Mimetika, Bicyklen mit einer Amino- und einer Carboxyfunktion, welche in den folgenden Jahren publiziert wurden [68]-[76].

Exemplarisch hierfür sind in der folgenden Abbildung **A.-19.** drei Vertreter dieses Typs aufgeführt [77]-[79] (in dieser Reihenfolge von links nach rechts).

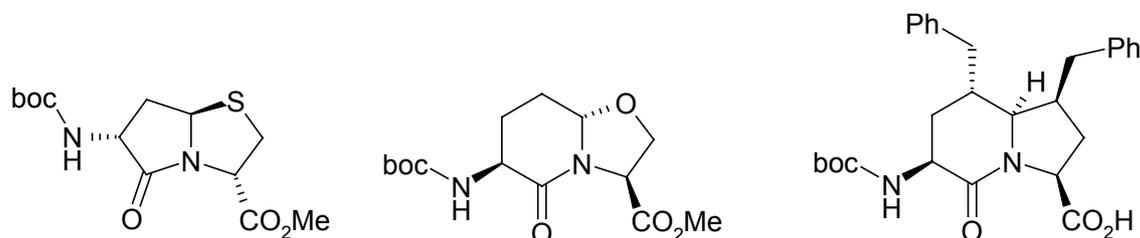


Abbildung A.-19.: bityklische Turn-Mimetika

Der schleifeninduzierende Effekt dieser Verbindungsklasse, wird darauf begründet, daß diese Bityklen die $i+1$ und $i+2$ Position, also das Kopfende, einer β -Schleife besetzen, und so stabilisierend auf diese einwirken.

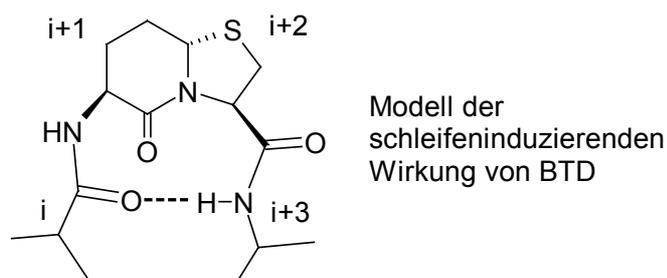


Abbildung A.-20.: BTD in der postulierten $i+1$ und $i+2$ Position einer β -Schleife

Trotz der Vielzahl von veröffentlichten Bausteinen dieses Typs, gibt es, relativ gesehen dazu, vergleichsweise wenige Arbeiten [80]-[85], in denen diese Bityklen dann auch tatsächlich in ein Peptid eingebaut wurden, um so schlußendlich auch in der Praxis die ihnen zugesprochene Eigenschaft unter Beweis zu stellen.

Der überwiegende Teil der diesbezüglichen Veröffentlichungen berichtet dann auch, sofern überhaupt eine Analyse der Konformation vorgenommen wurde, daß mit dem Einbau dieser Verbindungen das angestrebte Ziel erreicht wurde, und die hier verwendeten Bityklen tatsächlich die $i+1$ und $i+2$ Position einer β -Schleife populieren.

Einschränkend hierzu sei aber anzumerken, daß BTD, bzw. eines seiner Abkömmlinge, oft in bekannte Peptide, häufig Gramidicin S, wo es die Sequenz DPhe-Pro ersetzt [86]-[88], genau in die $i+1$ und $i+2$ Position einer auch im Original schon vorhandenen β -Schleife eingebaut wurden, so daß der induzierende Charakter in diesen Verbindungen zumindest mit Vorbehalt betrachtet werden muß. Natürlich kann und muß man, sobald diese Verbindungen sich nachweislich in einer Schleife befinden von einem diesbezüglichen Mimetikum sprechen, nur, wenn dies wie z.B. in der Arbeit von Thornton et al. [89] auch noch an einem Protein erfolgte, muß wohl eher davon gesprochen werden, daß dieser Baustein die auch schon im nativen Protein enthaltene Struktur nicht erzwingt, sondern, daß er wohl einfach vom Gesamtsystem toleriert wird.

Wenn nichtsdestotrotz die postulierte $i+1/i+2$ -Schleifenposition dieser Verbindungen in den allermeisten Arbeiten bestätigt wurde, so gibt es dennoch Veröffentlichungen, wo dieser Sachverhalt zumindest eher kritisch beurteilt wird wie in [90] [91], zwei Veröffentlichungen in denen das angesprochene Problem eher theoretisch angegangen wurde, indem durch Rechnungen für verschiedene Turnmimetika ihre diesbezüglichen Eigenschaften evaluiert wurden. Aber nicht nur theoretisch, sondern auch in der Praxis gibt es Arbeiten wo die dabei erhaltenen Ergebnisse von dem, was allgemein als gesichert gilt, abweichen. So synthetisierte R. Haubner (AG Kessler) im Rahmen seiner Dissertation [92] mehrere zyklische RGD-Peptide bei denen zwei Aminosäuren durch BTB ersetzt wurden. Für die zyklischen Hexapeptide wurde dann, wie erwartet eine Struktur mit zwei gegenüberliegenden β -Schleifen bestimmt, mit BTB in der $i+1$ und $i+2$ Position des einen Turns. Im Falle der zyklischen Pentapeptide zeigte sich dann jedoch, daß BTB nicht der ursprünglichen Intention entsprechend wiederum das Kopfende einer β -Schleife besetzt, sondern die Ergebnisse der Strukturermittlung legten den Schluß nahe, daß es in diesen Verbindungen „durchgerutscht“ ist, und sich nun in der $i+3$ und $i+4$ Position befindet [93].

Nun stellt solch ein zyklisches Pentapeptid mit Sicherheit eher einen Sonderfall dar, so daß die hier erhaltenen Ergebnisse natürlich keinerlei Allgemeingültigkeit besitzen, aber dennoch zeigt dieses Beispiel, daß die $i+1/i+2$ -Position des BTBs und seiner Analoga nicht als Selbstverständlichkeit betrachtet und vorausgesetzt werden kann, so daß, baut man solch einen Baustein in ein Peptid ein, eine fundierte Strukturanalyse unerlässlich ist, will man sicher sein, daß auch wirklich die Struktur vorliegt, welche man bei der Synthese im Hinterkopf hatte.

3.2. Oligomere mit einer definierten Konformation

Im zweiten Teil sollen jetzt Oligomere betrachtet werden, die nicht aus den bekannten α -Aminosäuren aufgebaut sind, und im Vergleich zu diesen, schon bei relativ kurzer Kettenlänge in der Lage sind, definierte Vorzugskonformationen einzunehmen [94].

Diese hier erzeugten Konformationen weichen dann in der Regel von den klassischen Sekundärstrukturen ab. Auch werden die entsprechenden Untereinheiten nicht zwangsläufig über Amidbindungen miteinander verknüpft [95] [96]. Da aber ein Großteil dieser Verbindungen dann doch Oligomere darstellen, welche über eine klassische Peptidbindung aufgebaut sind, und auch diese Arbeit im Bereich der Peptidchemie angesiedelt werden muß, werden sich die nun folgenden Beispiel auf die Oligopeptide beschränken.

Die beiden Forschergruppen, deren diesbezügliche Arbeiten bisher die größte Resonanz zu erzielen in der Lage waren, sind wohl jene von Seebach und Gellman.

1996 veröffentlichte Seebach einen Artikel [97] welcher davon berichtete, daß Oligomere aus β -Aminosäuren in der Lage seien in Lösung ungewöhnlich stabile helikale Strukturen auszubilden, und dies schon ab einer Kettenlänge von sechs dieser Aminosäuren. Dies war der Anfang einer Flut von Veröffentlichungen welche alsdann von dieser Arbeitsgruppe ausgingen, und sich mit diesen β -Peptiden beschäftigten [98]-[102].

Die zweite prominente Arbeitsgruppe welche ihr Hauptaugenmerk auf β -Peptide gerichtet hat ist, wie schon angesprochen, jene von S. Gellman [103]. Hier wurde jetzt unter anderem der

Weg eingeschlagen durch rigidere Bausteine β -Peptide zu stabilisieren und generell Einfluß auf die Struktur auszuüben. Diese Einschränkung der Freiheitsgrade erfolgt hier hauptsächlich durch die Verwendung zyklischer β -Aminosäureanaloge.

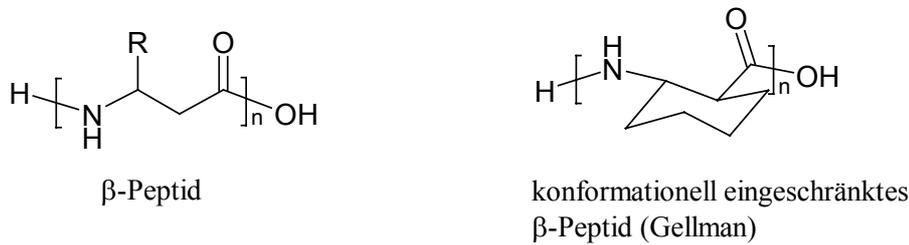


Abbildung A.-21.: β -Peptide: links: entspricht Seebachs ersten Peptiden
rechts: Oligomer aus ACHC (Aminocyclohexancarboxylic acid) von Gellman

Diese Oligomere von Gellman, zeigt dann ebenfalls eine definierte Konformation in Lösung, und mehr noch, dominierte bei den β -Peptiden von Seebach die sog 14-Helix, konnte Gellman durch Änderung der Ringgröße neben der 14-Helix (Sechsring) [104] auch eine 12-Helix [105] generieren, indem nun ein Oligomer, welches aus einem Fünfringderivat (ACPC, (R,R)-trans-2-aminocyclopentancarbonsäure) aufgebaut war, synthetisiert wurde.

Die Bezeichnung 12-Helix bzw. 14-Helix bezieht sich auf die Zahl der Atome, die sich innerhalb des Ringes befinden, welcher durch die Wasserstoffbrücke vom Carbonyl zum entsprechenden Amidproton gebildet wird.

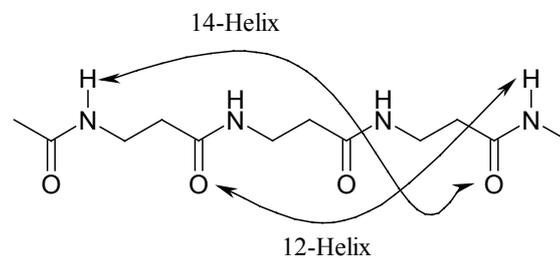


Abbildung A.-22. Schaubild zur Erläuterung der Helix-Nomenklatur im Fall der β -Peptide

Weiter hat sich gezeigt, daß durch Verwendung hydrophiler Bausteine, DCHC (R,R,R-2,5-diaminocyclohexancarbonsäure) [106] und APC (R,S-trans-3-aminopyrrolidin-4-carbonsäure) [107], siehe Abbildung A.-23., jetzt nicht nur wasserlösliche Peptide erhalten werden können, sondern, daß diese auch in wäßrigem Milieu eine definierte Konformation einzunehmen in der Lage sind.

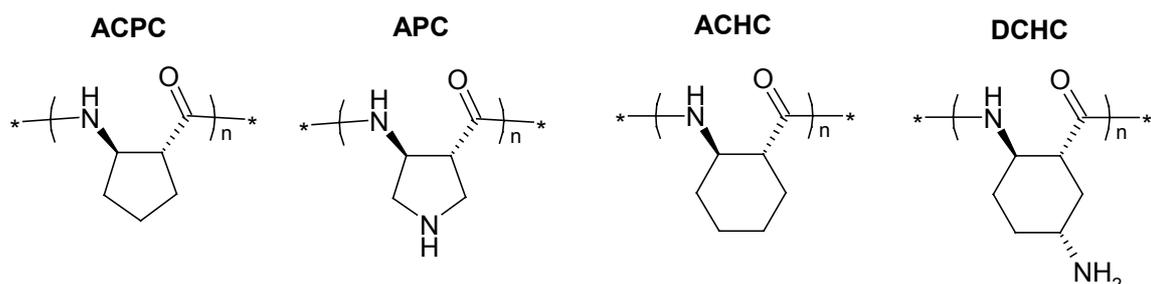


Abbildung A.-23.: zyklische Bausteine von Gellman

Das Prinzip, durch konformationell eingeschränkte Bausteine definierte Strukturen zu generieren, ist generell weit verbreitet, so daß eine ganze Zahl an veröffentlichten Verbindungen genau hierauf beruhen.

In der folgenden Abbildung **A.-24.** sind, um einen kurzen Überblick über die Vielfalt dieser Verbindungen zu erhalten, einige dieser Beispiele gezeigt.

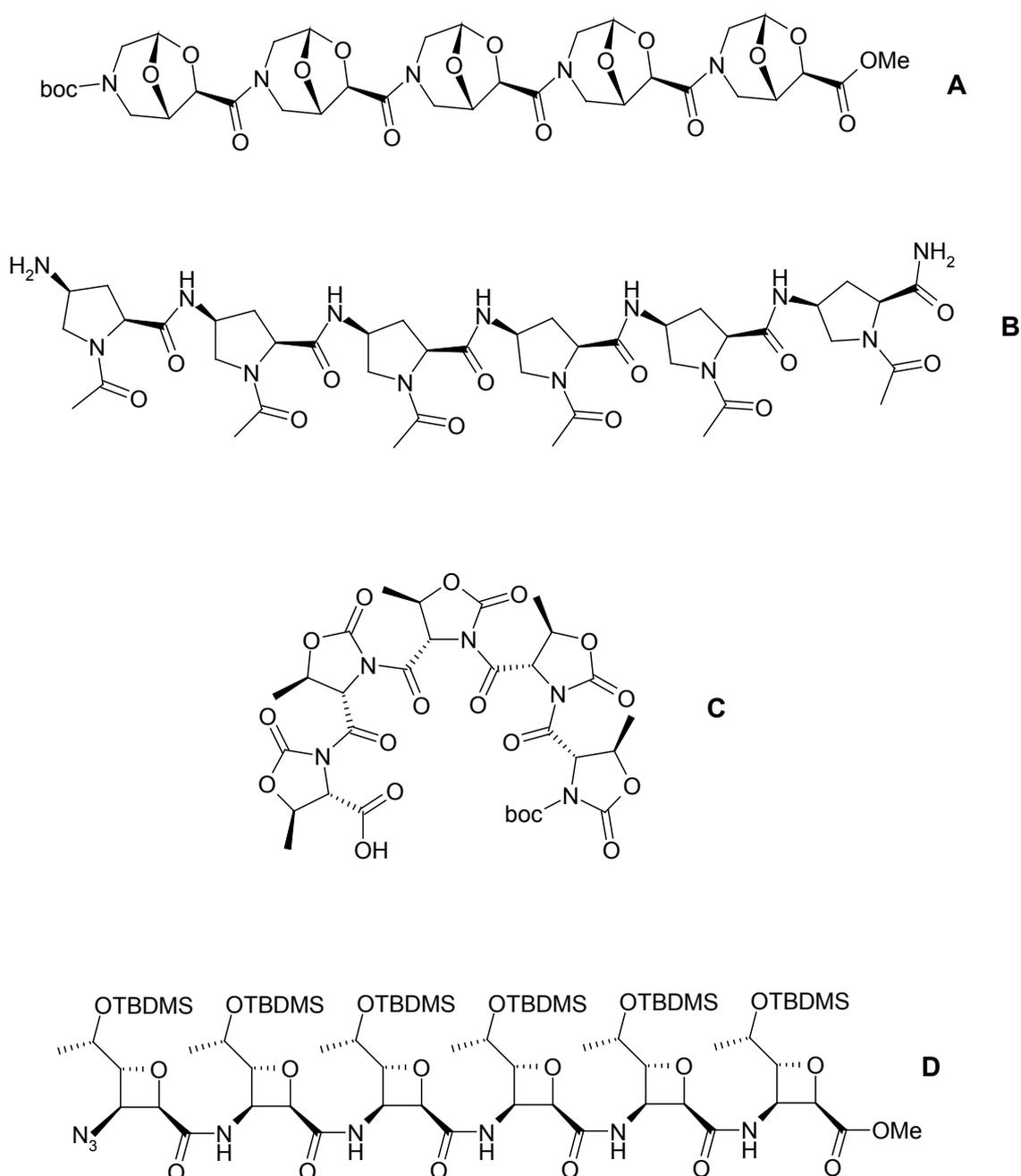


Abbildung **A.-24.**: Oligomer für welche eine Vorzugskonformation in Lösung vorgeschlagen wurde, **A** [108], **B** [109], **C** [110], **D**[111] [112],

Zu Ende dieser kurzen Einführung tritt nun noch einmal ein Verbindungstyp auf den Plan, welcher zuvor schon Erwähnung gefunden hat, die Zuckeraminosäure.

Prinzipiell spricht selbstredend nichts dagegen, auch aus diesen Bausteinen Oligomere zu bilden, und diese dann auf mögliche Strukturen hin zu untersuchen, was auch geschah [113]-[115].

Das Ergebnis dieser Bemühungen, war dann aber, betrachtet man es von der strukturellen Seite doch eher bescheiden, so wurden bis heute nur von wenigen linearen Verbindungen dieses Typs berichtet, für welche eine definierte Vorzugskonformation in Lösung ermittelt wurde.

Zwei Beispiele, für welche dann doch eine Vorzugskonformation gefunden wurde, sind in Abbildung A.-25. gezeigt. Zum einen oben, hierbei handelt es sich um eines der ersten Oligomere aus Zuckeraminosäuren mit Struktur, von Fleet et al. [116]-[120], und zum anderen eine Verbindung von S. Gruner, aus der Arbeitsgruppe Kessler, für welche dann schließlich eine 12/10/12 Helix in Acetonitrill gefunden werden konnte [121].

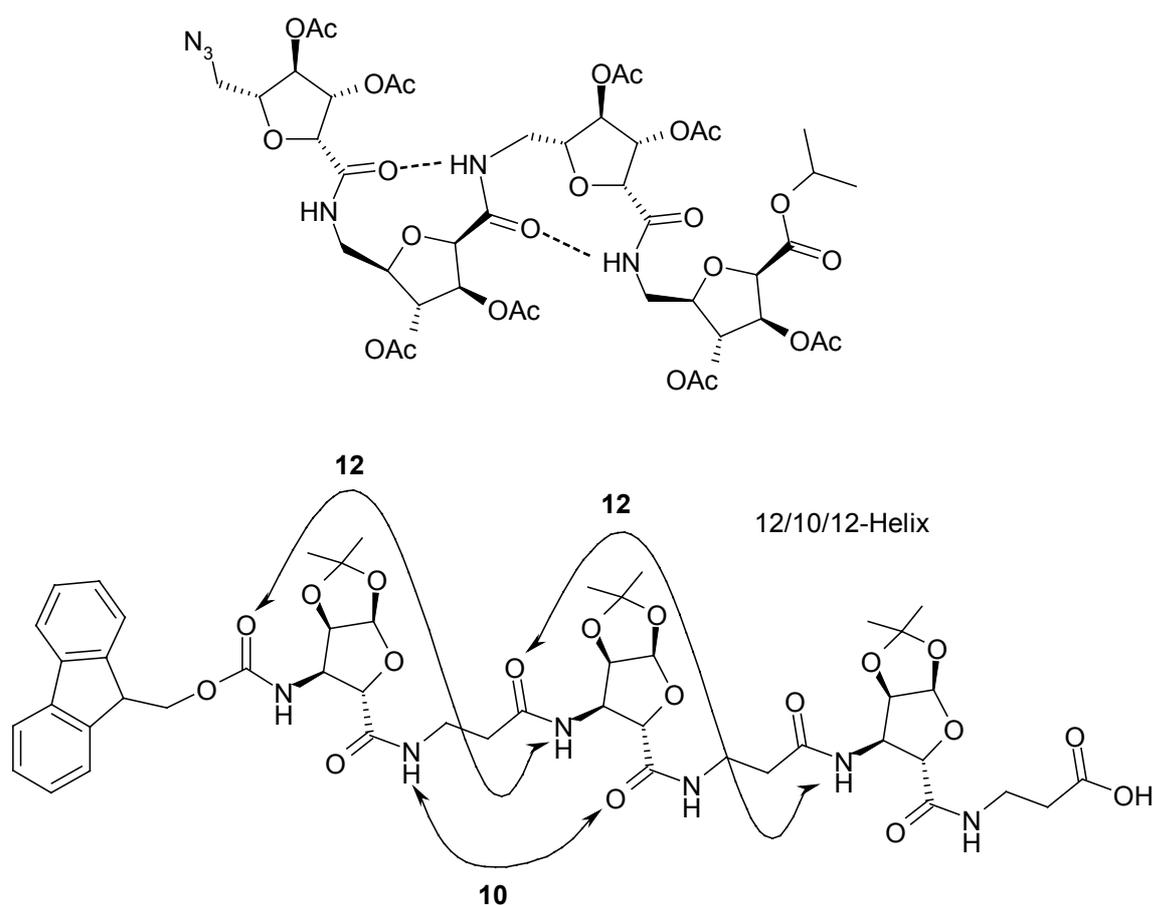


Abbildung A.-25.: Oligomere auf der Basis von Zuckeraminosäuren, aus den Arbeitsgruppen Fleet (oben) und Kessler (unten)

4. NMR-spektroskopische Methoden

Da die NMR-Spektroskopie den Schwerpunkt in der Analytik der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen darstellte, soll auf die hierbei angewandten Methoden noch kurz eingegangen werden [126].

Zusammenhang zwischen Diederwinkel und 3J -Kopplungskonstante

Wichtige Rückschlüsse auf die Konformation eines Moleküls lassen in vielen Fällen schon die Größen der 3J -Kopplungskonstanten zu, da diese direkt vom Diederwinkel der beiden Protonen abhängen. Diese Abhängigkeit wird durch die sog. Karplus-Beziehung beschrieben:

$$^3J = A\cos^2\Phi + B\cos\Phi + C$$

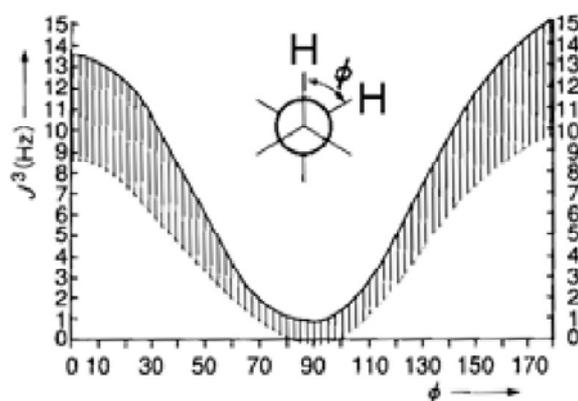
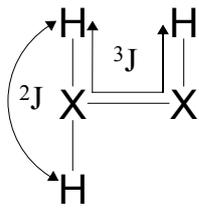


Abbildung A.-26.: Karplus-Kurve der 3J -Kopplungskonstanten

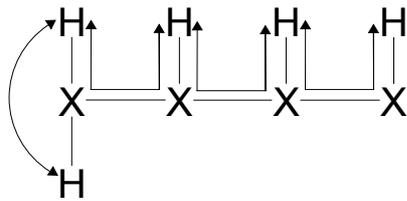
Da die Karplus-Gleichung eine periodische Funktion darstellt, und es immer min. zwei Lösungen gibt, ist eine eindeutige Bestimmung des Winkels aus der Größe der Kopplungskonstante zunächst einmal nicht möglich. Dies kann dann z.B. durch Zuhilfenahme der Daten aus den Untersuchungen der Protonen-Protonen-Abstände geschehen, ist aber z.T. auch schon über einfache Plausibilitätsbetrachtungen möglich.

COSY-Spektren



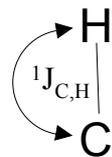
Hierdurch können skalare Kopplungen von Protonen über zwei oder drei, in Ausnahmefällen vier, Bindungen detektiert werden.

TOCSY-Spektren



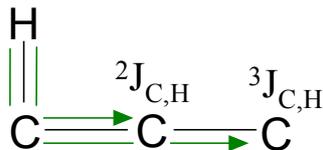
Korrelation aller Protonen eines Spinsystems. Man erhält Signale von einem Proton zu allen anderen Protonen, welche über skalare Zwei- bzw. Dreibindungskopplungen miteinander verknüpft sind.

C,H-Korrelation (HMQC, HSQC)



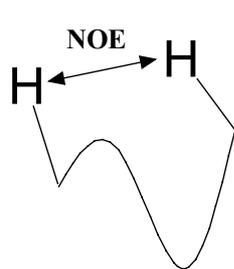
Direkte C,H-Korrelation über $^1J_{C,H}$ -Kopplung. Über die erhaltenen Kreuzsignale zwischen Proton und Kohlenstoff, können die jeweiligen CH_x -Gruppen zugeordnet werden.

C,H-Korrelation (HMBC)



Long range C,H-Korrelation. Man erhält Kreuzsignale von den Protonen zu den Kohlenstoffatomen über skalare Zwei- und Dreibindungskopplungen ($^2J_{C,H}$ bzw. $^3J_{C,H}$).

Interprotonenabstände (ROESY, NOESY)



Protonen, welche eine räumliche Nähe ($d < 4-5 \text{ \AA}$) zueinander aufweisen, können, unabhängig von der Zahl der Bindungen, über ihre dipolaren Kopplungen detektiert werden. Durch Referenzwerte (z.B. Abstand geminaler Protonen), ist es möglich über einen Vergleich der jeweiligen Integrale ihre Abstände zu bestimmen.

$$r_{ij} = r_{ref} \sqrt[6]{\frac{I_{ref}}{I_{ij}}}$$

r_{ij} gesuchter Abstand zweier Protonen i und j

r_{ref} bekannter Abstand

I_{ij} Intensität des Signals zwischen i und j

I_{ref} Intensität des Signals zweier Protonen bekannten Abstands

5. Ausgangspunkt dieser Arbeit

In nun folgenden Kapitel soll jetzt die Idee und die geleistete Vorarbeit präsentiert werden, worauf diese Arbeit dann aufbaute.

Wie ausführlich gezeigt, besteht eine Möglichkeit, Strukturen zu induzieren darin, rigide Moleküle in ein Peptid einzubinden, wie z.B. das schon vorgestellte BTD von Nagai und Sato [66].

Als problematisch, oder zumindest nicht trivial, erweist sich bei solchen Bausteinen jedoch oft der Versuch, den Grundbaustein durch gezielte Modifikationen zu variieren. Versucht man zum Beispiel, die Seitenketten einer Aminosäure nachzuahmen, hat diese Modifikation in der Regel schon in einem sehr frühen Stadium beim Aufbau des Moleküls stattzufinden, hauptsächlich durch den Einsatz unterschiedlicher Edukte, und als Konsequenz dessen ist es folglich jedesmal von neuem erforderlich, diese Synthese wieder auszuarbeiten, da davon auszugehen ist, daß unterschiedliche Edukte wiederum Auswirkungen auf die Synthese des Bausteins haben, von Einflüssen auf die Stereochemie bis dahin, daß eine Reaktion, infolge z.B. neuer Funktionalitäten auf dem zuvor beschrittenen Weg so überhaupt nicht mehr gangbar ist. Wünschenswert für einfache Modifizierungen wäre es aber, wenn dies erst am fertigen Grundbaustein geschehen könnte, man ein relativ einfach zu modifizierendes peptidisches Gerüst hätte.

Hiermit wäre dann auch das Stichwort geliefert, welches zur Idee führt, auf der diese Arbeit dann fußte.

Erstrebenswert wäre es also, eine Verbindung in der Hand zu haben, vergleichbar des zuvor gebrachten, auf Glucose aufbauenden, Gerüstmimetikums von Hirschmann, nur jetzt mit einem rigiden peptidischem Grundkörper, somit eine Chimäre aus einem rigiden, dem BTD vergleichbaren, Peptidisoster und einem Zucker, also ein polyhydroxyliertes bizyklisches Dipeptidisoster.

Nicht zufällig wurde hier das BTD als Beispiel für ein bizyklisches Dipeptidisoster gewählt, denn auf eben dessen Synthese sollte dann auch jene dieser neue Baustein aufbauen.

In Abbildung A.-26. ist nun der Schlüsselschritt der BTD-Synthese aufgezeigt, die Kondensation zum Bizyklus.

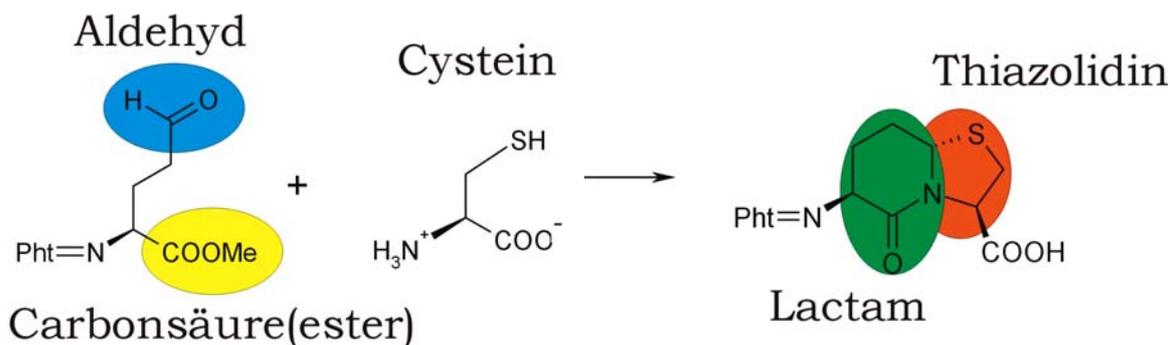


Abbildung A.-27.: Schlüsselschritt der Synthese von BTD

Wie dargestellt sind die funktionellen Gruppen, welche an der Kondensation mit Cystein zum Bizyklus beteiligt sind, ein Aldehyd und eine Carbonsäure, die hier als Ester vorliegt. Angelehnt an diese Synthese sollte zu jener Zeit ein Weg gefunden werden, um nun zu einem hydroxylierten Bizyklus zu gelangen.

Nun wären somit auch alle Schlagworte geliefert, welche schließlich zur Lösung des Problems führten, denn sucht man nach einem hydroxylierten Aldehyd welcher zudem noch eine Carbonsäure aufweist, gelangt man unausweichlich zur Uronsäure, jener Form eines Zuckers, deren primäre Hydroxylgruppe zur Säure oxidierte ist.

Kurz und knapp: Eine Uronsäure sollte mit Cystein zum entsprechenden Thiazolidinlactam kondensiert werden.

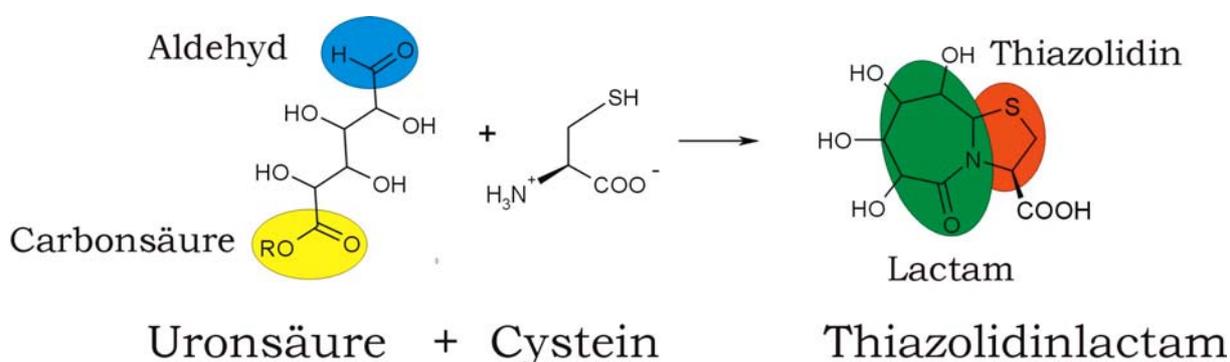


Abbildung A.-28.: Idee zur Synthese eines hydroxylierten Thiazolidinlactams

Erfolgreich in die Praxis umgesetzt wurde dieses Konzept in unserer Arbeitsgruppe dann von D. Bockelmann [122] [141], dem es gelang, Cystein mit γ -Glucuronolacton zum 7,5Bizyklus zu kondensieren, eine Reaktion welche praktisch diastereoselektiv und in sehr guten Ausbeuten verlief.

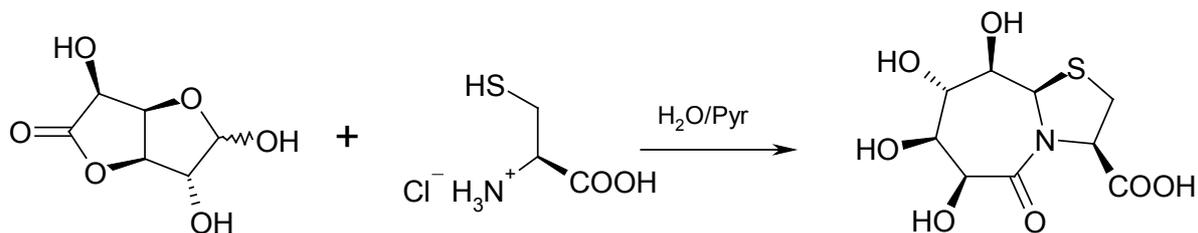


Abbildung A.-29.: Synthese des ersten polyhydroxylierten Thiazolidinlactams

War nun diese Reaktion, welche von zwei vergleichsweise günstig zu erwerbenden Substanzen direkt zum Bizeyklus führte, der Reaktion von Nagai und Sato eindeutig überlegen, so sind z.B. bei der Synthese des BTDs schon allein fünf Synthesestufen bis zur eigentlichen Kondensation erforderlich, fehlte hier doch noch eine nicht unbedeutendes Detail, die Aminofunktion.

Dies wurde dann dadurch gelöst, daß die Stickstofffunktion als Azid, an der als Triflat aktivierte Position 5, des isopropylidengeschützten γ -Glucuronolactons eingeführt wurde [123] [124]. Diese so modifizierte Uronsäure wurde dann anschließend wieder mit Cystein zum Bicyklus umgesetzt. Nach Reduktion des Azids mit $\text{Me}_3\text{SiCl}/\text{Na}$ und Schutz desamins mit einer Boc-Gruppe, gelangte man zu einem geschützten Dipeptidisoster, welches so zur Peptidsynthese eingesetzt werden kann.

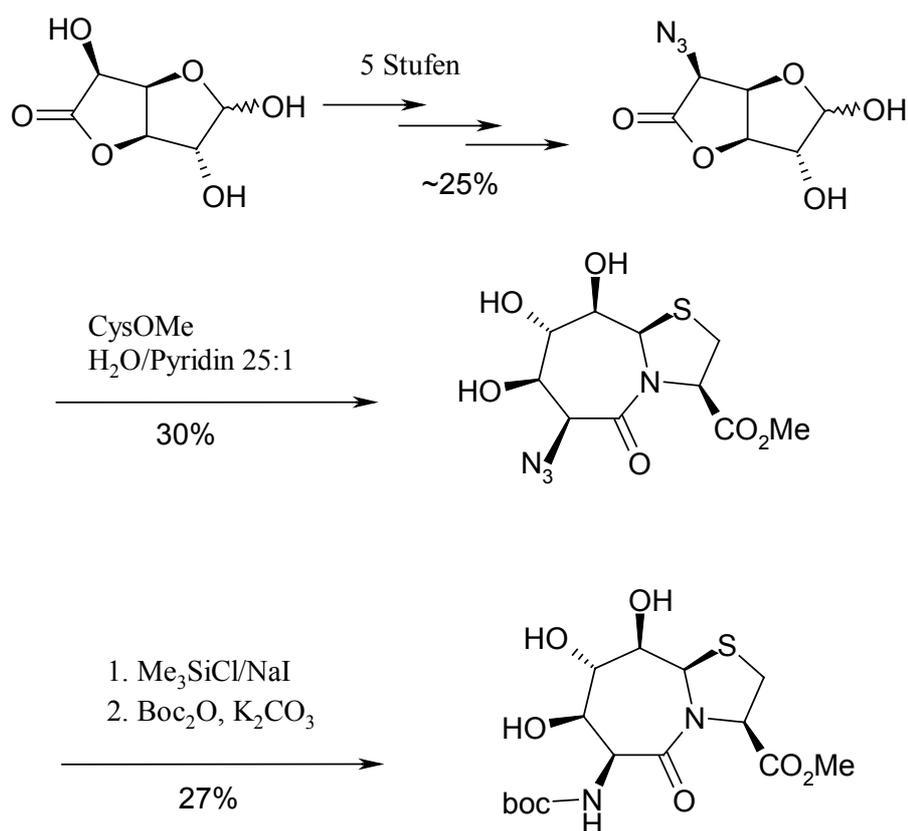


Abbildung A.-30.: Synthese des ersten bicyklischen polyhydroxylierten Dipeptidisosters von D. Bockelmann

Diese hier gezeigte Synthese wurde dann von F. Moser im Rahmen seiner Diplomarbeit [125] modifiziert, indem die Reduktion des Azids schon am γ -Glucuronolacton erfolgte, dieses wurde dann, das Amin noch Z-geschützt, mit Cysteinmethylester zum fertigen geschützten Dipeptidisoster umgesetzt. Hierdurch konnte die Ausbeute der Bicykluskondensation, welche im Fall des Azids bei 30% lag nun auf 53% verbessert werden.

Schlußendlich hatte man jetzt ein rigides Dipeptidisoster in der Hand, welches, aufgrund seiner OH-Gruppen, die Möglichkeit eröffnet, dieses nun mit verschiedenen pharmakophoren Gruppen zu modifizieren.

Aber nicht nur diese den Gerüstmimetika entlehene Eigenschaft hebt diesen Baustein von z.B. BTD ab, so weiß er noch zwei weitere Vorteile auf, zum einen die gute Wasserlöslichkeit und zum anderen besteht noch die Möglichkeit, daß die Hydroxylgruppen, welche in einer definierten Ausrichtung vorliegen, strukturunterstützenden Einfluß haben können.

6. Ziel dieser Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit, war, kurz gesagt, das Potential dieses Verbindungstyps aufzuzeigen. Dies kann man dann noch in zwei Hauptaufgabengebiete unterteilen.

1. Variabilität des Bausteins

Zu diesem Punkt gehört zunächst, die schon erwähnte Modifikation der Hydroxylgruppen (vgl. Gerüstmimetika). Es sollte also untersucht werden, inwieweit sich die Hydroxylgruppen, wenn möglich selektiv, modifizieren lassen.

Weiter von Interesse war, ob sich die gezeigte Synthese der Kondensation zum Bizyklus, auch auf andere Zucker übertragen ließe, um so eine Erweiterung des Baukastens an bizyklischen Dipeptidisosteren zu ermöglichen.

Im Grunde sollte es in diesem Teil hauptsächlich darum gehen, prinzipiell etwas über die Reaktivitäten dieses Systems zu erfahren, die Möglichkeiten auszuloten aber auch Probleme die sich hierbei ergeben zu dokumentieren.

2. Strukturelle Eigenschaften

Im zweiten Teil, sollten nun die strukturellen Möglichkeiten dieser Verbindungen näher untersucht werden. Ob, und welchen Einfluß solch ein Bausteine, eingebaut in ein Peptid, auf die Gesamtkonformation auszuüben imstande ist.

Das Ziel war jetzt aber nicht, eine bestimmten Konformationen zu generiert, sonder es sollte eine generelle Betrachtung des Potentials dieser Verbindungen, Konformationen zu stabilisieren oder zu induzieren erfolgen.

Zu diesem Zwecke sollten möglichst geeignete Modelpeptide synthetisiert werden, die anschließende Strukturaufklärung, hauptsächlich über NMR, sollte dann Einsicht über die diesbezüglichen Eigenschaften dieses Verbindungstyps erlauben.

B. Die Arbeit

„Make everything as simple as possible, but not simpler“

A. Einstein

1. Die Bausteine

1.1 Synthesen und Strukturanalysen bicyklischer Dipeptidisostere

1.1.1. Der 7,5-Bizyklus

1.1.1.1. Synthesen

Gehörten auch die bisher erarbeiteten Synthesen der 7,5Thiazolidinlactame von Bockelmann [122] und Moser [128], vergleicht man sie mit denen vieler anderer bicyklischen Dipeptidisosteren, immer noch zu denen mit der geringsten Anzahl an Synthesestufen, welche sich sowohl vom Aufwand, als auch ihrer Komplexität im erfreulichen Rahmen hielten, so blieb nichtsdestotrotz ein gewisser Spielraum, die Synthese bezüglich Stufenzahl als auch Gesamtausbeute weiter zu optimieren.

Ein Problem der vorherigen Synthesebemühungen lag darin, daß mit der Kondensation von γ -Glucuronolacton und Cystein zum 7,5Thiazolidinlactam **1** eine sehr schöne und einfache Reaktion vorlag, welche in hervorragenden Ausbeuten (>90%) und hoher Diastereoselektivität zu einem leicht zu kristallisierenden Produkt führte, welches dann aber unvorteilhafter Weise, mangels einer funktionierenden Modifikation mit einer Aminofunktion, nicht direkt als Grundgerüst für die weitere Synthese zum Peptidbaustein benutzt werden konnte. Ein Umstand, der es erforderlich machte, über das Azid des γ -Glucuronolactons, in eher bescheidenen Ausbeuten von 30%, zum 7,5Bizyklus **3** mit einer Stickstofffunktion an Position 6 zu gelangen. Auch die anschließende Reduktion (TMSCl/NaI) und Schutz des Amins durch eine Boc-Gruppe (Boc₂O, K₂CO₃) in einer Gesamtausbeute von 27%, barg in sich noch das Potential, diese Synthese weiterzuentwickeln.

Der Hauptansatzpunkt sollte deshalb zunächst einmal sein, die Stickstofffunktion direkt am Bizyklus einzuführen, und zwar möglichst über eine einfache Substitutionsreaktion.

Da die vorhergehenden Arbeiten gezeigt hatten, daß eine Aktivierung durch eine Tosylgruppe an Position 6 aus Gründen der Reaktivität wohl nicht ausreichend genug sei, wurde jetzt statt

dessen als aussichtsreichere Alternative eine Modifizierung durch ein Triflat in Betracht gezogen, ungeachtet dessen, daß ein solches Molekül zu diesem Zeitpunkt als instabil erachtet wurde.

Die Skepsis, welche die Tatsache betraf, daß eine direkte Modifikation am Bicyklus bisher als nicht durchführbar angesehen wurde, erwies sich dann auch als nicht unbegründet, denn sowohl die selektive Modifikation von OH-6 als Triflat **2**, welches problemlos isoliert werden konnte, als auch die anschließende Azideinführung unter Retention (worauf später noch detaillierter eingegangen werden wird), erwiesen sich als relativ unproblematisch, und in durchaus akzeptablen Ausbeuten zu bewerkstelligen.

Was nun den folgenden Schritt, die Reduktion dieser Azid angeht, konnte, indem das Azid **3** jetzt mit gesättigter H₂S Lösung behandelt wurde, wobei die Aufarbeitung lediglich darin bestand das Lösungsmittelgemisch wieder zu entfernen, um so das freie Amin **4** quantitativ und sauber zu erhalten, ebenfalls eine deutliche Weiterentwicklung bezüglich eines höheren Umsatzes und Einfachheit der Synthese erzielt werden.

Da der anschließende Schutz desamins **4** mit einer Boc-Gruppe ebenfalls in akzeptablen Ausbeuten gelang, kann der Ansatz, eine einfache und schnelle Synthese rigider bicyklischer Dipeptidbausteine auf die Beine zu stellen, als durchaus gelungen bezeichnet werden.

Das genau Reaktionsschema, wie nun, über lediglich 5 Synthesestufen, in einer Gesamtausbeute von mehr als 60%, zu einem bicyklischen Dipeptidisoester gelangt werden kann, ist in der folgenden Abbildung **B.1.1-1.** gezeigt.

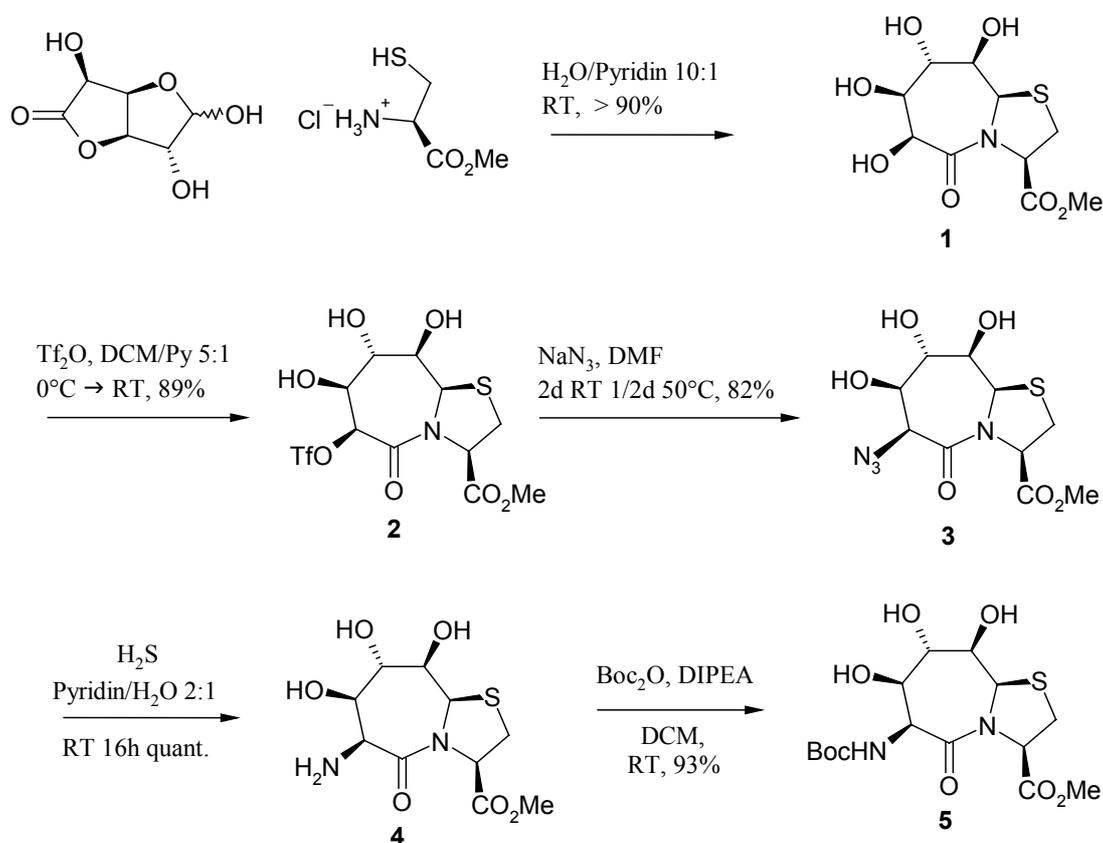


Abbildung **B.1.1-1.**: Neue Synthese der 7,5 bicyklischen Dipeptidisoesters

Zwar sollten Einfachheit, geringe Stufenzahl und gute Ausbeute grundsätzlich das Ziel erfolgreicher Synthesebemühungen darstellen, aber nirgends sonst in dieser Arbeit nahmen diese Kriterien eine solch vorrangige Stellung ein.

Wurde auch teilweise bei anderen Synthesen auf eine Optimierung verzichtet, und sich damit begnügt, gezeigt zu haben, „daß es geht“, so war es in diesem Fall wesentlich für den Fortgang dieser Arbeit, und die Einführung der Stickstofffunktion direkt am Bizyklus, wohl mit der wichtigste Syntheseschritt welcher hierin vollbracht wurde. Denn jetzt war es möglich ein bizyklisches Dipeptidisoester problemlos in solchen Mengen (bis zu 10 g der Endverbindung **5**) darzustellen, daß diese Verbindung nun auch in der Praxis als Baustein in der Peptidsynthese Anwendung finden konnte, um dann so am erhaltenen Peptid, die möglichen strukturbestimmenden Eigenschaften dieses Verbindungstyps zu untersuchen.

1.1.1.2 Stukturanalyse

Zwar handelt es sich bei dem gezeigten Bizyklus **5** um eine bekannte Verbindung, dennoch soll noch kurz auf einige Aspekte bei der Zuordnung, und auch auf dessen Struktur eingegangen werden. Dies, da es zum einen gelang, nun auch eine Kristallstruktur zu erlangen, und zum anderen, da ein Großteil der später synthetisierten Peptide speziell auf diesem Baustein basierten, somit das Wissen über dessen Struktur somit unerläßlich war.

Aber auch wichtige Punkte, die bei der Zuordnung zu beachten sind, und so später bei den größeren Peptiden wiederzufinden sind, lassen sich am einfachsten zuerst an diesem Monomer aufzeigen.

Eine Sachverhalt, welcher bei der Auswertung der NMR-Spektren eine Rolle spielte, war die Tatsache, daß die Protonen 6-H und 9a-H sich in einer gauche-Stellung zu 7-H bzw. 9-H befinden, und keine sichtbare ^3J -Kopplung zu diesen zeigen, infolgedessen erscheint 9a als Singulett und 6-H zeigt als Dublett nur eine Kopplung zum NH. Dies hat zweierlei zur Folge, erstens, kann man z.B. in einem größeren Peptid, betrachtet man nur die Kopplungen, vom NH lediglich zum benachbarten 6-H gelangen, alle weiteren Ringprotonen sind dann von diesem Spinsystem ausgeschlossen, und können über diesen Weg nicht zugeordnet werden, und zweitens, dadurch, daß weder 9a-H noch 6-H zu ihren Nachbarn koppeln, ergibt sich praktisch ein Palindrom für das Spinsystems 7-OH/7-H/8-H(8-OH)/9-H/9-OH, sprich, egal von welcher Seite man beginnt, es ist immer schlüssig, und man kann allein über die Kopplungen, z.B. aus einem DQF-COSY-Spektrum, das Proton an Position 9 nicht von jenem an Position 7 unterscheiden.

Die Lösung für beide Probleme liegt darin, diese über die Distanzen der Protonen zueinander zuzuordnen, man nimmt also ein ROESY- oder NOESY-Spektrum auf.

Wie in Abbildung **B.1.1.-2.** gezeigt kann man somit z.B. von 6-H zu 7-H und weiter zu allen anderen Protonen im Ring „hineinsehen“, und da 6-H zugleich kein Kreuzsignal zu 9-H zeigt, zumindest keine intensives, kann hierdurch auch die Unterscheidung 7-H von 9-H erfolgen. Ebenso zeigt dann 9a-H nur zu 9-H einen NOE und nicht zu 7-H.

Erfolgt die Zuordnung, wie hier gezeigt über die Daten der Interprotonenabstände aus ROESY- bzw. NOESY-Spektren, ist die Grundvoraussetzung hierzu, daß die Struktur der entsprechenden Verbindung zumindest in Grundzügen bekannt ist, und genau auf dies, die konformationellen Eigenschaften des Bicyklus **5**, soll nun im letzten Teil dieses Kapitels näher eingegangen werden.

Wie zuvor erwähnt, war es möglich von der Endverbindung Kristalle zu erhalten, und um es gleich vorwegzunehmen, die hier erhaltene Struktur, stimmt gut mit der Konformation des Bausteins in Lösung überein.

So nimmt der Siebenring im Kristall eine Sesselkonformation ein, wobei alle drei Hydroxylgruppen eine axiale Position einnehmen (Abbildung **B.1.1-2**). Dafür, daß dies in Lösung ebenfalls der Fall ist, sprachen folgende Ergebnisse der NMR-Untersuchungen.

- Die 3J -Kopplungen der Ringprotonen stimmen gut mit den entsprechenden Winkeln im Kristall überein, so ist z.B., wie schon angesprochenen, für 9a-H sowie 6-H die gauche-Stellung auch im Kristall zu beobachten.
- 9a-H und 6-H zeigen einen intensiven NOE zueinander, und müssen somit, auch in Lösung eine axiale Position einnehmen.
- Die beiden äquatorialen Protonen 7-H und 9-H, zeigen, wie für diese Sesselkonformation zu erwarten, nur einen sehr schwachen NOE zueinander. Wäre der Ring in Lösung invertiert, würden diese beiden Protonen eine axiale Position einnehmen, und somit wäre ein wesentlich intensiveres, als das hier beobachtete Kreuzsignal zu erwarten.

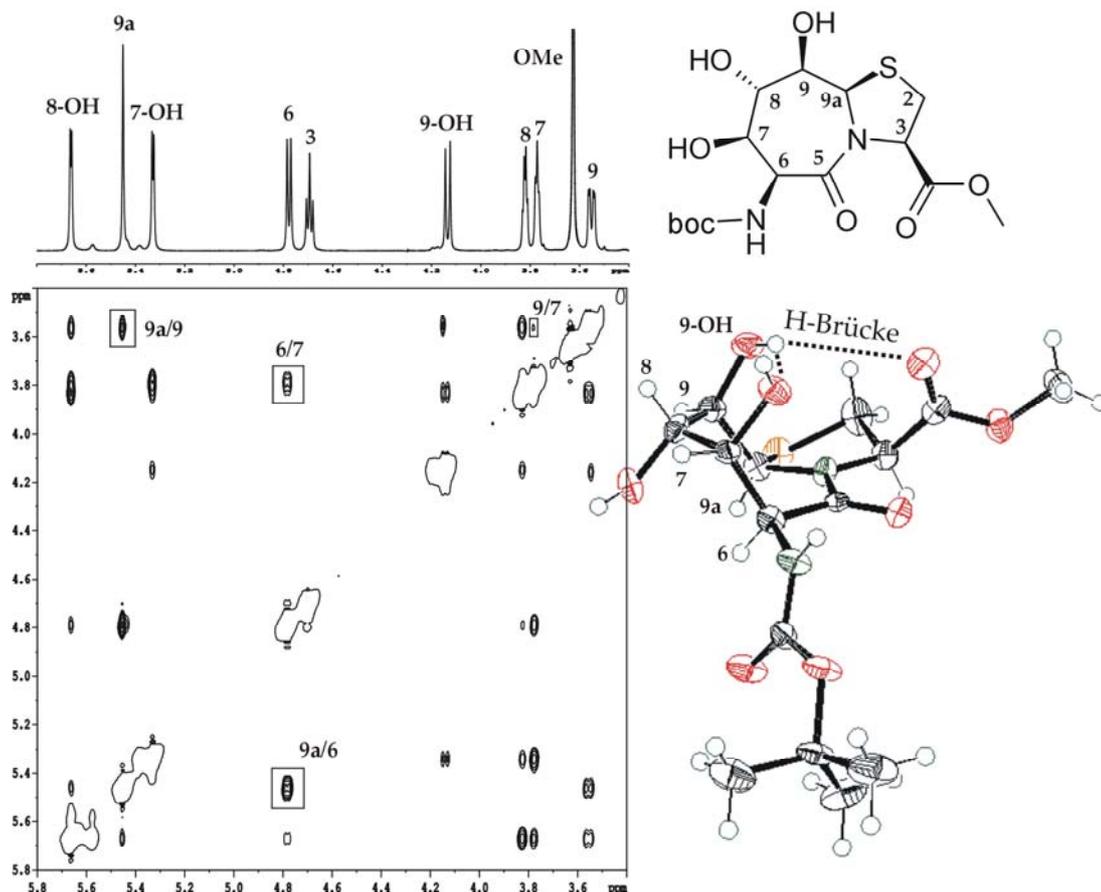


Abbildung **B.1.1-2**: 600MHz ROESY Spektrum der Verbindung **5** in DMSO- d_6 und ihre Kristallstruktur

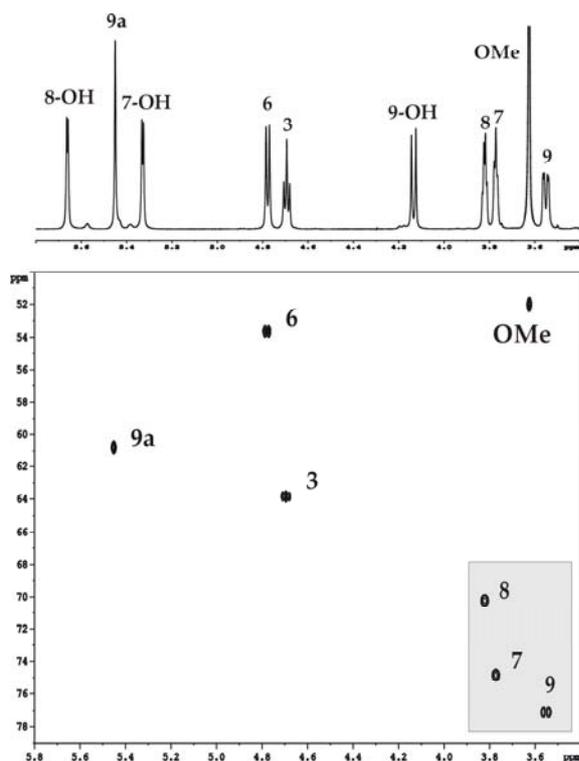


Abbildung B.1.1-3.:
600MHz HMQC von **5** in DMSO-d₆

Nun soll noch ein weiterer Punkt Erwähnung finden, welcher bei der späteren Auswertung der NMR-Daten größerer Peptide ebenfalls eine Rolle spielte.

Im allgemeinen als hilfreich bei der Zuordnung solcher oligomeren Verbindungen, insbesondere wenn deren Signale im ¹H-NMR mehr und mehr überlagert werden, erweist es sich, wenn das Muster der einzelnen Bausteine im HMQC bekannt ist, man somit eine Art Fingerabdruck der jeweiligen Monomere besitzt. Aus diesem Grund ist in der nächsten Abbildung ein Ausschnitt des entsprechenden HMQCs des Dipeptidisoesters **5** gezeigt.

Das Hauptaugenmerk sei hier auf die Verschiebungen von CH-7, -8 und -9, gelegt. So ist deren Reihenfolge, sowie ihre vergleichsweise große Dispersion, wie sie für diese Verbindung auf der ¹³C-Skala zu beobachten war, auch in allen größeren Peptiden wiederzufinden, und konnte folglich als Ausgangs- oder Anhaltspunkt für die weitere Zuordnung dieser Verbindungen herangezogen werden, wobei aber, soweit irgend möglich, immer ein Abgleich mit anderen Daten, z.B. NOEs, erfolgte, die Zuordnung also nicht alleinig hierauf basierte.

Der letzte Punkt dieses Kapitels, bezieht sich auf einen weiteren Aspekt dieser Verbindungs-klasse, welcher später noch eine gewichtige Rolle spielen wird.

Wie im Kristall zu sehen, ist die axiale Hydroxylgruppe an Position 9 in der Lage Wasserstoffbrücken auszubilden. Von Interesse war somit, ob auch in Lösung derartiges zu beobachten sei.

Ein erstes gewichtiges Argument hierfür war schon die ungewöhnlich große Kopplungskonstante von $^3J_{9-OH, 9H} = 9,7\text{Hz}$. Normalerweise erwartet man für eine sekundäre OH-Gruppe, aufgrund ihrer freien Beweglichkeit, einen gemittelten Wert von etwa 3-5Hz, was dann wiederum für diese Hydroxylgruppe heißt, daß sie in ihrer Dynamik eingeschränkt ist, und eine Vorzugsrichtung aufweisen muß, wobei hier aufgrund der großen Kopplung von einer trans Stellung zu 9-H, also einer Ausrichtung „in den Ring“, auszugehen ist.

Dafür muß es aber einen Grund geben, und als plausibelste Erklärung für solch ein Verhalten kommt hier in erster Linie die angesprochene Wasserstoffbrücke in Frage.

Wie im Kristall zu sehen, ist die axiale Hydroxylgruppe an Position 9 in der Lage Wasserstoffbrücken auszubilden. Von Interesse war somit, ob auch in Lösung derartiges zu beobachten sei.

Eine der am häufigsten angewandten Methoden zur Bestimmung von Wasserstoffbrücken in Lösung besteht darin, über ¹H-NMR-Spektren die Temperaturabhängigkeit der chemischen Verschiebung der Protonen in Lösungsmitteln wie DMSO (hauptsächlich) oder Wasser zu bestimmen [127].

Hierbei macht man sich zu Nutze, daß Protonen von Hydroxylgruppen oder Amidnen, welche nicht vom Lösungsmittel abgeschirmt sind, Wasserstoffbrücken zu diesem ausbilden, diese werden, aus Gründen der Entropie, bei Erhöhung der Temperatur geschwächt, was eine Änderung der chemischen Verschiebung (Hochfeld) zur Folge hat. Ist nun aber ein Proton in einer Wasserstoffbrücke gebunden, erfährt es eine Abschirmung vom Lösungsmittel, womit als Konsequenz die Temperaturabhängigkeit dieses Protons abnimmt, und die entsprechende Änderung der chemischen Verschiebung geringer ausfällt. Als „magische Grenze“ hat sich hierbei ein Wert von -3ppb/K durchgesetzt, womit dann Protonen deren Temperaturkoeffizienten vom Betrage kleiner sind als dieser Wert, als in einer Wasserstoffbrücke gebunden angesehen werden, wobei man eine so klare Linie natürlich nicht ziehen kann, und von einer nicht unerheblichen Grauzone ausgehen muß.

Zu beachten gilt ferner, daß eine Abschirmung auch andere Gründe haben kann, so können z.B. sterisch anspruchsvolle Gruppen die Koordination zum Lösungsmittel negativ beeinflussen, und somit muß ein kleiner Temperaturgradient nicht zwangsläufig aus einer Wasserstoffbrücke resultieren.

Zuletzt sollte die Temperaturabhängigkeit auch linear verlaufen, ein nichtlinearer Verlauf deutet auf Beeinflussung der chemischen Verschiebung durch konformationelle Änderungen im Molekül hin, der hierbei erhaltene Wert beruht also auf zwei voneinander unabhängigen Faktoren, und kann, wenn, dann nur unter Vorbehalt mit anderen verglichen werden.

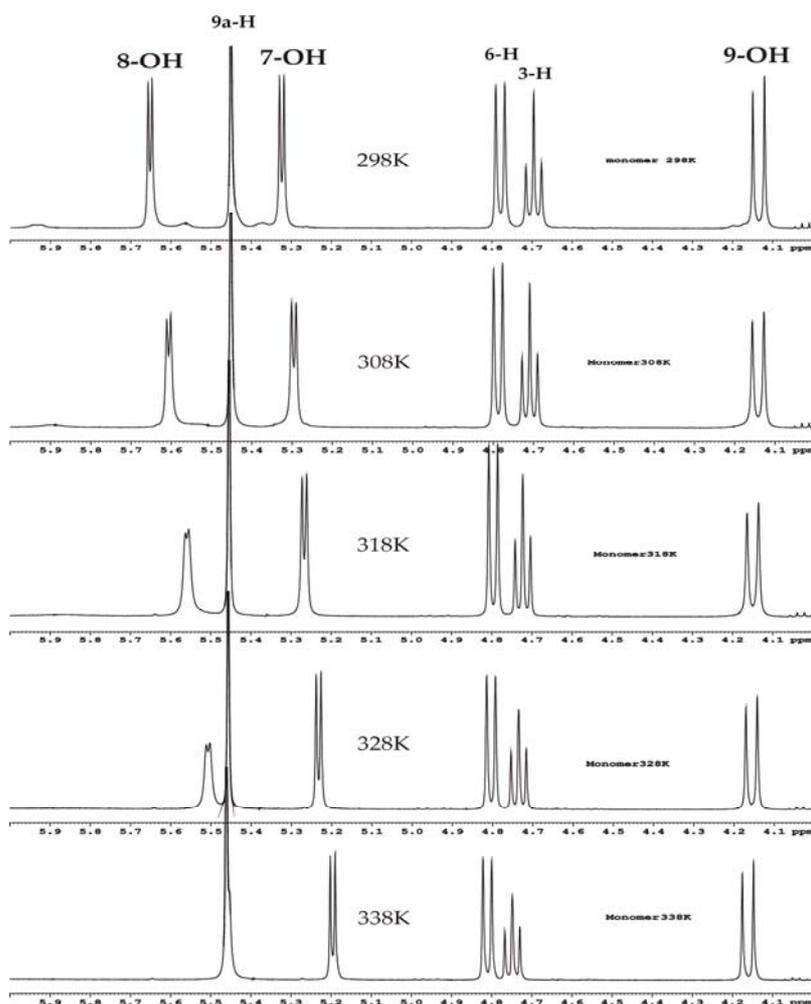


Abbildung B.1.1-4.: 400MHz ^1H -NMR in DMSO-d_6 ,
Temperaturreihe des Dipeptidisomers 5

Folglich wurde dann auch in diesem Fall eine entsprechende Temperaturreihe aufgenommen, und schon, ohne den genauen Wert bestimmt zu haben, kann man sehen, daß kaum Temperaturabhängigkeit der 9-OH vorliegt (Abbildung **B.1.1.-4.**).

Die schließlich erhaltene Konstante von sogar + 0.7ppb/K ließ keine andere Folgerung zu, als daß hier eine H-Brücke vorliegen muß.

Sehr deutlich ist dies dann auch noch in dem Graphen, Abbildung **B.1.1.-5** zu sehen, wo die 9-OH den klaren „Ausreißer“ bildet, und somit eine eindeutige Aussage zuläßt.

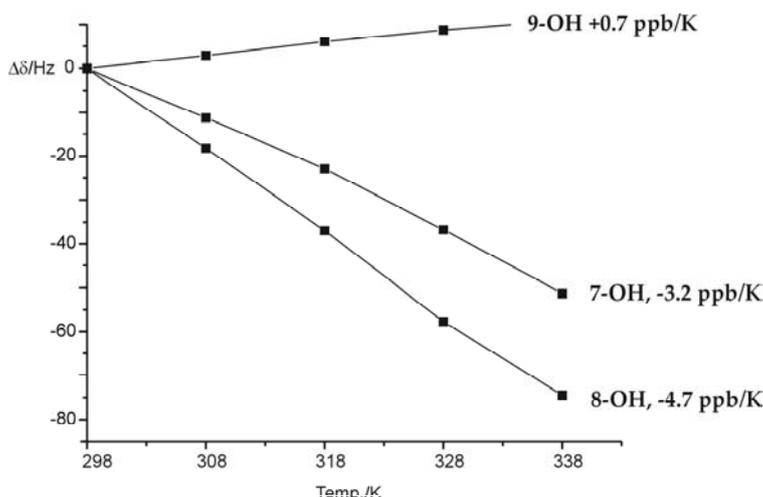


Abbildung **B.1.1.-5.**:
Bestimmung der Temperaturkoeffizienten der Hydroxylgruppen von Verbindung **5**

So zeigt sich also, daß in Lösung nicht „nur“ die zuvor gezeigte Sesselkonformation des Siebenringes wiederzufinden ist, sondern, daß auch 9-OH, wie im Kristall, als Protonendonator in einer Wasserstoffbrücke fungiert, wobei die große Kopplung des Protons dieser Hydroxylgruppe und die hieraus resultierende Ausrichtung zeigt, daß als Protonenakzeptor nicht nur das Carbonyl des Esters in Frage kommt, sondern auch die Hydroxylgruppe an Position 7 eine diesbezügliche Rolle spielen muß, und daß vergleichbar der Kristallstruktur (Abbildung **B.1.1.-2.**) auch hier das Vorhandensein einer gegabelte Wasserstoffbrücke mit Wechselwirkung zum Carbonyl und zu 7-OH als gegeben betrachtet werden muß.

Da in dieser Arbeit noch des öfteren solche sequentiellen H-Brücken behandelt werden, soll hier noch, um mögliche Mißverständnisse zu vermeiden, eine Anmerkung zur Nomenklatur erfolgen:

Wenn von Donor die Rede ist, ist hiermit immer der Protonendonator gemeint (O-H oder N-H), und als Akzeptor folglich der Protonenakzeptor (C=O oder O-H)

1.1.2. Variation der Konfiguration am Carboxyterminus

1.1.2.1. Synthesen

Ein Teilgebiet dieser Arbeit bestand darin, den Baukasten dieser Thiazolidinlactame zu erweitern. Die vermeintlich einfachste Möglichkeit, den Bicyklus strukturell zu verändern, bot der Ansatz, anstatt von L-, nun von D-Cystein auszugehen, woraus folglich eine Inversion der Stereochemie am Carboxyterminus resultieren würde.

Um nicht das vergleichsweise teure D-Cystein einsetzen zu müssen, wurde zunächst versucht vom kostengünstigeren Racemat des Cysteins auszugehen, um nach der Kondensation mit γ -Glucuronolacton das hierbei erhaltene Diastereomergemisch aufzutrennen.

Da eine säulenchromatographische Trennung der freien Säuren dieser beiden Epimer als illusorisch eingeschätzt werden durfte, wurde das Rohprodukt der Kondensation dann direkt mit Phenacylbromid umgesetzt, in der Hoffnung durch die Modifikation des Carboxylats mit einer relativ unpolaren Schutzgruppe, die Trenneigenschaften hierdurch zu verbessern.

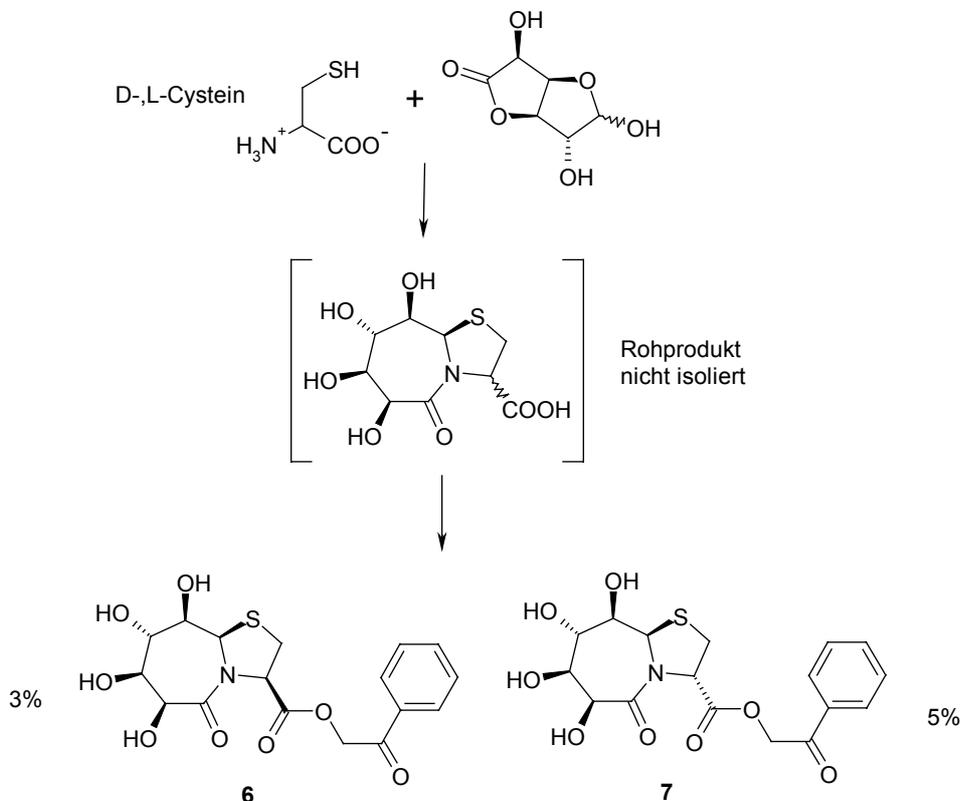


Abbildung B.1.1.-6.: Kondensation von D/L-Cystein mit γ -Glucuronolacton und Trennung des erhaltenen Diastereomergemischs der Phenacylester 6/7

Durch diesen Schritt war es nun in der Tat möglich die beiden Diastereomere getrennt zu erhalten, dies konnte allerdings jeweils nur in vergleichsweise geringen Mengen geschehen, so daß das Gemisch weiterhin den Hauptteil der isolierten Verbindungen darstellte.

Zwar wäre durch einen mehrfache Wiederholung des chromatographischen Trennschrittes eine komplette Auftrennung der beiden Epimere im Bereich des Möglichen gelegen, der diesbezügliche Aufwand, und der daraus zu erzielende Nutzen hätten aber in keinerlei Verhältnis zueinander gestanden, da, von der zu investierenden Arbeit und Zeit einmal abgesehen, allein die hierbei erforderliche Menge an Lösungsmitteln schon jeglichen Kostenvorteil zunichte gemacht hätte.

Zurückgreifend auf die Arbeit von Frank Moser [128], war der nächste diesbezügliche Ansatz, nun das dem D-Cystein isostere D-Penicillamin einzusetzen. In Abbildung **B.1.1.-7.** sei noch einmal diese Reaktion dargestellt.

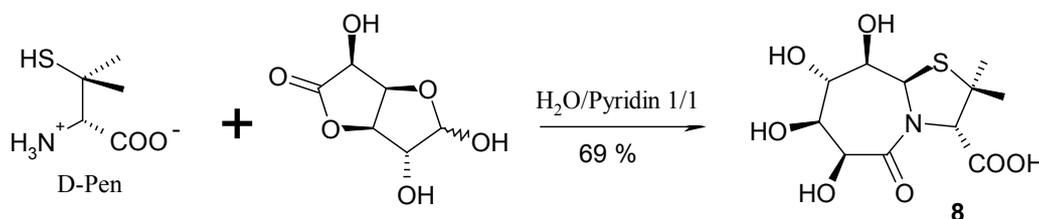


Abbildung **B.1.1.-7.**: Kondensation von D-Pen mit γ -Glucuronolacton, von F. Moser

Um ausgehend von Verbindung **8** weiter zu einem Dipeptidisoster zu gelangen, war zunächst ein Schutz des Carboxyterminus erforderlich.

Als vermeintlich einfachste Variante erschien hier eine Veresterung, so wurde das Thiazolidinlactam aufgereinigt, oder als Rohprodukt mit Thionylchlorid bzw. AcCl/MeOH unter verschiedensten Bedingungen umgesetzt, wobei das maximal zu erzielende Ergebnis darin bestand, in geringen Mengen, eines, auch durch mehrmalige flashchromatographische Aufreinigung nicht zu trennenden, Gemischs habhaft zu werden, welches wohl den Bizyklus und die beiden epimeren Thiazolidine enthielt.

Nach vielen schlußendlich ernüchternden Versuchen wurde dies Unterfangen aufgegeben, und auf die zuvor schon vorgestellte Phenacylgruppe umgeschwenkt. Über das Bromid konnte dann auch erfolgreich die geschützte Verbindung **9** erhalten werden, welche sich anschließend weiter zum Triflat **10** umsetzen lies. Die Substitution durch NaN_3 in CH_2Cl_2 mit Kronenether als Phasentransferkatalysator gelang dann ebenfalls noch, wobei die Variante, das Azid in DMF einzuführen, um auf den Kronenether verzichten zu können, zu einem Gemisch des Azids und wahrscheinlich des Epoxids führte, welches sich aufgrund identischen Laufverhaltens nicht auftrennen ließ.

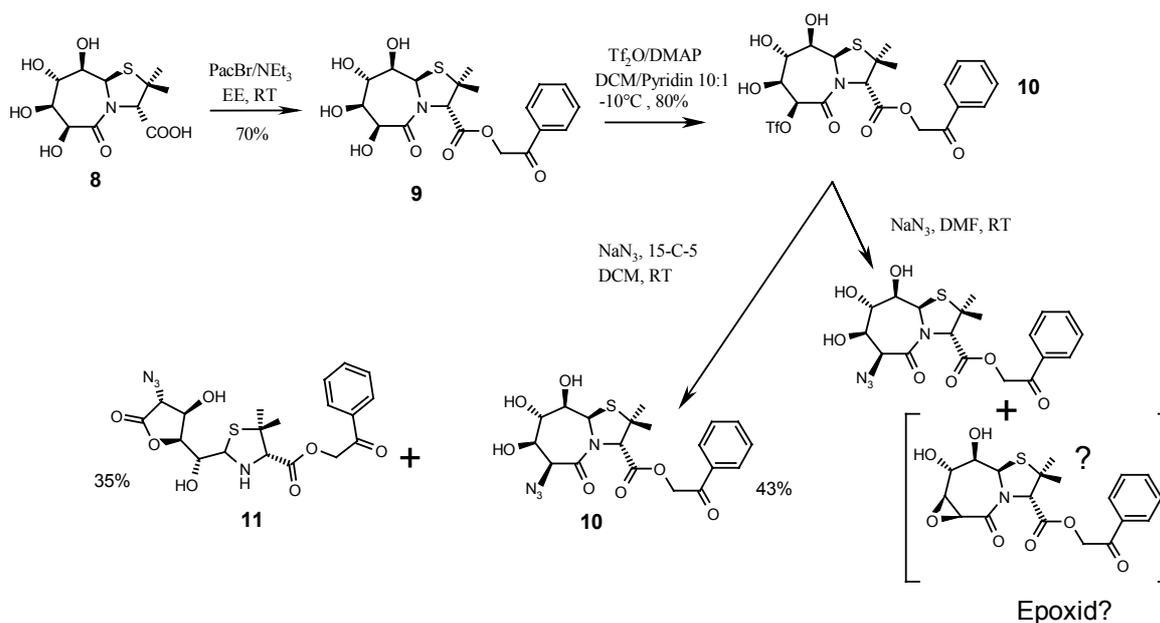


Abbildung B.1.1.-8.: Synthese eines am Carboxyterminus invertierten Thiazolidinlactams bis zur Einführung der Stickstofffunktion

Somit war es nun zumindest möglich, zu einem Baustein zu gelangen, welcher zum einen ein geschütztes Carbonyl, und zum anderen eine Stickstofffunktion aufwies.

Hierbei sollte aber nicht unerwähnt bleiben, daß diese Reaktionssequenz, welche sich hier so einfach darstellt, nun die Schwierigkeiten bereitete, die im Grunde für einen solchen Verbindungstyp (polar und alle Hydroxylgruppen ungeschützt) zu erwarten sind.

So zeigten sich später zum Teil Löslichkeitsprobleme der freien Säure in Essigester bei der Umsetzung mit Phenacylbromid (bei den ersten Versuchen löste sie sich noch ohne weiteres während der Reaktion hierin auf). Des weiteren erfolgte die Umsetzung zum Triflat unter Nebenreaktionen und Zersetzung, was zu erheblichen Trennproblemen führte, so daß es alles in allem nicht gelang diese Synthese, was Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit betraf, vergleichbar jener des zuvor vorgestellten 7,5Bizyklus **5** zu optimieren.

Nicht genug, daß die Reaktion an sich schon Probleme bereitete, kam dann auch noch persönliches Unvermögen oder zumindest Unachtsamkeit hinzu. Denn das Azid nun schließlich doch in der Hand, war der darauffolgende Schritt, dieses nun ebenfalls mit H_2S zu reduzieren, und anschließend mit Boc-Anhydrid zu schützen, nicht wirklich ein Musterbeispiel reiflicher Überlegung und chemischer Weitsicht. In Anbetracht der Umstände, daß die Bedingungen der H_2S -Reduktion (reduzierend/sauer), jenen der Standardmethode zur Abspaltung der Pac-Gruppe (Zn/AcOH) doch recht nahe kamen, war es im nachhinein nicht verwunderlich, daß auch nach mehrmaligem Versuch keinerlei Produkt nach der Chromatographie erhalten wurde, denn in Erwartung einer vollständig geschützten Verbindung war das eingesetzte LM-Gemisch schlicht zu unpolar, als daß die vermutlich am Carboxyterminus entschützte Verbindung hätte eluiert werden können.

1.1.2.2. Strukturanalyse

Eine Möglichkeit, etwas über die strukturellen Eigenschaften eines Verbindungstyps zu erfahren, besteht darin, möglichst kleine Veränderungen am Molekül vorzunehmen, und die hierbei erhaltenen Ergebnisse dann zu vergleichen.

So ist, betrachtet man die Daten der NMR-spektroskopischen Untersuchungen, vor allem was die chemische Verschiebung betrifft, solch ein Vergleich im allgemeinen wesentlich aussagekräftiger, als die hierbei erhaltenen Absolutwerte.

Interessant bezüglich der Struktur wird es vor allem, wenn Molekülgruppen, welche möglichst weit vom eigentlichen Ort des Geschehens entfernt sind, und von der erfolgten Modifikation eigentlich nur peripher tangiert sein sollten, eine signifikant Änderung ihrer spektroskopischen Daten aufweisen.

Ein solcher Fall kann auch für die Verbindungen dieses Kapitels beschrieben werden. Denn eine, wie angesprochen, minimale Veränderung stellt hier die erfolgte Inversion des Stereozentrums an Position 3, bei Beibehaltung aller funktionellen Gruppen, dar.

Vergleicht man nun die erhaltenen Spektren der beiden Epimere 6 und 7, so stellt man fest, daß die größte Änderung in der chemischen Verschiebung die Hydroxylgruppe an Position 9 erfährt, diese Änderung ($\sim 0.5\text{ppm}$) ist sogar größer als die des Protons an Position 3 ($\sim 0.3\text{ppm}$), direkt dem Ort der Modifikation.

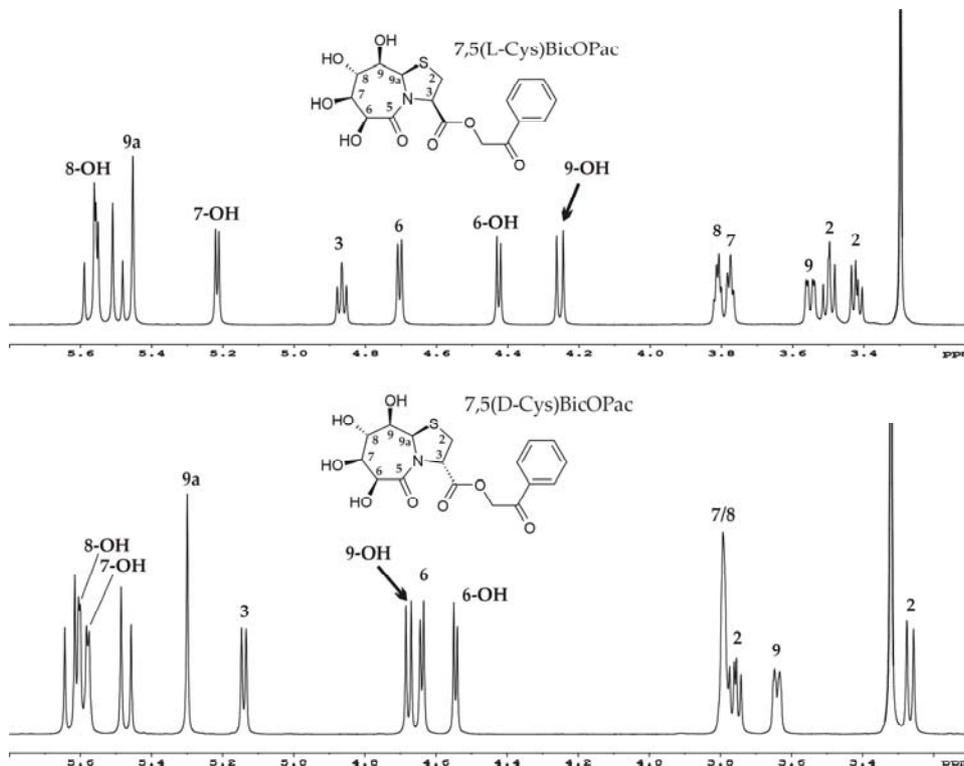


Abbildung B.1.1.-9.: Vergleich der 600MHz ¹H-NMR-Spektren in DMSO-d₆ der Verbindungen 6 und 7

Die plausibelste Erklärung dieses Verhaltens ist, daß durch die Inversion des Carbonyls eine Wasserstoffbrücke zu diesem, wie sie für den „normalen“ Bicyklus 1 postuliert wurde, nun nicht mehr möglich ist, woraus sich als Umkehrschluß ergibt, daß eben bei der Verbindung

aus L-Cystein eine eben solche Wechselwirkung vorhanden sein muß, sonst hätte eine diesbezügliche Änderung keine solchen Auswirkungen.

Ist nun auch bei der fraglichen Verbindung eine Wasserstoffbrücke von 9-OH zum Carbonyl als eher unwahrscheinlich zu erachten, so ist die Kopplung von ${}^3J_{9\text{-OH},9} = 8.8\text{Hz}$ immer noch sehr groß für eine sekundäre Hydroxylgruppe mit freier Beweglichkeit.

Aus diesem Grund wurden auch hier die Temperaturgradienten der Hydroxylgruppen bestimmt. Wie im Graphen der Abbildung **B.1.1.-10.** zu sehen, zeigt diese Hydroxylgruppe hier wiederum den mit Abstand kleinsten Temperaturgradienten, welcher von seinem Betrag klar für eine H-Brücke auch in diesem System spricht.

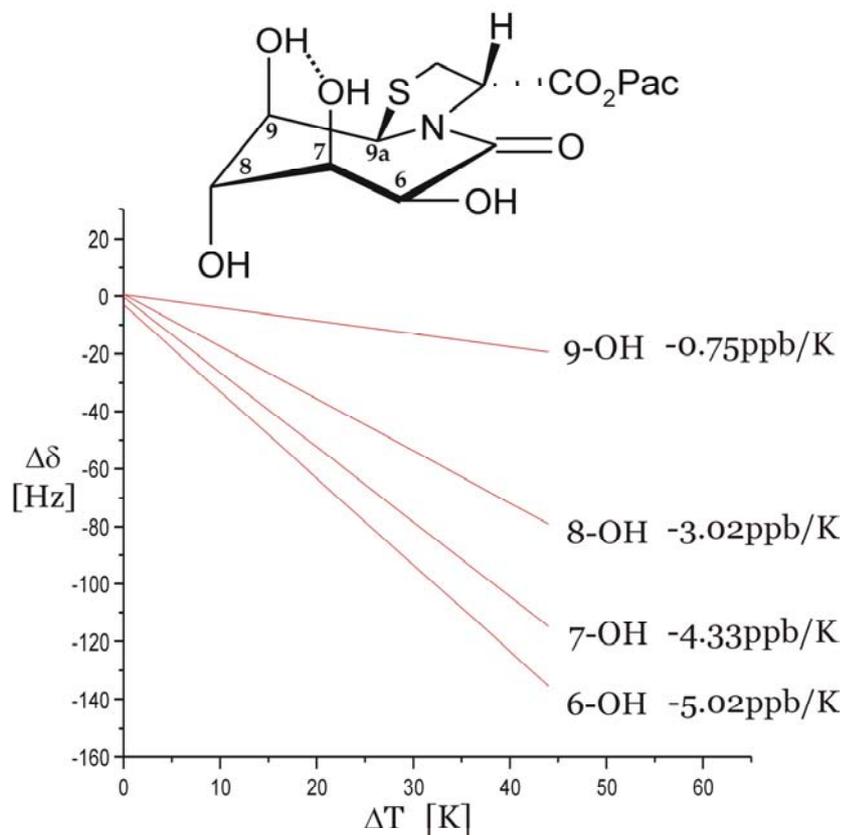


Abbildung **B.1.1.-10.**:

Graph mit Temperaturgradienten der Protonen der Hydroxylgruppen von Verbindung **7** in DMSO-d_6 .

darüber: Strukturvorschlag für eine H-Brücke von 9-OH zu 7-OH.

Als Akzeptor kommt hier dann praktisch nur 7-OH in Frage, wobei es in gewisser Hinsicht erstaunlich ist, daß das Donor-Akzeptor-Verhalten hauptsächlich nur auf einer Seite liegt, denn auf den ersten Blick ist kein Grund ersichtlich, warum es nicht auch umgekehrt sein könnte, 7-OH als Donor und 9-OH als Akzeptor, aber die hierbei erhaltenen Temperaturgradienten sind eindeutig, so daß hier von vorwiegend einer, der in Abbildung **B.1.1.-10.** gezeigten, Ausrichtung ausgegangen werden muß, und folglich keine Mittelung der beiden denkbaren Fälle vorliegt.

1.1.2.3. Schlußbetrachtung und Ausblick

Das Hauptargument zur Synthese dieses Bausteins, oder die Idee die dahinter steckte, war, daß ein Bizyklus, bei welchem Aminogruppe und Carboxyterminus sich ober- bzw. unterhalb der Papierebene befänden, ein Ausgangspunkt für helicale Strukturen darstellen könnte.

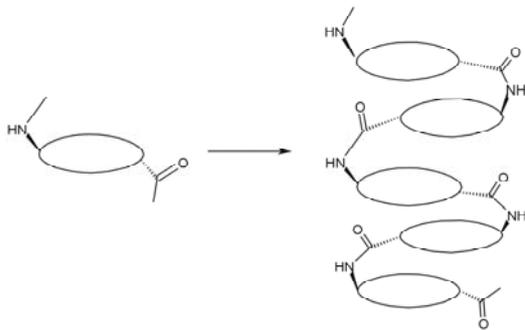


Abbildung B.1.1.-11.: Modell einer Helix

Da dieser Aspekt durchaus weiterhin von gewissem Interesse ist, sollte man ihn, auch wenn die diesbezüglichen Bemühungen bis dato wenig erfolgreich waren, nicht gänzlich aus den Augen verlieren.

Aus diesem Grunde soll noch, auch um dieses Kapitel zu einem versöhnlichen Ende zu bringen, dargestellt werden, wie dies Vorhaben, aufbauend auf den bisher erhaltenen Ergebnissen, möglicherweise doch noch erfolgreich abgeschlossen werden könnte.

Wie zu sehen gelangt es mit den erfolgten Synthesebemühungen zumindest bis hin zum Azid vorzudringen, macht man sich nun kurz eine zugegebenermaßen etwas euphemistische Sichtweise zu eigen, so könnte man sagen, daß hiermit doch schon ein fertiges Dipeptidoster erhalten wurde, dessen Aminofunktion als Azid, und dessen Carboxygruppe als Phenacyl ester geschützt sind, und das Problem war bisher lediglich noch deren selektive Entschützung.

Dies wäre dann möglicherweise genau der Punkt wo man ansetzen könnte, denn gelingt es die Säurefunktion selektiv zu entschützen (z.B. photochemisch), hätte man somit einen Baustein in den Händen mit welchem man an die Festphase gehen könnte, als Entschützungsschritt das Azid dann zum Amin reduziert, dann den nächsten Baustein hierauf gekuppelt, und so fort, um schließlich doch noch zum gewünschten Homooligomer zu gelangen, so wie in Abbildung B.1.1.-12. skizziert.

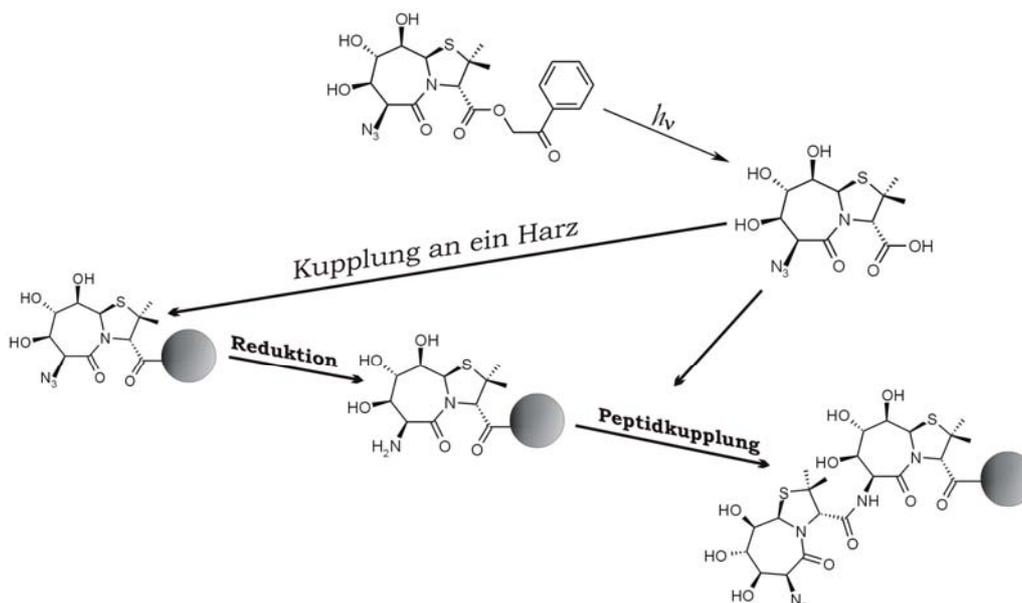


Abbildung B.1.1.-12: Möglicher Weg um, über das Azid 10, ein Homooligomer an der Festphase aufzubauen

1.1.3. Ein 6,5-Bizyklus

Eine weitere Möglichkeit, den Baukasten dieser bizyklischen Dipeptidisoistere zu erweitern, besteht in der Variation der beiden Ringgrößen. In Anbetracht dessen, daß sich die bisherige Synthesestrategie, eine Uronsäure mit Cystein umzusetzen, als durchaus erfolgreich erwiesen hatte, denn wie gezeigt gelang es hierbei, über eine einfache Synthese, in mehr als akzeptabler Ausbeute, und in hervorragender Diastereoselektivität, den Grundbaustein zu generieren, war der Weg den es zu beschreiten galt, somit praktisch schon vorgegeben.

Wenn folglich weiterhin von Cystein ausgegangen werden sollte, blieb somit zwangsläufig der Fünfring erhalten, und als einzige Variable die Kettenlänge des Zuckers. Offen war jetzt nur noch in welche Richtung, Verlängerung oder Verkürzung des Zuckerbausteins.

Es waren schließlich rein praktische Gründe welche diese Frage entschieden. Wie zuvor erläutert, ging die Synthese der 7,5-Bizyklen von einem C6-Zucker, einer Hexuronsäure aus, um den Ring um ein Glied zu erweitern, wäre es folglich erforderlich jetzt von einer Heptose auszugehen, im umgekehrten Fall, bei einer Verkleinerung des Ringes, kann als Ausgangsverbindung ein Pentosederivat dienen.

Schon allein der Umstand, daß die kommerzielle Verfügbarkeit von Pentosen eher gegeben ist als jene der Heptosen, sprach dafür, die Synthese eines auf einer Penturonsäure basierenden Bausteins in Angriff zu nehmen. Der ebenfalls denkbare Weg, weiterhin von einem Hexosederivat auszugehen, führt zum selben Ergebnis, da es syntheses technisch im allgemeinen als einfacher anzusehen ist, einen Zucker um eine Kohlenstoffeinheit zu verkürzen, als wie im anderen Fall erforderlich an diesem „anzubauen“. Infolgedessen lief nun alles darauf hinaus jetzt die Synthese eines 6,5-Bizykluses in Angriff zu nehmen.

Die Art und Weise dorthin zu gelangen, die Retrosynthese, wurde praktisch schon vorweggenommen. Deshalb nur noch einmal kurz: eine Penturonsäure, welche, falls käuflich nicht zu erwerben, durch Oxidation einer Pentose, oder Spaltung einer Hexose generiert werden könnte, soll mit Cystein zu einem 6,5-Bizyklus kondensiert werden (Abbildung. **B.1.1.-13.**)

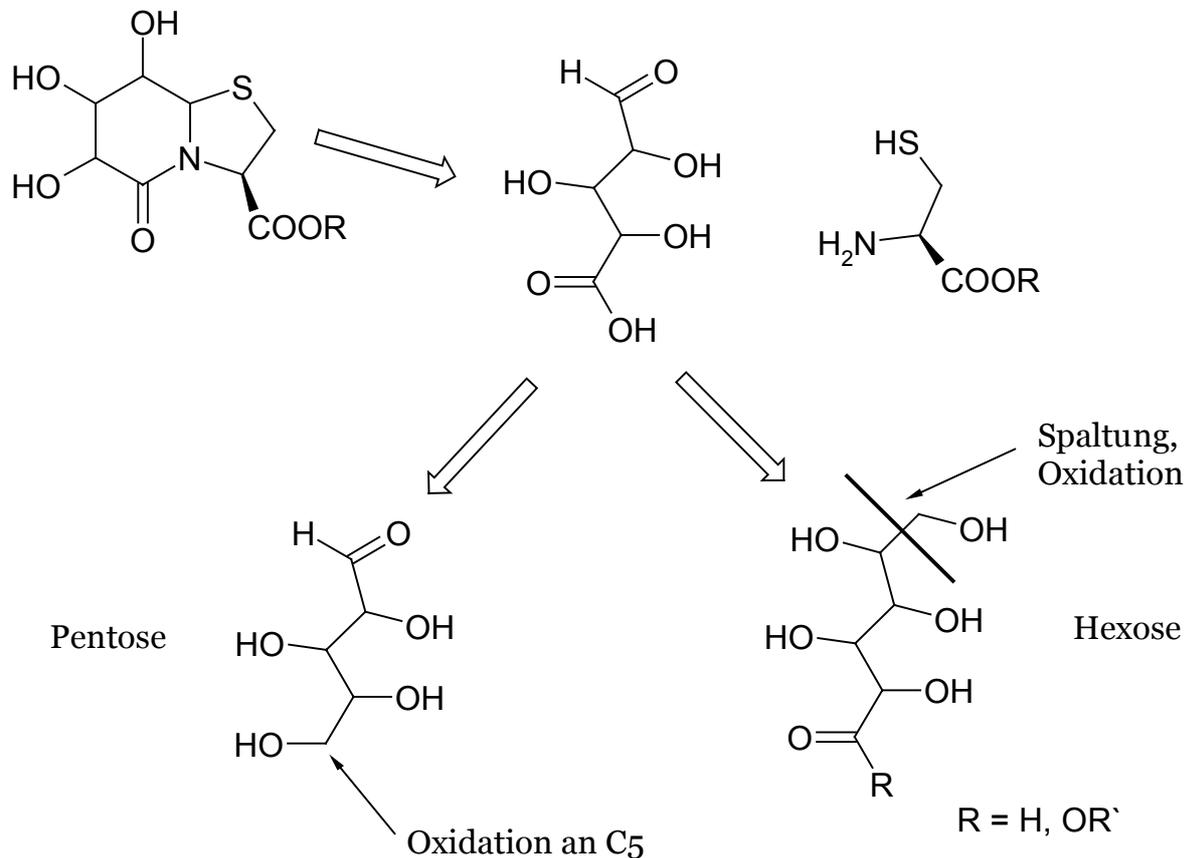


Abbildung **B.1.1.-13.**: Überlegungen zur Synthese eines 6,5 Bizyklus

War nun entschieden, inwiefern welcher Ring wie verändert werden sollte, stellte sich jetzt noch die Frage, welche Verbindung den Ausgangspunkt der Synthese darstellen würde, eine Pentose oder eine Hexose.

Die Entscheidung fiel dann zugunsten der Hexose aus, was daran lag, daß mit dem zuvor schon gezeigten γ -Glucuronolacton eine Verbindung vorlag, welche genau jene Eigenschaften aufwies, wie sie die Synthese erforderte.

Denn mit der Uronsäure der Glucose hatte man einen kommerziell relativ günstig zu erwerbenden Zucker in der Hand, welcher zum einen ein „endständiges“ Diol (C1 und C2) aufwies, und zum anderen schon von Natur aus seine Hydroxylgruppen so geschützt hatte (6-OH oxidiert, 4-OH als Halbacetal und 3-OH im Lacton), daß es möglich sein sollte, durch oxidative Spaltung der vicinalen Hydroxylgruppen an Position 1 und 2, in einem Schritt zu einer Penturonsäure, in diesem speziellen Fall jetzt der Arabinuronsäure, zu gelangen.

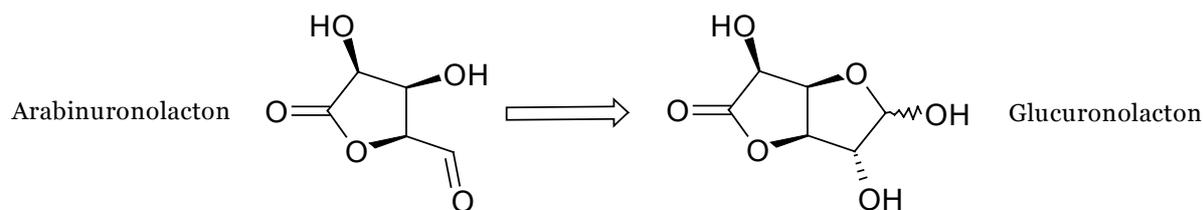


Abbildung B.1.1.-14.: Weg von der Hexuronsäure über eine oxidative Spaltung zur Penturensäure

Somit würde sich mit dem Arabinuronolacton, ein dem γ -Glucuronolacton vergleichbarer Baustein anbieten, welcher aufgrund identischer reaktiver Gruppen (Lacton und Aldehyd), unter ähnlichen Reaktionsbedingungen, zum erwünschte Produkt zu führen in der Lage sein sollte.

1.1.3.1. Synthesen

Wo die Überlegungen jetzt soweit gediehen waren, ging es dann an deren Umsetzung. Da die Aufreinigung des Produktgemisches nach der Periodatspaltung des 1,2-Diols des γ -Glucuronolactons, Schwierigkeiten bereitete, wurde auf weitere Bemühungen, das Produkt rein zu erhalten verzichtet, und das Rohprodukt dann direkt zur Kondensation mit Cysteinmethylester Hydrochlorid eingesetzt.

Auf diese Weise konnte dann in einer Gesamtausbeute von 76% der Bicyklus **13** erhalten werden, und wie im Fall der 7,5-Bicyklen wurde auch hier nur ein Diastereomer isoliert, jenes mit einer S-Konfiguration am Brückenkopf 8a, und somit ebenfalls mit einer syn Position des Schwefel und der benachbarten Hydroxylgruppe.

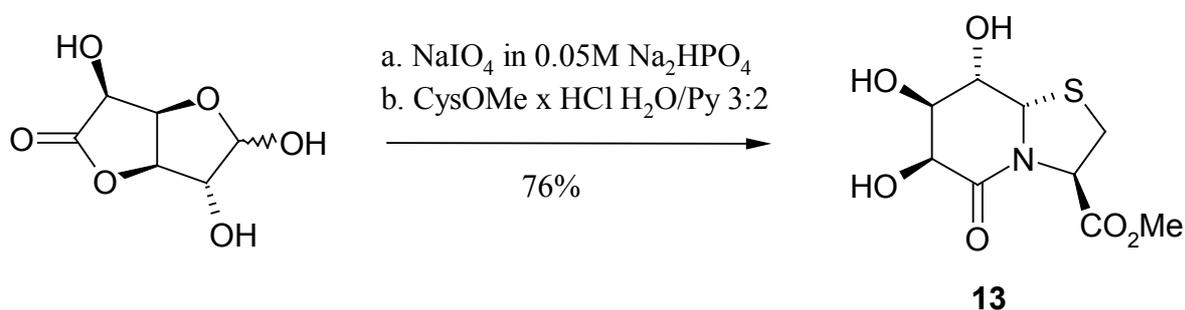


Abbildung B.1.1-15.: Kondensation zum 6,5Bicyklus **13**

Als nächstes war der Schlüsselschritt dieser Reaktionssequenz an der Reihe, denn dem Beispiel der 7,5-Bicyklen folgend, sollte auch diesmal der Stickstoff, durch Substitution einer Abgangsgruppe, an Position 6 eingeführt werden.

Die erste Frage die sich stellte war, ob es wiederum möglich sei, die erhöhte Azidität von OH-6 soweit auszunutzen, daß diese sich chemisch selektiv ansprechen ließe.

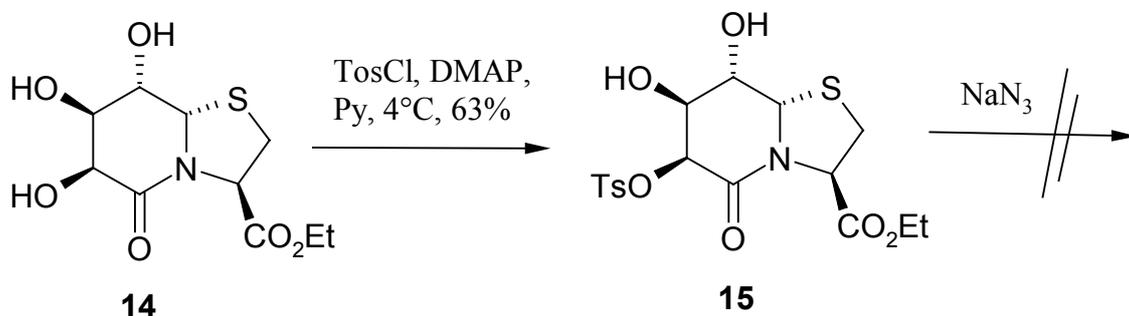


Abbildung B.1.1.-16.: Versuch einer Substitution des Tosylats **15**

Als Abgangsgruppe fiel die Wahl zuerst auf die Tosylgruppe. Hier gelang es zwar noch selektive OH-6 zu modifizieren, eine erfolgreiche Substitution konnte dann jedoch nicht mehr erzielt werden, da bei Umsatz mit Natriumazid entweder, wie bei RT, keine Reaktion stattfand, oder durch Temperaturerhöhung Umsetzung mit Zersetzung einherging.

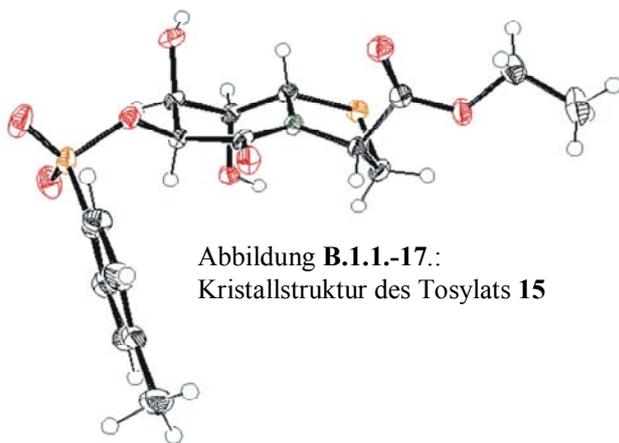


Abbildung B.1.1.-17.:
Kristallstruktur des Tosylats **15**

Da es aber immerhin gelang, das Tosylat **15** zu kristallisieren, und somit nun eine Bestätigung der zuvor über NMR-Analyse bestimmten Stereochemie am Brückenkopf **8a** möglich war, wurde die Wirkung dieses Fehlschlags hierdurch etwas gemindert.

War der Versuch über das Tosylat eine Stickstofffunktion einzuführen, dann auch nicht vom Erfolg gekrönt, so ließen die dabei erhaltenen Ergebnisse darauf schließen, daß eine Azideinführung bei geringe-

ren Temperaturen und einer kürzerer Reaktionszeit, erreichbar durch Verwendung einer reaktiveren Abgangsgruppe, doch noch das gewünschte Ergebnis bringen könnte.

Als reaktivere Abgangsgruppe kam, wie schon die Synthese des 7,5-Dipeptidisosters gezeigt hatte, in erster Linie ein Triflat in Betracht.

Und es erwies sich dann auch, daß diese Hoffnung nicht unbegründet war, denn somit gelang es zuerst das Triflat **16** zu syn-

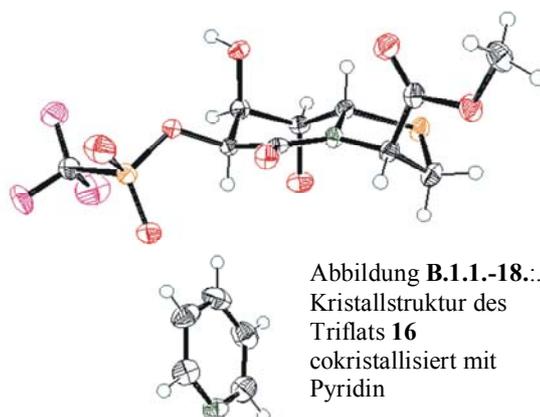


Abbildung B.1.1.-18.:
Kristallstruktur des
Triflats **16**
cokristallisiert mit
Pyridin

thetisieren, und später auch zu kristallisieren. Dieses anschließend mit NaN_3 , zuerst in DCM, was den Einsatz von Kronenether erforderlich machte, umgesetzt, führte schließlich zum erwünschten Azid **18**.

Später wurde diese Reaktion dann praktisch nur noch in DMF durchgeführt, ein Vorgehen welches ermöglichte, auf den Kronenether zu verzichten, was ebenfalls zum 6R-Azid **18** führte, jedoch mußte hierbei häufig Epimerisierung an Position 6 beobachtet werden, ein Umstand, der wohl auf die weniger schonende Aufarbeitung (z.B. höhere Temperatur und längere Dauer beim Abziehen von DMF) im Vergleich zur Variante mit DCM zurückzuführen ist. So zeigte das NMR-Spektrum des Azids nach erfolgter chromatographischer Reinigung im allgemeinen immer 5-10% einer 2. Verbindung, bei welcher es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um das zweite Epimer handelte.

Diese Epimerisierung spielte aber in sofern keine Rolle, als daß nach der Reduktion des Azids mit H_2S , und anschließendem Schutz des Amins durch eine Boc-Gruppe, ebenfalls wieder Epimerisierung dieses Stereozentrums an Position 6 zu beobachten war. Hierbei war es dann aber möglich, beide Verbindungen über den Weg einer Säulenchromatographie zu trennen, und anschließend auch zu kristallisieren.

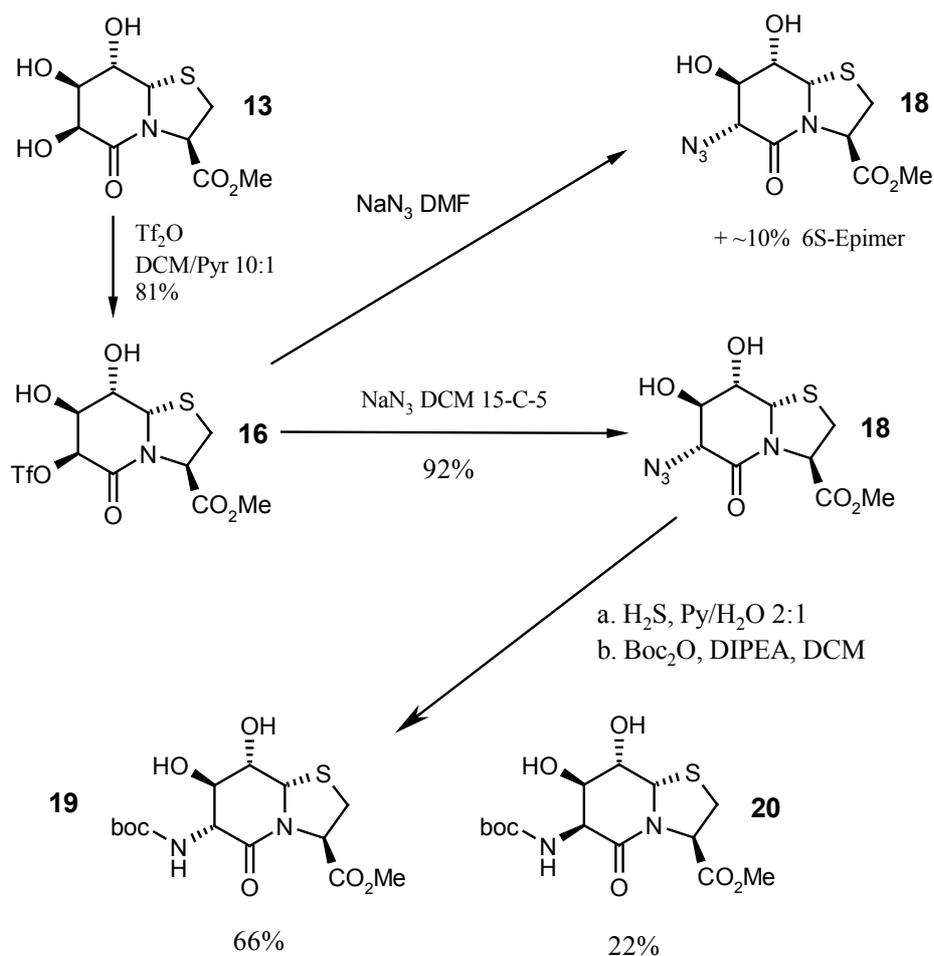


Abbildung B.1.1.-19.: Synthese zweier bityklischer Dipeptidisoistere, aufbauend auf einem 6,5-Thiazolidinlactam

1.1.3.2. Strukturanalyse

Der wissenschaftlichen Ausrichtung unserer Arbeitsgruppe entsprechend, erfolgte die Strukturanalyse der in dieser Arbeit vorgestellten Verbindungen in der Regel über die Daten welche über die NMR-spektroskopischen Untersuchungen der jeweiligen Substanzen erhalten werden konnten.

Auch war es möglich, von einigen Verbindungen Einkristalle zu züchten, womit dann, durch die Röntgenstrukturanalyse eine zweite Quelle vorlag, welche wichtige Informationen zur Bestimmung der Struktur beitragen konnte.

So konnten diese hieraus erhaltenen Daten z.B. den Teil der NMR-Strukturanalyse untermauern, welcher Fragen der Konfiguration und Konstitution der Moleküle betraf.

Auch wenn durch die erhaltenen Kristallstrukturen die zuvor geleistete Arbeit der Strukturklärung über NMR zur Bestimmung von Konfiguration und Konstitution sich teilweise als „überflüssig“ erwies, und ihr somit lediglich noch einen rein didaktischen Wert zugeschrieben werden konnte, sollen die hierbei erzielten Ergebnissen, und ihr Zustandekommen, nichtsdestotrotz einen Platz in den entsprechenden Kapiteln finden.

Denn zum einen ist die Konformation der entsprechenden Verbindung in Lösung durch eine Kristallstruktur natürlich noch nicht erbracht, und zum anderen, selbst wenn z.B. die Konfiguration durch die Kristallstruktur eindeutig geklärt war, waren und sind die diesbezüglichen NMR Daten weiterhin von Interesse, und haben ihre Bedeutung z.B. darin, als Vergleichswerte für ähnliche Problemstellungen zu dienen, für welche nun keine Kristallstrukturen vorliegen.

Dies als kurze Einleitung zu diesem Kapitel, in welchem anhand der Praxis, jene hier kurz angeschnittenen Aspekte der Strukturanalyse, auf anschauliche Weise, wieder auf den Plan treten werden.

Der erste Gegenstand, den es zu behandeln galt, war die Bestimmung der Konfiguration am Brückenkopf 8a. Eine Auswertung der NMR-Daten sprach für eine Ausbildung dieses neuen stereogenen Zentrums unter S-Konfiguration. Zwei Punkte waren hierbei ausschlaggebend:

- a.) Die kleine Kopplung von ${}^3J_{8,8a} = 2.6\text{Hz}$ läßt auf eine gauche-Stellung dieser beiden Protonen schließen, wie sie im Falle der S-Konfiguration zu erwarten sind. Im umgekehrten Fall, der R-Konfiguration, sollte infolge der zu erwartenden trans-Stellung der beiden Protonen eine größere Kopplung zu beobachten sein.

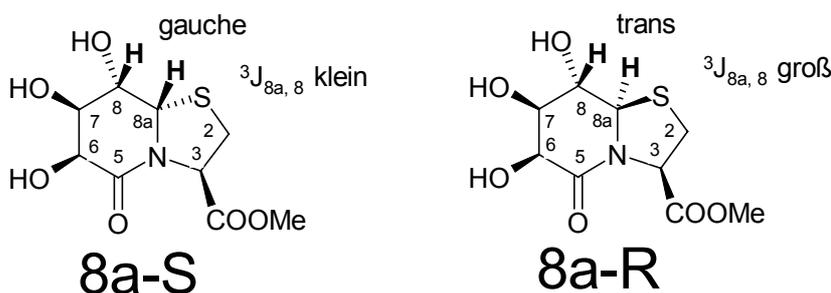


Abbildung **B.1.1.-20**: Die zwei alternativen Konformationen am Brückenkopf 8a, mit den hierbei zu erwartenden ${}^3J_{8,8a}$ -Kopplungen in DMSO- d_6

- b.) Im Gegensatz zum 8aR-konfigurierten Bicyklus, wo die beiden Protonen 8a und 6 unterhalb der Ringebene liegen würden, sollte bei einer 8aS-Konfiguration, mit 6-H unter- und 8a-H oberhalb des Bicykluses, aufgrund des daraus resultierenden größeren Abstandes, kein NOE zu beobachten sein. So war dies dann auch der Fall (siehe Abbildung **B.1.1.-21**.)

Somit zeigte die Auswertung der NMR-Daten bereits, was später durch die Kristalle dieses Verbindungstyps dann zweifelsfrei geklärt war, daß das neue stereogene Zentrum am Brückenkopf eine 8a S-Konfiguration zeigt.

Die nächste Frage betraf den stereochemischen Verlauf der Azideinführung - Inversion oder Retention?

Die ersten Hinweise sollten über einen Vergleich der jeweiligen 3J -Kopplung von 6-H zu 7-H erhalten werden können. In diesem Fall war dies jedoch wenig aussagekräftig, zwar wurde hier eine Änderung der Kopplungskonstante beobachtet, was prinzipiell für eine Inversion sprechen würde, mit einer Abweichung von nicht einmal 2Hz (${}^3J_{6,7}$ von 3.6Hz, Triflat **16**, auf 5.3Hz, Azid **18**), war diese allerdings nicht so signifikant, um hieraus eindeutig Rückschlüsse auf die Stereochemie ziehen zu können.

Aussagekräftiger waren die Daten der Protonen-Protonen Abstände welche über das 2D-ROESY erhalten wurden. Denn hier war jetzt der zuvor angesprochene NOE von Proton 6 zu jenem am Brückenkopf 8a zu beobachten, welcher wie dargestellt nur möglich sein sollte, wenn sich beide auf der selben Seite des Ringes befänden, unter der berechtigten Annahme des Erhaltes der Stereochemie an C-8a folgte hieraus, daß sich 6-H nun folglich auch oberhalb der Ringebene befinden müsse, und die Azideinführung somit unter Inversion der Konfiguration erfolgt war.

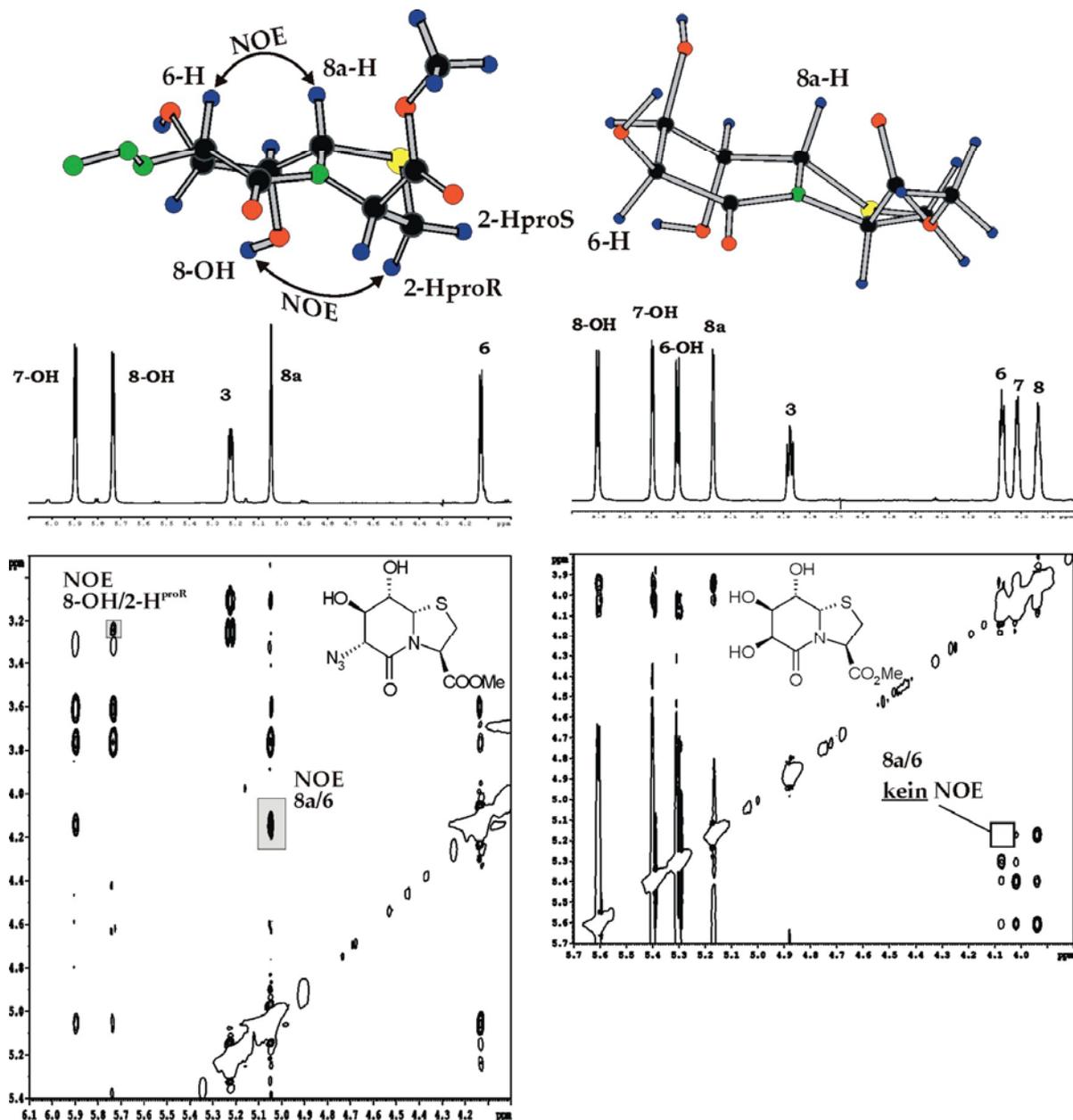


Abbildung B.1.1.-21.:

links: ROESY 600MHz DMSO-d₆, Azid **18** mit NOE 8a-H/6-H →Einführung des Azids erfolgte unter Inversion der Konfiguration an Position 6.

rechts: ROESY 600MHz DMSO-d₆, 6,5BicOMe **13**, Zuordnung 8a S-Konfiguration, da in diesem Fall kein NOE von 8a-H zu 6-H zu detektieren war

Bevor im folgenden die Ergebnisse der Strukturanalysen weiter verfolgt werden, sollen, um Unklarheiten zu vermeiden, kurz noch einige Begriffe genauer definiert werden, welche nun des öfteren Verwendung finden werden.

- a.) Wenn von „Oben“ und „Unten“ die Rede ist, ist dies bezogen auf den Bicyklus, horizontal zur Papierebene, mit Carbonyl des Lactams nach vorn.
- b.) Retention und Inversion beziehen sich auf die Konfiguration des Grundbausteins, des unmodifizierten Bicykluses **13** (so werden z.B. dem 6R-Azid, sowie dem Boc-geschützte 6R-Amin beiden Inversion zugewiesen, auch wenn korrekterweise das Amin eine Retention der Konfiguration zu seinem Vorläufer, dem Azid, darstellt).

Die letzten Verbindungen dieses Kapitels, auf deren Strukturen noch eingegangen werden sollte, sind die beiden an Position 6 epimeren Endverbindungen **19** und **20**.

Da es sich um ein analoges Problem handelt, wie soeben am Azid aufgezeigt, bedarf es keiner ausführlichen Erläuterungen mehr, wie die Zuweisung des fraglichen stereogenen Zentrums an Position 6 anhand der NMR-Daten vonstatten ging.

Folgerichtig wurde die 6R-Konfiguration jenem Molekül zugewiesen, dessen 6er Proton einen NOE zu dem an Position 8a aufwies, und umgekehrt war jenes Dipeptidisoester mit 6S-Konfiguration das, bei welchem der fraglicher NOE nicht zu beobachten war.

Da es möglich war, von beiden Endverbindungen Kristalle zu züchten, konnte dies dann noch durch das Ergebnis der Röntgenstrukturanalyse zweifelsfrei bestätigt werden.

Auf genau diese Kristallstrukturen wird nun im folgenden Teil des Kapitels noch etwas näher eingegangen werden.

Wie nicht anders zu erwarten übt eine Änderung der Konfiguration des Substituenten auch Einfluß auf die Konformation des Ringsystems aus.

Der Umstand, daß die BocNH-Gruppe im Kristall in beiden Fällen eine eher äquatorial ausgerichtete Position einzunehmen versucht, was umgekehrt zu einer axialen Position von 6-H führt, beeinflußt hier nicht nur die Konformation des Sechsringlactams, sondern, und dies sogar weitaus deutlicher, auch jene des Thiazolidinringes (Abbildung **B.1.1.-22.**, nächste Seite)

So zeigt bei S-Konfiguration an Position C-6 die Ecke der CH₂-Gruppe des Thiazolidins entsprechend der Darstellung nach oben, wären sie im umgekehrten Fall bei Inversion an C-6 nach unten „umklappt“.

Dies stimmt nun zwar mit den NMR Daten des Azids (Inversion) überein, wo 2-H^{proR} einen NOE zur 8-OH (Abbildung **B.1.1.-21.**), unterhalb des Rings, aufweist, was nur möglich sein sollte, wenn die Ecke des Thiazolidins hier auch nach unten zeigt, andererseits zeigen die Kristallstrukturen des Triflats **16** und die des Tosylats **15**, obwohl beide nun Retention der Konfiguration aufweisen, genau dieselbe Konformation des Fünfrings.

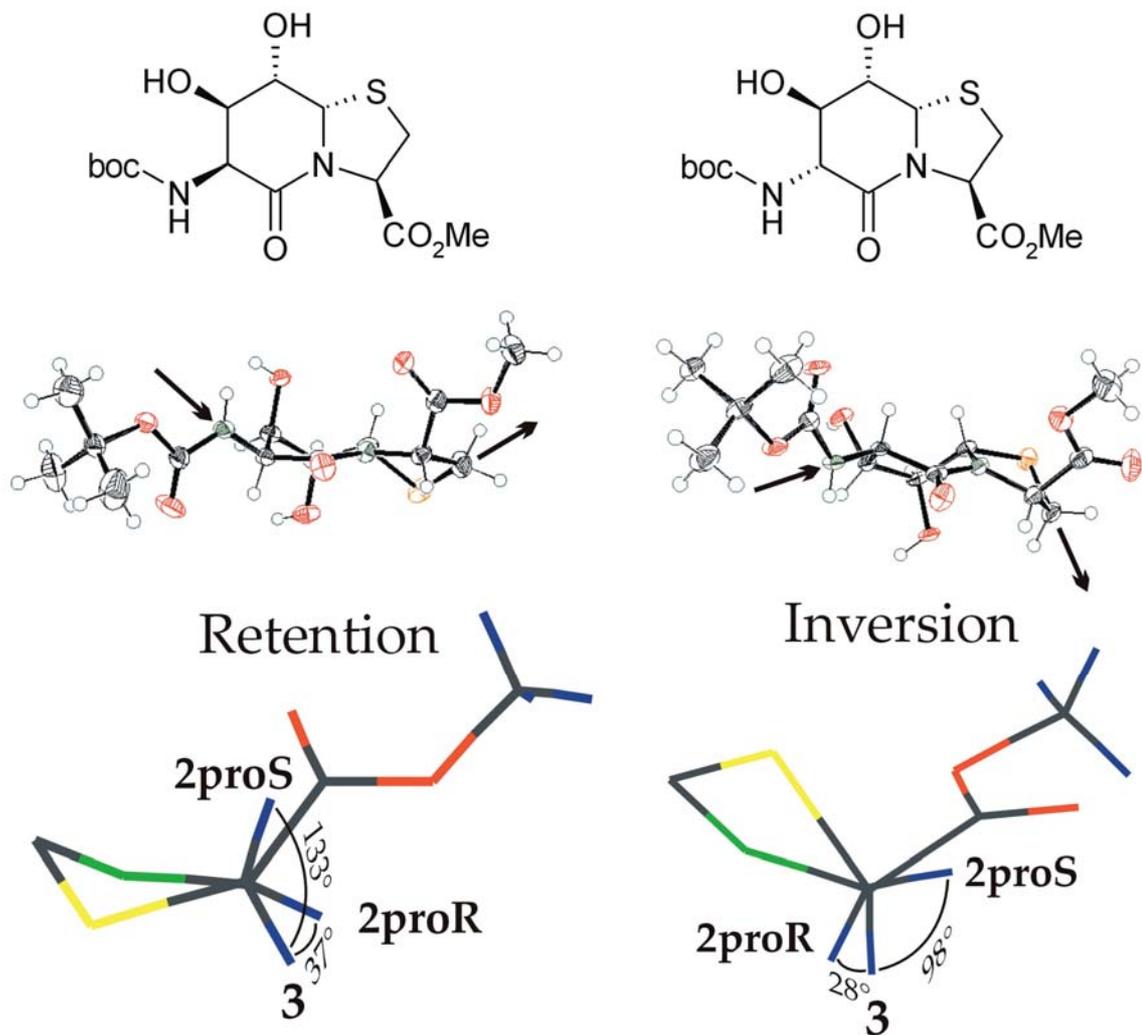


Abbildung **B.1.1.-22.**: Links oben: Kristallstruktur der Verbindung **20** mit S-Konfiguration an C-6 (Retention)
 Rechts oben: Kristallstruktur der Verbindung **19** mit R-Konfiguration an C-6 (Inversion)
 Unter den jeweiligen Kristallstrukturen abgebildet die Konformationen der entsprechenden Thiazolidinröfninge im Kristall, mit den Winkeln von 3H zu 2-H^{proS} bzw. 2-H^{proR}

Stellt sich folglich die Frage, ob dies nun bedeutet, daß die Konformation des Fünfringes un-abhängig von der besagten Konfiguration ist, oder läßt sich hierbei dann doch eine Tendenz erkennen?

Mögliche Klarheit darüber kann nur ein Vergleich der NMR-Daten der bisher vorgestellten 6,5-Bizyklen liefern.

Erste wichtige Erkenntnisse sollte eine genauere Betrachtung der diastereotopen Protonen an Position 2 bringen, und hier dürften vor allem die $^3J_{2-H, 3-H}$ -Kopplungskonstanten Aussagen über die Ringkonformationen zulassen, denn wie in Abbildung **B.1.1.-22.** gezeigt, ändert sich mit der Konformation auch der Winkel der Protonen 2 und 3 zueinander, dies wiederum müßte sich auch in den Beträgen der entsprechenden Kopplungskonstanten widerspiegeln.

Wie ein Vergleich der Spektren zeigt, scheint, im Gegensatz zum Kristall, in Lösung dann doch ein Zusammenhang zwischen Konfiguration an C-6 und Konformation des Thiazolidins zu bestehen, denn sowohl anhand der Kopplungskonstanten als auch der chemischen Verschiebungen, lassen sich die angesprochenen Methylenprotonen an Position 2 in zwei Gruppen aufteilen, wobei innerhalb einer Gruppe alle Bizeyken dieselbe Konfiguration an Position 6 aufweisen.

Es zeigen dann auch die soeben angesprochenen Moleküle R= OTs, OTf, BocNH, welche alle Retention aufwiesen, sich aber bezüglich der Fünfringkonformation in ihren Kristallstrukturen unterschieden, ein nahezu identisches Kopplungs- und Verschiebungsmuster in ihren 2er-Protonen (Abbildung **B.1.1.-23.**), was zur Annahme führt, daß sie sich in ihrem konformationellen Verhalten in Lösung dann doch sehr ähnlich sind.

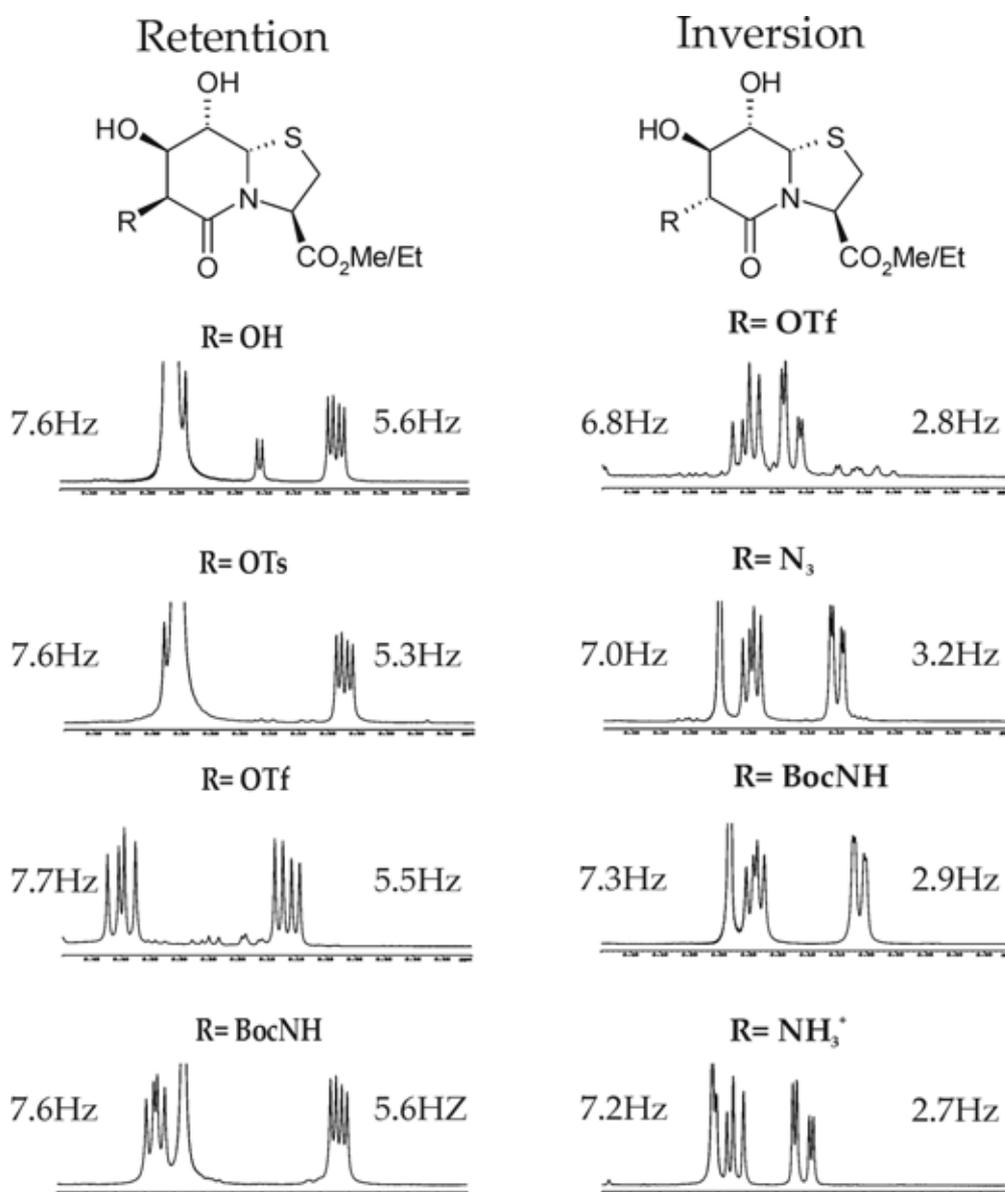


Abbildung **B.1.1.-23.**: Vergleich der diastereotopen Methylenprotonen an Position C-2
Links: Retention, Rechts Inversion der Konfiguration an C-6

Blieb dann die Frage, welche Schlüsse genau lassen sich aus diesen Daten ziehen? Den Anfang machen die Bizyklen welche Inversion an C-6 aufweisen. Wie sich zeigte, waren hier für die CH₂-Gruppe eine kleine Kopplungskonstante mit knapp 3Hz, und eine mittlere mit ~7Hz zu beobachten, dies entspricht relativ gut dem, was für die in Abbildung **B.1.1.-22.** dargestellte Konformation mit C-2 Ecke nach unten zu erwarten wäre, eine kleine Kopplung für den Winkel von 98° und eine mittlere für 28°.

Somit steht nun noch die prochiralen Zuordnung aus. Übereinstimmend zum Bisherigen kann für das Proton mit der mittleren Kopplung, wie schon im Fall des Azids **18**, jetzt auch bei der Endverbindung **19**, ein NOE zu 8-OH beobachtet werden, womit zum einen die Zuordnung als 2-H^{proR} erfolgen konnte, und zum anderen ein weiteres Argument für eine Konformation, wie im Kristall erhalten wurde, da dieser NOE, welcher in der räumlichen Nähe der beiden Protonen begründet liegt, nur in dieser Konformation so deutlich zu beobachten sein sollte.

Somit bleibt für das andere Proton mit der kleinen Kopplung nur die proS-Konfiguration, was aufgrund der nahezu orthogonalen Stellung zu 3-H sehr gut mit dieser Struktur korreliert, zumal für die alternative Konformation aufgrund der hieraus resultierenden trans Stellung 2-H^{proS}/3-H eine größere Kopplung und ein intensiverer NOE zu 8a-H und ein schwächere zu 3-H, zu erwarten wäre.

Daß der NOE von 2-H^{proS} zu 8a-H ein wenig intensiver ist als jener von 2-H^{proR}, obwohl letzteres Proton im Kristall sogar etwas näher ist (3.8Å im vgl. zu 4.1Å), besagt lediglich, daß eine gewisse Dynamik in Lösung weiterhin vorhanden ist, der Ring also nicht in dieser Konformation eingefroren ist, und eine, wenn auch geringe Tendenz zur Inversion zeigt, und, wenn auch vieles auf eine bestimmte Struktur in Lösung hindeutet, man hierbei lediglich von einer Vorzugskonformation sprechen kann.

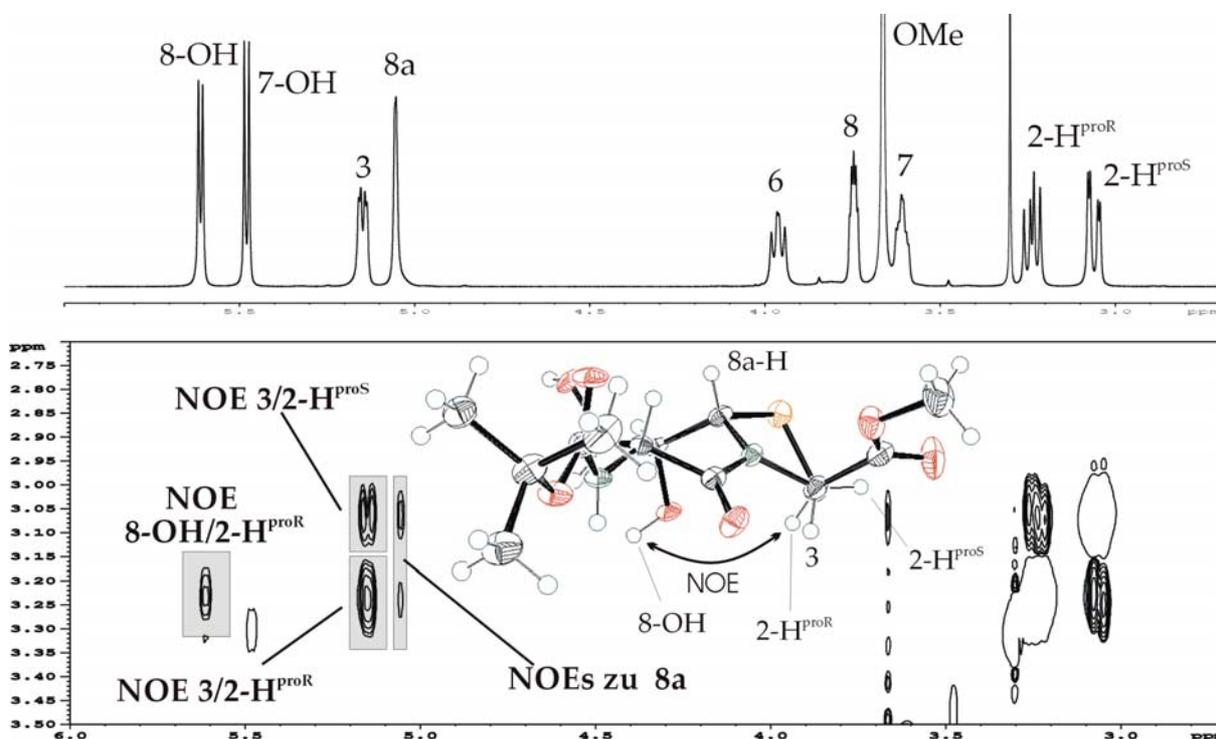


Abbildung **B.1.1.-24.**: Ausschnitt ROESY 400MHz in DMSO-d₆, NOEs der diastereotopen Protonen an C-2 der Verbindung **19**

War es in diesem Fall noch möglich, durch Kombination verschiedener sich ergänzender experimenteller Daten, schlüssig zu einem Ergebnis zu gelangen, so zeigt die letzte Verbindung, daß dies durchaus nicht immer so einfach und vergleichsweise eindeutig von statten gehen kann.

Bei der Boc-geschützten Verbindung **20**, jene mit Retention der Konfiguration an C-6, wiesen allein schon die $^3J_{2,3}$ -Kopplungskonstanten darauf hin, daß die Strukturanalyse im besagten Fall nicht unproblematisch werden würde, so bewegten sich beide von ihrer Größe im mittleren Bereich (5.6Hz bzw. 7.6Hz). Dies kann zum einen von einer einzigen Konformation herühren, oder aber auch aus einer Mittelung der Daten mehrerer Konformationen resultieren.*

Wenn sich auch die beiden Kopplungen von ihrem Betrag relativ nahe kamen, so war doch der erste Schritt, diese, bzw. die entsprechenden Signale, zunächst einmal dem dazugehörigen Proton zuzuordnen. Erfolgen konnte dies wiederum über die Daten der Protonen-Protonen Abstände des 2D-Roesy Spektrums (Abbildung **B.1.1.-25.**), wobei sich die Argumentation wie folgt gestaltete:

Aufgrund des NOEs zu 8a-H wird dem Proton mit dem Signal 2-H^h die Konfiguration proS zugeordnet, da zwar 2-H^{proR} auch diesen NOE zeigen kann, aber nur zusammen mit 2-H^{proS}, und bei der Konformation mit der „CH₂-Ecke nach Unten“, wie zuvor beim 6R-Epimer, dies würde aber gleichzeitig, wie beobachtet, einen NOE zur 8-OH zur Folge haben, welcher hier definitiv nicht zu beobachten ist, zumal aufgrund des unterschiedlichen Kopplungs- und Verschiebungsmuster, davon auszugehen ist, daß die konformationellen Gegebenheiten hier eben nicht exakt jenen der zuvor behandelten Struktur entsprechen können.

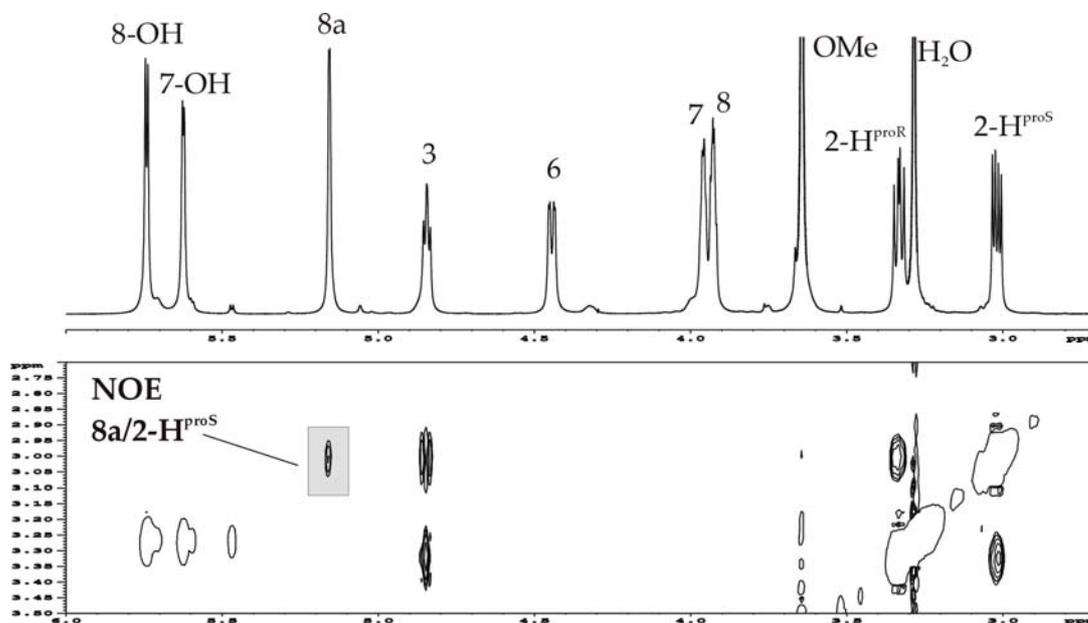


Abbildung **B.1.1.-25.**: ROESY-Spektrum 600MHz, DMSO-d₆ der Verbindung **20**, Ausschnitt: Reihe der diastereotopen Protonen an Position 2, mit NOE 8a-H zu 2-H^{proS} (hervorgehoben)

* Zum Vgl. beim vorhergehenden Fall, der Inversion, war durch die kleine Kopplung von 2.9Hz praktisch auszuschließen, daß eine zweite Konformation einen wirklich bedeutenden Beitrag hierzu leisten konnte, da wäre diese Kopplung das Resultat mehrere Konformationen, all diese hier auch kleine Kopplungen zeigen müßten, ergo bei allen eine mehr oder weniger orthogonale Stellung von diesem Proton zum 3-H vorliegen müßte, eine andere plausible Konformation, als die dargestellte, bei welcher das 2-H^{proS} mit dem 3-H ebenfalls einen Winkel von ~80°-100° bilden würde, ist jedoch schwer vorstellbar.

Als Alternative kam in erster Linie jene Konformation in Frage, wie sie auch im Kristall zu beobachten ist, hiergegen jedoch sprachen schon die Kopplungskonstanten, da für eine trans-Stellung von 2-H^{proS} zu 3-H, wie sie hier vorliegen würde, eine größere Kopplung als 5.6Hz zu erwarten wäre. Des weiteren sollte aufgrund der Tatsache, daß bei dieser Konformation mit der pseudoaxialen Ausrichtung von 2-H^{proS} der minimale Abstand zu 8a-H resultiert, der entsprechende NOE dieser beiden Protonen deutlich intensiver sein, als dies dann tatsächlich der Fall ist.

Da nun aber die beiden hier beobachteten Konformationen des Thiazolidinrings mit Sicherheit bedeutende Energieminima dieses Verbindungstyps darstellen, besteht die Lösung dieses Problems darin, als wahrscheinlichsten Fall, ein Gleichgewicht der beiden Konformere anzunehmen.

Dies würde auch die Kopplungen von 2-H^{proS} zu 3-H und den NOE zu 8a-H erklären, da beide nun aus einer Mittelung resultieren, sprich die Kopplung ist deswegen „zu klein“, da noch die alternative Kopplung von ~2Hz einen Beitrag liefert, und der NOE ist deshalb „nicht intensiv genug“, da durch die pseudoäquatoriale Position in der zweiten Gleichgewichtskonformation der Abstand zu 8a-H hierbei maximal wird, was wiederum negativen Einfluß auf die Intensität dieses Kreuzsignals hat.

Wagt man eine grobe Abschätzung in welchem Verhältnis nun diese beiden Konformere vorliegen, kann dies z.B. über die Kopplungskonstanten $^3J_{2\text{-HproS}, 3}$ erfolgen.

Geht man davon aus, daß bei Inversion hauptsächlich eine Konformation vorliegt, jene wie sie auch im Kristall zu beobachten ist, somit die kleine Kopplung $^3J_{2\text{-HproS}, 3}$ von 2.9Hz in erster Näherung von dieser einen Konformation herrührt*, geht man weiter davon aus, daß bei der alternativen Konformation, aufgrund der trans-Stellung von 2H^{proS} eine Kopplung von ~10Hz zu erwarten wäre, die tatsächlich beobachteten 5.6Hz eine Mittelung aus diesen ca.10Hz, und den zuvor beobachteten <3Hz darstellen, so ergibt sich hieraus, daß beide Konformere in etwa ähnlichen Anteilen (2:3, 1:1, 3:2 etwa in diesem Rahmen) zum Gleichgewicht beitragen dürften.

Als Ergänzung und Bestätigung des beobachteten Zusammenhanges zwischen Konfiguration an C-6 und Konformation des Thiazolidinringes, sind in den beiden folgenden Tabellen nochmals die genauen Daten (3J -Kopplungskonstanten, und die jeweilige chemische Verschiebung δ) der diastereotopen Protonen an Position 2 aufgeführt. Eingegangen sind hier auch 6,5Bizyklen mit analogen Konfigurationen der stereogenen Zentren, welche erst in späteren Kapiteln vorgestellt werden, aber von ihrem Verhalten, sehr gut in dieses Raster passen.

* vermutlich ist die tatsächliche Kopplung nur dieser Konformation noch etwas kleiner, da es sich wie gesagt lediglich um eine Vorzugskonformation handelt, und diese 2.9Hz im Endeffekt auch wieder nur eine Mittelung darstellen, wofür auch die $^3J_{2\text{HproS}, 3} = 2,1\text{Hz}$ spricht, welche für Verbindung **38** bestimmt wurde.

6,5-Bizyklen mit C6 Retention					
6,5Bic Nr.	δ [ppm] 2-H ^t	³ J _{2t,3} [Hz]	δ [ppm] 2-H ^h	³ J _{2h,3} [Hz]	NOEs
13	3.30	7.6	3.03	5.6	NOE beide zu 8a
15	3.31	7.6	3.02	5.3	
16	3.40	7.7	3.11	5.5	
33	3.31	7.6	3.05	5.0	NOE 2 ^h /8a
35	3.40	7.6	3.14	5.3	
20	3.31	7.6	3.02	5.6	NOE 2 ^h /8a
60	3.21	7.6	2.99	5.3	NOE beide zu 8a
39	3.35	7.9	3.05	5.3	

Tabelle B.1.-1.: NMR Daten der Methylenprotonen an Position 2 der 6,5Bizyklen mit Retention der Konfiguration (nach der zuvor erfolgten Definition) an Position C-6, LM: DMSO-d₆

6,5-Bizyklen mit C6 Inversion					
6,5Bic Nr.	δ [ppm] 2-H ^t	³ J _{2t,3} [Hz]	δ [ppm] 2-H ^h	³ J _{2h,3} [Hz]	NOEs
17	3.25	6.8	3.17	2.8	
18	3.24	7.0	3.10	3.2	NOE 2 ^t /8-OH
59	3.28	7.2	3.15	2.7	NOE 8a 2 ^h >2 ^t /8-OH?da breit
37	3.23	7.0	3.13	2.9	
19	3.24	7.3	3.06	2.9	NOE 2 ^t /8-OH
61	3.15	7.6	2.99	2.7	NOE 2 ^t /8-OH
38	3.20	7.3	3.10	2.1	

Tabelle B.1.-2.: NMR Daten der Methylenprotonen an Position 2 der 6,5Bizyklen mit Inversion der Konfiguration (nach der zuvor erfolgten Definition) an Position C-6, LM: DMSO-d₆

Da in diesem Kapitel schon einige Punkte zu Tage getreten sind, welche zum einen in dieser Arbeit weiter eine gewichtige Rolle spielen werden, und auch generell, wenn strukturanalytische Fragestellungen behandelt werden, von Bedeutung sind, sollen, als eine Art kleines Zwischenresümee, diese Punkte, wenn sie auch z.T. trivial erscheinen mögen, kurz aufgeführt werden.

- Die Konformation im Kristall muß nicht zwangsläufig der in Lösung entsprechen. Im Kristall werden Konformationen eingefroren, während in Lösung Dynamik zu beobachten ist. Für alle Moleküle, welche eine Dynamik der Konformation in Lösung zeigen können, kann somit ein Kristall immer nur als nützliche Arbeitshypothese dienen.
- Bei der Strukturanalyse über NMR ist u.a. zu beachten:
 - a.) Kopplungskonstanten und Verschiebungen können gemittelt sein

- b.) Ein Vergleich der Daten ähnlicher Moleküle bei sukzessiven, minimalen Veränderungen ist aussagekräftiger als Absolutwerte.
- c.) Um seriöse Aussagen über eine Struktur treffen zu können ist eine Kombination verschiedener Parameter erforderlich (NOEs, Kopplungen, Verschiebung etc.)
- Auch die im allgemeinen als rigide erachteten polyzyklischen Systeme zeigen immer noch eine gewisse „Restdynamik“, welche dadurch, daß die Anzahl der konformationellen Einstellungen eingeschränkt, und ihre Energiebarrieren z.T. höher sind, sogar augenscheinlicher werden als dies z.B. bei sehr flexiblen Molekülen der Fall ist, deren NMR-Signale eine Mittelung sehr vieler Strukturen darstellen.
 - Durch polyzyklische Systeme können Informationen weitergereicht werden. So ist wie gesagt der hier aufgeführte Bizyklus ein Dipeptidisoster, betrachtet man ihn aus diesem Blickwinkel, bedeutet das in diesem Kapitel gezeigte konformationelle Verhalten übertragen hierauf, daß bei diesem Dipeptid ein Austausch einer L- gegen eine D-Aminosäure (6S gegen 6R-Konfiguration), Einfluß auf die Konformation der Seitenkette der nächsten Aminosäure hat (Inversion der Konformation des Thiazolidinringes).

1.1.4. Ein 5,5-Bizyklus

Wie zuvor gezeigt, gibt es mehrere Möglichkeiten, um zu einer Penturonsäure zu gelangen, so resultierte das im vorigen Kapitel vorgestellte D-Arabinuronolacton aus einer oxidativen Spaltung der vicinalen Hydroxylgruppen an Position 1 und 2, einer Hexuronsäure, wobei 1-OH aus der Bildung eines Halbacetals herrührte.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, jetzt von einer Hexonsäure auszugehen, und wieder durch eine Periodatspaltung, diesmal an Position 5 und 6, eine Uronsäure zu generieren.

Eine Fragestellung, wobei dann besagte Variante noch zum Zuge kam, war einmal auszuprobieren, welche Auswirkungen auf Reaktionsverlauf und Konformation des Produkts zu beobachten seien, wenn anstatt dem D- nun das L-Arabinuronolacton eingesetzt werden würde. Führt dies dann zu einer Inversion des stereogenen Zentrums am Brückenkopf? Wie sieht die neue Konformation aus, und ist diese dann möglicherweise stabiler gegen die zuvor beobachteten Epimerisierung?

Um zum besagten L-Arabinuronolacton zu gelangen bot sich dann genau dieser zweite hier angesprochene Weg an.

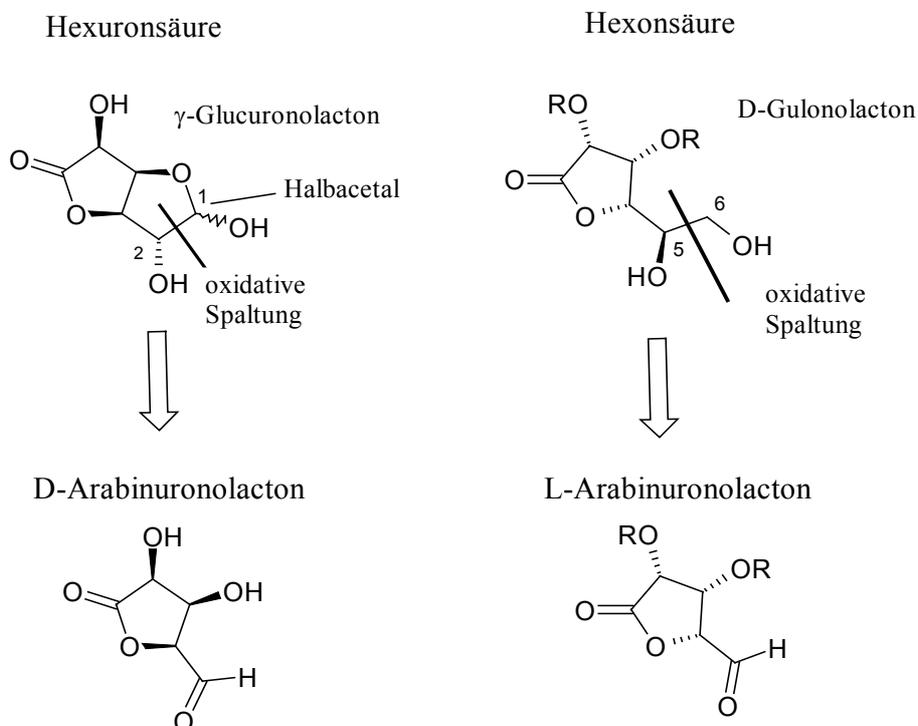


Abbildung B.1.1.-26.: Zwei Synthesestrategien zu D- bzw. L-Form einer Penturonsäure

1.1.4.1. Synthesen

Wie in der Retrosynthese gezeigt muß in diesem Fall jetzt von der Gulonsäure als Edukt ausgegangen werden, um über einen vergleichbaren Syntheseschritt die gewünschte Verbindung zu erhalten

Ebenfalls angedeutet wurde der Umstand, daß für dieses Molekül die Periodatspaltung nicht direkt erfolgen kann, sondern es zuerst erforderlich ist, das konkurrierende zweite Diol zu schützen.

Dies kann dadurch erreicht werden, daß zuerst jedes Paar vicinaler Hydroxylgruppen als Acetonid geschützt wird, um anschließend dann das Isopropyliden an Position 5 und 6, selektiv, unter schwach sauren Bedingungen (AcOH/H₂O), wieder abzuspalten [129].

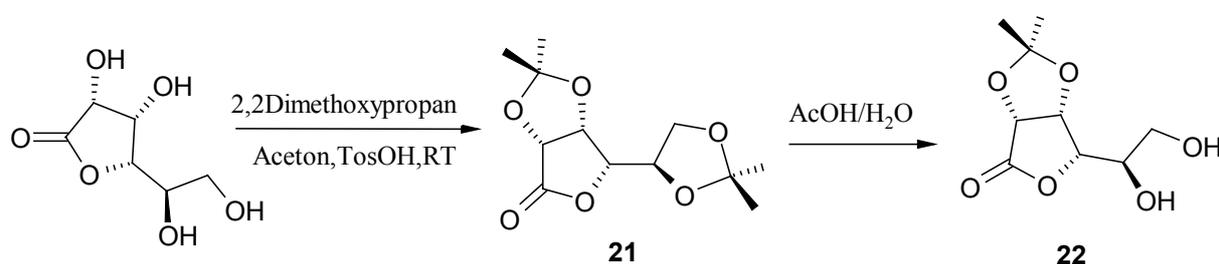


Abbildung B.1.1.-27.: Synthese des Monoacetonids **22** des Gulonsäurelactons

Analog der zuvor beschriebenen Synthese wurde jetzt eine Periodatspaltung durchgeführt, und anschließend das Rohprodukt wiederum mit Cysteinmethylester umgesetzt. Nicht mehr analog war dann das Ergebnis:

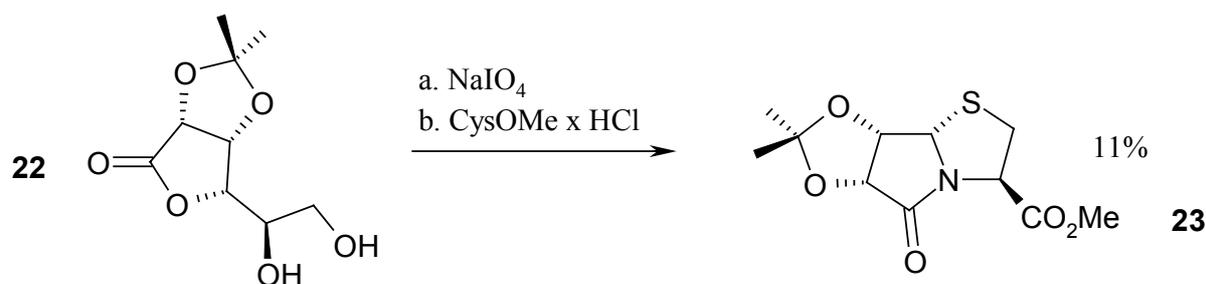


Abbildung B.1.1.-28.: Ergebnis der Synthese nach Periodatspaltung und anschließender Kondensation mit Cysteinmethylester

Denn nicht wie erwartet der 6,5- sondern der oben gezeigte 5,5-Bizyklus **23** konnte als einzige Verbindung saubere isoliert werden. Zwar wurden mittels DC noch weitere Nebenprodukte detektiert, welche zu isolieren auch versucht wurde, aber aus keiner der Nebenfraktionen der chromatographischen Trennung konnte eine Verbindung als Reinsubstanz erhalten werden.

Des weiteren waren die jeweiligen Mengen immer in einem Bereich, daß selbst wenn das gewünschte Produkt hierin enthalten gewesen wäre, es anteilmäßig maximal dem des 5,5-Bizykles entsprochen hätte, die Ausbeute somit also unter 10% gelegen hätte.

Nach aller Erfahrung bezüglich Laufverhalten und Detektierbarkeit welche bis dato mit diesem Verbindungstyp vorlagen, ist zwar nicht gänzlich auszuschließen, daß sich der erwartete 6,5-Bizyklus doch gebildet hat, wenn, so konnte dies aber nur in vergleichsweise geringen Mengen der Fall gewesen sein, oder anders, wäre er wie der zuvor vorgestellte 6,5-Bizyklus als Hauptprodukt vorgelegen, wäre er auch sauber isoliert worden.

Die Frage war jetzt wie weiter. In Anbetracht dessen, daß die Zeit für den praktischen Teil der Dissertation langsam dem Ende entgegen ging, und es sich hierbei um einen, wenn auch nicht uninteressanten, so doch weniger bedeutenden Teilaspekt hierin handelte, war die Zeit, welche für dieses Projekt noch investiert werden konnte, begrenzt.

Da prinzipiell kein zwingender Grund zur Synthese eines weiteren 6,5-Bizykluses vorlag, schien an diesem Punkt die einfachste Möglichkeit, ohne größeren Aufwand, doch noch zu einem befriedigenden Resultat zu gelangen, die, das ursprüngliche Vorhaben fallen zu lassen, und statt dessen zu versuchen, die obige Synthese so zu modifizieren, daß die Ausbeute des 5,5-Bizykluses in einem Bereich lag, welcher es erlaubte, hier ohne Bedenken den Begriff des Hauptproduktes anwenden zu können, um dann weiter, mit bekannter Synthesestrategie, zu einem neuen Dipeptidisoester zu gelangen, welches folglich nun auf einem aus zwei Fünfringen aufgebauten bizyklischen Grundgerüst fußen sollte.

Wie die Synthese weiter zu Gunsten von Verbindung **23** zu verschieben wäre, ist aus der Tatsache abzuleiten, daß die Bildung eines 5,5-Bizyklus hier eigentlich gar nicht hätte stattfinden dürfen, da eine Periodatspaltung der Hydroxylgruppen an Pos 4 und 5, infolge des Schutzes der 4-OH als Lacton, theoretisch ausgeschlossen war.

Wenn dies dann aber zweifelsohne doch stattgefunden hat, denn nur so ist der 5,5-Bizyklus zu erklären, so kann hierfür nur eine Hydrolyse des Lactons in Frage kommen. Da angenommen werden konnte, daß diese unter den angewandten Bedingungen (0.05M Na₂HPO₄, pH ~ 7, 20min Reaktionszeit) nur eine Nebenreaktion darstellte, und somit nicht vollständig ablief, bot sich hier ein Angriffspunkt, die Ausbeute dieser Synthese zu erhöhen, indem just auf Vollständigkeit eben dieser Öffnung des Lactons abgezielt wurde.

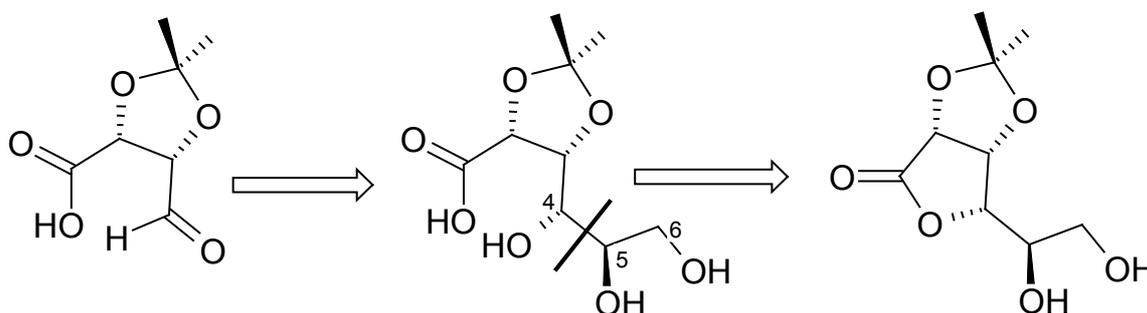


Abbildung B.1.1.-29.: Wie es zur „falschen“ Periodatspaltung kommen konnte

Aufgrund der soeben dargebrachten Überlegung wurde dann Verbindung **22** so lange in wäßriger K₂CO₃ gerührt, bis das Edukt komplett abreagiert war (DC-Kontrolle), direkt daran schloßen sich dann die Periodatspaltung, und die Kondensation des Rohproduktes mit Cystein zum Isopropyliden geschützten 5,5-Thiazolidinlactam an.

Durch diese simple Modifikation der Synthese konnte die Gesamtausbeute, mit schlußendlich 58%, dann mehr als verfünffacht werden.

Zwar läßt die Tatsache, daß keine der erfolgten Synthesen, in keinem der jeweiligen Ansätze, den erwarteten 6,5-Bizyklus lieferte, nicht den Schluß zu, daß hier das endständige Diol gegenüber einer Periodatspaltung inert sei, eine Ausbeute von über 50% des Konkurrenzproduktes, über praktisch 3 Stufen, rechnet man die Hydrolyse des Lactons hinzu, zeigt aber klar, daß die Reaktivität von Diol-5,6 gegenüber dem an 4 und 5, unter diesen Bedingungen klar herabgesetzt sein muß.

Mit diesem Schritt war jetzt auch genügend Substanz vorhanden, um die Synthese weiter voranzutreiben.

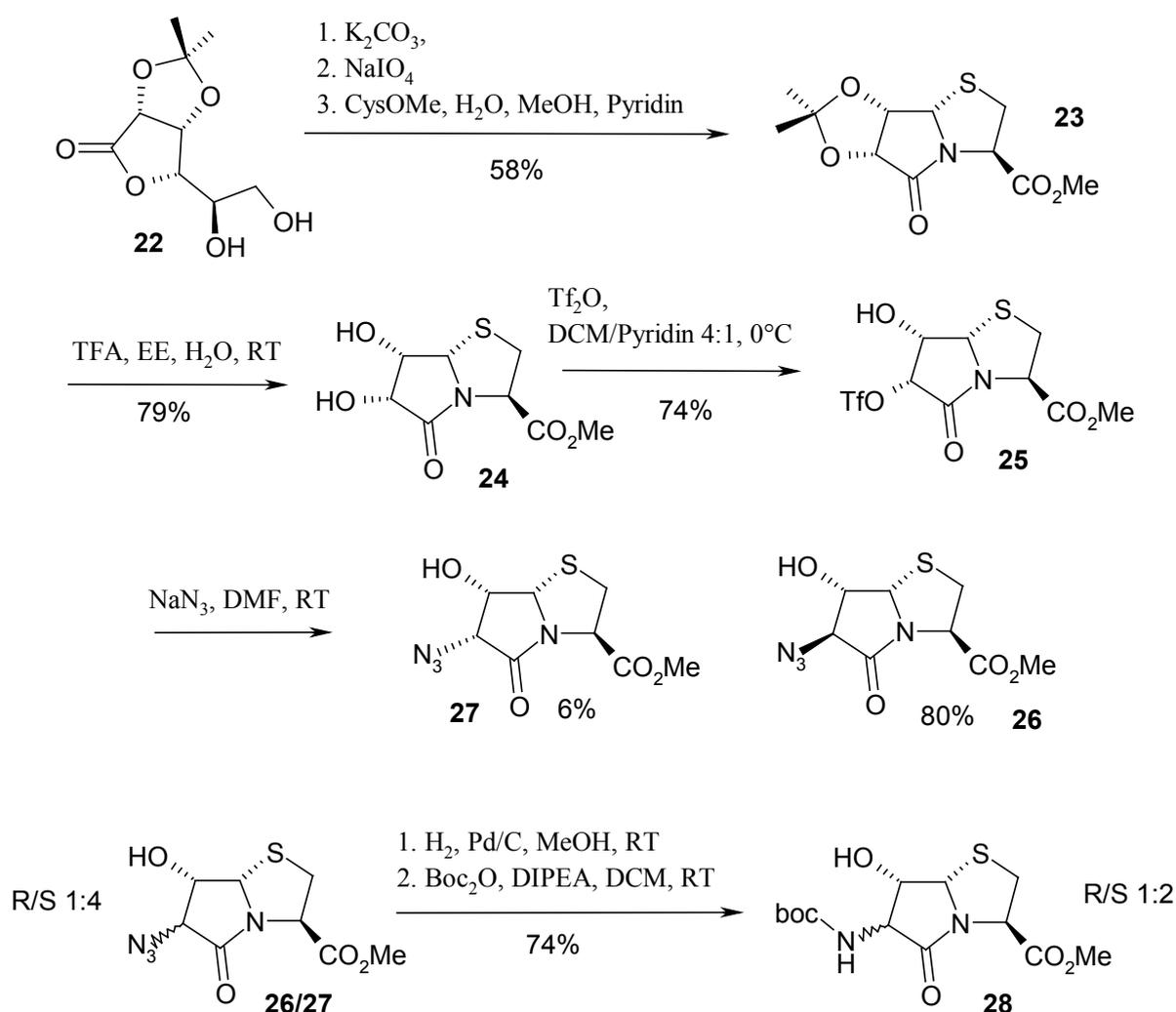


Abbildung B.1.1.-30.: Synthese eines neuen Dipetidostereoisomers, aufbauend auf einem 5,5Bizyklus

Verliefen die Entschützung der Isopropylidengruppe unter sauren Bedingungen und die Umwandlung der 6-OH in ein Triflat noch wie vorgesehen, so trat bei der anschließenden Azideinführung wieder das Problem der Epimerisierung auf.

Da sich das (6,R)-Azid **27** selektiv fällen ließ, und das Filtrat sauber das (6,S)-Azid **26** enthielt, gelang es zwar zunächst beide Epimere getrennt zu isolieren, beim 2. Ansatz dieser Synthese jedoch, welchem sich nun noch die Reduktion zum Amin und dessen Schutz durch eine Boc-Gruppe anfügen sollten, konnte nur das (6,R)Azid in geringen Mengen, sauber, als Niederschlag, gewonnen werden. Eine vollständige Abtrennung dieses Epimers gelang diesmal aber nicht, so daß es im Filtrat, dem mengenmäßig weitaus größeren Teil, auch noch aufzufinden war. In der Hoffnung, analog zum 6,5-Bizyklus, ließen sich die beiden epimeren Endverbindungen über den Weg einer Chromatographie separieren, wurde darauf verzichtet, noch mehr Zeit in eine komplette Trennung der beiden Azide zu investieren, um so mit der Synthese zügig fortfahren zu können.

Diese Hoffnung erwies sich hierbei dann doch als trügerisch, da beide Verbindungen unter den gewählten Bedingungen identisches Laufverhalten zeigten, und folglich auch nur gemeinsam isoliert werden konnten.

In gewisser Hinsicht tröstlich war hier nur der Umstand, daß der Anteil der 6S-Verbindung weiter zugenommen hat, so, war das Verhältnis (6,S)-Azid (Inversion) **26** zu (6,R)-Azid (Retention) **27** noch 4:1, zeigte sich nach Reduktion und Boc-Schutz eines von 2:1 ((6,S)Amin zu (6,R)Amin), folglich wäre jegliches Mehr an Arbeit und Zeit, investiert in eine Auftrennung der Azide, so und so vergebliche Mühe gewesen.

Trotz dieses Rückschlags, gab es eine weitere Möglichkeit, das Ergebnis dieser Synthese doch noch positiv zu gestalten.

Wie gezeigt nahm der Anteil des (6,R)-Produktes von der Stufe des Azids zum Amin weiter zu, sprich die Epimerisierung verlief weiter in Richtung dieser Konfiguration, geht man nun davon aus, daß bei Abbruch der eigentlichen Reaktion, dem Schutz desamins durch eine Boc-Gruppe, diese Nebenreaktion noch nicht ihren Endpunkt erreicht hatte, somit das Gleichgewicht dieser beiden Epimere nicht eingestellt war, bestand folglich die Chance, daß es möglich wäre dies Gleichgewicht vollständig auf eine Seite zu ziehen.

Um das Erreichen des Endpunktes der Epimerisierung zu beschleunigen kam in erster Linie eine Base in Betracht.

Praktisch wurde schließlich versucht, dies Ziel durch Umsatz der Boc geschützten Verbindungen mit 1N LiOH in MeOH zu erreichen, um so im günstigsten Falle, das Carboxylat einer einzigen Verbindung in der Hand zu haben.

Zu diesem Zwecke wurden der Reaktionslösung, in unterschiedlichen Zeitabständen, Proben entnommen, und, nach Neutralisation mit 1N HCl, ein ¹H-NMR aufgenommen.

Das Ergebnis zeigte dann auch, daß der Gedanke der hinter diesem Vorgehen steckte prinzipiell gerechtfertigt war, so konnte schon nach der ersten Entnahme festgestellt werden, daß sich das Verhältnis weiter zu Gunsten der (6,R)-Verbindung verschoben hatte, und diese jetzt mit 4:1 klar den Hauptanteil bildete, nur war hiermit auch schon das Ende erreicht, da alle weiteren Proben praktisch identisch Spektren lieferten, und somit die Idee, nur ein Diastereomer am Schluß zu erhalten, eine Wunschvorstellung blieb.

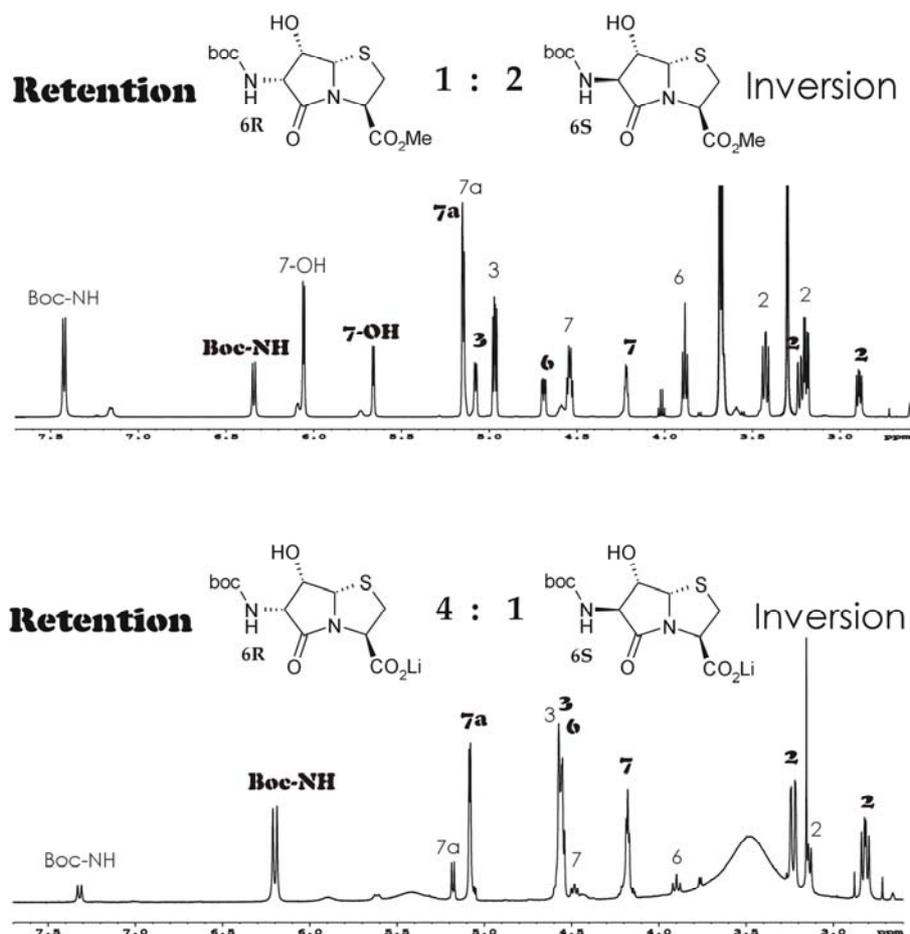


Abbildung B.1.1.-31.: oben $^1\text{H-NMR}$ 600MHz in DMSO-d_6 der beiden epimeren Dipeptidostere **28**
 unten $^1\text{H-NMR}$ 400MHz in DMSO-d_6 , nach Umsetzung mit 1N-LiOH in MeOH , Epimere im Gleichgewicht

Mit den in Abbildung B.1.1.-31. gezeigten Spektren, möchte es hiermit belassen werden. Als Fazit dieser Bemühungen bleibt, daß ein solcher 5,5-Bizyklus, wie hier gezeigt, als Baustein für die Peptidsynthese vorerst einmal nicht geeignet erscheint, da selbst wenn eine Trennung der beiden epimeren Endverbindungen gelänge, immer wieder mit erneuter Epimerisierung zu rechnen ist.

Dennoch erscheint dieser Fall nicht als komplett hoffnungslos, da es möglicherweise gelingen könnte, durch Einbau in ein Peptid, oder verknüpft als Homooligomer, eines der beiden Epimere im Peptid zu stabilisieren. Oder anders ausgedrückt, daß sich jenes Epimer ausbilden würde, welches zur energetisch günstigeren Konformation des entsprechenden Peptides führen würde.

War dieser Teil der Arbeit auch kein Erfolg, als daß ein zählbares Resultat in Form eines neuen Bizykluses stand, welcher nun ohne weiteres in ein Peptid eingebaut werden könnte, so brachten die hierbei erhaltenen Resultate doch immerhin weitere neue Erkenntnisse über diesen Verbindungstyp, und zeigte ein Problem auf, mit dem auch fortan zu rechnen ist.

1.1.4.2. Strukturanalyse

Die Strukturanalyse der im ersten Teil vorgestellten Verbindungen erfolgte wieder in erster Linie über NMR, wenn zusätzlich noch Kristalle gezüchtet werden konnten, wurde selbstredend auch noch die Röntgenstrukturanalyse mit einbezogen.

War die Tatsache daß es sich bei dieser neuen Verbindung jetzt um einen 5,5-Bizyklus handelte aus den NMR-Daten zweifelsfrei zu entnehmen, u.a. Art der beiden Spinsysteme, sowie die für das Thiazolidinlactam charakteristischen Kreuzsignale im HMBC, von 3-H zum Brückenkopf, hier C-7a, und zum Carbonyl des Lactams, dem CO-5 (Siehe Abbildung **B.1.1.-32.**), also zum Anfang (C1) und Ende der Zuckereinheit (C4), so war die Frage der Konfiguration des neuen stereogenen Zentrums, nur anhand der ersten Verbindung, des Acetonids **23**, nicht so einfach zu beantworten.

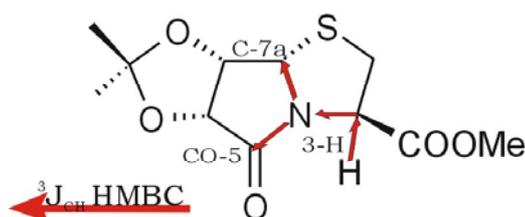


Abbildung **B.1.1.-32.**: ${}^3J_{C,H}$ -Kopplungen 3-H zu CO-5 und 3-H zu C-7a

Zwar ließe sich die kleine Kopplung von ${}^3J_{7a-H, 7-H} = 3.8\text{Hz}$ als Argument für eine S-Konfiguration ins Felde führen, wie zuvor beim 6,5-Bizyklus sollte für eine R-Konfiguration eine trans-Stellung und folglich eine größere Kopplung zu erwarten sein, der hier ebenfalls zu erwartende NOE von 6-H zu 7a-H konnte jedoch, unter anderem da die beiden Signale recht nahe beieinander lagen, nicht beobachtet werden.

Somit wäre nur anhand der NMR-Daten dieses 5,5-Bizyklus **23**, erst die entschützte Folgeverbindung **24** zeigte dann schließlich den für eine S-Konfiguration zu erwartende NOE 7a-H zu 6-H, eine zweifelsfreie Zuordnung der Stereochemie am Brückenkopf, ohne die in Abbildung **B.1.1.-33.** dargestellte Kristallstruktur, vorerst nicht möglich gewesen.

Der ebenfalls abgebildete Ausschnitt des ROESY Spektrums zeigt dann zum einen, wie mit Hilfe der NOEs die prochiralen Gruppen eindeutig zugeordnet werden können, vor allem aber wie sich hiermit Rückschlüsse bezüglich der Konformation in Lösung gewinnen lassen.

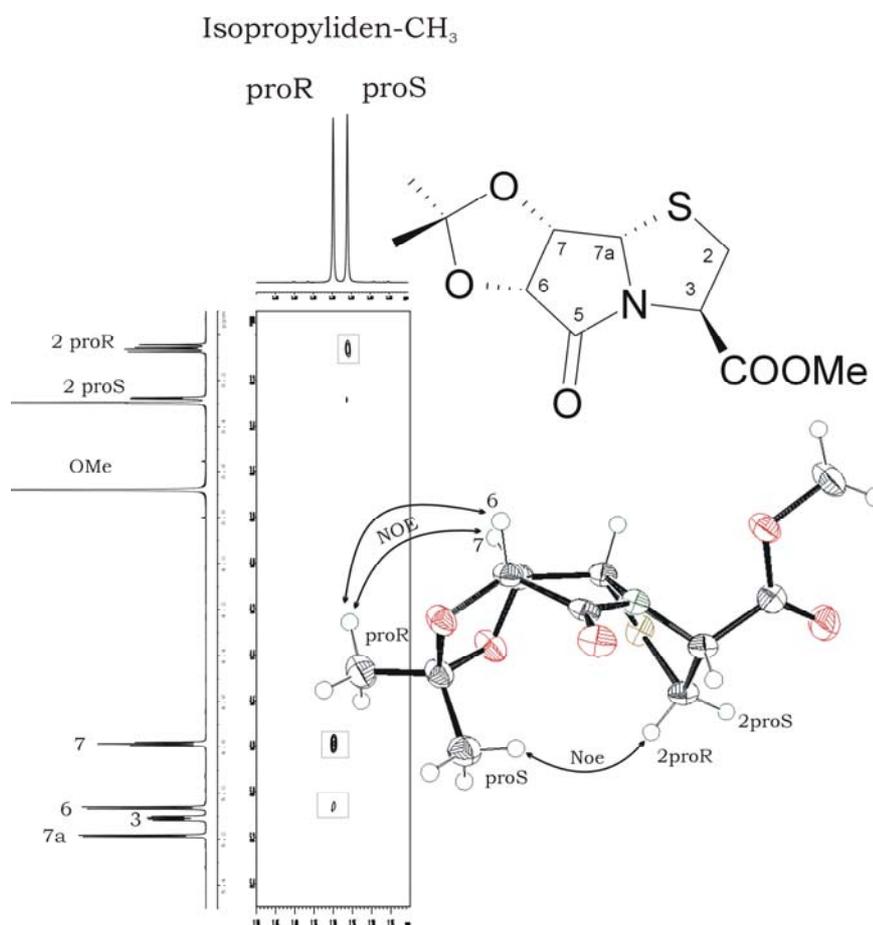


Abbildung **B.1.1.-33.**: Ausschnitt des ROESYs (600MHz, DMSO-d₆), und die Kristallstruktur von **23**

So läßt sich aus dem NOE von 2-H^{proR} zu CH₃^{proS} ableiten, daß die Vorzugskonformation in Lösung, jener im Kristall praktisch entspricht, da dieser NOE nur möglich ist, wenn auch hier die Ecke der beiden äußeren Fünfringe, des Acetals sowie der des Thiazolidins, entsprechend der Darstellung, nach unten* weisen.

Die alternative Konformation, welche ebenfalls einen NOE der Methylgruppe zu 2-H zeigen kann, resultierend auf einer Inversion beider Fünfringe, und somit einen NOE CH₃^{proR} zu 2-H^{proS}, kann ausgeschlossen werden, da zusätzlich noch NOEs zu 6-H und 7-H zu erwarten wären. Diese Kreuzsignale zeigt aber nur die andere CH₃-Gruppe, man kann folglich eindeutig zwischen „Ober-“ und „Unterseite“ des Moleküls unterscheiden.

Ist das Wissen über die Konformation des Acetals auch eher zweitrangig, so sind Daten, welche Aufschluß über das Ringpuckering des Thiazolidins zulassen, weit mehr von Bedeutung, da es sich hierbei quasi um die Seitenkettenkonformation der zweiten Aminosäure eines Dipeptidesters handelt.

* Was „Oben“ und „Unten“, sowie die Begriffe Inversion und Retention betrifft gilt wieder die im Kapitel zuvor vorgestellte Definition.

Wie sowohl die NMR-Daten als auch die Ergebnisse der Röntgenstrukturanalyse der Folgeverbindungen zeigten, kann diese Konformation des Thiazolidinrings als die energetisch günstigste angenommen werden, sofern alle Konfigurationen des Moleküls beibehalten werden. Denn sowohl die Kristallstrukturen des Triflats **25**, als auch die des entschützten Bicykluses **24** (Abbildung B.1.1.-35.) zeigten die Konformation mit der Methylengruppe nach unten.

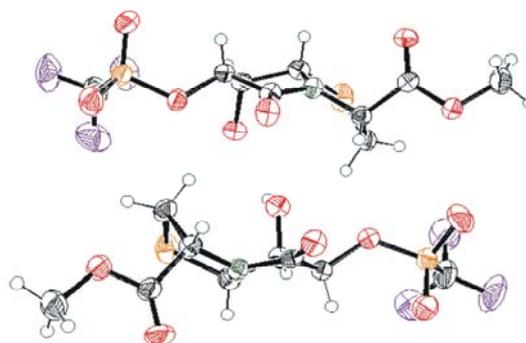


Abbildung B.1.1.-34.:
Kristall des Triflats **25**

Zum analogen Schluß führen auch die Daten welche über die Interprotonen-abständen erhalten werden konnten. Hier waren zum einen der NOE von 2-H^{proR} zu 7-OH, als auch die Tatsache, daß die jeweiligen NOEs von 2-H^{proS} bzw. 2-H^{proR} zu 7a-H vergleichbare Intensität aufweisen, was auf ähnliche Abstände dieser Protonen schließen läßt, so wie für diese Konformation zu erwarten (Zum Vergleich: im Kristall hat 2-H^{proS} zu 7a-H ein Abstand von 4.1Å und 2-H^{proR} einen von 3.9Å) klare Hinweise auf eben diesen Sachverhalt.

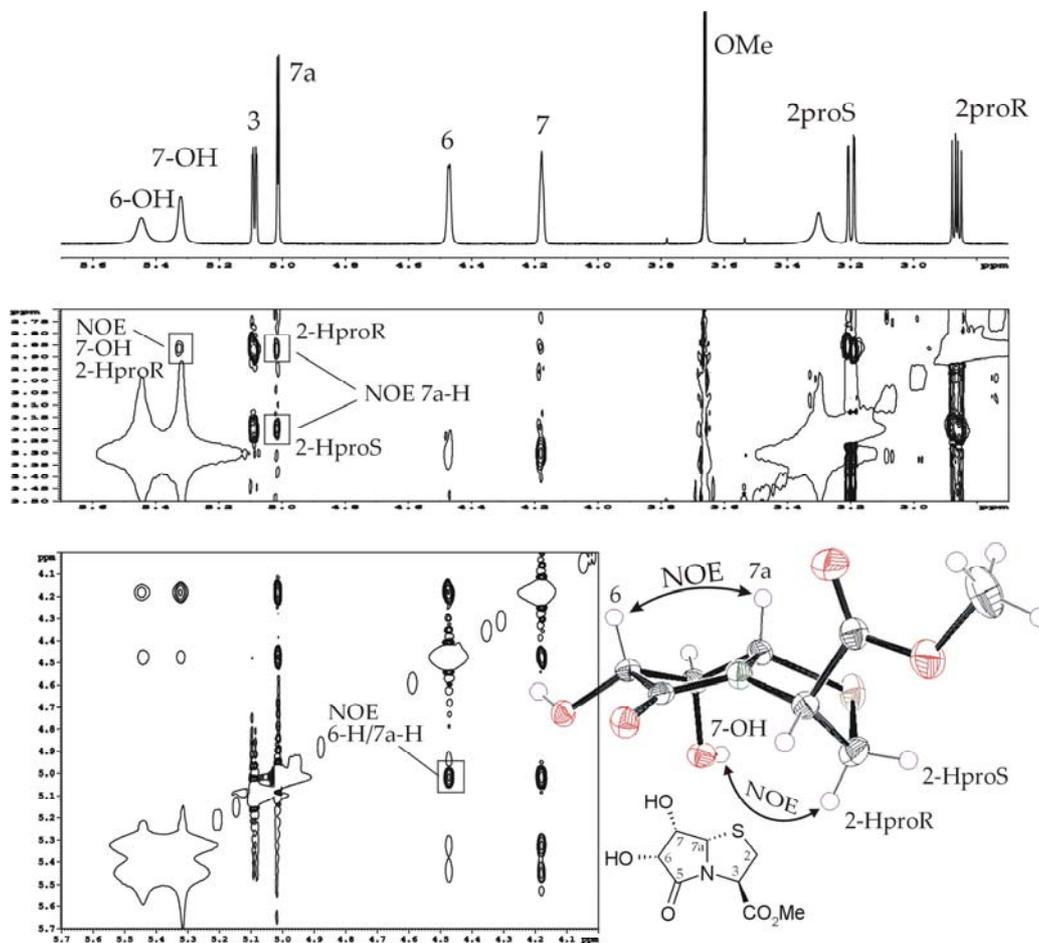


Abbildung B.1.1.-35.: Roesy Spektrum 600MHz DMSO-d₆ der Verbindung **24** mit Kristallstruktur

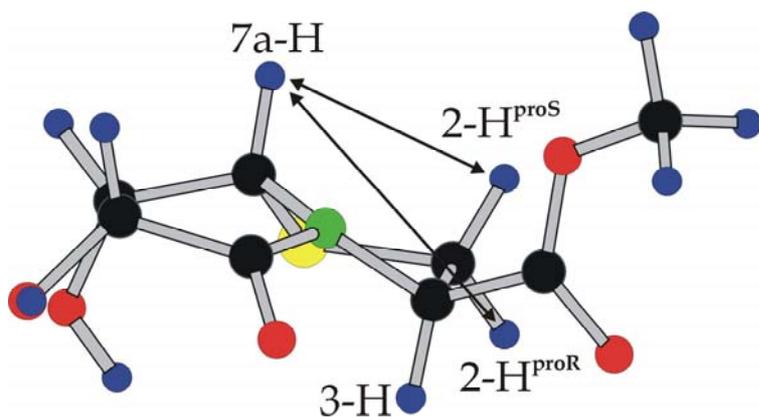


Abbildung B.1.1.-36.: Alternative Konformation des Fünfringes

Weitere NMR Parameter welche Informationen über die Konformation liefern können, sind die 3J -Kopplungskonstanten der Methylenprotonen. So zeigt das als 2-H^{proS} zugeordnete Proton eine kleine Kopplung von $^3J_{2,3} = 2.1\text{Hz}$, was gut mit der bisher angenommenen Konformation korreliert, wo im Kristall ein Winkel von 81° zu beobachten ist, und gleichzeitig gegen die alternative Konformation spricht, bei welcher, infolge der trans-Stellung (Abbildung B.1.1.-36.), eine große Kopplung von ca. 10Hz zu erwarten wäre. Auch der zweite Winkel 3-H zu 2-H^{proR} von 40° , im Kristall, steht im guten Einvernehmen mit diesen Daten, denn zu erwarten ist hierfür eine mittlere Kopplung, wie sie in der Tat, mit $^3J = 6.4\text{Hz}$, auch bestimmt werden konnte.

Wie zuvor schon erwähnt, ist diese Konformation so lange von Relevanz, wie keine Konfigurationsänderungen auftreten, womit nun der nächsten Punkt zur Sprache kommen soll, die Bestimmung der Stereochemie an C-6, nach Einführung des Azids, Retention oder Inversion der Konfiguration. Erinnerung man sich nochmals an die Ergebnisse der Strukturanalyse des 6,5Bicyklus, so hatte sich gezeigt, daß eine Änderung des stereogenen Zentrums an Position C-6 auch Einfluß auf die Konformation des Thiazolidinringes hatte.

Vergleichbares ist auch im Falle der 5,5-Bicyklen zu konstatieren. Ohne 2D-ROESY oder Kristall zu Rate ziehen zu müssen, ist allein aus den ^1H -

Würde hingegen in Lösung die inverse Ringkonformation überwiegen, wäre der Abstand vom 2-H^{proS} zum Proton an Position 7a, infolge seiner nun pseudoaxialen Position, geringer (vgl. Abbildung B.1.1.-36.), worauf als Konsequenz auch ein intensiveres Kreuzsignal, sowohl absolut, als auch im Vergleich zum Proton 2-H^{proR} , zu beobachten sein sollte.

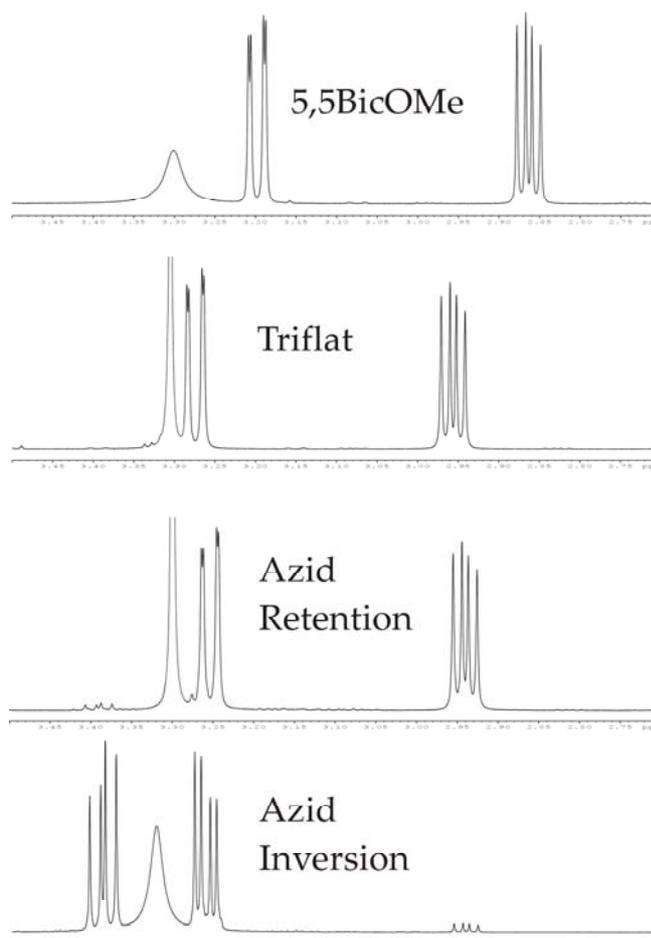


Abbildung B.1.1.-37.: Ausschnitt 600MHz ^1H -NMR (Protonen an Position 2) der Verbindungen **24**, **25**, **27** und **26** (von Oben, in dieser Reihenfolge) in DMSO-d_6

Spektren ersichtlich, bei welchem der beiden Produkte es sich um das R- bzw. S-Azid handeln dürfte, denn zu eindeutig sind hier die jeweiligen Gemeinsamkeiten bzw. Unterschiede. So zeigen die diastereotopen Protonen an Position 2 des einen Azids nahezu identische Verschiebungen und Kopplungen, vergleicht man es mit den Vorgängerverbindungen, und umgekehrt unterscheidet sich das andere signifikant in diesen Punkten, was nahelegt, daß es sich bei letzterem um das Produkt mit dem invertierten Stereozentrum handeln sollte.

Bestätigt wird dies dann durch das ROESY Spektrum, wo das Azid **27** mit den „unveränderten“ 2er Protonen, also jenes vorläufig als Azide mit Retention der Konfiguration (6,R) bestimmte, den zuvor schon erwähnte charakteristische NOE von 6-H zum Brückenkopf 7a-H aufweist. Dies läßt jetzt wiederum den Umkehrschluß zu, daß hier eine Retention der Konfiguration an C-6 zur Beibehaltung der Konformation führt. Diese zugegebenermaßen wenig überraschende Aussage, wird noch durch die Daten des 2D-ROESYs untermauert, welches einen NOE von 7-OH zu 2-H^{proR} zeigt, womit nun alle relevanten Daten (Kopplung, Verschiebung und NOEs) mit denen der Vorläufermoleküle übereinstimmen.

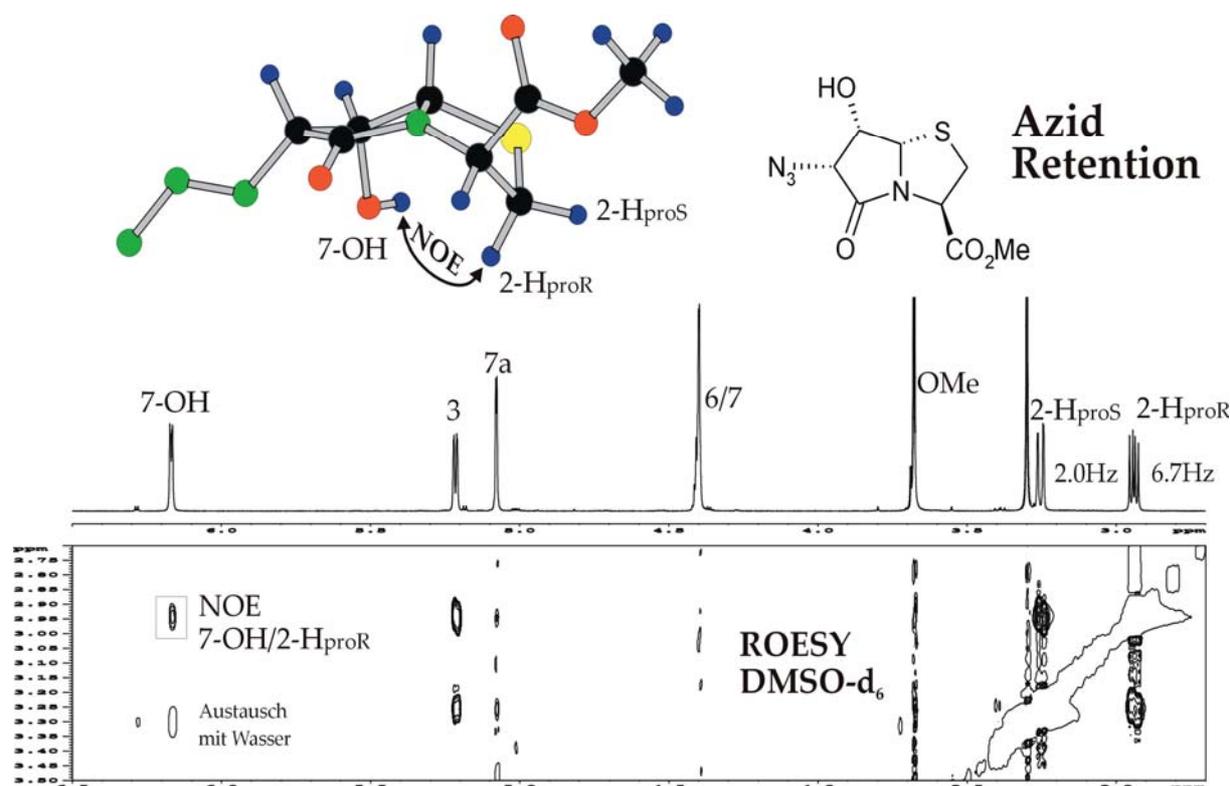


Abbildung **B.1.1.-38**: Ausschnitt des 600MHz 2D-ROESY der Verbindung **27** in DMSO-d₆ mit NOEs der Protonen an C-2. Diastereotope Zuordnung 2-H^{proS} und 2-H^{proR} über NOEs und ³J_{2,3}- Kopplungskonstanten. Darüber: Vorschlag für die Vorzugskonformation der Verbindung **27**.

Wie schon im Falle der 6,5 Bicyklen führt also auch hier eine R-Konfiguration an Position 6 zu einer einzigen Vorzugskonformation, jener mit der Methylengruppe des Thiazolidinrings nach unten.

Und noch eine weitere Gemeinsamkeit läßt sich ausmachen, so hat sich gezeigt, daß bei der 6S-Konfiguration auch hier ein Gleichgewicht hauptsächlich zweier Konformationen anzunehmen ist, da analog zu den 6,5-Bizyklen wiederum eine Mittelung der Kopplungen $^3J_{2,3}$ und des NOEs 2-H^{proS} zum Brückenkopf 7a-H zu beobachten war.

Die Argumentation kann wie schon zuvor bei den 6,5-Bizyklen geführt werden, und ist aus Abbildung B.1.1.-39. ersichtlich.

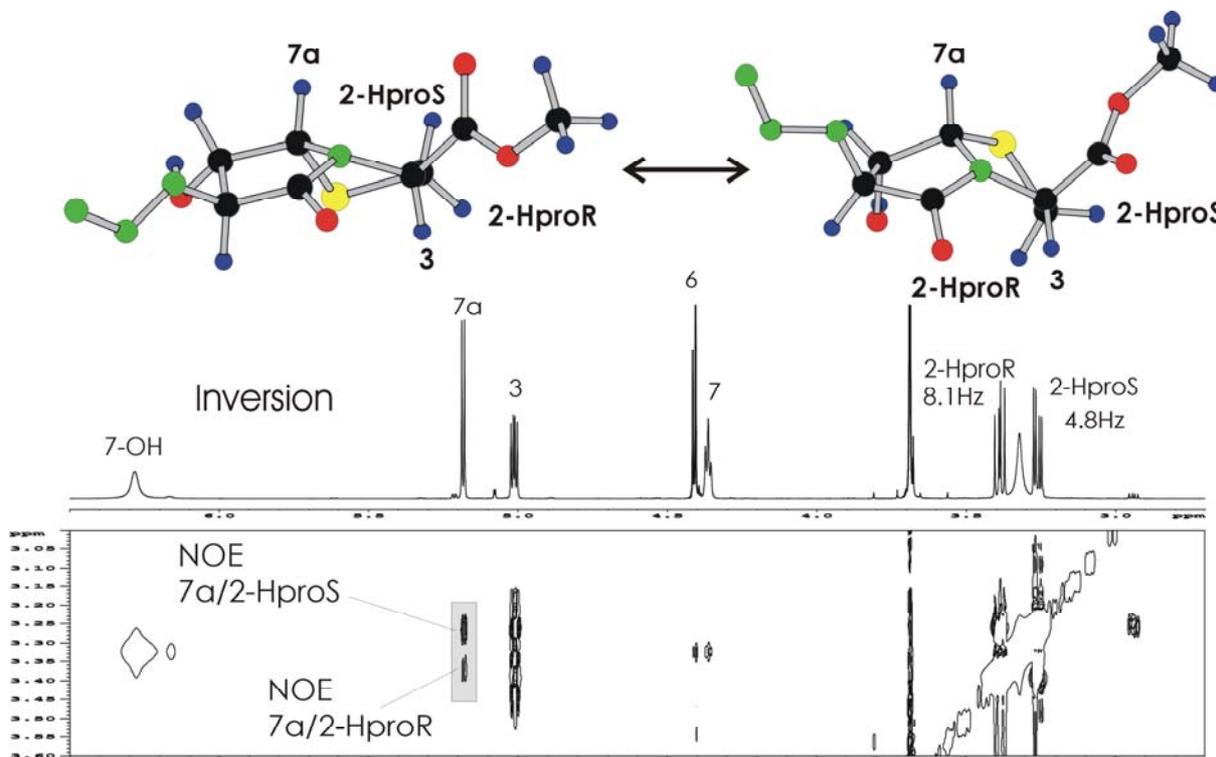


Abbildung B.1.1.-39.: Ausschnitt des 2D-Roesy 600MHz DMSO-d₆, Verbindung **26**, mit prochirale Zuordnung der diastereotopen Protonen an Position 2. Angegebene Kopplungen: $^3J_{2\text{-HproR}, 3\text{-H}}$ und $^3J_{2\text{-HproS}, 3\text{-H}}$
Darüber: Strukturen der beiden Konformere im Gleichgewicht

Bleibt noch eine Anmerkung zu den NOE-Signalen von 7a-H zu den Protonen an Position 2: Da jetzt beide Wasserstoffe der Methylengruppe ihn zeigen, ist dies hier erhaltene NOE-Muster nicht so eindeutig wie zuvor.

Die alternative prochirale Zuordnung, kann aber dennoch praktisch ausgeschlossen werden, da wäre 2-H^t jenes mit proS Konfiguration, es mit seiner 3J -Kopplungskonstante von 8.1Hz, hauptsächlich die trans-Konformation populieren müßte, dies hätte aber einen wesentlich intensiveren NOE zur Folge, welcher keinesfalls, so wie hier, kleiner als jener des zweiten Protons an Position 2 sein kann.

Somit bleiben noch, die beiden Boc-geschützten Endverbindungen **28**, deren Konformationen, aufgrund nahezu identischer Kopplungs-, Verschiebungs- und NOE-Muster, bei gleicher Konfiguration, jenen der soeben vorgestellten Azide entsprechen (wobei im Falle der 6S-Konfi-

guration, entspricht somit letzterem Azid **26**, der Fall hier sogar eindeutiger ist, da nur das 2-H^h, welchem proS-Konfiguration zugewiesen wurde, einen NOE zu 7a-H zeigt).

Da nun die Hauptsache gesagt wäre, was die strukturellen Aspekte dieses Verbindungstyps betrifft, soll dieses Kapitel hiermit beendet werden.

1.1.4.3. Nachtrag

War auch die Periodatspaltung, wie sie ursprünglich gedacht war, so nicht durchzuführen, so hieß dies aber auch, daß solch eine Reaktion mit einer gewissen Selektivität ablaufen kann. Um zu sehen wie weit diese Selektivität reicht, wurde dann noch versucht diese Umsetzung nun einmal ganz ohne Schutzgruppen zu unternehmen.

Somit wurde also jetzt das „nackte“ Gulonsäurelacton analog der bisher bekannten Reaktionen zuerst mit Periodat und dann mit Cysteinmethylester umgesetzt. Nach 2 Wochen bei RT konnte dann auch eine neue Verbindung isoliert werden, hierbei handelte es sich sogar um einen neuen Bizyklus, und diesmal war es nun ein 6,5-Thiazolidinlactam, welches sich allerdings dann doch deutlich von den bisherigen unterschied.

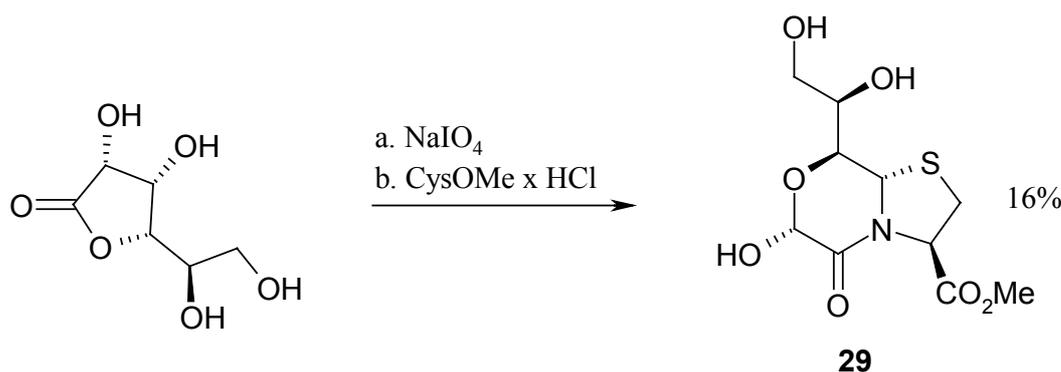


Abbildung B.1.1.-40.: Produkt nach Periodatspaltung des ungeschützten Gulonolactons und anschließender Kondensation mit Cystein.

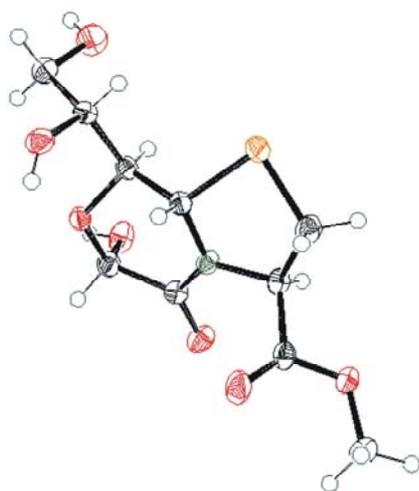


Abbildung B.1.1.-41.: Kristallstruktur von **29**

Somit wurde also der „alte Bizyklus“ durch ein Halbacetal und eine primäre OH noch um zwei funktionelle Gruppe erweitert.

In Abbildung B.1.1.-41. ist dann noch die Kristallstruktur der Verbindung **29** gezeigt.

Hierbei stellt sich unweigerlich die Frage nach dem Weg, welcher zu dieser Verbindung führte.

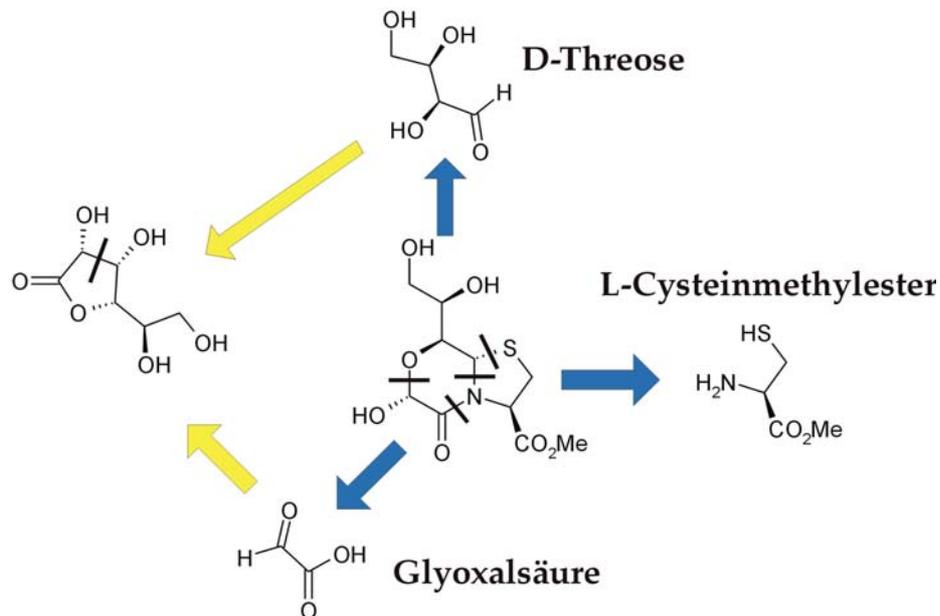


Abbildung **B.1.1.-42.**: Retrosynthetische Nachbetrachtung des Weges zum Bicyklus **29**

Hat man das Halbacetal als solches erkannt, gelangt man direkt zum Ergebnis, daß hier eine Kondensation dreier Komponenten stattgefunden haben muß, von Cystein, der Glyoxalsäure und als Zucker die D-Threose, wobei die letzten beiden Verbindungen durch Periodatspaltung an Position 2 und 3 des Gulonsäurelactons hervorgegangen sein müssen.

„Ein Experiment ist niemals bloß ein Fehlschlag, weil es nicht zu vorhergesagten Resultaten führt. Ein Experiment ist erst dann ein Fehlschlag, wenn es nichts über die Richtigkeit der aufgestellten Hypothese aussagt, wenn die Daten die es erbringt, weder in die eine noch in die andere Richtung etwas beweisen.“

Robert M. Pirsig „Zen und die Kunst ein Motorrad zu warten“

1.2. Mechanistische Studien

Wenn man daran geht, Mechanismen chemischer Reaktionen zu untersuchen, ist die Situation in gewissem Sinne immer vergleichbar mit einem Indizienprozeß vor Gericht, weder gibt es Zeugen, die den Tathergang genau schildern können, noch wird es jemals möglich sein, einem Molekül ein Geständnis hierüber abzurufen.

Zur Erweiterung der Wahrnehmung ist man im allgemeinen auf meist recht komplizierte Apparaturen, jene als Spektrometer bezeichnete Ungetüme, angewiesen, wobei die hierdurch erhaltenen Bilder, sprich Spektren, mit den viel zitierten Schatten an der Wand zu vergleichen sind, nur daß sie dann sogar noch weniger die Wirklichkeit zeigen, da sie im Gegensatz zu den Schatten, welche immerhin noch in Bewegung sind, nur Momentaufnahmen liefern können, und zumindest was die NMR-Spektroskopie betrifft, kann praktisch immer nur ein Bild von vor, oder nach der Tat erhalten werden, man somit aus dem Was passiert ist rückblickend schließen muß Wie es passiert ist.

So sieht man stets nur das Ergebnis, und kann nur versuchen, das eigentliche Ereignis immer weiter einzukreisen, bis man am Ende zu vielleicht einer Lösung kommt, welche dann aufgrund der Daten und bekannter Theorien als Reaktionsweg am plausibelsten erscheint.

Nichtsdestotrotz wurden ungeachtet der eigentlichen Sinnlosigkeit dieses Treibens, dann doch diesbezügliche Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt, da wenn auch ein Mechanismus genaugenommen nie bewiesen werden kann, es immerhin möglich ist, gewisse Einsichten über eine Reaktion zu erlangen um somit das vorhandene Modell zu erweitern oder zu verfeinern, so daß die hierbei erhaltenen Ergebnisse schlußendlich wieder direkt in die praktische Synthesearbeit einfließen können.

Betrachtet man die bisher vorgestellten Synthesen, gab es im besonderen zwei Reaktionen, welche einer genaueren Betrachtung wert waren.

Allein schon da im Prinzip die gesamte Arbeit auf dieser aufbaute, war dies zum einen die Kondensation zum Bizyklus, eine Synthese bei welcher zwei hochfunktionalisierte Edukte in hervorragender Chemo-, Regio- und Diastereoselektivität zu einem Produkt führten. Zum anderen, aufgrund unterschiedlicher Ergebnisse in der Stereochemie, die Substitution des Triflats durch das Azid, welche wie gezeigt in einem Fall, eher ungewöhnlich, unter Retention der Konfiguration erfolgte, wohingegen in den anderen Synthesen das Azid mit Inversion der Konfiguration als Hauptprodukt erhalten wurde.

1.2.1. Kondensation zum Bizyklus

Die erste Reaktion, welche untersucht wurde, war die Kondensation von γ -Glucuronolacton mit Cystein zum Thiazolidinlactam.

Erste mechanistische Studien, welche interessante Erkenntnisse über den Verlauf dieser Reaktion lieferten, wurden bereits von Frank Moser im Rahmen seiner Diplomarbeit durchgeführt [128].

Hier konnte im NMR-Versuch gezeigt werden, daß sich zuerst die beiden diastereomeren Thiazolidine, und danach erst der Bizyklus bildet. Unklar blieb, ob die Reaktion über diese Thiazolidine abläuft, sie somit die Vorstufe zum Bizyklus darstellten, oder ob es sich hierbei lediglich um eine Nebenreaktion handelt, welche, da reversibel, zur eigentlichen Kondensation keinen Beitrag liefert.

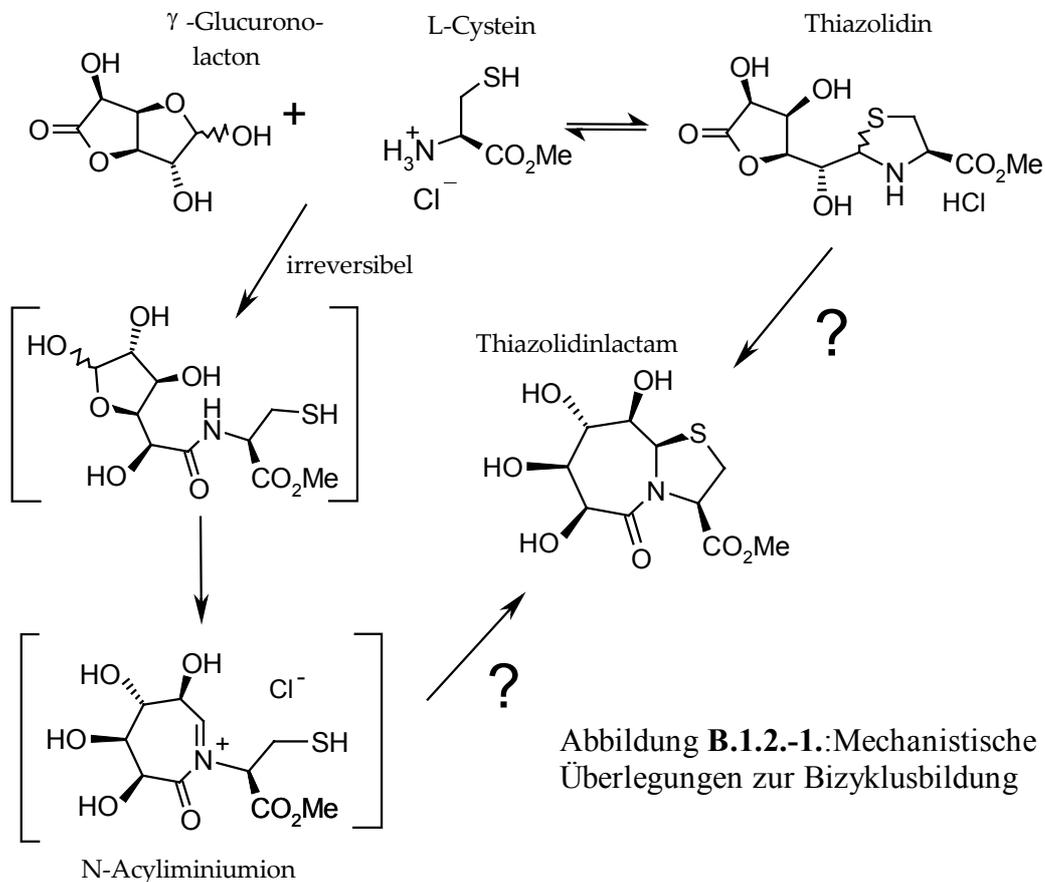


Abbildung B.1.2.-1.: Mechanistische Überlegungen zur Bizyklusbildung

Es wurde dann als möglicher Weg auch noch jener über eine Aminolyse in Betracht gezogen, wobei sich hier zunächst zwar die Thiazolidine bilden, dann aber, durch die praktisch irreversible Ausbildung eines Amids, resultierend aus einem nukleophilen Angriff der Aminogruppe des Cysteins am Carbonyl des Lactons, die beiden Edukte nach und nach aus dem Gleichgewicht mit dem Thiazolidinen entfernt werden, bis dieses praktisch verschwunden ist. Über die Zwischenstufe eines Acyliminiumions [130] sollte sich dann schlußendlich der Bizyklus bilden können (Abbildung B.1.2.-1.).

Zwar konnte prinzipiell gezeigt werden, daß die entsprechende Aminolyse möglich ist, hierzu wurde 1,2-O-Isopropyliden geschütztes γ -Glucuronolacton (also „ohne Aldehyd“) mit Cystei-

nethylester umgesetzt, womit folglich nur der Weg über die Aminolyse zur Disposition stand, das resultierende Amid war aber, auch nach Reaktionszeiten von einer Woche, nur in geringen Mengen zu isolieren, so waren die Ausbeuten immer im einstelligen Prozentbereich. Folglich waren bezüglich dieses Reaktionsweges zumindest Zweifel angebracht.

Wie aus Zweifel Gewißheit wurde soll im folgenden erläutert werden:

Grundvoraussetzung für den Weg über die Aminolyse war eine Rückreaktion der Thiazolidine zu den beiden Edukten, und genau hier an diesem Punkt galt es anzusetzen. Würde man just an dieser Stelle der Reaktion zusätzlich nochmals eines der Edukte, nur diesmal markiert, zugeben, hätte dies im Falle der Aminolyse am Ende ein Produktgemisch des markierten und nichtmarkierten Bicykluses zur Folge **B**. Das gleiche Ergebnis wäre allerdings auch bei einer Rückreaktion der Edukte zum Thiazolidin und anschließender Kondensation hieraus zum Bicyklus zu erwarten **D**, womit folglich bei diesem Ausgang des Experiments keine eindeutige Aussage möglich wäre.

Ein konkretes Ergebnis läge nur vor, wenn am Ende lediglich der unmarkierte Bicyklus zu beobachten wäre **C**, denn somit muß diese Reaktion direkt vom Thiazolidin zum Bicyklus erfolgt sein, der Weg über eine Aminolyse wäre somit auszuschließen.

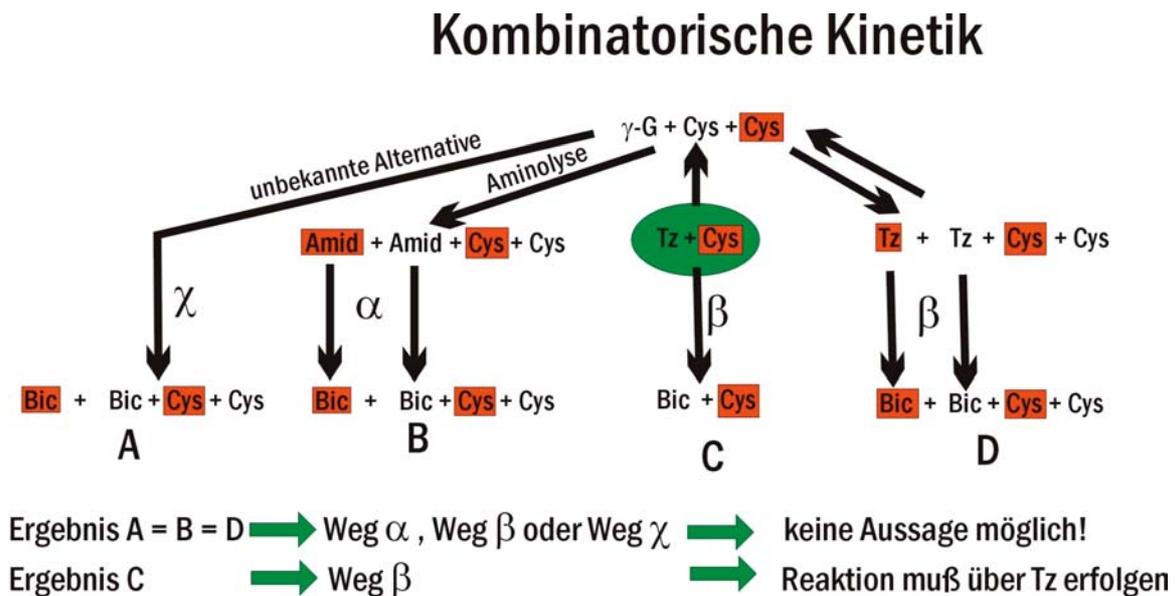


Abbildung **B.1.2.-2.**: mögliche Reaktionswege der Bicykluskondensation
 Roter Kasten: markiert, grünes Ei: Startpunkt der Kinetik
 Tz: Thiazolidine, Bic: Bicyklus, γ -G: γ -Glucuronolacton
 Amid: aus der Aminolyse resultierenden Verbindung (siehe Abbildung **B.1.2.-1.**)

Somit war also der Weg den es zu beschreiten galt folgender: Nach einer Konkurrenzreaktion der Thiazolidine mit einem Edukt, welches es vorher in irgend einer Weise zu markieren galt, sollte eine Analyse der hierbei erhaltenen Produkte erfolgen. Weitere Informationen sollten dadurch gewonnen werden, daß, wenn möglich, schon während der Reaktion eine Aufnahme von NMR-Spektren erfolgt.

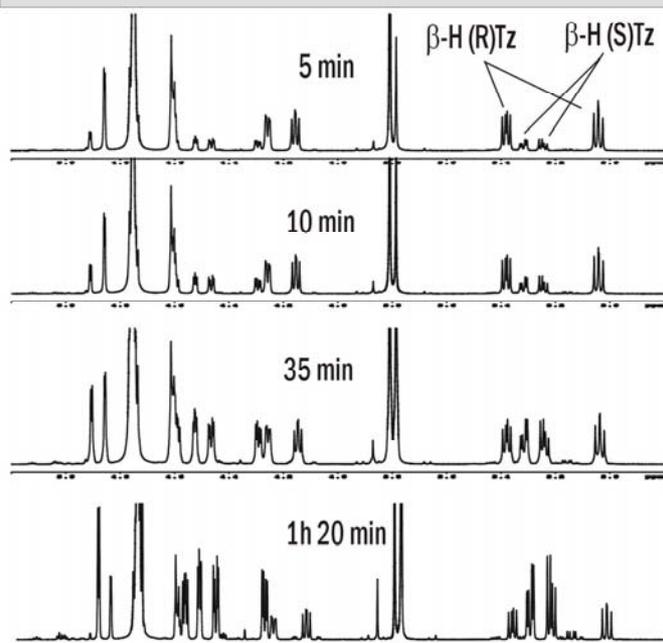
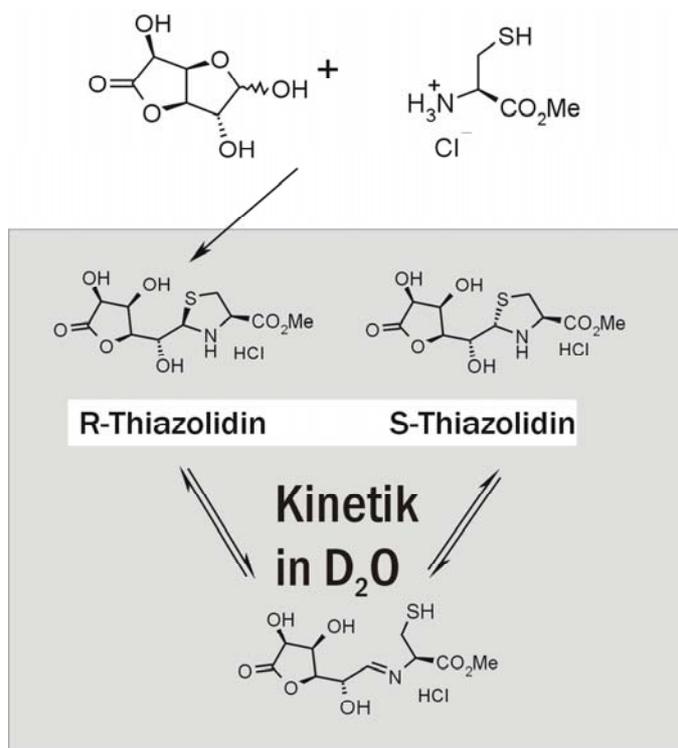


Abbildung B.1.2.-3.: 600MHz ¹H-NMR. Kinetik der Gleichgewichtseinstellung der Thiazolidine in D₂O

Zunächst mußten also die intermediären Thiazolidine als Reinsubstanz erhalten werden.

Die Lösung hierzu war erfreulich einfach, da ab und an beobachtet werden konnte, wie sich bei der Synthese zum Bicyklus zuerst ein Niederschlag bildete, welcher dann nach einiger Zeit wieder in Lösung ging, war die Vermutung, daß es sich hierbei um eben die besagten Thiazolidine handeln könnte.

Um dann diesen Niederschlag gezielt zu erhalten, wurde die Reaktion bei sehr hohen Konzentrationen durchgeführt, was schließlich auch zu dem gewünschten Ergebnis führte.

Es konnte in diesem Fall wohl sogar nahezu selektiv das R-Epimer **30** gefällt werden, zu diesem Schluß führte zumindest das NMR Spektrum in D₂O. Dieses zeigte zwar auch einen geringen Anteil des S-Thiazolidins, welches aber wahrscheinlich erst in der Zeit von der Präparation der Probe bis zum ersten Spektrum entstanden war. Es wurde dann auch in mehreren, zeitlich nacheinander aufgenommenen Spektren beobachtet, daß sich in Wasser vergleichsweise schnell ein Gleichgewicht der beiden Epimere ausbildet, bis am Ende mit 5:2 dann jenes mit S-Konfiguration an Position 1* überwiegt.

Diese Gleichgewichtseinstellung war in sofern von Interesse, als daß sie zum einen zeigte, daß später beim eigentlichen Experiment, der Konkurrenzreaktion, diese zweite Reaktion auch mit einbezogen werden muß, und zum anderen, daß mit dem Imin noch ein weiterer Kandidat vorhanden ist welcher gleichfalls für den Mechanismus der Kondensation zum Bicyklus ins Kalkül gezogen werden muß.

* „Zuckerzählweise“: 1 ist Position des (vormaligen) Aldehyds (siehe auch Abbildung B.1.2.-10.).

Der nächste Punkt welcher jetzt anstand, war eines der Edukte so zu markieren. Nicht ohne Grund, war es in Abbildung **B.1.2.-2.** das Cystein welches in diesem Schema die Rolle der markierten Verbindung übernahm, denn der einfachste Weg, eines der beiden Edukte ohne größeren Einfluß auf seine Reaktivität so zu verändern, daß gleichzeitig eine Unterscheidung im NMR möglich ist, bestand darin, da das Thiazolidin als Methylester vorliegt, in der Konkurrenzreaktion nun den Ethylester des Cysteins einzusetzen.

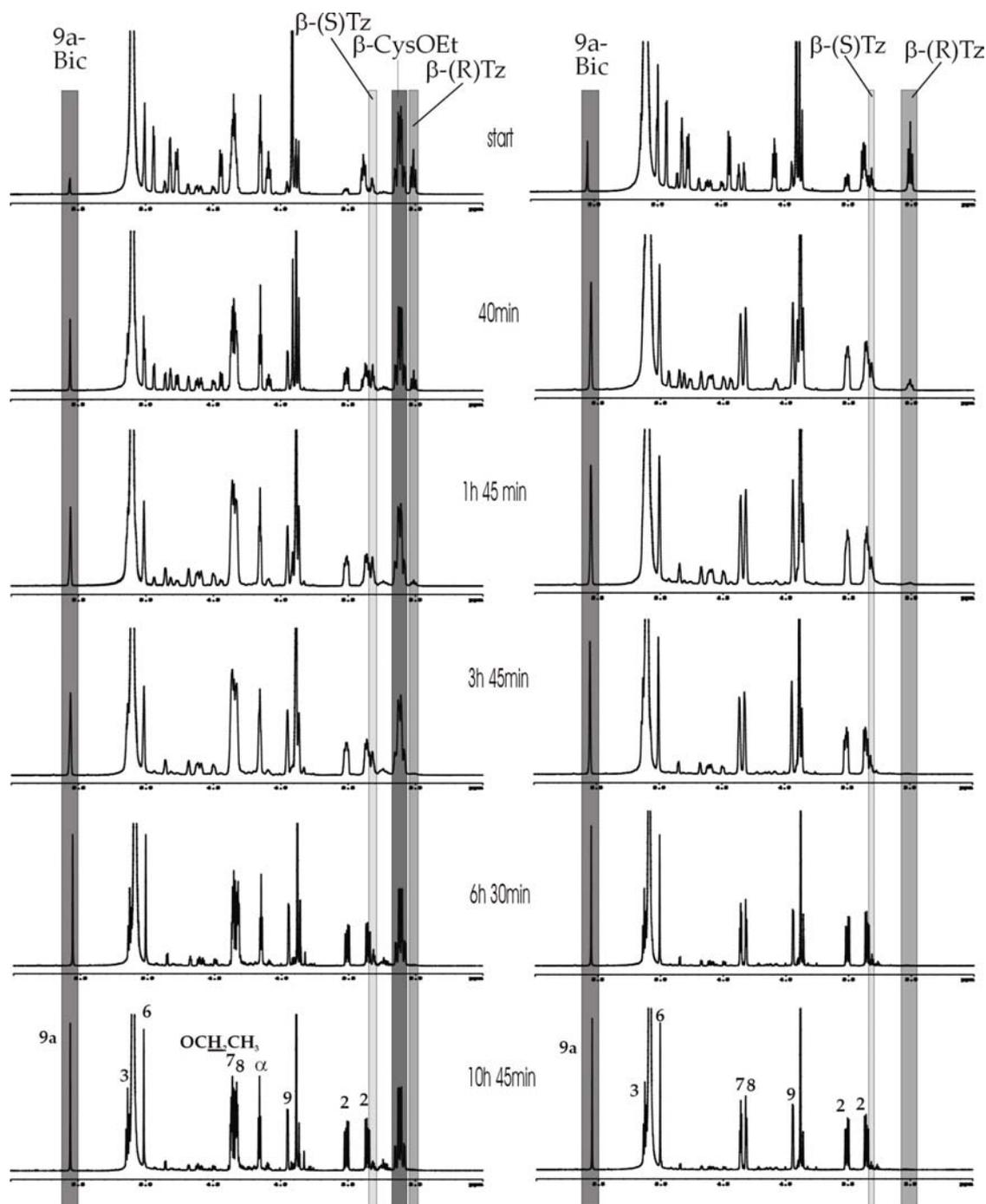
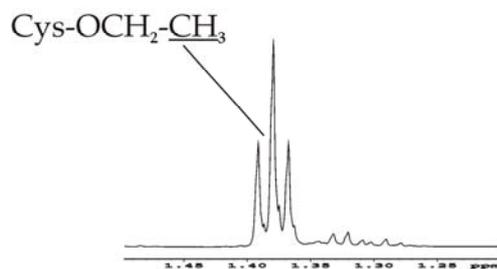


Abbildung **B.1.2.-4.**: links: ^1H -NMR Spektren 600MHz, Konkurrenzreaktion der Thiazolidine (Tz) mit CysOEt zum, am Ende, Bicyclus **1** (Bic) und CysOEt, in $\text{D}_2\text{O}/\text{Pyridin-}d_5$ 10:1.
rechts: ^1H -NMR Spektren 600MHz, Kondensation der Thiazolidine (Tz) zum Bicyclus **1** (Bic), in $\text{D}_2\text{O}/\text{Pyridin-}d_5$ 10:1.

Es wurden schließlich zwei Experimente durchgeführt, beide in Abbildung **B.1.2.-4.** zu sehen, wobei zum einen nur das Thiazolidin in D₂O/Pyridin 10:1 umgesetzt wurde, und zum anderen, im linken Teil der Abbildung zu sehen, die besagte Konkurrenzreaktion, das Thiazolidin zusammen mit CysOEt.

Wie zu erkennen reagierten in beiden Fällen die Thiazolidine nahezu vollständig ab, und zwar zu nur einer neuen Verbindung, dem Bizyklus mit dem Methylester (Um auszuschließen, daß sich nicht doch ein zweiter Bizyklus gebildet hatte, welcher in Folge Signalüberlagerung nicht von den anderen beiden Verbindungen zu unterscheiden war, wurde am Ende der Kinetik, zur Kontrolle, noch der Bizyklus mit dem Ethylester **40** zugegeben, also das mögliche zweite Produkt, welcher dann auch als komplett neuer Signalsatz erkennbar war. Am besten zu sehen am neuen CH₃-Signal seines Ethylesters, das sich in seiner Verschiebung eindeutig von jenem des Cysteimethylesters unterschied, Abbildung **B.1.2.-5.**).

Ende der Kinetik



Kontrolle

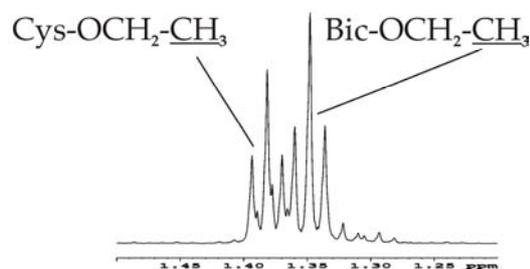


Abbildung **B.1.2.-5.**:
oben: 600MHz ¹H-NMR am Ende der Konkurrenzreaktion
unten: 600MHz ¹H-NMR der selben Probe, nach Zugabe von BicOEt **40**

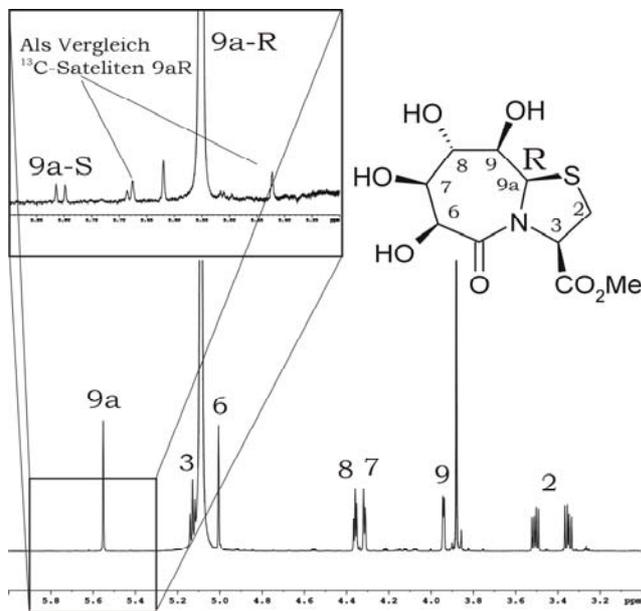


Abbildung **B.1.2.-6.**: Diastereomerenverhältnis anhand der Intensitäten 9a-H(R) zu 9a-H(S)
¹H-NMR 600MHz D₂O/Pyridin 10:1 Am Ende der Kinetik

Somit wurde klar gezeigt, daß die Bizyklusbildung, unter diesen Bedingungen, nicht über die postulierte Aminolyse erfolgt sein konnte.

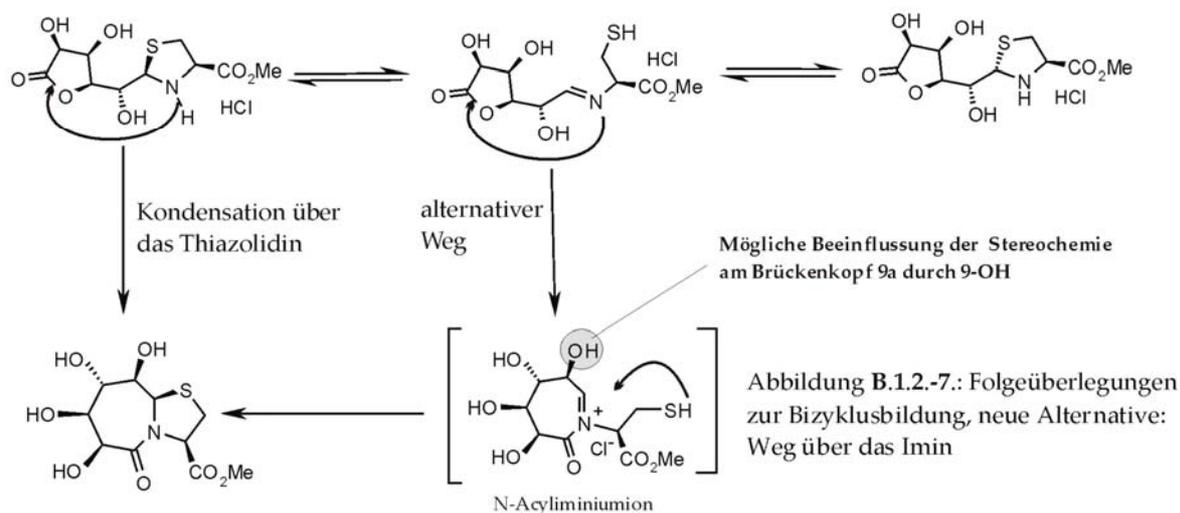
Eine weitere Information, welche dieser Reaktionskinetik noch zu entnehmen war, war die hervorragende Diastereoselektivität bezüglich des neuen stereogenen Zentrums 9a, von ca. 99:1, wie ein Vergleich der Intensität der beiden 9a-H Signale zeigte (Abbildung **B.1.2.-6.**).

Mit dem so erzielten Ergebnissen wurde es dann damit belassen.*

* Die vergleichbare Kinetik, anhand des Thiazolidins des Arabinuronolactons (Kondensation zum 6,5-Bizyklus), brachte keine wesentlich neuen Ergebnisse. Sie zeigte lediglich, daß die Kondensation hier wesentlich langsamer von statten geht, auch war kaum Epimerisierung des Edukts zu beobachten (Kinetik in D₂O/Py 10:1). Die ebenfalls durchgeführte Konkurrenzreaktion, war wenig aussagekräftig, da infolge der langen Reaktionszeit Hydrolyse aller Komponenten einsetzte, was eine genaue Zuordnung der Signale erschwerte, und somit zu keinem eindeutigen Ergebnis führte.

Nichtsdestotrotz kann man sich fragen, wie es von diesem Punkt an jetzt weiter möglich wäre, noch mehr über diese Reaktion in Erfahrung zu bringen.

Eine Option wäre, jetzt wiederum eine neu Hypothese aufzustellen, um diese mit dem in diesem Fall übriggebliebenen Weg in den Wettbewerb zu stellen, um anschließend durch ein entsprechendes Experiment wiederum einen davon zu eliminieren, und so fort.



Ein Ansatzpunkt hierzu könnte darin bestehen, eine plausible Alternative zum direkten Ringschluß über das Thiazolidin zu suchen.

Wie zuvor schon erwähnt, ist, wenn Überlegungen zum Mechanismus der Bicyklusbildung angestellt werden, auch das Imin mit in Betracht zu ziehen. Dieses wäre nun gleichfalls in der Lage, nukleophil am Carbonyl anzugreifen, das hieraus resultierende Acyliminiumion wäre dann als Zwischenstufe zum Bicyklus denkbar (Abbildung 1.2.-7.).

Das Vorhandensein dieses Intermediats könnte auch als Erklärung dafür dienen, daß die Ausbildung des neuen stereogenen Zentrums am Brückenkopf, unabhängig von der Art des Aminothiols (D oder L-Cys, D-Pen, o-Mercaptoanilin oder Cysteamin), bei Einsatz verschiedener Zucker (Gluco-, Mano- oder Arabinuronsäure), immer so erfolgte, daß der Schwefel syn zur benachbarten Hydroxylgruppe stand, man dieser somit möglicherweise dirigierende Funktion zuschreiben kann. Denn im Falle dieses Acyliminiums kann man sich dann sehr gut vorstellen, daß diese eben angesprochene Hydroxylgruppe einen Einfluß auf den angreifenden Schwefel ausüben in der Lage sein könnte.

1.2.2. Azideinführung

Der nächste nun folgende Punkt, wären Fragen zum Mechanismus der Azideinführung. Wie berichtet, führte diese Reaktion, im Fall der vorgestellten Bicyklen, unter vergleichbaren Bedingungen (Triflat als Abgangsgruppe, NaN₃ als Nukleophil, Lösungsmittel DMF), zu unterschiedlichen Ergebnissen in der Stereochemie, so konnte zwei mal hauptsächlich das Produkt mit Inversion der Konfiguration an C-6 erhalten werden, und im Falle des 7,5-Bicyklus war ausschließlich jenes unter Retention zu isolieren, was auch die Ausnahme blieb, weshalb letztere Reaktion auch den Anfang machen wird.

Die Durchführung des Experiments hierzu war vergleichsweise simpel, zum gelösten Triflat **2** in DMF-d₇/DMSO-d₆ 3:2, wurden 2eq. Natriumazid gegeben und anschließend, zeitlich gestaffelt, mehrere ¹H-NMR Spektren und, zur genauen Charakterisierung, auch mehrere 2D-NMR-Spektren aufgenommen.

Dies führte dann zu einigen Überraschungen, so zeigte sich recht schnell, daß hier nicht nur Edukt und Produkt mit im Spiel waren, sondern es konnten nach einiger Zeit die Signalsätze fünf verschiedener Verbindungen gezählt werden (möglicherweise sogar noch einer mehr, Pfeil in Abbildung **B.1.2.-8**).*

Das zweite Überraschende war, daß es sich hierbei nicht um Produkte etwaiger Nebenreaktionen handelte, sondern die Tatsache, daß am Ende der Kinetik, nur eine einzige Verbindung, das erwartete Produkt, zu detektieren war, ließ darauf schließen, daß alle somit auch an der Reaktion beteiligt waren. In Abbildung **B.1.2.-8** sind dann die aufgenommenen ¹H-Spektren dargestellt.

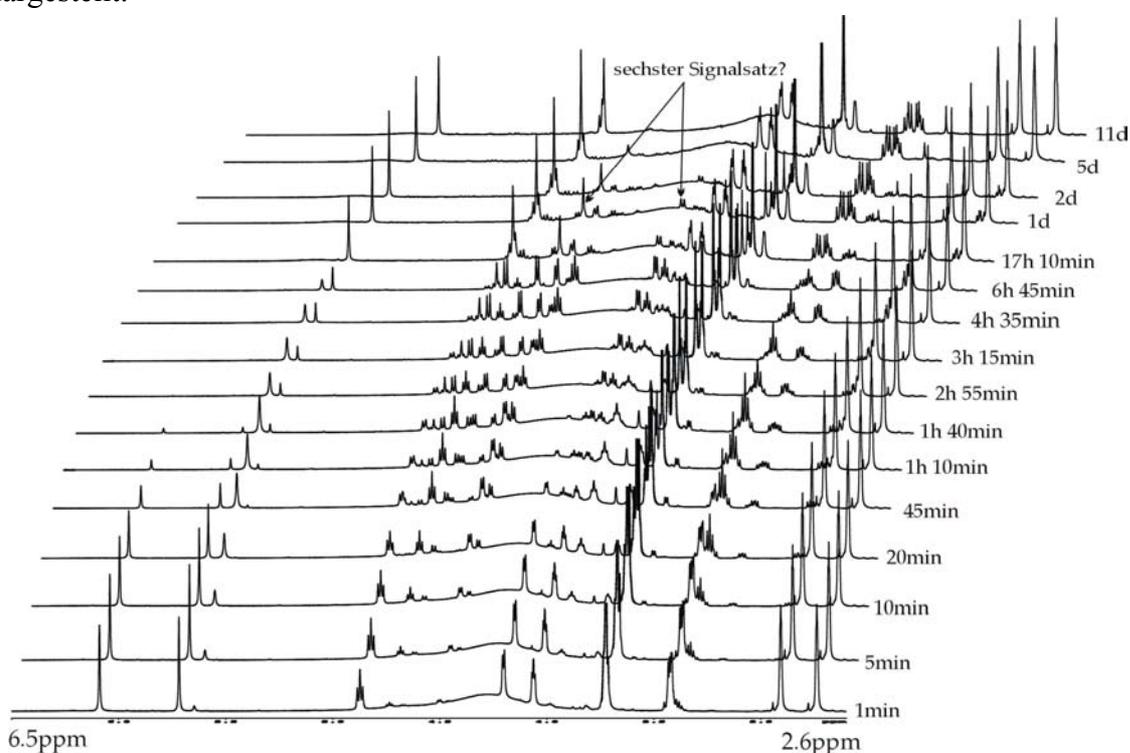


Abbildung **B.1.2.-8**: ¹H-NMR 600MHz DMF-d₇/DMSO-d₆ 3:2, Kinetik der Azideinführung, **2** + NaN₃.

Nun galt es also herauszufinden, welches die noch unbekanntten Verbindungen waren, und welche Rolle sie für den Mechanismus dieser Reaktion spielen könnten.

Das erste, was festgestellt werden konnte, und dies ist in der Abbildung **B.1.2.-9** gezeigt, war, daß das Edukt relativ schnell abreagierte, eine zweite Verbindung entstand, und zum Schluß eine übrig blieb, welche nicht aus der zweiten Verbindung hervorgegangen sein kann, da letztere noch im Entstehen war, als die zweite praktisch schon nicht mehr beobachtet werden konnte. In dieser Lücke müssen nun die noch fehlenden Verbindungen ihren Platz finden.

* Der angezeigte mögliche weitere Signalsatz, kurz vor Ende der Kinetik, bereitet in sofern Probleme, als daß ihm nur zwei Signale als sicher zugeordnet werden können, was definitiv zu wenig für ein weiteres Intermediat wäre. Des weiteren wurde versäumt etwaige 2D-Spektren aufzunehmen, welche genauere Informationen hätten liefern können, da dieser Umstand erst nach Ende der Kinetik bemerkt wurde, als es hierfür schon zu spät war.

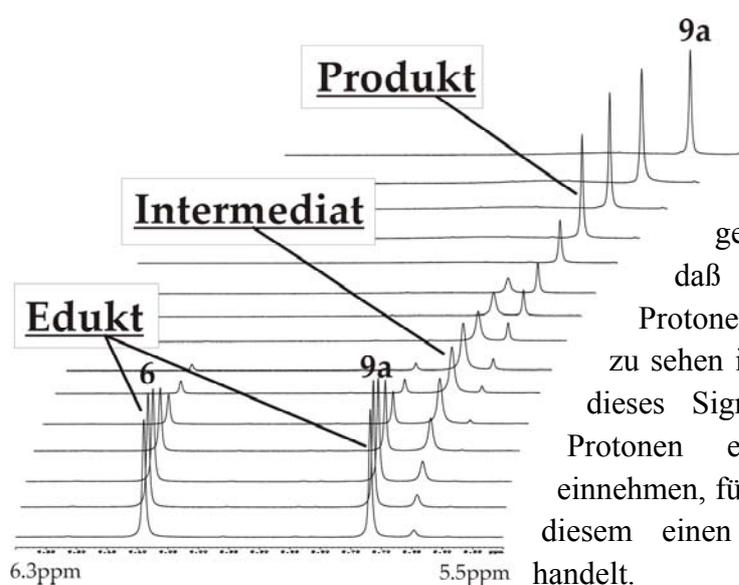


Abbildung B.1.2.-9.: Ausschnitt aus B.1.2.-8.

Den ersten Hinweis auf diese neuen, im Rahmen dieser Kinetik beobachteten Verbindungen, gibt schon das einzige, neben Edukt und Produkt, neue Signal in diesem gezeigten Ausschnitt. Denn gerade, daß lediglich dieses im Bereich der 9a Protonen zu detektieren ist, noch deutlicher zu sehen im HMQC Abbildung B.1.2.-11., wo dieses Signal und die beiden anderen 9a-Protonen einen nahezu separierten Platz einnehmen, führt zur Annahme, daß es sich nur bei diesem einen Intermediat um einen Bizyklus handelt.

Des weiteren läßt sich über diese erste Verbindung sagen, daß sich es ziemlich sicher um kein Triflat mehr handeln kann, da C-6 im ^{13}C -Bereich im Vergleich zum Edukt um über 15ppm Hochfeld verschoben ist, es paßt mit einer Verschiebung von nunmehr 65ppm wesentlich besser auf das Kohlenstoffsignal z.B. einer CH-N_3 -Gruppe.

Vor allem aber zeigt dieser neue Bizyklus eine Besonderheit vergleicht man ihn mit den anderen, denn, lassen sich auch sonst alle Daten mit denen der anderen Bizyklen gut in Einklang bringen, unterscheidet er sich doch in einem wichtigen Punkt, so ist hier H-6, im Gegensatz zu z.B. Edukt oder Produkt, in das Spinsystem von H-7/8/9 integriert (siehe COSY Abbildung B.1.2.-10.), und kann so, mit seiner Kopplung von nunmehr $^3J_{6,7} = 6.8\text{Hz}$, nicht mehr im selben Winkel zu seinem Nachbarproton stehen, wie dies in all den anderen Fällen zu beobachten ist. Hierfür wäre die nächstliegende Erklärung eine Änderung der Konfiguration an dieser

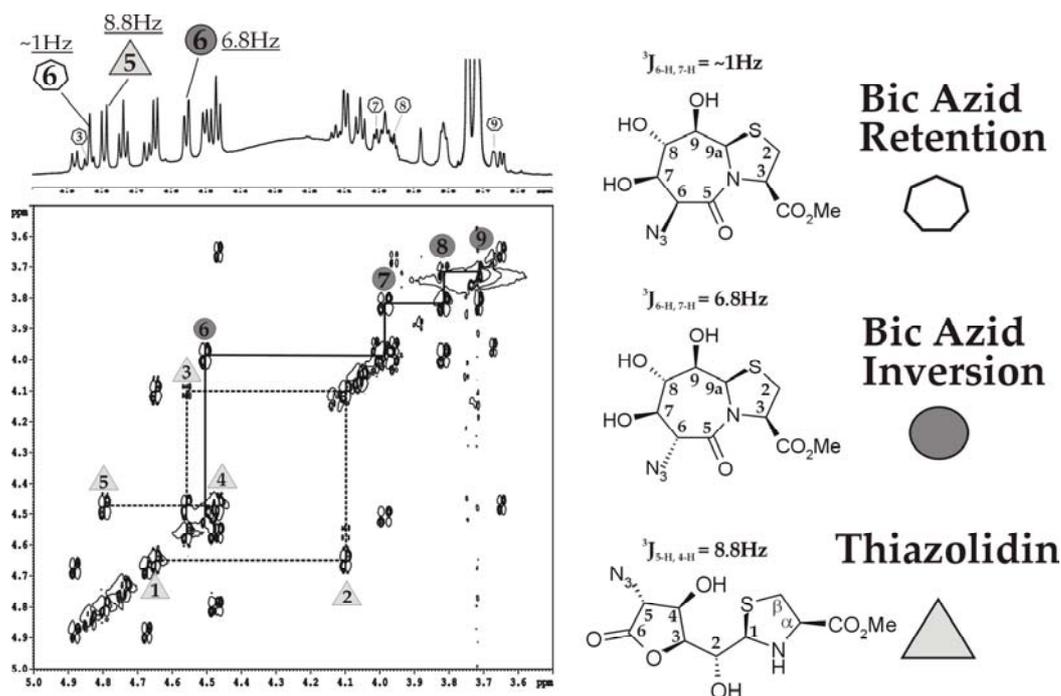


Abbildung B.1.2.-10: DQF-COSY 600MHz DMF-d₇/DMSO-d₆ 3:2/ Kinetik Triflat **2** + NaN₃, nach 3h 15min (Dauer der Messung 1h 20min), Eichung: auf DMF-d₇

Position, womit die plausibelste Lösung jetzt darin läge, für diese Verbindung das Azid des Bizykluses unter Inversion der Konfiguration an C-6 anzunehmen.

Blieben somit noch 2 Signalsätze, welche sich von ihrem „Fingerabdruck“ im HMQC (Abbildung B.1.2.-11.) eindeutig von jenen der Bizyklen unterschieden, und auf den ersten Blick auf die Thiazolidine zu passen schienen, so korrelierten sowohl die Verschiebungen von CH- α und CH₂- β , als auch die beiden Signale bei rund 80ppm*, welche für das CH-3 des Lactons sprechen, sehr gut mit dem, was für diesen Verbindungstyp bekannt ist.

Durch Kombination der Daten aus HMQC und COSY-Spektren, konnte dann auch eine der Verbindungen als Thiazolidin identifiziert werden. Es handelt sich hier um das in beiden Abbildungen gezeigte Thiazolidin, mit einem 5(R)Azid, wobei die Zuordnung der Stereochemie des Azides auf die große Kopplung von $^3J_{5-H, 4-H} = 8.8\text{Hz}$ gründete**, womit auch noch ein

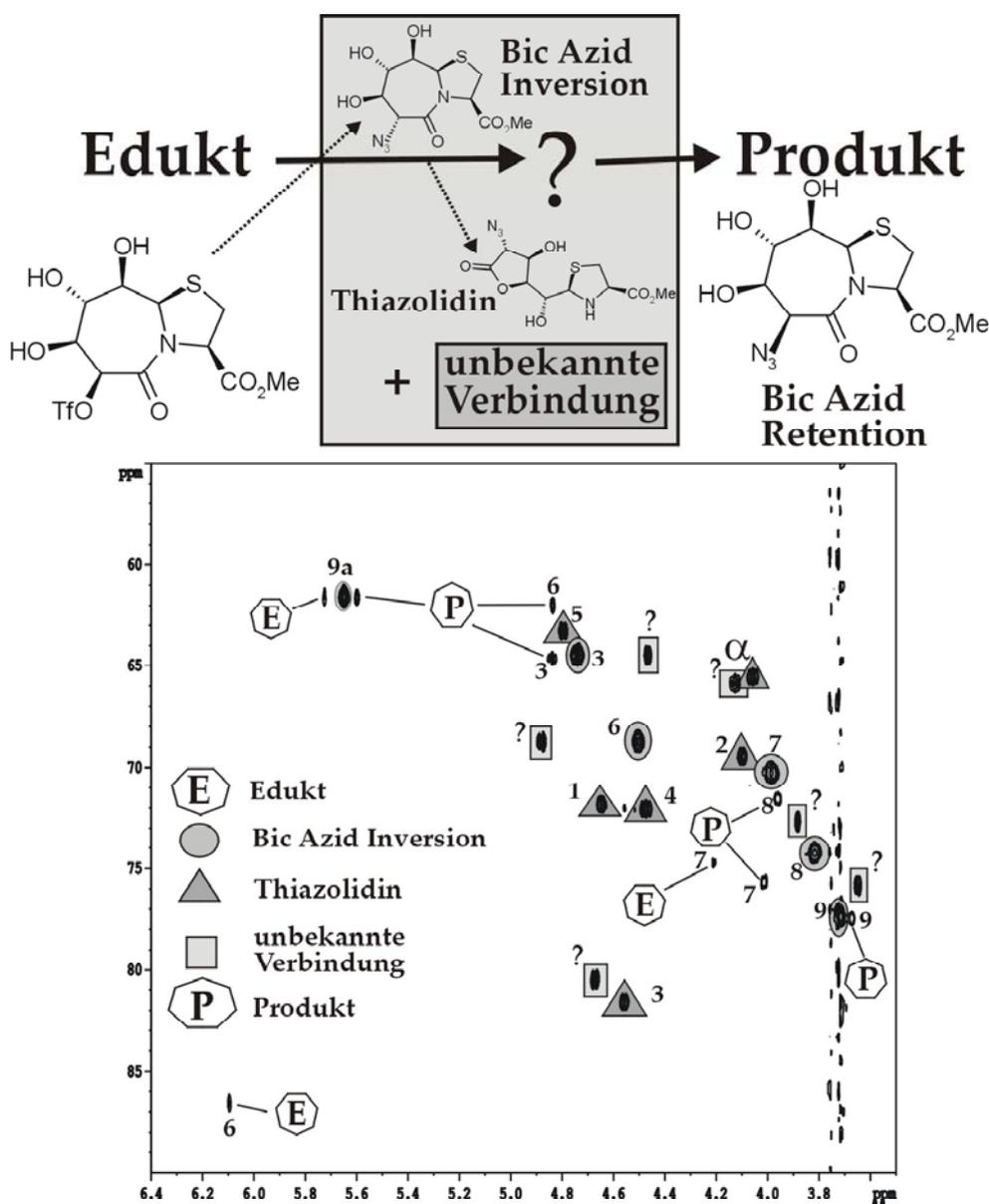


Abbildung B.1.2.-11.: HMQC 600MHz DMF-d₇/DMSO-d₆ 3:2/ Kinetik Triflat **2** + NaN₃, nach 1h 45min (Dauer der Messung 1h 15min), Eichung: auf DMF-d₇

* Alle Spektren dieser Kinetik wurden auf DMF-d₇ geeicht CH₃¹ = 2.74ppm ¹H (30.1ppm ¹³C)

** Zum Vgl. $^3J_{4-H, 5-H} = 4,4\text{Hz}$ für das unmodifizierte Thiazolidin **30**

weiteres gewichtiges Argument für den Bizyklus mit Inversion der Konfiguration an Position 6 als erstes Zwischenprodukt gebracht wäre.

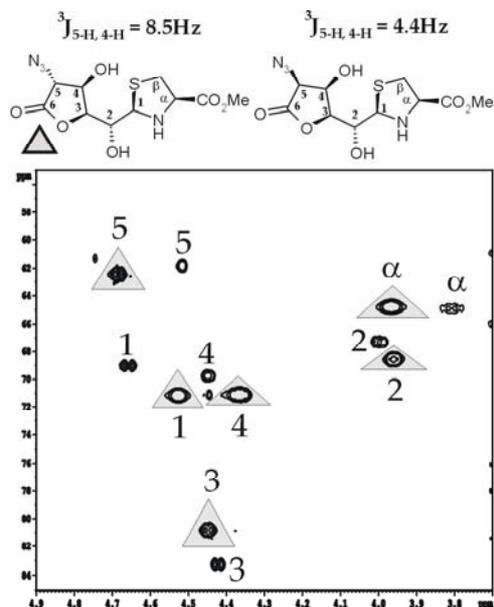


Abbildung B.1.2.-12. HMQC 600MHz DMSO_{d6} der Thiazolidine **31**

Naheliegender wäre jetzt, davon auszugehen, daß es sich bei der letzten noch verbleibenden Verbindungen um das hierzu epimere Thiazolidin handelte, zumal die charakteristischen Daten (CH- α , CH₂- β und ein CH-Signal im Lactonbereich 4.7/81ppm) für eben solch eine Verbindung sprachen, vor allem da später noch beide Epimere der Thiazolidine isoliert werden konnten.*

Dies kann aber ziemlich sicher ausgeschlossen werden, da sich die beiden Signalsätze, betrachtet man die restlichen Signale, zu eindeutig voneinander unterschieden. Denn wie auch das HMQC der beiden später isolierten Verbindungen **31** in DMSO_{d6} zeigte (Abbildung B.1.2.-12.), ist natürlich eine geringe Divergenz zu beobachten, welche aber bei weitem nicht so ausgeprägt ist wie im fraglichen Fall.

Da auch das COSY-Spektrum keine weiteren Erkenntnisse lieferte, bleibt somit vorerst im Dunkeln, um welche Verbindung es sich hierbei handeln könnte.

Welche Aussagen lassen nun aber die beiden identifizierten Intermediate zu? Die plausibelste Lösung ist sicherlich, anzunehmen, daß sich zuerst das Azid des Bizyklus unter Inversion der Konfiguration bildet, wobei dann nach einiger Zeit eine Öffnung des Siebenringes erfolgen muß**, denn anders ist die Entstehung des Thiazolidins nicht zu erklären, alles weitere ist dann reine Spekulation. Fakt ist nur, am Ende liegt dann nahezu ausschließlich das Azid des Bizyklus unter Retention der Konfiguration vor.

Dies führt somit direkt zur nächsten Frage, nach dem Grund für die Öffnung des Lactams. Hierfür könnte die Erklärung darin liegen, daß durch die angenommene Substitution des Triflats durch das Azid, bei Erhalt der Konformation, nun zusätzlich zu den drei Hydroxylgruppen, noch ein weiterer axialer Substituent hinzukommt, so destabilisiert öffnet sich der Siebenring und das Thiazolidin entsteht (Abbildung B.1.2.-13.)

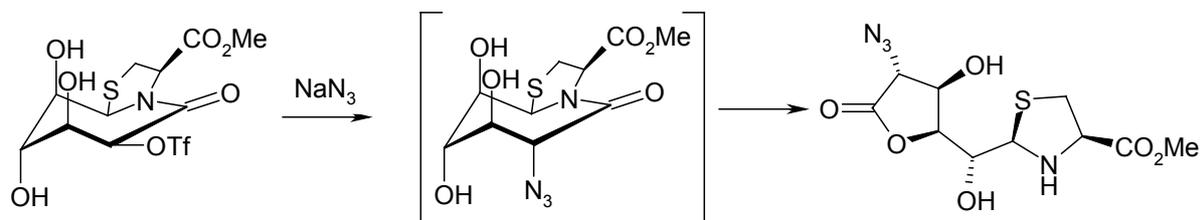


Abbildung B.1.2.-13.: Mögliche Begründung für die Entstehung des Thiazolidins

* Das Ergebnis, der Kinetik war auch in sofern überraschend, da während der Reaktion immer nur 2 Punkte auf dem DC (EE:Tol 9:1) zu detektieren waren, was daran lag, daß wie sich dann herausstellte, eben diese beiden Thiazolidine, unter diesen Bedingungen, das gleiche Laufverhalten zeigten wie das Edukt, das Triflat **2**.

** Es ist natürlich nicht auszuschließen, daß teilweise, in geringem Maße, dieser Bizyklus schon epimerisiert, man somit auch auf diesem Weg, direkt zum Produkt kommt.

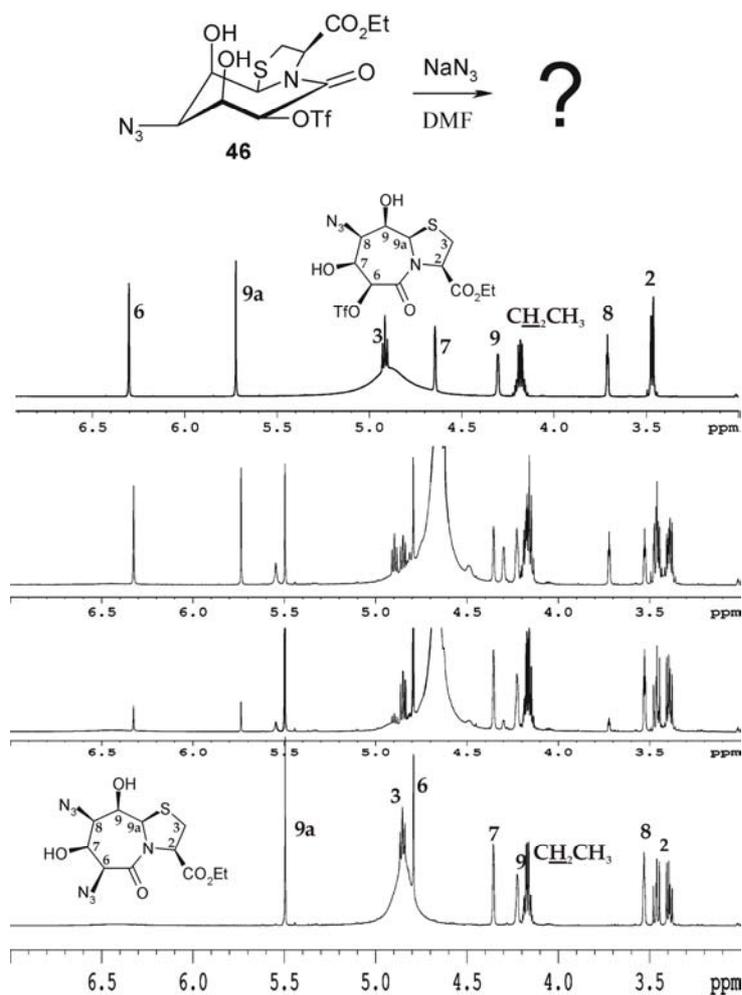


Abbildung B.1.2.-14.: 600MHz ^1H -NMR Spektren der Reaktionskinetik Triflat **46** + NaN_3 in DMF-d_7

Das hierbei erhaltene Ergebnis bestätigte dann in sofern die zuvor aufgestellte Hypothese, als daß jetzt keine Intermediate beobachtet werden konnten, welche für ein Thiazolidin sprechen würden. Auch konnte nur ein neuer Signalsatz detektiert werden, jener des Azides, aber wiederum erfolgte hier die Azideinführung unter Retention, darauf weisen sowohl das Signal des Protons an Position 6, welches weiterhin aufgrund seiner kleinen Kopplung zu 7-H als Singulett erscheint, sowie dessen NOE zu 9a-H (Abbildung B.1.2.-15.), der ganz eindeutig dafür spricht, daß 6-H weiterhin, wie im Edukt, eine axiale Position einnimmt.

Als Fazit bleibt also vorerst, daß beim zuvor gezeigten Triflat **2** nach Substitution durch ein Azid unter Inversion, eine Öffnung des Thiazolidinlactams erfolgt, wobei sich zumindest eines der Thiazolidine bildet. Am Ende ist dann wieder ein Thiazolidinlactam **3** zu beobachten, wobei infol-

Stimmt diese Theorie, so müßte ein entsprechender Bicyklus, welcher statt eines axialen nun einen äquatorialen Substituenten aufweisen würde, sich möglicherweise in seinem Reaktionsverhalten unterscheiden.

Denn nach soeben gebrachten Überlegung, müßte der resultierende Bicyklus nach der Azideinführung, mit dann nur noch drei axialen Substituenten, somit stabiler sein, als das bei der Kinetik zuvor postulierte Azid mit deren vier, so daß die Reaktion möglicherweise nunmehr auf dieser Stufe stehen bleibt.

Als Edukt für die nun folgende Kinetik wurde Verbindung **46** ausgesucht, welche gelöst in DMF-d_7 wieder mit Natriumazid versetzt wurde, wobei dieses mal, die Probe auf 50°C erwärmt werden mußte, da bei RT keine Reaktion zu beobachten war.*

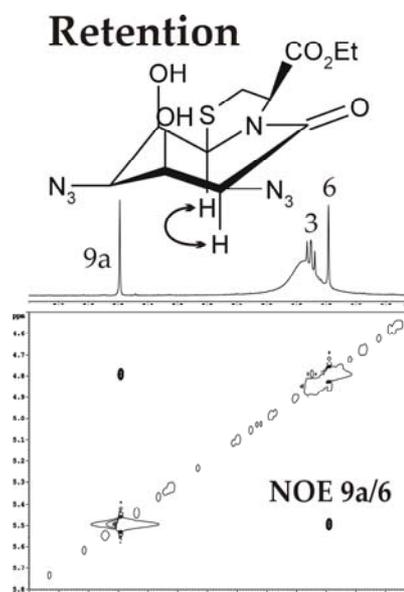


Abbildung B.1.2.-15.: Ausschnitt 600MHz ROESY am Ende der Kinetik **46** + NaN_3 in DMF-d_7 , NOE 9a/6 zur Zuordnung der Konfiguration an C-6

* Ein Indiz dafür, daß durch einen zusätzlichen äquatorialen Substituenten der Bicyklus noch stabiler ist.

ge der hohen Azidität an Position 6 eine Epimerisierung dieses Zentrums erfolgte. Da der zuvor als erste Verbindung zu beobachtende Bicyklus, wahrscheinlich das Azid, mit Inversion an Position 6 im weiteren Verlauf der Reaktion nicht mehr beobachtet werden konnte, ist die plausibelste Lösung, anzunehmen, daß diese Epimerisierung an einem der folgenden Intermediate stattfand, zumal die Azidität dieser Position bei den Thiazolidinen, durch das Lacton, noch weiter zunimmt.

Bei der zweiten gezeigten Reaktion sind dann nur Edukt und Produkt, also keine Thiazolidine mehr zu beobachten, wobei sie natürlich nicht ganz auszuschließen sind, da es denkbar wäre, daß in folge des Umstands, daß das Fünfringlacton nun nicht mehr möglich ist, der Ringschluß zurück zum Lactam in diesem Fall jetzt wesentlich schneller erfolgt. Fest steht, am Ende führt die Reaktion wieder zum Azid unter Retention.

Mit diesen Erkenntnissen soll der Hauptteil dieses Kapitels beendet werden, auch wenn noch viele Fragen hierzu offen bleiben, wie natürlich nach dem nicht identifizierten Intermediat, erfolgt die Rekondensation zum Bicyklus aus dieser Verbindung, wo erfolgt genau die Epimerisierung etc....

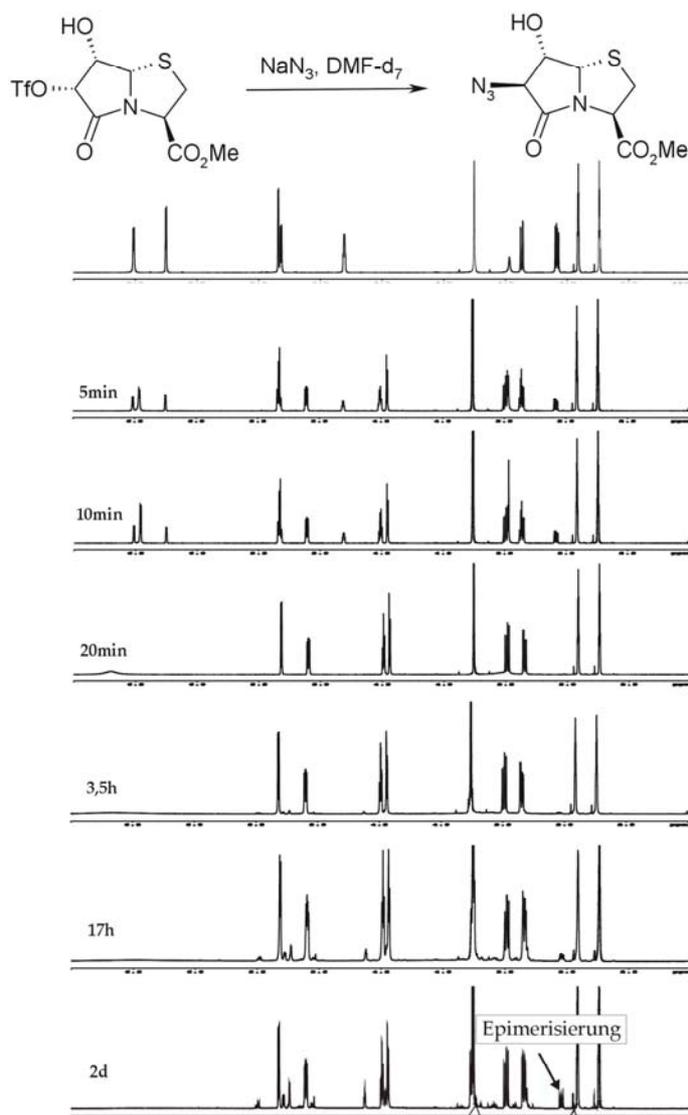


Abbildung **B.1.2.-16.**:

$^1\text{H-NMR}$ 600MHz DMF- d_7 Kinetik Triflat **25**+ NaN_3

Nach diesen durchaus ungewöhnlichen Einsichten, welche eine vermeintlich einfache Substitutionsreaktion lieferte, folgen nun, quasi als Antiklimax, die Ergebnisse der 6,5- und 5,5-Bizyklen. Denn, in beiden Fällen verlief die Reaktion, ohne Intermediate, zu nur einem Produkt, dem Azid unter Inversion der Konfiguration, so wie es auch bei der Vorstellung der Synthesen schon gezeigt wurde.

Das einzige was hier zusätzlich beobachtet werden konnte, und noch von gewissem Interesse ist, war die Tatsache, daß auch im Falle des 5,5-Bizykluses, wo immer auch das Azid unter Retention der Konfiguration mit erhalten wurde, die Azideinführung zunächst unter Inversion erfolgte, und die Epimerisierung erst danach einsetzte (Abbildung **B.1.2.-16.**).

1.3. Selektive Modifikation der bicyklischen Bausteine

1.3.1. Selektive Modifikation am 6,5 Bicyklus

1.3.1.1. Synthesen

Ein Teil dieser Arbeit bestand darin, Wege zu entwickeln, welche Möglichkeiten eröffnen sollten, selektiv die einzelnen Hydroxylgruppen anzusprechen.

Die ersten Versuche, diesbezügliche Strategien zu entwickeln, wurden zunächst am 6,5-Bicyklus unternommen, da in diesem Falle nur drei Hydroxylgruppen chemisch zu unterscheiden waren.

Erster Ansatzpunkt hierzu war, selektiv OH-6 und -7 als Acetal zu schützen. Als Argument einer diesbezüglichen Selektivität, war zum einen die erhöhte Reaktivität der 6-OH ins Feld zu führen, als auch die Tatsache, daß OH-7 zur benachbarten OH-8 eine trans-Stellung einnimmt, und somit die Ausbildung des konkurrierenden Acetals, jenem mit eben diesen beiden Hydroxylgruppen, zumindest erschwert sein sollte.

Erfolg vorausgesetzt, wäre es nach diesem Schritt somit schon möglich, OH-8 selektiv zu modifizieren. Das Acetal dann entschützt, sollte sich anschließend, wie gehabt, die α -Hydroxygruppe zum Carbonyl, jene an Position 6, wieder bevorzugt ansprechen lassen, so daß letztlich nur noch OH-7 übrigbliebe, und somit das Ziel, alle drei Hydroxylgruppen unterscheiden zu können, schon erreicht wäre.

In Abbildung **B.1.3.-1.** ist dann auch die, auf diesen Überlegungen resultierende, Retrosynthese dargestellt.

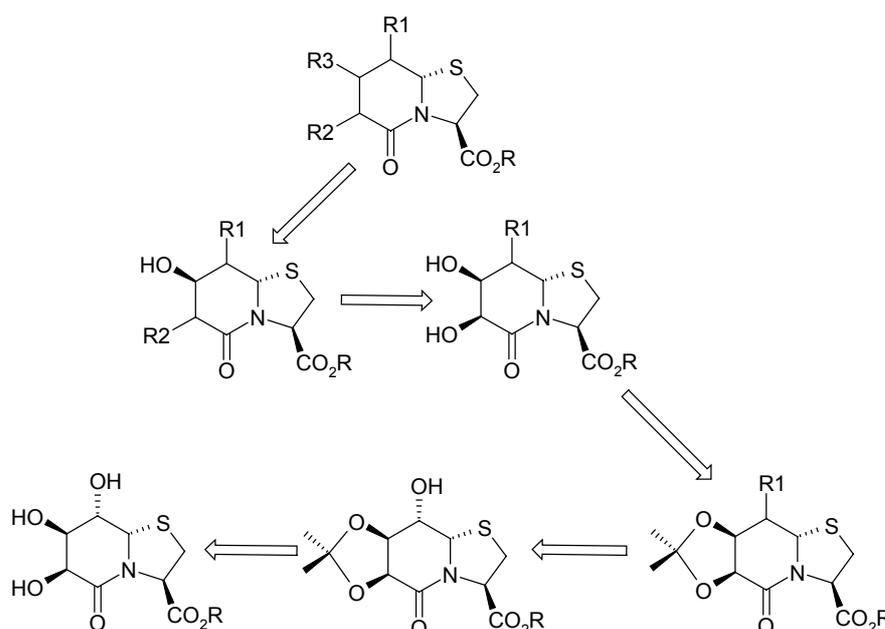


Abbildung **B.1.3.-1.**: Retrosynthese eines an den Positionen 6, 7 und 8 selektiv modifizierten 6,5Bicyklus

Abbildung **B.1.3.-2.** zeigt dann auch bereits die erfolgreiche Realisation dieses Unterfangens, bis hin zur schlußendlich kristallinen Endverbindung **38**.

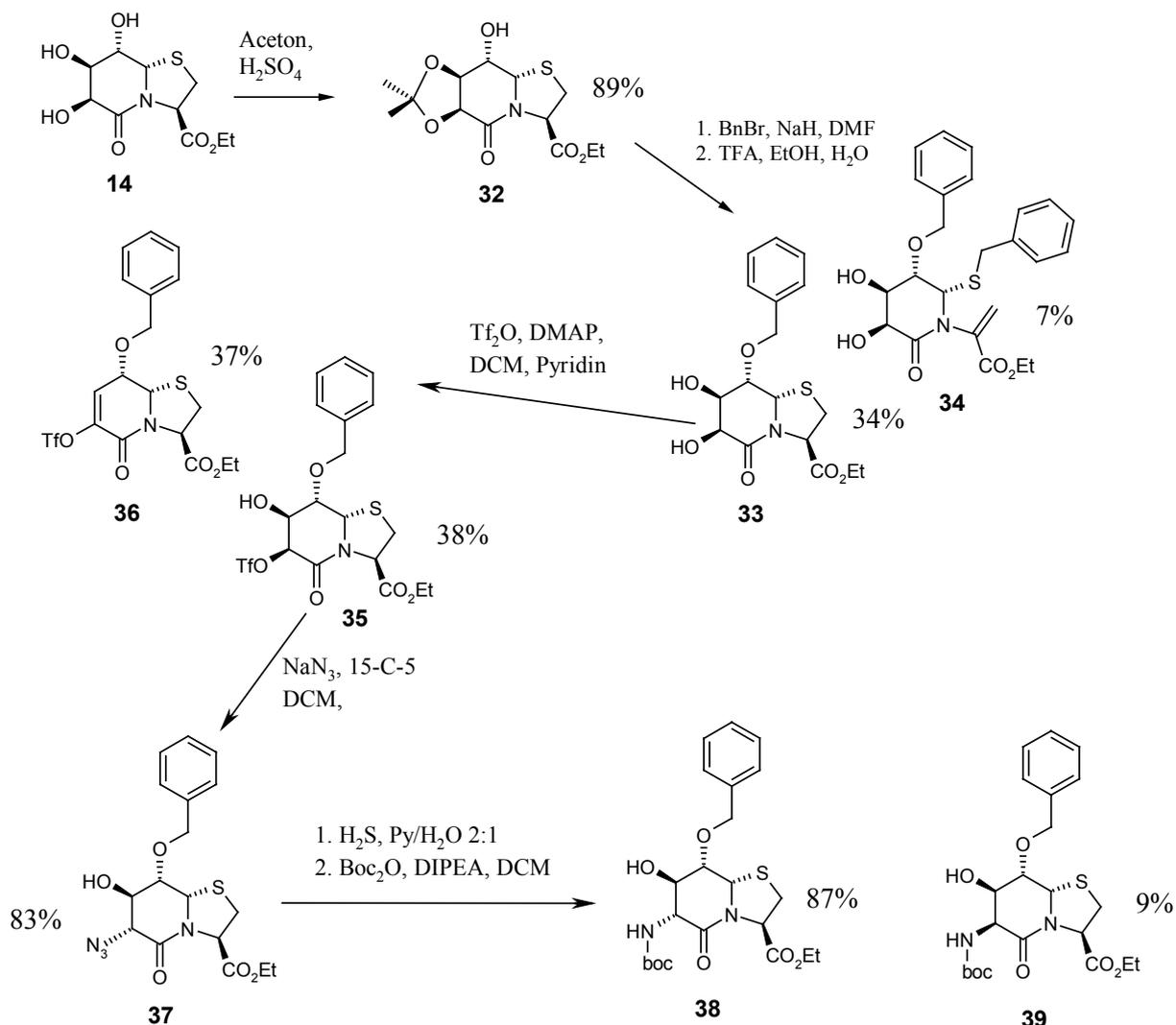


Abbildung **B.1.3.-2.**: Selektive Modifikationen am 6,5Bicyklus

Daß diese Reaktionssequenz nicht ohne Schwierigkeiten von statten ging, zeigen die aufgeführten Nebenverbindungen.

Als ein Problem stellte sich die basisch motivierte Eliminierung an Position 3, ehemals α -H des Cysteins, heraus, welche auch dadurch nicht verhindert werden konnte, daß schrittweise das Natriumhydrid langsam zugegeben wurde. Denn praktisch schon von Beginn an, als die Base noch in klarem Unterschuß vorlag, mußte die Bildung des Nebenproduktes detektiert werden.

Alternativ die Reaktion jetzt unter schwach sauren Bedingungen durchzuführen, indem versucht wurde die Benzylgruppe über das Imidat einzuführen, brachte nicht das erwünschte Ergebnis, so wurde zwar in diesem Fall keine Eliminierung, aber eben auch an sich keinerlei Reaktionsumsatz beobachtet.

Wie auch die Arbeit von K. Agoston zeigte, scheint es sich bei der Eliminierung an Position 3 bei der Umsetzung mit Natriumhydrid, um ein generelles Problem dieses Verbindungstyps zu handeln, so konnte er beim Versuch, den perbenzylierten 7,5-Bicyklus darzustellen, sogar

ausschließlich das zusätzlich auch am Schwefel benzylierte entsprechende Eliminierungsprodukt des 7,5 Bicykluses erhalten.

In Anbetracht dessen, und daß zusätzlich während der Reaktion auch noch Zersetzung zu beobachten war, des weiteren eine Isolierung der beiden Produkte erst nach der Entschützung des Acetonids möglich war, muß man wohl mit der etwas bescheidenen Ausbeute dieses Schritts leben, und sogar zufrieden sein, daß Verbindung **33** überhaupt in brauchbaren Mengen erhalten werden konnte.

Das zweite Eliminierungsprodukt **36** weist auf ein weiteres Problem im Umgang mit dieser Verbindungsklasse hin, der vergleichsweise hohen Acidität des Protons an Position 6, welche durch eine elektronenziehende Gruppe wie hier das Triflat natürlich noch verstärkt wird, aber wie auch schon beobachtet, auf der Stufe des Azids stattfinden kann.

Auf dieses Problem, aber auch auf die Möglichkeiten, welche sich durch die hohe Azidität dieses Protons ergeben, und generell die Tendenz, daß die 6,5Bicyklen leicht Wasser eliminieren, wird später noch genauer eingegangen werden.

Soviel zu den Nebenreaktionen und Problemen dieser Synthese. Da die restlichen Reaktionsschritte als bekannt betrachtet werden dürfen, und dazu noch in akzeptablen Ausbeuten verliefen, soll hierauf nicht mehr näher eingegangen werden.

Daß am Schluß dann wieder beide Epimere erhalten wurden, beruht mit Sicherheit ebenfalls auf dem zuvor geschilderten Problem des aziden 6er Protons. Ob sich das zweite Epimer während der H₂S-Reduktion und ihrer Aufarbeitung und/oder der anschließenden Umsetzung mit Boc₂O bildete, kann hier nicht gesagt werden, da das reduzierte Azid direkt ohne vorheriges Kontrollspektrum umgesetzt wurde.

1.3.1.2. Strukturanalysen

Da die Strukturermittlung, praktisch analog jener erfolgen konnte, wie sie schon in Kapitel **B.1.1.3.2.** beschrieben wurde, und sich dann auch in den Ergebnissen als vergleichbar erwies, möchte ich weitestgehend hierauf zurückverweisen, und nur kurz zwei Verbindungen ansprechen.

Bei der ersten, dem Acetonid **32**, handelt es sich um die einzige Verbindung der 6,5-Bicyklen, welche, obwohl 6S-Konfiguration (Retention, nach der zuvor erfolgten Definition) aufweisend, für die Protonen des Thiazolinringes das Kopplungs- und Verschiebungsmuster der 6R-konfigurierten Verbindungen zeigte, so daß hier hauptsächlich, wie bei den 6R-Verbindungen nur diese eine Konformation anzunehmen ist, wie sie auch im Kristall zu beobachten ist, und hier nicht, wie bei allen anderen mit einer 6S-Konfiguration, ein Gleichgewicht zweier Konformationen vorliegt.

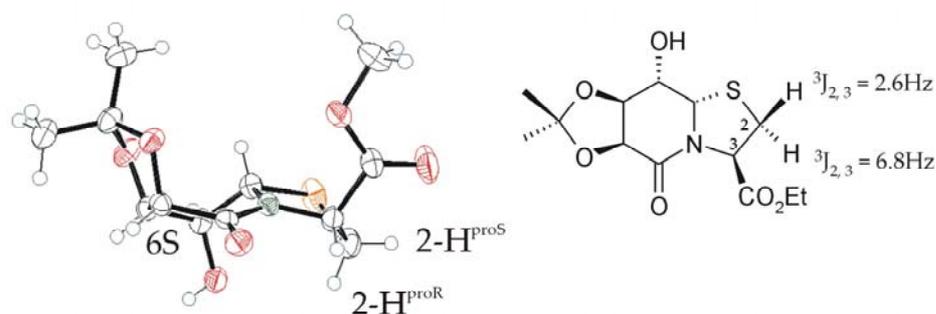


Abbildung **B.1.3.-3.**: Kristallstruktur des Acetonids **32**, Rechts Strukturformel mit den 3J -Kopplungskonstanten der Protonen an Position 2, wie sie so, in dieser Größenordnung, auch für eine Konformation des Thiazolidinringes, wie sie im Kristall vorliegt, zu erwarten ist.

Dies ist mit ziemlicher Sicherheit darauf zurückzuführen, daß es sich hierbei nunmehr um einen Trizyklus* handelt, welcher, da rigider, jetzt nur noch eine Hauptkonformation bevorzugt.

Die zweite Verbindung die noch kurz anzusprechen wäre ist die Endverbindung **38**, zum einen, da es gelang, auch hier eine Kristallstruktur zu erhalten, hierbei zeigte sich dann wieder die erwartete Konformation, als auch des Umstandes wegen, daß anhand dieser Verbindung jetzt für die Kopplungskonstante von 2-H^{proS} zu 3-H mit 2.1Hz der kleinste diesbezügliche Wert beobachtet werden konnte.

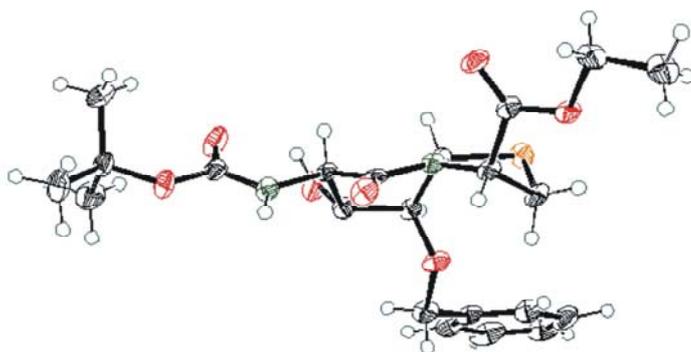


Abbildung **B.1.3.-4.**: Kristallstruktur der Verbindung **38**

liegt, und die dort erhaltenen Daten ebenfalls aus einer Mittelung herrühren, wenn auch längst nicht so gravierend, wie dies im Falle der 6,5-Bizyklen mit Retention zu beobachten ist.

Dies sagt nun einerseits, daß es sich, betrachtet man die zuvor aufgestellte Reihe der 6,5-Bizyklen mit Inversion, hierbei nun um das stabilste Konformer handeln muß, und bestätigt andererseits die Vermutung, dies ist natürlich der logische Umkehrschluß, daß obwohl den Bizyklen mit Inversion nur eine Hauptkonformation zugewiesen wurde, auch hier eine gewisse Restdynamik vor-

* Aus diesem Grund wurde er auch nicht in die Tabelle **B.1.-1.** mit aufgenommen, da es sich eben hier um keinen Bizyklus mehr handelte, und somit was wie ein Ausreißer erschienen wäre, darauf zurückzuführen ist, daß er eben nicht mehr in diese Reihe paßt, und folglich so auch nicht mehr als Vergleich herhalten kann und darf.

1.3.2. Selektive Modifikation am 7,5 Bizeyklus

1.3.2.1. Synthesen

Als nächste Herausforderung stand nun die Modifikation des 7,5-Bizeyklus mit seinen vier Hydroxylgruppen an.

Da hier nicht wie bei den „normalen Zuckern“ auf eine über hundertjährige Tradition, und somit immense Syntheseerfahrung zurückgegriffen werden konnte, war folglich nicht daran zu denken, mit einem fertig ausgearbeiteten Konzept dieses Vorhaben angehen zu können, was aber andererseits wiederum auch den eigentlichen Reiz dieses Unterfangens ausmachte.

Wenn auch die Chemie der Hydroxylgruppen nicht neu erfunden werden mußte, so blieb einem hier doch zunächst nichts anderes übrig, als zu versuchen, über entsprechende Reaktionen, etwas über Reaktivitäten und Selektivitäten dieses polyhydroxylierten Systems herauszufinden, sprich einfach etwas auszuprobieren, um dann zu sehen was passiert.

Vorerst galt es also erst einmal einen Anfang zu finden, auf welchem sich dann weiter aufbauen ließe.

Angedenken der guten Erfahrung mit dem 6,5-Bizeyklus, war die erste Idee auch hier wieder mit einer Acetalschutzgruppe zu beginnen. Wenn es auch im Falle von vier OH-Gruppen dadurch natürlich nicht möglich war, diese so zu schützen, daß nur eine einzige übrigbliebe, so war doch die Hoffnung, da OH-9 und OH-8 axial zueinander stehen, nur jene an Position 6 und 7 in ein Acetal einzubinden, was somit immerhin eine Halbierung ihrer Zahl zur Folge hätte.

Durch Umsatz mit einem Äquivalent 2,2-Dimethoxypropan, sauer katalysiert in DMF, und unter Erwärmen auf 50°C, ließ sich dann auch ein Produkt detektieren und isolieren.

In der Praxis sah dies dann wie folgt aus, **40** umgesetzt mit 1.1eq 2,2Dimethoxypropan in DMF, war zuerst ein vergleichsweise langsamer Umsatz der Reaktion zu beobachten, worauf hin die Reaktionslösung auf 50° C erwärmt wurde, später, da immer noch Edukt vorhanden, wurde nochmals weiteres Dimethoxypropan, nun im Überschuß, zugegeben und nach weiteren zwei Tagen, jetzt bei RT, konnte dann auch eine neue Verbindung isoliert werden, das Bisacetonid **41**.

Wie sich später zeigte, ist es wohl nicht möglich die Reaktion nur bis zur Stufe des Monoacetonids zu führen, so tritt schon zu einem sehr frühen Zeitpunkt, wenn das Edukt noch klar im Überschuß vorliegt, auch der doppelt geschützte Bizeyklus auf, und wahrscheinlich sogar als Hauptprodukt (DC-Kontrolle)*, so wurden immer beide detektiert. Ein Erklärungsversuch hierfür ist im folgenden Kapitel zu finden, wo eine Betrachtung der Strukturen dieser Verbindungen erfolgen wird.

Da, möchte man Hydroxylgruppen selektiv modifizieren, ein kompletter Schutz sogar noch ungünstiger ist als gar keiner, stellte das hiermit erzielte Resultat vorerst einmal eine Sackgasse dar, jedoch nicht ohne Hintertür, denn, wenn eine Schutzgruppe zu viel vorhanden ist, muß

* Eine Anmerkung noch zu den DCs: bei der angesprochenen ersten Reaktion, welche zum Bisacetonid führte, konnte während der Reaktion nur ein Produkt detektiert werden, da das Monoacetonid bei einem Laufmittelverhältnis EE:Tol 9:1 praktisch das gleiche Laufverhalten zeigte wie das Edukt. Später wurde dann aus diesem Grunde auf ein Laufmittelgemisch CHCl₃/MeOH 10:1 umgeschwenkt, wo nun eine Unterscheidung beider Produkte möglich war.

man eben sehen, daß man selektiv eine davon wieder abspaltet. Durch Zusatz einer katalytischen Menge Toluolsulfonsäure gelang es dann auch, die Isopropylidengruppe an 8 und 9 selektiv zu entfernen.

Demnach blieben jetzt also nur noch zwei Hydroxylgruppen übrig, und mit ihnen die Möglichkeit nun einmal zu testen, ob sich eine von ihnen als reaktiver erweise. Als Reaktion wurde, weil diese auch gleich die Option an Folgereaktionen in sich barg, eine Umsetzung mit Triflatanhydrid gewählt.

Wie Abbildung **B.1.3.-5.** zeigt, war diesem Vorhaben dann auch der entsprechende Erfolg gegönnt, welcher darin bestand, daß die Hydroxylgruppe an Position 8 nun selektiv, und in ansprecher Ausbeute modifiziert werden konnte.

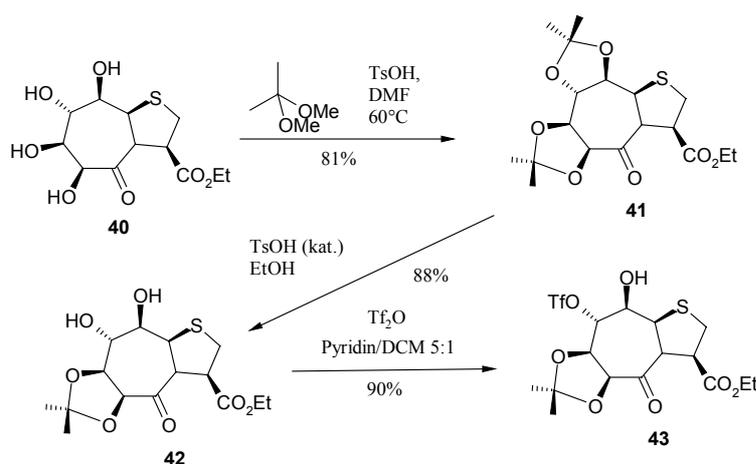


Abbildung **B.1.3.-5.**: Selektive Modifikation der 8-OH

Auf dieser Stufe der Synthese möchte ich kurz innehalten, da mit dem Triflat **43**, nun nicht nur die Möglichkeit vorhanden war, erstmals alternativ zur Position 6 eine Stickstofffunktion einzuführen, sondern hiermit jetzt ein Verbindungstyp vorlag, auf welchem sich eine selektive Modifikation aller vier Hydroxylgruppen aufbauen lassen können müßte.

Der Sachverhalt hierzu ist vergleichsweise einfach und naheliegend:

Nach erfolgter selektiver Modifikation der Hydroxylgruppe an Position 8, bleibt als nächste freie OH jene an C-9, da weiterhin vorausgesetzt werden kann, daß die α -Hydroxygruppe an C-6 immer noch am reaktivsten ist, kann, nach Abspaltung des Acetonids, diese angesprochen werden, womit dann schlußendlich nur noch OH-7 übrigbliebe (Abbildung **B.1.3.-6.**).

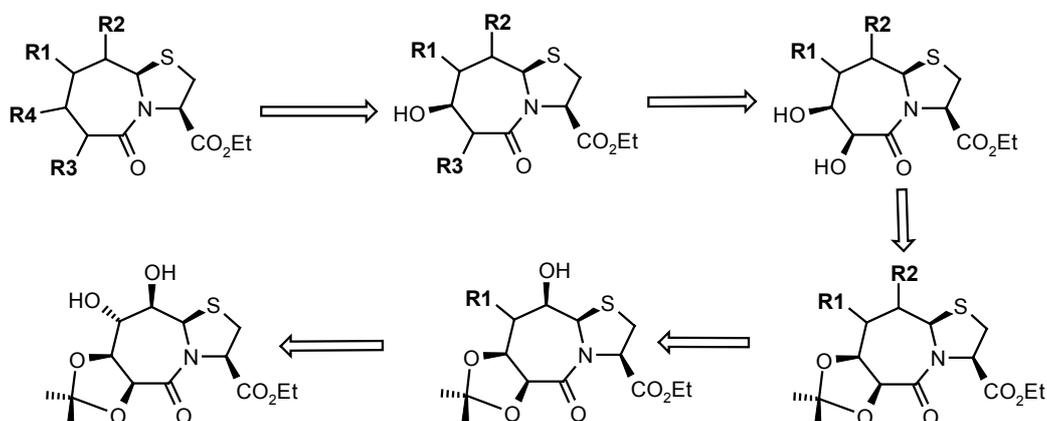


Abbildung **B.1.3.-6.**: Retrosynthese zur selektiven Modifikation aller vier Hydroxylgruppen des 7,5Bicykluses

Aufgrund der hohen Diversität dieser Arbeit, war es nicht möglich, die Synthese eines solchen Bausteins auszuarbeiten und schließlich durchzuführen, mit all seinen kleineren und größeren Problemen, welche sich hierbei für gewöhnlich einstellen, ohne andere Teilbereiche, welche persönlich als interessanter erachtet wurden, zu vernachlässigen.

Da das eigentliche Ziel dieser Arbeit darin bestand, Türen aufzustoßen und Möglichkeiten zu eröffnen, war diesem Ansinnen, mit dem Schlüsselschritt, der selektiven Modifikation der Hydroxylgruppe an Position 8, und der dadurch erhaltenen Optionen, somit durchaus genüge getan, und es hierbei zu belassen, war nicht inkonsequent, sondern entsprach durchaus dem Geiste dieser Arbeit.

War auch die Synthese eines vollständig modifizierten Bausteines persönlich als zweitrangig eingestuft worden, so wurde an diesem Punkt doch nicht gänzlich abgebrochen, und wenn es zeitlich zupasse kam, noch die ein oder andere Reaktion in dieser Richtung durchgeführt.

So wurde, um zum Grundgerüst eines neuen Peptidbausteins zu gelangen, das Triflat an Position 8 noch durch ein Azid substituiert*, was wie in Abbildung **B.1.3.-7.** gezeigt unter Inversion ablief **44**. Entschützt zeigte es sich dann, daß Position 6, wie erwartet, ihre bevorzugte Reaktivität beibehält, und man infolge dessen zu dem, in der schon gezeigten Kinetik eingesetzten, Triflat **46** gelangen konnte. Dies dann noch substituiert, führte zum Doppelazid **47**, also einem Baustein welcher in der Peptidsynthese Verzweigungen zulassen würde.

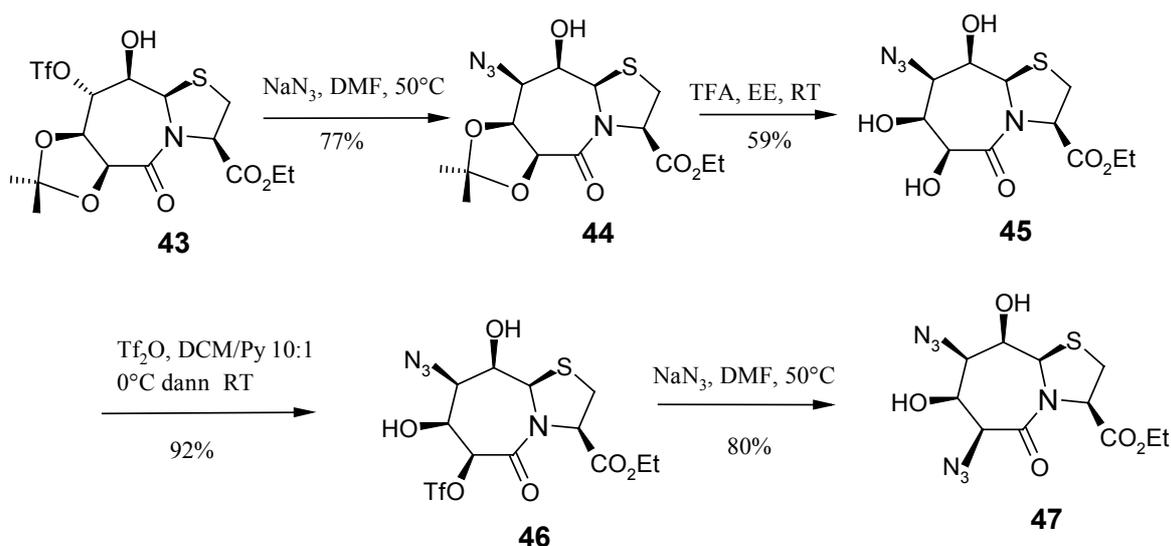


Abbildung **B.1.3.-7.**: Synthese eines 7,5-Bizyklus mit zwei Stickstofffunktionen

Zu guter Letzt, wurde auch noch versucht, ob eine Benzilylierung der Hydroxylgruppe an Position 9 der Verbindung **44**, nun in diesem Fall möglich wäre, oder ob das Problem der Eliminierung an Position 3 weiterhin bestünde.

* Es wurde noch versucht, dieses Azid mit H_2S zu reduzieren, hierbei konnte jedoch nur das Edukt erhalten werden. Dieser Fehlschlag könnte sich aber als Vorteil erweisen, denn somit könnte man möglicherweise das Azid an Position 6 des Doppelazids **47**, zuerst selektiv mit H_2S reduzieren und modifizieren, während das an 8 erst später über eine andere Methode reduziert wird, denn daß es schlußendlich auf die eine oder andere Weise zu reduzieren geht, sollte anzunehmen sein.

Wie sich dann zeigte, spielt diese Nebenreaktion hier bei den 7,5 Bicyklen noch eine wesentlich größere Rolle, da nur das durch Eliminierung hervorgegangene bisbenzylierte Produkt **48** isoliert werden konnte.

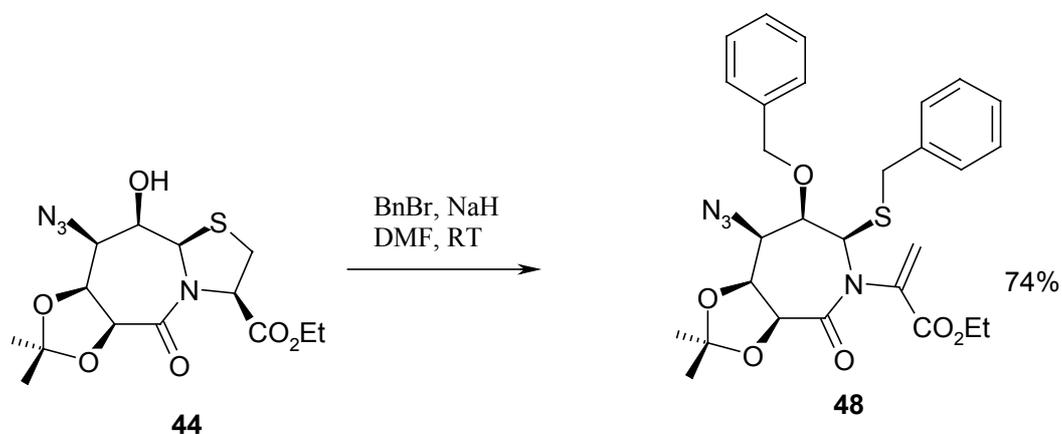


Abbildung **B.1.3.-8.**: Benzylierung welche zum dargestellten bisbenzylierten Eliminierungsprodukt **48** führte

In der Gewißheit, daß durch diesen kleinen Teilbereich meiner Arbeit, und die dabei erzielten Erkenntnisse ein ausreichendes Fundament gelegt sein dürfte, auf welches weiter aufzubauen wäre, lies ich es dann hiermit bewenden.

1.3.2.2. Strukturanalyse

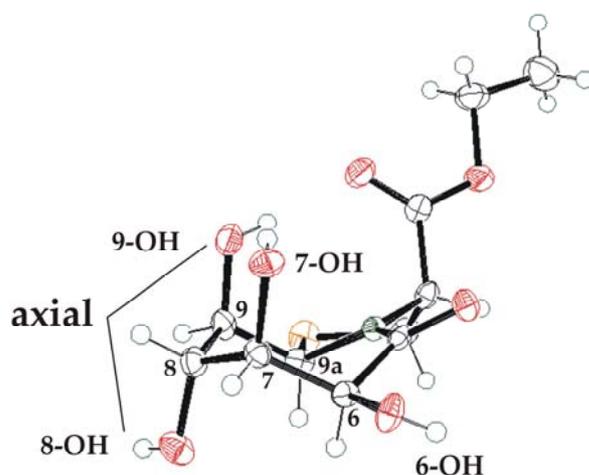


Abbildung B.1.3.-9.: Kristall **40**

Wie gezeigt brachte die erste Reaktion mit dem erhaltenen Bisacetonid **41** auch schon die erste Überraschung. So war hier aufgrund der trans-Stellung der beiden axialen Hydroxylgruppen an Position 8 und 9 des Edukts **40** die Ausbildung eines zweiten Acetals so nicht zu erwarten, was anhand der in Abbildung B.1.3.-9. gezeigten Kristallstruktur auch augenscheinlich ist.

Was hier weiterhin schön zu sehen, ist die Sesselkonformation des Siebenrings, welche mit einem nunmehr

tetrazyklischen Bisacetonid kaum mehr zu vereinbaren ist

Daß tatsächlich eine Änderung dieser Konformation erfolgt sein muß, war schon anhand des $^1\text{H-NMR}$ Spektrums ersichtlich, da hier eine gravierende Änderung der ^3J -Kopplungskonstanten der Ringprotonen zueinander zu beobachtet war, diese somit nun komplett andere Winkel zueinander aufweisen müssen (siehe auch Tabelle B.1.-3).*

* Auffallend sofort das „Fehlen“ zweier Singulets für 6-H und 9a-H (Im Sessel nahezu senkrecht zu 7-H bzw. 9-H)

	$^3J_{6-H, 7-H}$	$^3J_{7-H, 8-H}$	$^3J_{8-H, 9-H}$	$^3J_{9-H, 9a-H}$	$^3J_{9-H, 9-OH}$
Bizyklus 40	~1Hz	3.8Hz	4.6Hz	~1Hz	11Hz
Bisacetonid 41	5.9Hz	8.2Hz	9.4Hz	7.0Hz	-
Monoacetonid 42	8.0Hz	9.9Hz	7.3Hz	3.3Hz	5.3Hz

Tabelle **B.1.-3.**: Änderung der 3J -Kopplungskonstanten (in DMSO- d_6) nach Acetalisierung.

In der obigen Tabelle ist ebenfalls das Monoacetonid **42** noch mit aufgeführt, und wie zu sehen, zeigt auch dieses schon signifikante Änderungen in der Größe der entsprechenden Kopplungskonstanten, was aber nur bedeuten kann, daß schon die erste Acetalisierung unter Änderung der Konformation erfolgen muß, geht man davon aus, daß diese zuerst an Position 6 und 7 erfolgt.

Hieraus ließe sich schon eine vorläufige Erklärung des beobachteten Reaktionsverlaufs ableiten. Denn erfolgt diese erste Acetalisierung schon unter Änderung der Konformation, welche, vergleicht man die Kopplungskonstanten, näher an der des Bisacetonids ist, als am Edukt, wird somit dem vorher als wenig wahrscheinlich erachteten zweite Acetal durch eben diese Konformationsänderung der Weg geebnet.

Nimmt man weiterhin an, daß die hierbei zu überwindende Energiebarriere* deutlich größer ist als jene dann zum Bisacetonid, kann dies zusätzlich als Erklärung dafür herangezogen werden, daß die Reaktion eben nicht auf der Stufe des Monoacetonids endet.

Eine weiter merkliche Änderung in der Kopplungskonstante erfährt auch die Hydroxylgruppe an Position 9, was auf den ersten Blick recht ungewöhnlich erscheint, da eine Änderung der Konformation hierauf zunächst einmal keinen bedeutenden Einfluß ausüben dürfte. Erklären läßt sich dies dadurch, daß die Wasserstoffbrücke zum Carbonyl des Esters in der neuen Konformation jetzt wohl keine Rolle mehr spielt, und dadurch die Kopplung auf „Normalmaß“ zurückgeht, sprich da keine definierte Ausrichtung mehr vorliegt, man somit nur noch eine gemittelte Kopplung erhält.

Betrachtet man strukturelle Veränderungen, so haben diese in der Regel auch Auswirkungen auf die Entfernungen der Protonen zueinander, ein Umstand der sich so in den Intensitäten der Kreuzsignale im 2D-ROESY widerspiegelt.

Hierbei fielen sowohl im Mono- als auch im Bisacetonid, die NOEs von Protonen zueinander auf, welche vormals äquatoriale Positionen einnahmen. Von hoher Aussagekraft war hier vor allem das intensive Kreuzsignal von 7-H zu 9-H, im Falle beider neuer Verbindungen. So intensitätsstark wie dieser NOE war, ließ er sich keinesfalls mit der vormaligen äquatorialen Position dieser beiden Protonen vereinbaren, in welcher sie maximal voneinander entfernt sind, und kann so nur beobachtet werden, wenn beide Protonen nun eine mehr oder weniger axiale Ausrichtung einnehmen. Diese wiederum ist aber nur vereinbar mit einer gleichzeitigen Inversion von C8, diese Ecke also „umklappt“, und einer daraus resultierenden Wannenkongformation des Siebenringes. Solch eine Wannenkongformation läßt sich dann auch gut mit den erhaltenen Kopplungen und NOE-Muster in Einklang bringen, und findet sich zudem auch in der Kristallstruktur wieder.

* Ein Hinweis auf eben so eine Energiebarriere ist schon die Tatsache, daß es, will man die Acetalisierung vollständig und in einem akzeptablen Zeitrahmen bewerkstelligen, es immer von Nöten ist, die Reaktion bei mindestens 50°C zu führen.

Wobei diese Struktur im Fall des Monoacetonids, wesentlich „schöner“ ausgebildet ist, als im Bisacetonid, welches eher eine Art Twistboat Konformation zeigt, eine wenig überraschende Tatsache, da die Konformation solch eines tetrazyklischen Systems in der Regel immer nur einen Kompromiß darstellen kann.

Hieraus wiederum ließe sich dann auch die selektive Abspaltung der Isopropylidengruppe an Position 8 und 9 erklären, da somit von einem gespannten, energetisch ungünstigeren System, zu einem definierten Energieminimum gelangt werden kann.

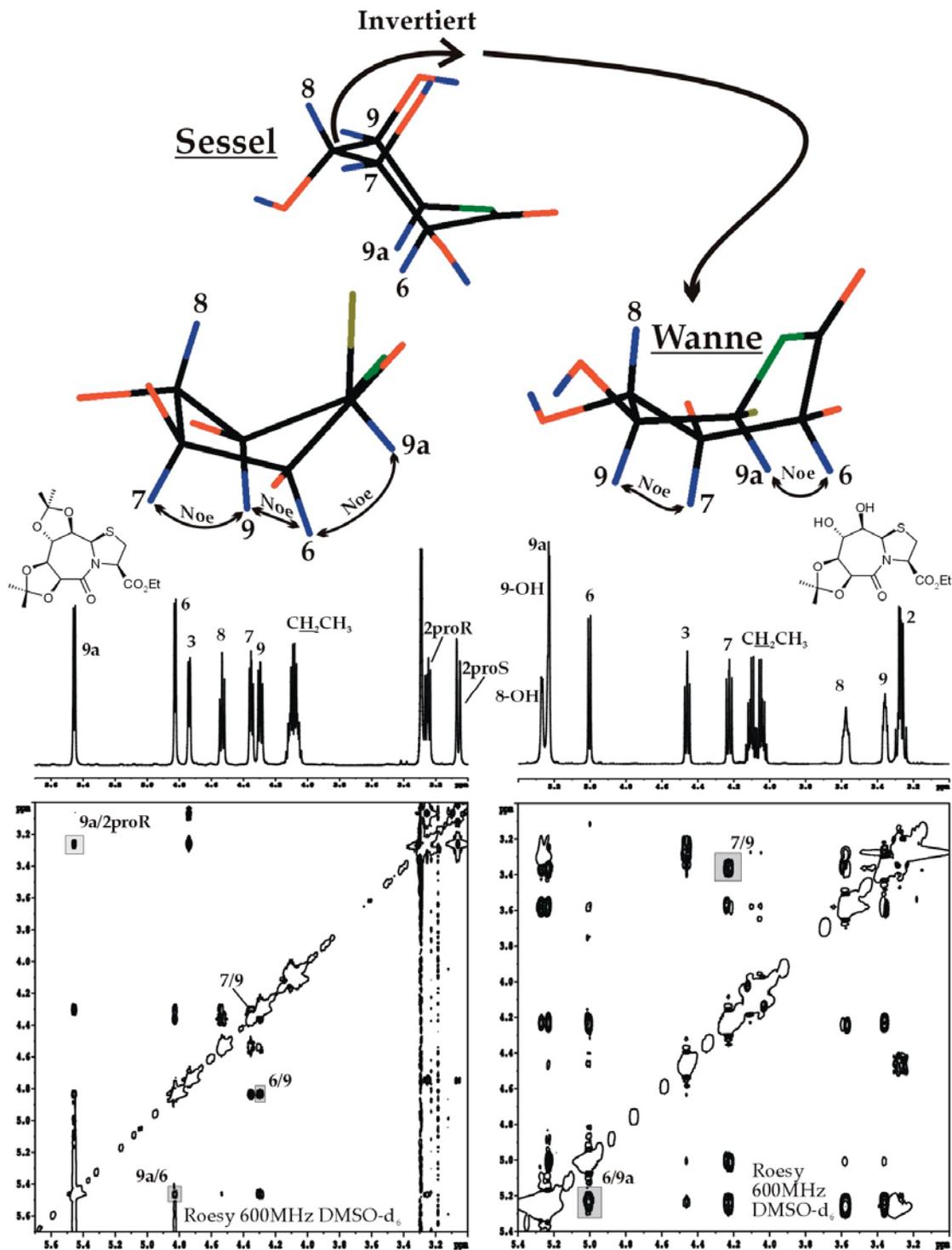


Abbildung B.1.3.-10.: 600MHz ROESY Spektren von 41 (links) und 42 (rechts) in DMSO-d₆ darüber: jeweils Konformation des Siebenringes

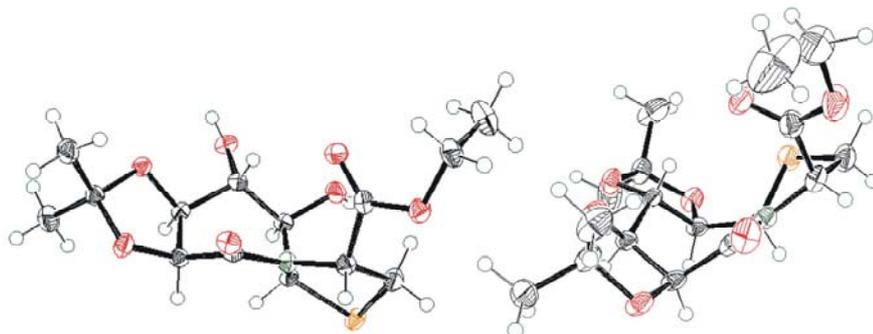


Abbildung B.1.3.-11.: Kristallstrukturen: links Monoacetonid **42**, rechts Bisacetonid **41**

Die nächste Verbindung, welche auf das Monoacetonid folgte, war das Triflat **43**. Hier stand hauptsächlich die Frage nach der Konstitution des Moleküls im Vordergrund, welche eindeutig durch die Art des Spinsystems beantwortet werden konnte, welches so nur mit einer Modifikation der Hydroxylgruppe an Position 8 in Einklang zu bringen war, bestätigt dann auch durch die Kristallstruktur in Abbildung B.1.3.12..

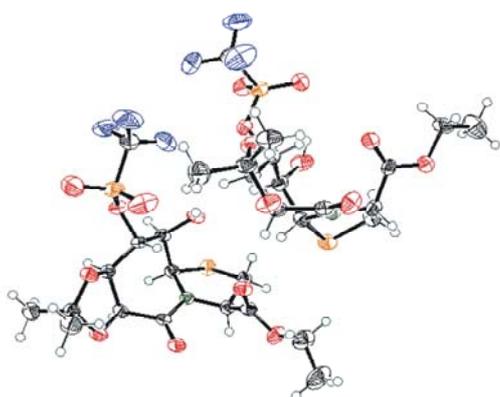


Abbildung B.1.3.-12.: Kristall Verbindung **43**

Die anschließende Azideinführung verlief wie gezeigt unter Inversion der Konfiguration, worin schon nach Vergleich der Kopplungskonstanten kaum Zweifel bestand. So verringerte sich insbesondere jene zwischen den beiden vormals axialen Protonen 7 und 8 signifikant von 10.5Hz, auf 2.2Hz.

Desweiteren schön zu sehen ist diese Änderung der Konfiguration auch anhand des 2D-ROESYs der entschützten Verbindung **45**, wo aufgrund der nunmehr axialen Position von 8-H (wieder „alter Sessel“!), dieses mit 9a-H und 6-H quasi ein Dreieck von Protonen, mit intensiven NOEs untereinander bildet (Abbildung B.1.3.-13.)

Bleiben folglich noch das Triflat **46**, dessen Konstitution sich wieder eindeutig aus dem erhaltenen Spinsystem ergab, und schlußendlich das hieraus resultierende Doppelazid **47**, dessen Konfigurationsanalyse schon in Kapitel B.1.2.2. gezeigt wurde, als jenes das Produkt der entsprechenden Kinetik darstellte.

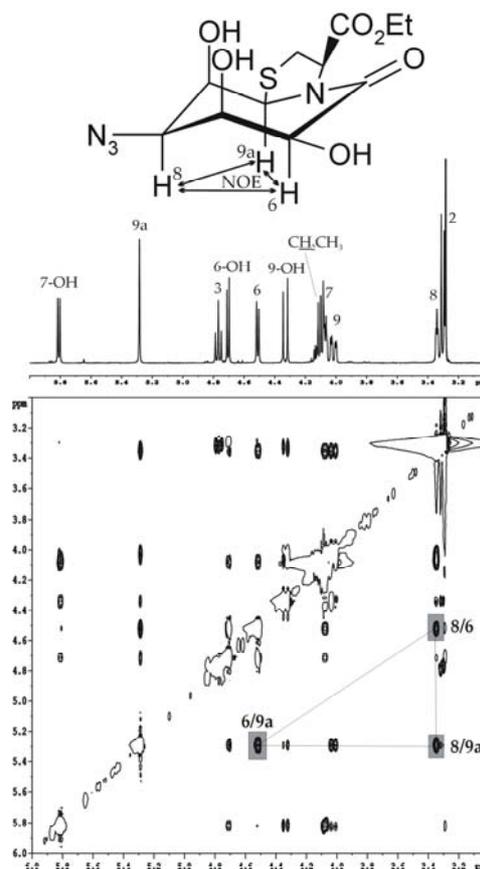


Abbildung B.1.3.-13.: ROESY 400MHz, der Verbindung **45** DMSO- d_6 , NOE-Muster der nunmehr 3 axialen Protonen 6, 9a und 8

1.3.3. Modell und Synthese eines Bausteins, welcher als Grundlage eines Proteaseinhibitors dienen könnte.

Ein Konzept, auf welches viele Proteaseinhibitoren aufbauen, beruht darin Übergangszustandsanaloga zu synthetisieren, welche den sp^3 -Zustand des vormaligen Carbonylkohlenstoffs der Amidbindung, während der Spaltung nachahmen.

Als Beispiel sei hier ein Reninhemmer gezeigt [3].

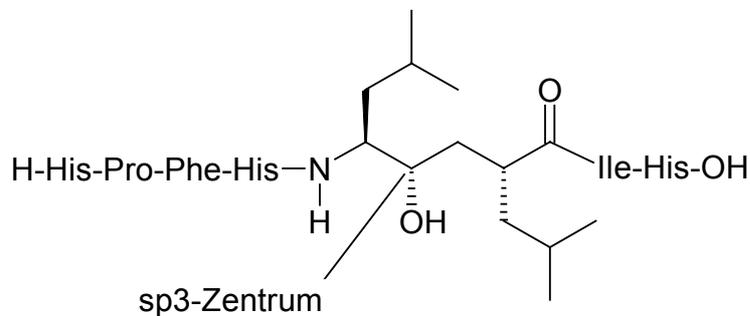


Abbildung B.1.3.-14.: Reninhemmer

Auch die Thiazolidinlactame unserer Arbeitsgruppe könnten diesbezüglich als variables, durch seine OH-Gruppen modifizierbares Gerüst, eines Übergangszustands analogen Proteasehemmers dienen. In Abbildung B.1.3.-15. ist dann auch gezeigt, wie man sich dies vorstellen könnte.

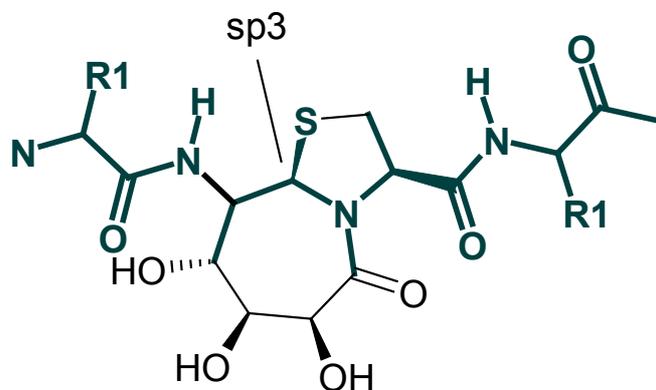


Abbildung B.1.3.-15.: Modell eines ÜZ-Analogons aufbauend auf einem 7,5-Thiazolidinlactam. Peptidrückgrat ist fett hervorgehoben.

1.3.3.1. Synthesen

Zwar ist in der soeben gezeigten Darstellung ein 7,5-Bizyklus als Grundeinheit zu sehen, prinzipiell sprach aber nichts dagegen, zunächst zu versuchen, diese Idee anhand des 6,5-Bizyklus anzugehen, da hier ein vermeintlich geringerer Aufwand, und ein auch an sich problemloserer Synthese zu erwarten war.

Der Grund für diese Annahme lag darin, daß drei Hydroxylgruppen selektiv anzusprechen, anstatt deren vier wie beim 7,5-Bizyklus, auf eine vergleichsweise einfache Modifikation des

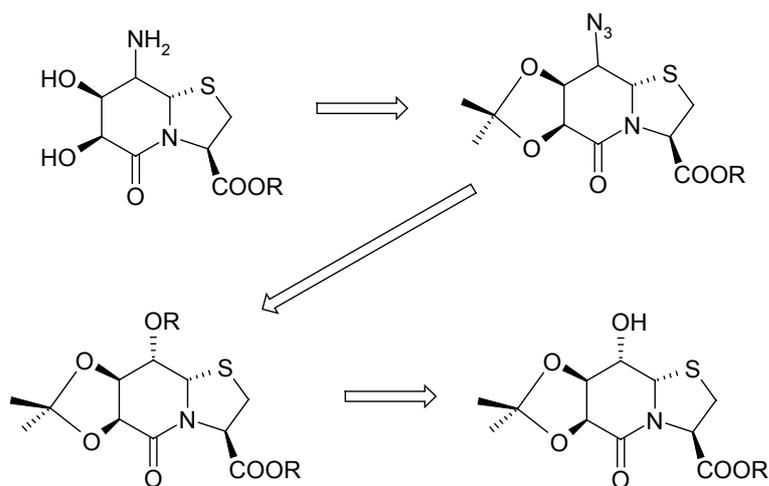


Abbildung B.1.3.-16.: Retrosynthese zu einem 6,5-Bizyklus mit Aminofunktion an Position 8

6,5-Bizyklus schließen ließ, zumal der vermeintliche Schlüsselschritt, die Hydroxylgruppen 6 und 7 selektiv zu schützen, um dann später an der dem Brückenkopf benachbarten Position 8 eine Stickstofffunktion einzuführen, so schon realisiert worden war.

Wie in Kapitel B.1.3.1.1. vorgestellt, ist ein solcher selektiver Schutz durch eine Acetalisierung der angesprochenen beiden OH-Gruppen möglich, so daß Isopropyliden geschützt, der Baustein nun selektiv an

Position 8 modifiziert werden kann. Auch die weitere Vorgehensweise läßt sich aus den Kapiteln zuvor ableiten: modifiziert mit einer Abgangsgruppe, sollte über eine Substitutionsreaktion ein Azid eingeführt werden können, welches es dann lediglich noch zu reduzieren galt. Dies war die Theorie, in ihrer praktischen Umsetzung stieß sie dann jedoch schnell an ihre Grenzen.

So ließ sich zwar immerhin die Hydroxylgruppe an Position 8 des Acetonids **32** noch als Triflat **50** und auch als Tosylat **49** aktivieren, die Verbindung aber welche dann beide Male nach Umsatz mit Natriumazid (im Falle des Tosylats **49**, Umsatz bei ca. 80°C) erhalten werden konnte, entsprach nicht mehr den Erwartungen, welche in diese Reaktion gelegt worden waren, denn nicht das Azid, sondern die eliminierte Verbindung **51**, mußte nach NMR-Analyse und Bestimmung der Molekülmasse als Produkt identifiziert werden.

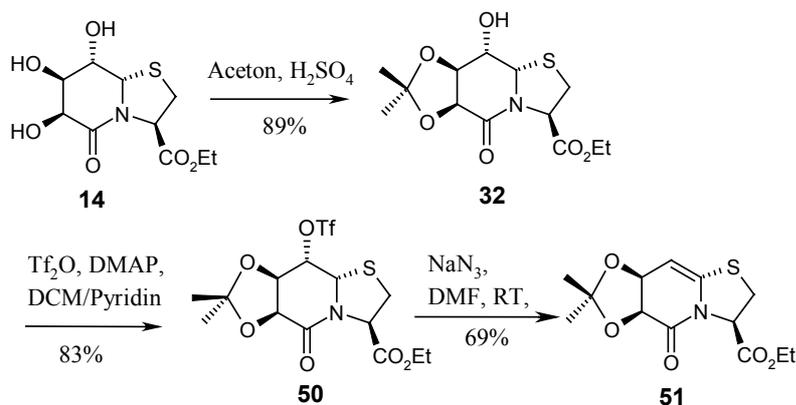


Abbildung B.1.3.-17.: Versuch eine Stickstofffunktion an Position 8 einzuführen

erhalten werden konnte, entsprach nicht mehr den Erwartungen, welche in diese Reaktion gelegt worden waren, denn nicht das Azid, sondern die eliminierte Verbindung **51**, mußte nach NMR-Analyse und Bestimmung der Molekülmasse als Produkt identifiziert werden.

Was blieb war die Erkenntnis, daß eine Aktivierung der Hydroxylgruppe an Position 8 zur Eliminierung und folglich zur Ausbildung einer Doppelbindung an C8-C8a führt.

Nichtsdestotrotz war das Vorhaben durch diesen Rückschlag noch nicht gescheitert, da als Alternative noch der 7,5-Bizyklus zur Disposition stand, für welchen wie schon skizziert eine komplette Ausarbeitung zur selektiven Modifizierung sogar aller Hydroxygruppen vorlag. Orientierte man sich nun an den im vorhergehenden Kapitel dargestellten diesbezüglichen retrosynthetischen Überlegungen, wäre der klassische Weg, nach selektivem Schutz der Hydroxylgruppe an Position 8 des Monoacetonids **42** die daraufhin letzte freie OH an 9, nach bekanntem Schema, als Abgangsgruppe zu aktivieren, worauf wieder eine Substitution erfolgen sollte.

Zu diesem Weg gab es dann aber noch eine etwas andere, an sich elegantere Alternative.

So konnte bei der Synthese der Verbindung **44**, jene mit dem Azid an Position 8, in einem Fall beobachtet werden, daß sich als Nebenprodukt auch das Epoxid bildete, das Triflat folglich durch einen intramolekularen nukleophilen Angriff von OH-9 verdrängt wurde.

Ließe sich nun dies Epoxid in größeren Mengen gewinnen, könnte es möglich sein, direkt hierüber ein Azid einzuführen. Blieb natürlich noch die Frage nach der Selektivität, aber selbst wenn sich das „falsche“ Azid bilden würde, jenes an Position 8, hätte man somit, durch die inverse Konfiguration, immerhin noch einen weiteren Peptidbaustein (Abbildung **B.1.3.-18.**), und müßte eben das 9er Azid über den klassischen etwas längeren Weg synthetisieren.

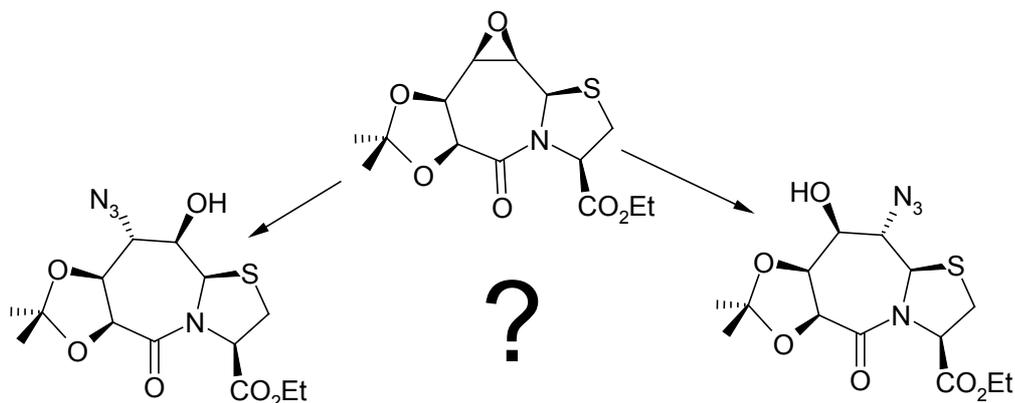


Abbildung **B.1.3.-18.**: Die zwei möglichen Produkte bei einer geglückten Öffnung des Epoxids durch ein Azid

Gelang die Synthese des Epoxids **52** aus dem Triflat **43** noch ohne Probleme, einfach durch Zusatz von Tritethylamin als Base und unter Erwärmen, so bereitete die Einführung des Azids etwas größere Schwierigkeiten.

Nichtsdestotrotz ließ sich durch diese Reaktion das gewünschte Azid **53** erhalten, möglich war dies jedoch nur bei relativ langer Reaktionszeit, bei 50°C, unter nicht gänzlich zufriedenstellenden Ausbeuten, wobei auch immer, so die Kontroll-DCs, mehrere Nebenprodukte zu beobachten waren, deren Isolierung zunächst nicht gelang.

Eine Temperaturerhöhung, um die Reaktion zu beschleunigen zeigte sich als nicht ratsam, da dies zur verstärkten Bildung sowohl in Menge als auch Anzahl dieser Nebenprodukte führte, und vermutlich auch zu Zersetzung.

Die Alternative, mit der Temperatur herunterzugehen und längere Reaktionszeiten in Kauf zu nehmen, führte auch zu keiner positiven Wendung, im Gegenteil, so läßt sich zwar bei

Raumtemperatur die Bildung von unerwünschten Nebenprodukten unterbinden, das Problem war dann nur, daß hiermit auch an sich jegliche Produktbildung unterbunden wurde.

Um etwas mehr Klarheit über die Art der Nebenreaktionen zu erhalten, wurde die Reaktionszeit soweit verlängert, bis eines der Nebenprodukte nun in vermutlich ausreichenden Mengen vorhanden war*.

Isoliert werden konnte bei der mit Ammoniumchlorid katalysierten Reaktion das Thiazolidin **55** mit einem primären Amid an Position 6. Da davon auszugehen ist, daß die Aminolyse des Lactams auch am Edukt stattfinden kann, wäre dies eine weiteres potentielle Nebenprodukt welches hier anfallen könnte.

Erstaunlich ist hierbei, daß die Aminolyse des eigentlich als reaktiver zu erachtenden Esters, zumindest soweit beobachten werden konnte, unterbleibt.

Um also diese Ringöffnung zu unterbinden wurde auf Ammoniumchlorid verzichtet. Hierdurch wurde zwar die Anzahl der Produkte verringert, das isolierte Thiazolidin **54**, zeigt jedoch, daß auch durch diese Maßnahme eine „saubere“ Reaktion nicht zu erzielen ist.

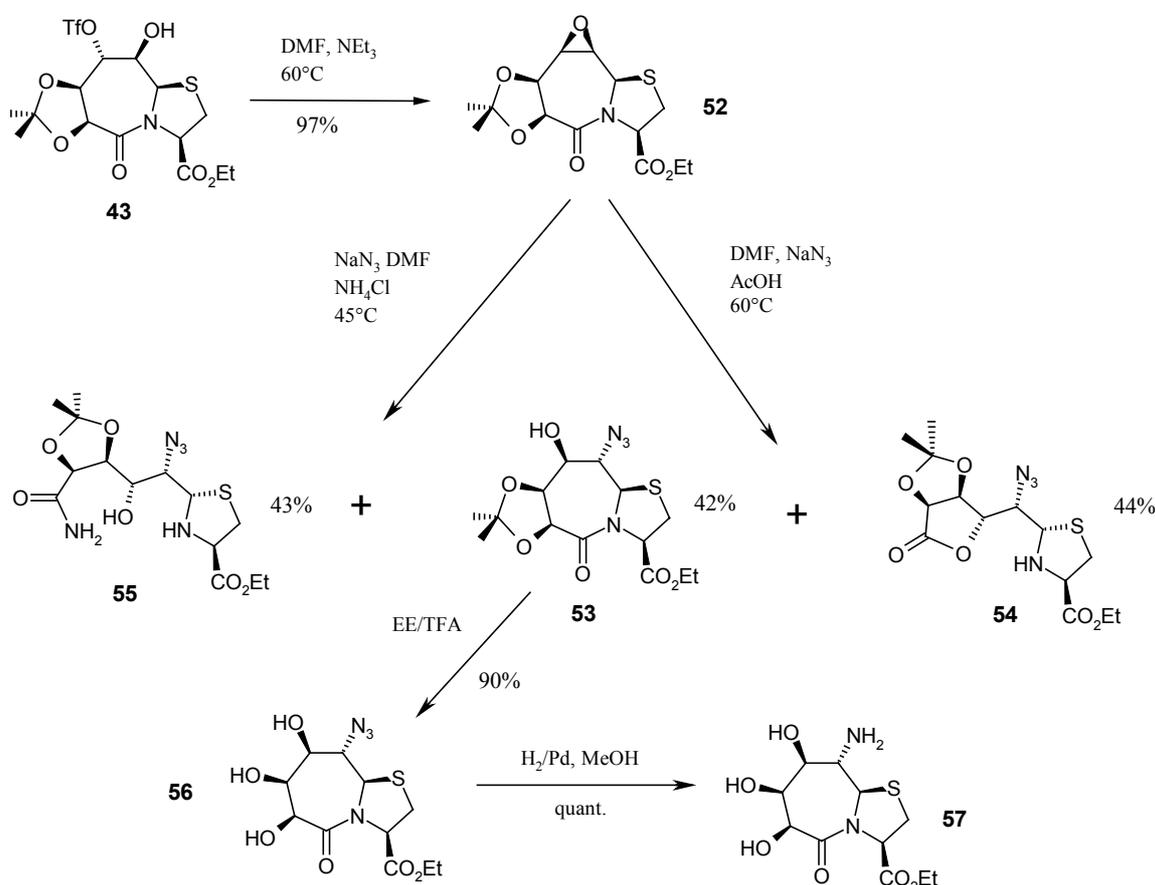


Abbildung B.1.3.-19.: Synthese eines 7,5-Bizyklus mit einer Aminofunktion an Position 9

Da trotz dieser Nebenreaktionen die Ausbeuten, wenn sie auch nicht brillant waren, immer noch in einem Bereich lagen, welcher als akzeptabel anzusehen ist, und das Produkt auch in solchen Mengen vorlag, um hiermit problemlos weiterarbeiten zu können, wurde auf weitere Versuche zur Optimierung dieses Reaktionsschrittes verzichtet, und das Molekül dann nur

* DC Kontrolle, wobei die schließlich isolierte Verbindung sich auch schon zeigte, als noch Edukt in der Reaktionslösung vorlag.

noch sauer entschützt, und das Azid zum freien Amin **57** reduziert, womit nun ein Dipeptidbaustein vorliegt, welcher als Vorläufer eines Proteaseinhibitors dienen könnte.

Da grundsätzlich immer Interesse an neuen Bausteinen besteht, die Zahl der Zucker, deren Preis noch in erschwinglichen Rahmen liegt, jedoch begrenzt ist, war eine Idee durch Hydrolyse des Epoxids zu einem neuen Baustein zu gelangen, welcher, vorausgesetzt es entsteht nicht der bekannte Bicyklus, dann einer Verbindung, resultierend aus Altrose und Cystein, entsprechen würde.

Hierzu wurden 2 Versuche durchgeführt:

- schwach sauer mit TsOH katalysiert erfolgte keine Öffnung des Epoxids, wohl aber eine Oxidation des Schwefels, erfolgt wohl durch Luftsauerstoff.
- Bei niedrigerem pH, mit TFA, ließ sich bedauerlicherweise nur das Edukt wiedergewinnen.

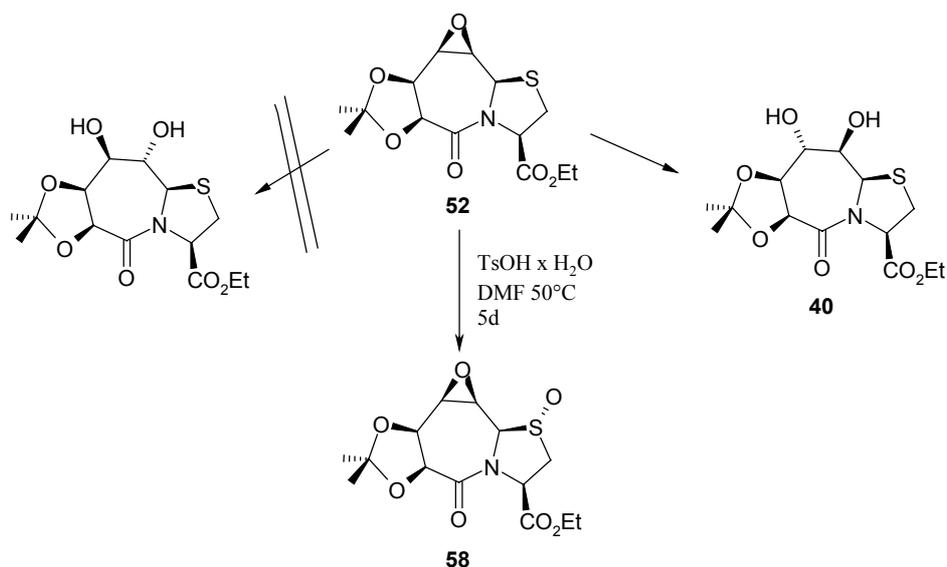


Abbildung **B.1.3.-20.**: Versuche einer Hydrolyse des Epoxids **52**

War dies nun auch ein Fehlschlag, so ist doch generell die Idee, einen Zucker zu nehmen, ihn in den Bicyklus, wie in eine Werkbank einzuspannen, und unter diesen besonderen Bedingungen zu modifizieren, generell nicht ohne gewissen Reiz. Durch Hydrolyse sollte sich dann auch der so modifizierte neue Zucker wiedergewinnen lassen.

1.3.3.2. Strukturanalyse

Die erste neue Verbindung, welche in diesem Kapitel vorgestellt wurde, war das Epoxid **52**, von welchem dann auch eine Kristallstruktur erhalten wurde.

Wie für ein solch starres tetrazyklisches System zu erwarten, zeigte ein kurzer Blick auf die NMR Daten, daß die Struktur in Lösung, jener im Kristall recht nahe kommt. Hierbei liegt der Hauptunterschied zum Monoacetonid **42**, darin, daß H-8 und H-9, nun beide pseudoäquatorial stehen, und somit zeigen sie auch im $^1\text{H-NMR}$ nur noch eine kleine Kopplung zu ihren beiden axialen Nachbarn ($^3J_{9, 9a} \sim 1\text{Hz}$, $^3J_{8, 7} = 2.9\text{Hz}$). Auch die Daten des 2D-ROESYs führen zum selben Schluß, während die drei axialen Protonen 9a, 7, und 6 weiterhin NOEs zueinander zeigten, war das im Kapitel zuvor angesprochene Kreuzsignal 7-H zu 9-H hier nicht mehr zu beobachten.

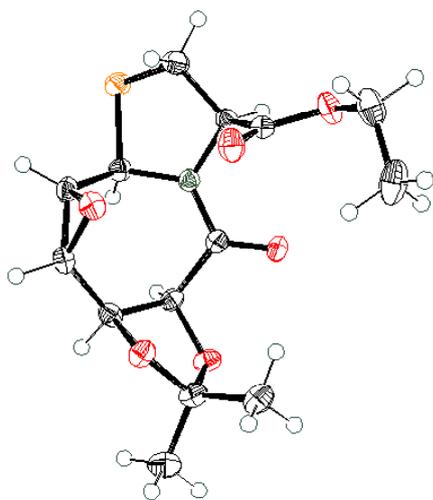


Abbildung B.1.3.-21.: Kristall von **52**

Das zweite Epoxid war das Sulfoxid **58** der soeben gezeigten Verbindung. Eine solche Modifikation läßt sich über NMR nur noch indirekt ermitteln, so zeigt die Methylengruppe an Position 2 im ^{13}C eine Änderung ihrer chemischen Verschiebung um 20ppm Tieffeld auf 51ppm.

Fragt man noch nach der räumlichen Ausrichtung des Sauerstoffs, so kommt man um eine Kristallstruktur, wie in Abbildung B.1.3.-22. gezeigt, praktisch nicht herum.

Die Hauptfrage war mit Sicherheit aber jene nach der Selektivität der Epoxidöffnung durch das Azid. Schon aus der Art des Spinsystems war ersichtlich, was dann zweifelsfrei durch die Kristallstruktur der entschützten Verbindung **56** gezeigt werden konnte, daß dieser Angriff an Position 9 erfolgte.

Ohne Isopropylidengruppe lag dann wie zu sehen wiederum der „alte Sessel“ vor, welcher dadurch, daß jetzt nur noch eine Hydroxylgruppe axial steht, sogar noch an Stabilität gewonnen haben sollte.

Auf diese ein axiale Hydroxylgruppe soll noch kurz eingegangen werden. Denn diese OH-7 nimmt jetzt in gewissem Sinne die Rolle der ehemaligen axialen OH an Position 9 ein, indem diese nun im Kristall eine Wasserstoffbrücke zum Carbonyl des Esters zeigt.

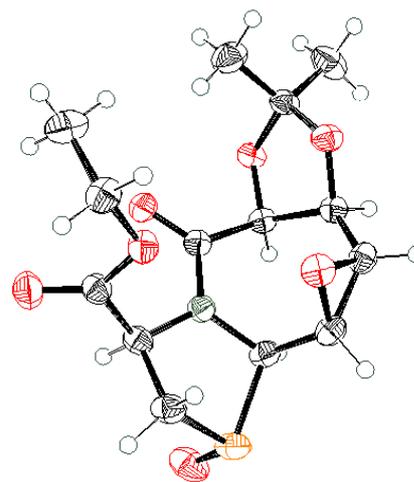


Abbildung B.1.3.-22.: Kristall von **58**

Da solche Wasserstoffbrücken immer auch Einfluß auf die Struktur haben können, war es interessant zu sehen, ob dies so auch in Lösung der Fall ist.

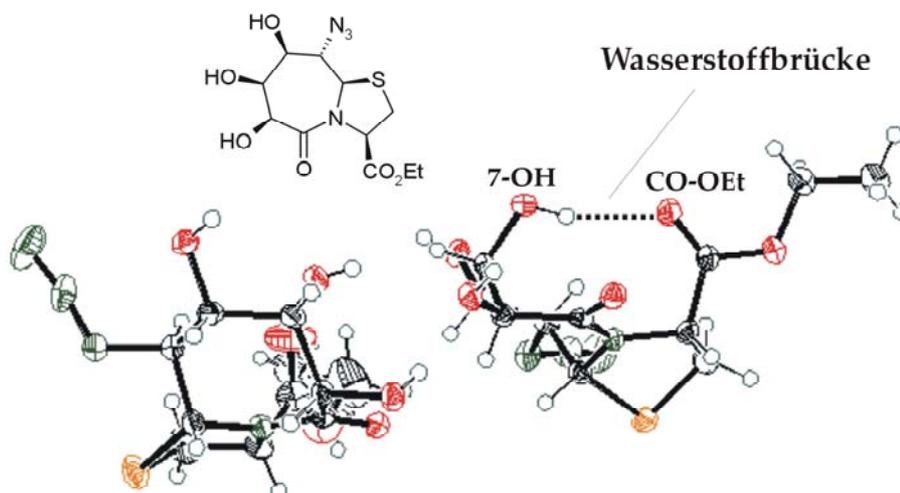


Abbildung B.1.3.-23.: Ergebnis der Kristallstrukturanalyse der Verbindung 56

Dazu wurde eine Temperaturreihe von $^1\text{H-NMR}$ Spektren in DMSO_{d_6} aufgenommen, und hieraus die Temperaturkoeffizienten bestimmt.

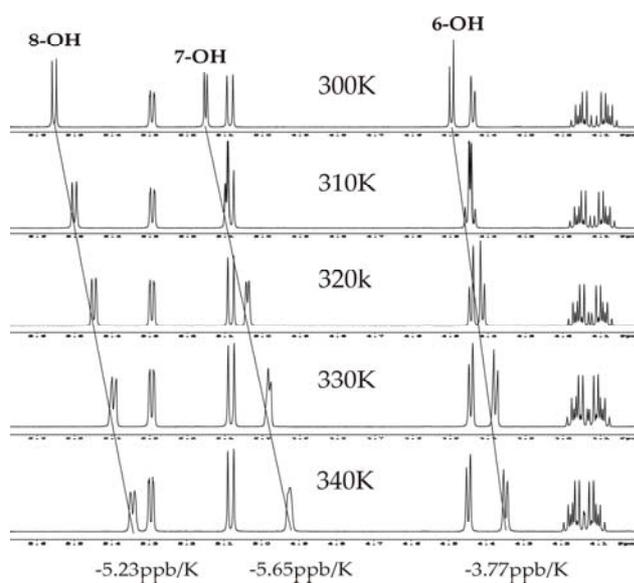


Abbildung B.1.3.-24.: Temperaturreihe Verbindung 56.
600MHz $^1\text{H-NMR}$ in DMSO-d_6

Es zeigte sich dann eines ganz deutlich, daß, zumindest in DMSO , von einer Wasserstoffbrücke nicht die Rede sein kann, da OH-7 mit ihrem Wert von -5.65 ppb/K weit von den -3 ppb/K entfernt ist, bei der eine Wasserstoffbrücke langsam als wahrscheinlich erachtet wird, und vom Betrage sogar den größten Temperaturkoeffizienten aller drei OHs aufweist.

Weitere neue Moleküle welche in diesem Kapitel vorgestellt wurden, waren die beiden Thiazolidine

Da von Thiazolidin **55** eine Kristallstruktur erhalten werden konnte, welche sehr gut mit den NMR-Daten in Einklang zu bringen war, soll bezüglich der Struktur hauptsächlich auf diese verwiesen werden,

und nur auf Ergebnisse der NMR-Analyse eingegangen werden, welche so nicht selbstverständlich zu erwarten waren:

- Es war nur eines der beiden möglichen Epimere des Thiazolidins zu beobachten (nur ein Signalsatz im NMR). Es konnte auch keine Epimerisierung beobachtet werden, so war z.B. das $^1\text{H-NMR}$ nach einer „Nachtmessung“ identisch mit dem zu Beginn.
- Das NH-Proton des Thiazolidins war als scharfes Doppeldublett zu erkennen. Bei allen bisherigen Thiazolidinen war aufgrund chemischen Austausches oft kein NH oder maximal ein verbreitertes Signal zu beobachten.

Daß wie in Abbildung **B.1.3.-25.** zu sehen dieses NH in einer deutlichen Multipllettstruktur erscheint, kann nur bedeuten, daß dieser Austausch hier in diesem Fall im Vergleich zu den anderen Proben (ebenfalls in DMSO-d₆) deutlich verlangsamt ist*.

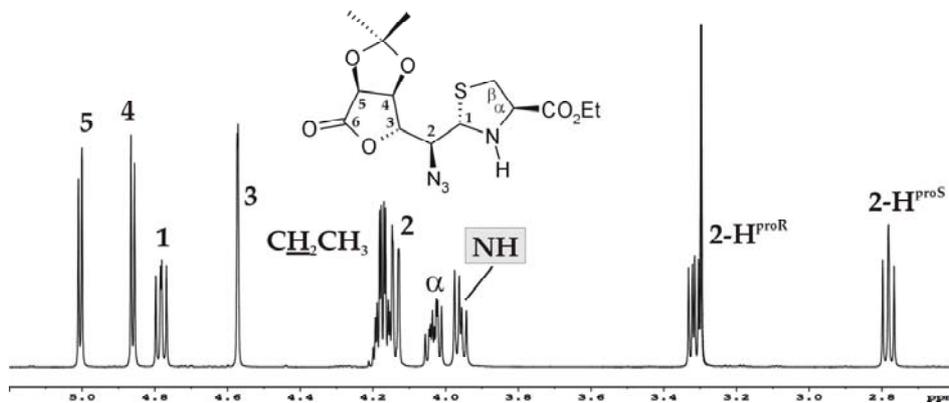


Abbildung **B.1.3.-25.**: ¹H-NMR, 600MHz in DMSO-d₆ des Thiazolidins **55**.
Hervorgehoben Thiazolidin-NH (scharfes Doppeldublett)

- In Lösung erfolgt keine Inversion am sekundären Thiazolidinstickstoff, bedingt durch Umprotonierung. So war lediglich das Thiazolidin mit seinem NH trans zum α-Proton zu beobachten.

In der folgenden Abbildung ist dann auch die angesprochene Kristallstruktur gezeigt, wobei die eingezeichneten NOEs aus dem 2D-ROESY, zusammen mit der großen Kopplung von ³J_{NH, α-H} = 11.8Hz, nur mit dieser Struktur, N-H trans zu α-H, in Einklang zu bringen sind.

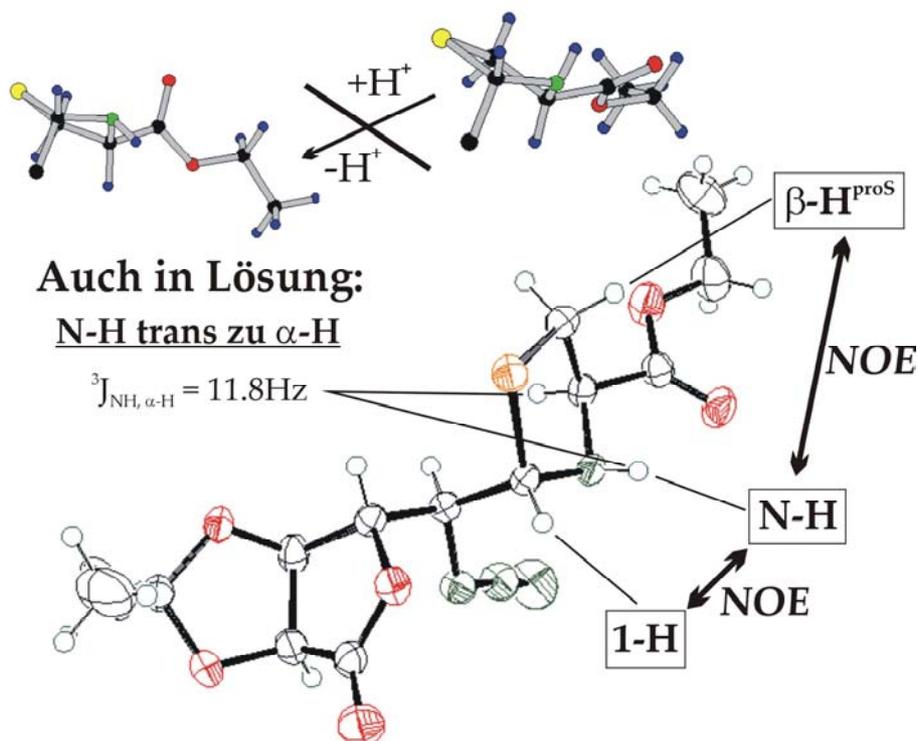


Abbildung **B.1.3.-26.**: Kristall von **55**

* Da solch eine Austauschrate von vielen Faktoren abhängt (z.B. pH, Wassergehalt, Konzentration der Probe etc.) muß dies nicht zwangsläufig direkt etwas mit der Verbindung an sich zu tun haben.

Die letzte Verbindung, welche noch behandelt werden soll, ist das zweite Thiazolidin **54**. Wie schon im Syntheseteil zuvor zu sehen, änderte sich auch hier die Konfiguration an C1 vergleicht man sie mit dem Bicyklus (hier 9a).

Der Analyse, aus welcher diese Konformation hervorging, sei dann auch hauptsächlich der letzte Teil dieses Kapitels gewidmet.

Bei den ersten beiden Thiazolidinen, jene, welche in der zuvor gezeigten Kinetik eingesetzt worden waren, war diese Zuordnung vergleichsweise einfach, es lagen beide Epimere vor, nur eines von ihnen zeigte einen intensiven NOE von α -H zu 1-H, somit handelte es sich bei diesem um das 1R-Epimer mit beiden Protonen auf derselben Seite der Ringebene.

In diesem Fall nun, war der angesprochene NOE zwar vorhanden, aber weit weniger intensiv als für eine R-Konfiguration zu erwarten, was somit schon für die angesprochene S-Konformation sprach.

Eindeutig wurde es aber erst durch das gesamte NOE Muster und die Kopplungskonstanten, und hier insbesondere ein NOE vom α -H zu 2-H wobei letzteres Proton dann noch eine große trans Kopplung von $^3J_{2-H, 1-H} = 10.2\text{Hz}$ zu 1-H zeigte. Dies alles konnte dann nur mit der angesprochenen 1S-Konfiguration in Einklang gebracht werden.

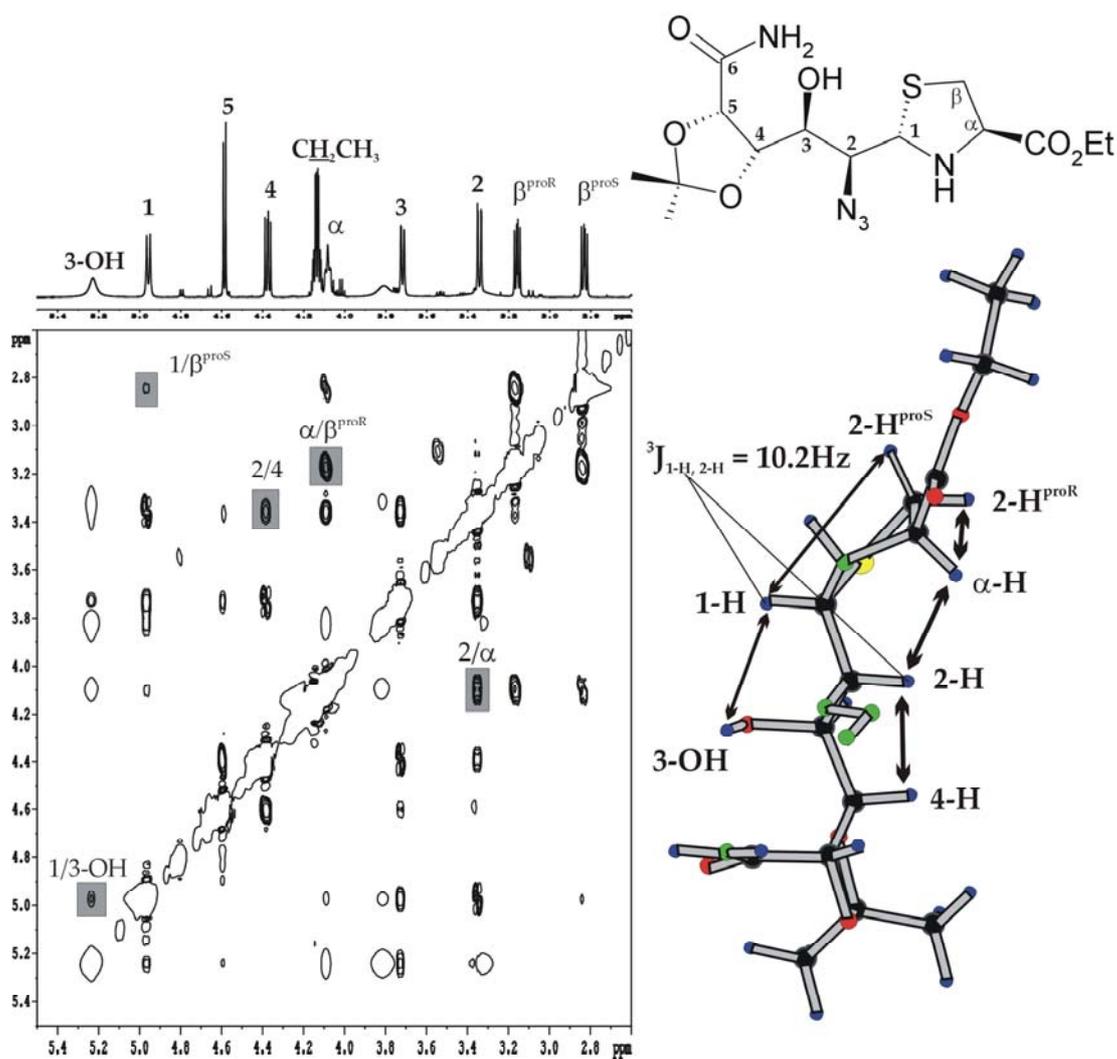


Abbildung B.1.3.-27.: 600MHz ROESY der Verbindung **54** in DMSO- d_6

1.3.3.3. Nachtrag

Zuletzt wurde mit der Verbindung **56** noch eine Titration mit CaCl_2 in Methanol- d_4 durchgeführt.

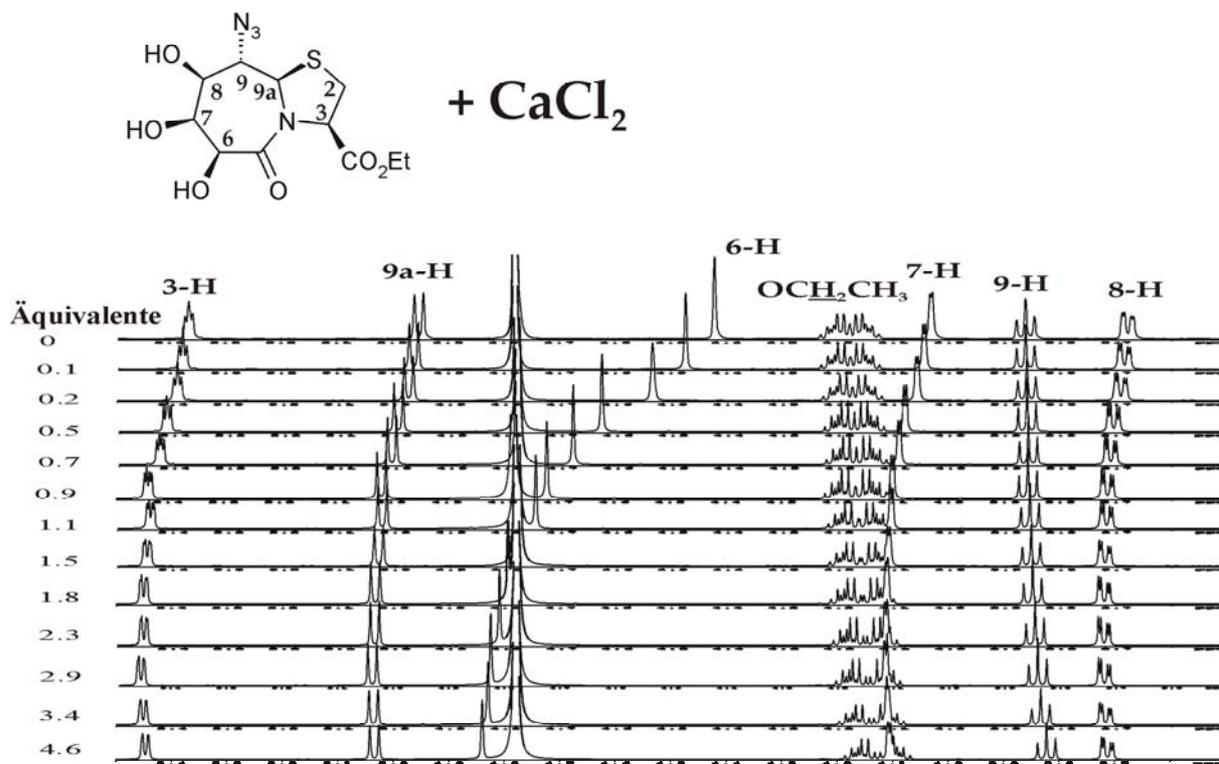


Abbildung B.1.3.-28: 600MHz ¹H-NMR-Spektren der Ca^{2+} -Titration von Verbindung **56** in Methanol- d_4

Aus den oben gezeigten Spektren ist dann auch sehr schön zu erkennen, daß tatsächlich eine Affinität des Bicyklus zu Ca^{2+} vorliegen muß, und die Änderungen der Signale in ihren chemischen Verschiebungen nicht durch die Änderung des Mediums erklärt werden können. So zeigen zwei der hier abgebildeten Signale einen kontinuierlichen, linearen Shift zu höherem Feld, während 3-, 6-, 9a-, 7- und 8-H einen für eine Komplexbildung typischen nichtlinearen Verlauf zeigen (hier jetzt zu tiefem Feld, und nach Sättigung der mediumbedingte Hochfeldshift).

Daß hier eine vergleichsweise hohe Affinität vorliegt, zeigte schon der Umstand, daß nach max. drei Äquivalenten Ca^{2+} die Werte der chemischen Verschiebungen ihr „Plateau“ erreicht hatten. Bestätigt wird dies dann durch die erhaltene Komplexbildungskonstante von $K_A = 326$ l/mol.

Die hier festgestellte Eigenschaft dieses als Dipeptideinheit gedachten Bicyklus, ist in mehrerer Hinsicht interessant. So war, wie dargestellt, ein Motiv für die Synthese dieses Bausteins die Möglichkeit, daß er in der Lage sein könnte, Proteasen zu inhibieren. Diese Überlegung beruhte, wie gezeigt, darauf, daß diese Art von Verbindung den Übergangszustand während der Proteolyse zu imitieren imstande sein könnte. Durch die nun festgestellte Eigenschaft, Metallionen binden zu können, ergibt sich dann noch ein zweiter Aspekt, welcher dieses Molekül für eine bestimmte Gattung von Proteasen besonders interessant machen könnte.

So gibt es unter den verschiedenen Enzymen dieses Typs eine Klasse, welche, aufgrund dieses Ergebnisses, als Ziel besonders lohnend wäre. Die sogenannten Metalloproteasen, Enzyme mit einem Metallion im aktiven Zentrum. Genau für diese Verbindungen ist es plausibel, daß ein Mimetikum, mit einem Baustein, welcher Ionenaffinität zeigt, ein möglicher Ligand sein könnte.

Der zweite Punkt, wenn es darum geht, sich diese hier festgestellte Eigenschaft zunutze zu machen, liegt im strukturellen Bereich.

Betrachtet man die CH-Protonen, welche die hier beobachtete Komplexierung in der Änderung ihrer chemischen Verschiebung widerspiegeln, so sind dies einerseits jene, welche sich in einer CH-OH-Gruppe befinden. Was dafür spricht, daß eben die jeweilige Hydroxylgruppe an der Bindung beteiligt ist. Daß dann auch 3-H diesen Effekt zeigt, macht es zumindest wahrscheinlich, daß das benachbarte Carbonyl ebenfalls mit involviert ist. Das heißt nun aber, daß man durch Ionenzugabe die eigentlich frei bewegliche CO in einer bestimmten Position fixieren können müßte, was dann besonders interessant wird, wenn der Baustein über die entsprechende Carboxyfunktion in ein Peptid eingebunden ist, da sich somit der Ψ -Winkel an Position 3 beeinflussen ließe. Somit könnte es möglich sein, Konformationen zu fixieren oder gar einen Konformationswechsel zu erzwingen, so daß man, in gewissem Sinne, durch Ionenzugabe die Struktur „umschalten“ kann. Aber nicht nur das angesprochene Carbonyl, sondern auch die Hydroxylgruppen könnten diesbezüglich von Interesse sein, da auch für diese denkbar ist, daß sie für die Konformation eines Peptides eine Rolle spielen, auf welche dann durch eine Ionenbindung eingewirkt werden könnte.

2. Modellpeptide

2.1. Peptide der 6,5-Bizyklen

2.1.1. Synthesen

2.1.1.1. Ein Problem

Die ersten Versuche, die vorgestellten Bizyklen nun auch in der Peptidsynthese einzusetzen, wurden anhand des neuen 6,5-Bizyklus unternommen.

Wie im ersten Teil gezeigt, gelang es zwei epimere Dipeptidisostere, mit den beiden orthogonalen Schutzgruppen Boc und Methylester zu synthetisieren. Um diese nun auch in ein größeres Peptid einzubauen, war es grundlegend zunächst eine funktionierende Entschützung auszuarbeiten.

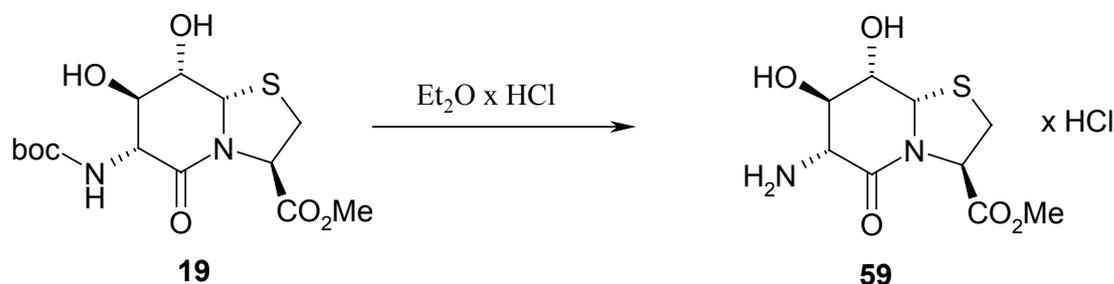


Abbildung B.2.1.-1.: Entschützung der Boc-Gruppe

Es gelang dann zwar noch durch Umsetzung mit gesättigter etherischer HCl das freie Amin 59 zu erhalten, die basische Entschützung der Carbonsäurefunktion, mit anschließender Kupplung brachte dann aber nicht mehr die erhofften Ergebnisse.

Diese Reaktion war insofern problematisch, als daß bei der Verseifung mit LiOH, sogar noch vor der Esterhydrolyse, Epimerisierung beobachtet werden mußte, und gleichgültig von welchem Epimer ausgegangen wurde, waren nach erfolgter Reaktion immer zwei Hauptverbindungen im entsprechenden NMR-Spektrum zu beobachten.

Hierauf wurde, über NMR, eine Betrachtung der Kinetik dieser Reaktion durchgeführt, indem die beiden Bizyklen 6R und 6S, getrennt jeweils mit LiOH in MeOD umgesetzt wurden.

Es zeigte sich, was schon aufgrund der Reaktions-DCs vermutet wurde, sehr schnell, noch vor der eigentlichen Spaltung des Esters, setzte die Epimerisierung an Position 6 ein, und bis zum Ende der Verseifung wurde, unabhängig davon, von welchem der Bizyklen ausgegangen wurde, 6(R) oder 6(S), ein Gemisch der beiden Epimere in etwa gleichen Anteilen erhalten.

Trotz dieses wenig erfreulichen Ergebnisses, wurden noch einige Versuche unternommen, den Baustein dennoch zu kuppeln, unter anderem aus der Idee heraus, daß es vielleicht möglich wäre, den Bizyklus in ein Peptid eingebaut, in nur eine Richtung zu epimerisieren, indem sich dann jene Konfiguration bevorzugt ausbildet, welche zur stabilsten Konformation führt. So wurde die Synthese eines zyklischen Hexapeptides, welches alternierend aus zwei Bizyklen und zwei Aminosäuren aufgebaut sein sollte (also zyκλο(6,5Bic-AS-6,5Bic-AS)), in Betracht gezogen.

Dazu wurde der Bizyklus verseift und anschließend mit Glycinmethylester gekuppelt. Hierbei gelang es zwar, die erhaltenen Epimere wieder zu trennen, zusätzlich mußte aber noch eine dritte Verbindung isoliert werden.

Bei dieser handelte es sich um das Produkt der Eliminierung an Position 6 und 7. Diese drei Produkte konnten immer, egal von welchem Bizyklus ausgegangen wurde, je nach den Bedingungen, in unterschiedlichen Mengen, erhalten werden, wobei als Hauptprodukt die beiden Epimere 60 und 61 in relativ ähnlichem Verhältnis auftraten, und das Eliminierungsprodukt 62 dabei in der Regel ca. 10% der Gesamtausbeute ausmachte.

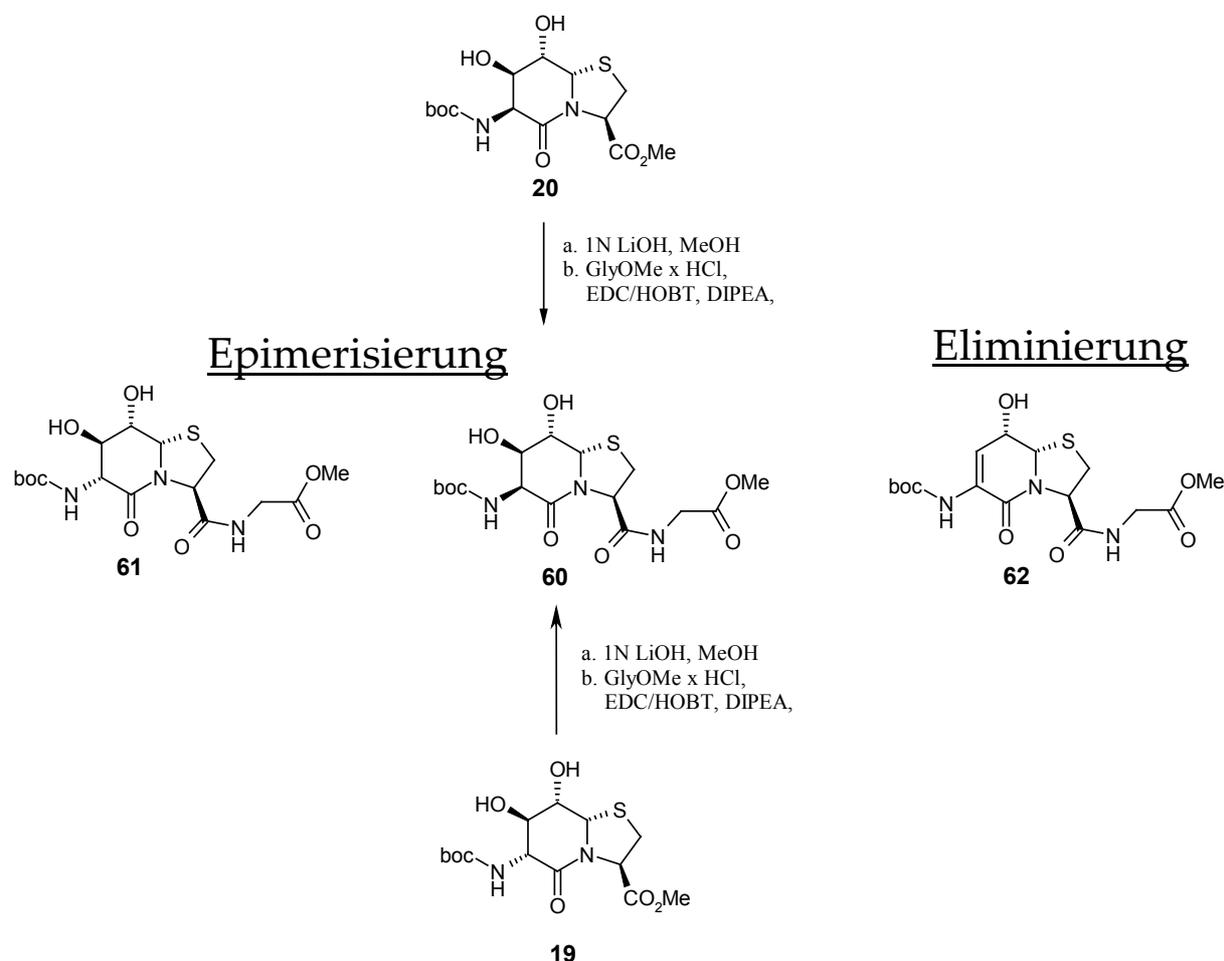


Abbildung B.2.1.-1.: Ergebnisse der C-terminalen Peptidkupplung der 6,5-bizyklischen Dipeptidisostere

Da sich hiermit zeigte, daß nun zusätzlich noch mit einer zweiten Nebenreaktion zu rechnen war, wurde, nach einem vergeblichen Versuch zwei Tripeptide zu kuppeln, was zu einer unüberschaubaren Anzahl an Produkten führte, von denen keines sauber isoliert werden konnte, das Projekt vorerst auf Eis gelegt.

2.1.1.2. Die Lösung

Wie erwähnt, war es in Anbetracht der Probleme, welche sich bei der Verseifung der 6,5 Bicyklen ergaben vorerst nicht angebracht, hier weitere Arbeit und Zeit im Hinblick auf etwaige Peptidkupplungen zu investieren.

Bei genauerer Betrachtung bargen aber genau diese zuvor geschilderten Probleme auch die Chance dieses Teilprojekt dieser Arbeit weiterzuführen.

Da das Hauptproblem in der Epimerisierung an Position 6 lag, war hier also der Punkt wo man den Hebel ansetzen mußte, und wie dies möglicherweise geschehen konnte, darauf wies die zweite Nebenreaktion, die Eliminierung, hin, denn gelänge es die Reaktion auf diese Seite zu treiben, hätte sich somit das Problem der Epimerisierung an dieser Position erledigt.

Daß es dann nicht zwangsläufig bei dieser einfachen Eliminierung bleiben muß, zeigt eine weitere Nebenreaktion. So wurde beobachtet, daß eine Aktivierung von OH-8 ebenfalls zu einer Eliminierung führt, worauf sich eine Doppelbindung zwischen C8 und C8a ausbildete, gerade diese Tendenz sollte durch die Triebkraft nunmehr ein aromatisches System auszubilden, beim einfach eliminierten Baustein noch verstärkt sein.

In Abbildung **B.2.1.-2.** seien noch einmal die beiden damals unerwünschten Nebenreaktionen dargestellt, welche schlußendlich Ausgangspunkt einer neuen Verbindungsklasse in dieser Arbeit wurden.

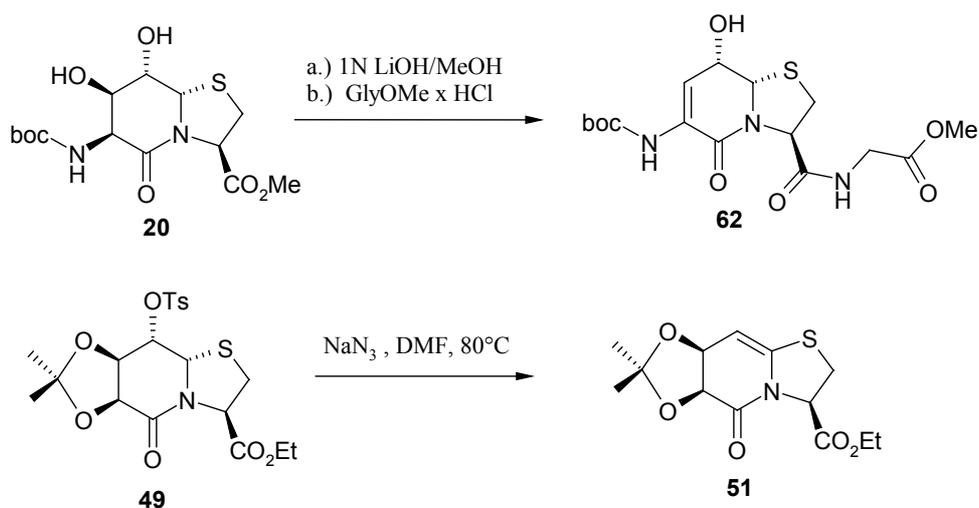


Abbildung **B.2.1.-2.**: Eliminierung am 6,5Bicyklus

Um die Eliminierung von OH-7 zu katalysieren, galt es zunächst eine Base zu finden, welche zum einen stark genug war, das Proton an Position 6 zu abstrahieren, zum anderen aber für's

erste den Ester intakt ließ, da nicht mit Vollständigkeit dieser Reaktion zu einem sauberen Produkt gerechnet werden konnte, und eine dann erforderliche säulenchromatographische Aufreinigung der freien Säure als nicht unproblematisch angesehen wurde.

Da sich Stickstoffbasen wie NEt_3 oder DBU als zu schwach erwiesen, wurde Natriummethanolat in Methanol (abs.) gewählt, ein Vorgehen welches als Nebenreaktion lediglich eine „Umesterung“ wieder zum Methyl ester zur Folge hätte.

Ausgegangen wurde vom Gemisch der beiden epimeren Bizeklen **19** und **20**, da angenommen werden konnte, daß sich der für eine Eliminierung favorisierte 6S Bizeklus, in Folge der ausgeprägten Tendenz zur Epimerisierung, auch aus jenem mit 6R-Konfiguration bilden würde. Hiermit gelang es dann, unter nicht gänzlich zufriedenstellenden Ausbeuten, das gewünschte Produkt zu erhalten.

Dafür war der zweite Eliminierungsschritt problemloser als vermutet, denn gleichzeitig mit Entschützung der Boc-Gruppe, durch Umsetzung mit HCl in Ether*, konnte schon die aromatische Verbindung **64** erhalten werden.

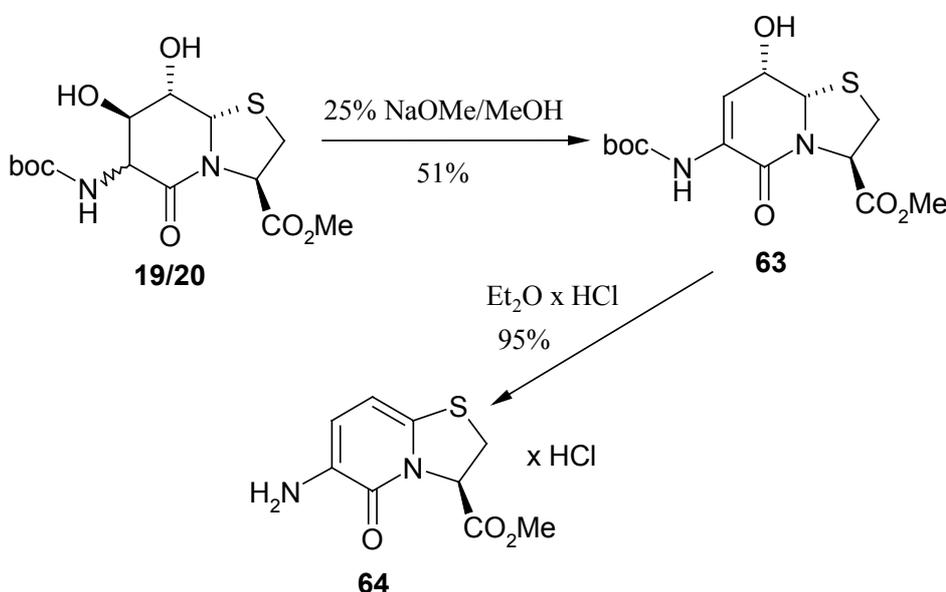


Abbildung B.2.1.-3.: Synthese des aromatischen Bausteins **64**

Somit war die Idee, auch noch den einfacheliminierten Baustein zu erhalten, hiermit praktisch erledigt, zumal sich später herausstellte, daß die Eliminierung wohl sogar noch vor der Boc-Entschützung stattfindet.

Geht man noch einmal zum Ausgangspunkt dieser Synthese zurück, der Beobachtung, daß bei einer Kupplung des 6,5-Bizekluses, als eines von drei Produkten das teileliminierte Tripeptid **62** isoliert wurde, böte dies möglicherweise eine einfache Variante, den Aromaten nun auch in ein Peptid einzubauen. Denn wenn es gelänge, die Reaktion auf die Seite der eliminierten Verbindung zu ziehen, so hätte man zwei Schritte in einem vollzogen.

* Der Einsatz von $\text{Et}_2\text{O} \times \text{HCl}$ hatte hier folgenden Vorteil: als Aufarbeitung genügte einfaches filtrieren des angefallenen Niederschlags, um in guter Ausbeute und hoher Reinheit den Aromaten, als stabiles Hydrochlorid zu erhalten, und dies war der zweite Vorteil, daß der an sich nicht sonderlich stabile Aromat, sich in dieser Form, als getrocknetes pulveriges Hydrochlorid ohne Probleme längere Zeit aufbewahren läßt.

Bei der soeben angesprochenen Synthese konnte beobachtet werden, daß der Anteil dieses Nebenproduktes abhängig war, von der Zeit welche für die Verseifung aufgewendet wurde, so führte eine längere Dauer dieser Reaktion, auch zu einem Mehr an Nebenprodukt, z.B. erbrachte eine Synthese, bei welcher die Verseifung über einen Tag geführt wurde, nach der Peptidkupplung schon 33% des angesprochenen Eliminierungsproduktes **62**.

An diesem Punkt galt es nun anzusetzen. Eine Frage war nur, inwiefern hat dies Vorgehen Auswirkungen auf den Bizyklus, übersteht er längere Zeit im basischen Milieu, ohne daß z.B. das Lactam aufgeht, oder sonstwie Zersetzung stattfindet.

Da eine Aufreinigung nach der Kupplung möglich war, wären solche Nebenreaktionen, wenn sie denn im kleineren Maßstab abliefen, aber noch zu tolerieren.

Um mögliche Klarheit hierüber zu erlangen, wurde eine Probe von **19** in MeOH mit LiOH (1 äqu.) versetzt, und mehrere Tage bei RT gerührt. Davon wurden dann immer wieder Proben entnommen, neutralisiert, das LM entfernt und ein NMR-Spektrum aufgenommen. Hierbei zeigte sich, daß sich das Eliminierungsprodukt erwartungsgemäß anreicherte, es aber keinerlei sichtbare Verunreinigungen gab, so waren in allen Spektren nur die beiden 6R und 6S Bizyklen plus das Eliminierungsprodukt zu erkennen, und nur letzteres war dann nach ca. 10 Tagen als einzig relevante Verbindung zu detektieren.

Somit war es also möglich, gleichzeitig zu eliminieren und zu verseifen, wobei es genügte, nach Neutralisation mit HCl, lediglich das LM zu entfernen, um sauber die Verbindung **65** in der Hand zu haben, welche so weiter in der Peptidsynthese eingesetzt werden kann.

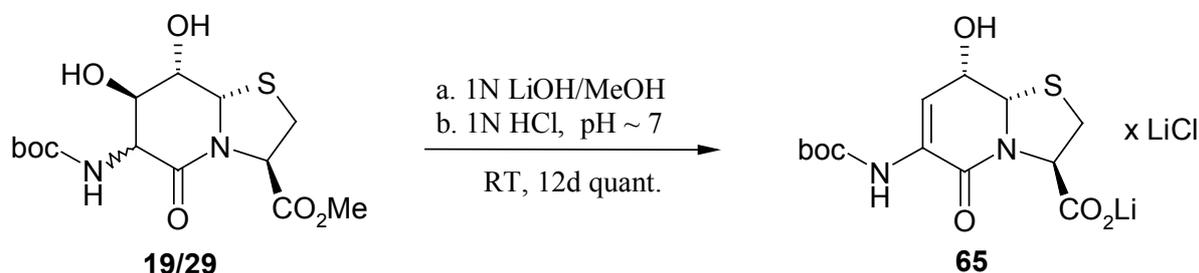


Abbildung B.2.1.-4.: Entschützung und Eliminierung in einem Schritt

Eine Möglichkeit mit diesem Baustein nun weiter zu arbeiten bestand darin, erst einmal, analog wie beschrieben, den freien Aromaten zu generieren, indem wieder unter sauren Bedingungen in einem Schritt entschützt und eliminiert wurde.

Hieraus läßt sich dann durch Umsatz mit Fmoc-Succinimid ein fertiger Baustein für die Peptidsynthese gewinnen. Um in einem Schritt zu einem N-terminal geschützten Tripeptid zu gelangen, setzt man Verbindung **66** direkt mit der Pfp aktivierten Fmoc geschützten Aminosäure um, so ebenfalls in Abb. **B.2.1.-5.** gezeigt.

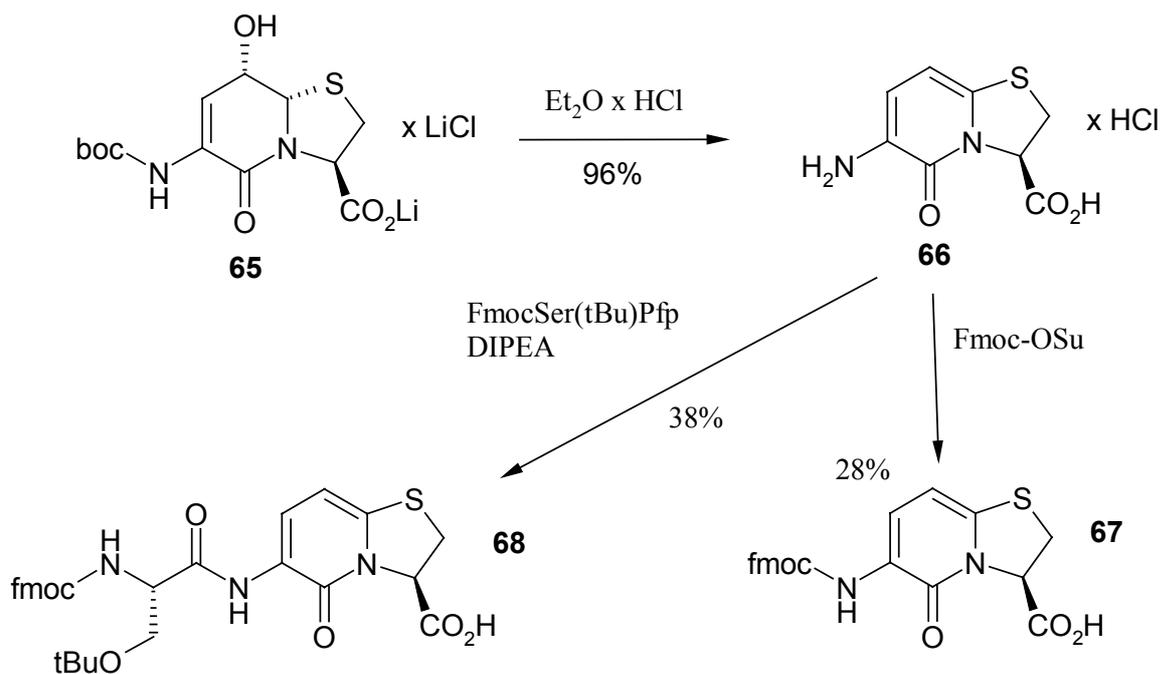


Abbildung B.2.1.-5.: Synthese eines Fmoc-geschützten Dipeptid- und Tripeptidbausteins

Beide Reaktionen wurden nur einmal durchgeführt also nicht optimiert, es ging hier lediglich darum aufzuzeigen, daß dieser Weg überhaupt gangbar ist. Dies und der Umstand, daß die eingesetzte Pfp-AS wohl nicht mehr rein war, soll als Erklärung für die etwas bescheidenen Ausbeuten genügen.

Auf eine Optimierung wurde ferner verzichtet, da, will man den Aromaten in ein Peptid einbauen, man ihn gar nicht als fertig geschützten Dipeptidbaustein benötigt, sondern den Aromaten am Peptid selbst generieren kann.

Wie dies von statten gehen könnte, ist aus den gezeigten Reaktionen schon ersichtlich. So kann selbstverständlich der einfacheliminierte Baustein **65** schon zur Kupplung eingesetzt werden, entschützt man dann das resultierende Peptid mit $\text{Et}_2\text{O} \times \text{HCl}$, generiert man im selben Schritt den Aromaten.

Läßt man hierauf dann eine N-terminale Kupplung folgen, ist das Ziel den Aromaten in ein Peptid einzubauen, somit schon erreicht.

Die nächste Abbildung zeigt dann auch die erfolgreiche Umsetzung dieses Konzeptes. Mit dem Tetrapeptid **70** gelang es somit, den für diesen Zweck als zunächst unbrauchbar verworfenen 6,5-Bizyklus, ohne zusätzlichen Synthese- oder Aufreinigungsschritt, zum einen in ein neues, aromatisches Dipeptidisoster umzuwandeln, und zum anderen diesen neuen Baustein, nunmehr problemlos, in ein Peptid auch einzubauen, ohne daß Eliminierung oder Epimerisierung zu befürchten ist.

Als Manko dieser Reaktion kann die lange Reaktionszeit beim ersten Eliminierungsschritt angesehen werden, wobei zum einen zu sagen ist, daß dies die Zeit ist, welche anberaumt werden muß, um wirklich nur eine einzige saubere Verbindung zu erhalten, begnügt man sich z.B. mit rund 80% des Eliminierungsproduktes, kann schon nach vier Tagen abgebrochen werden. Zum anderen stellt es erfahrungsgemäß im normalen Laboralltag auch kein Problem dar, im Hintergrund eine Reaktion am Laufen zu haben, welche keine Kontrolle benötigt, kei-

ne chromatographische Auftrennung erfordert, am Ende lediglich einrotiert werden muß, hierdurch aber zwei Schritte in einem erzielt werden können.

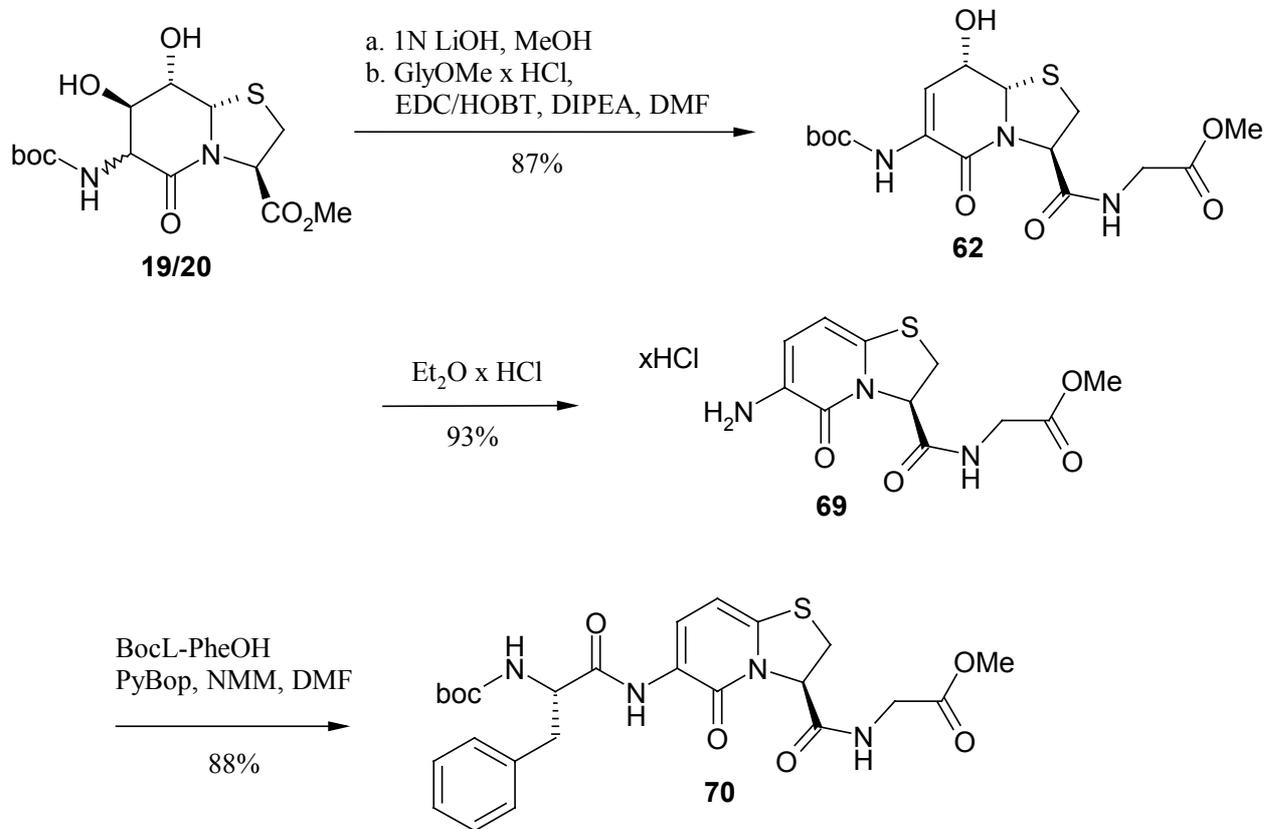
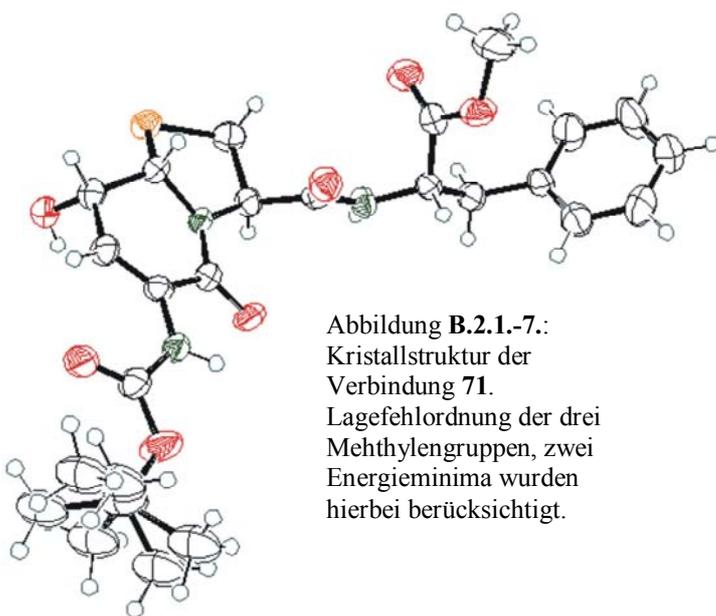


Abbildung B.2.1.-6.: Einbau des Aromaten in ein Peptid



Analog hierzu wurde dann noch ein Tetrapeptid synthetisiert bei welchem L-Phe und Gly „vertauscht“ waren 74. Erwähnenswert sind hierbei 2 Punkte. Zum einen konnte von dem Produkt der ersten Synthesestufe, dem einfacheliminierten Tripeptid 71, eine Kristallstruktur erhalten werden, und zum anderen zeigte sich hierbei, daß die Eliminierung wohl sogar der Boc-Entschützung vorausgeht. So war zu beobachten, daß der, nach einem Tag*,

* Ein zweiter Ansatz, nun über 2 Tage, führte dann nur zum erwarteten Produkt, dem entschützten Aromaten 73

durch Umsetzung mit gesättigter etherischer HCl erhaltene Nd. sauber zwei Komponenten enthielt, zwei Aromaten im Verhältnis von ca. 1:1, von denen einer noch die Boc-Schutzgruppe aufwies, beide konnten im Gemisch schon zugewiesen werden, die Trennung erfolgte dann erst nach der zweiten Kupplung mit BocGlyOH.

Da die Vermutung war, daß dieser verlangsamte Umsatz der Reaktion auf Löslichkeitsprobleme zurückzuführen sei, wurde diese Reaktion schlußendlich in einem Gemisch aus Et₂O x HCl und Methanol durchgeführt, hierdurch konnte dann schon über Nacht vollständige Umsetzung erzielt werden.

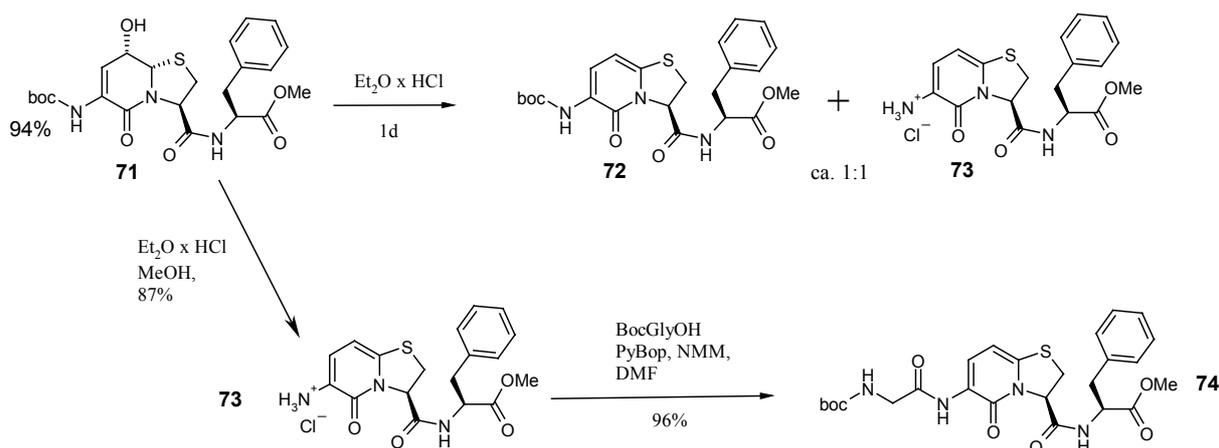


Abbildung B.2.1.-8.: Synthese eines zweiten Tetrapeptids **74**,

Diese so erhaltenen Tetrapeptide wurden dann noch verdoppelt, und die hierdurch erhaltenen Oktapeptide noch mit HATU zyklisiert.

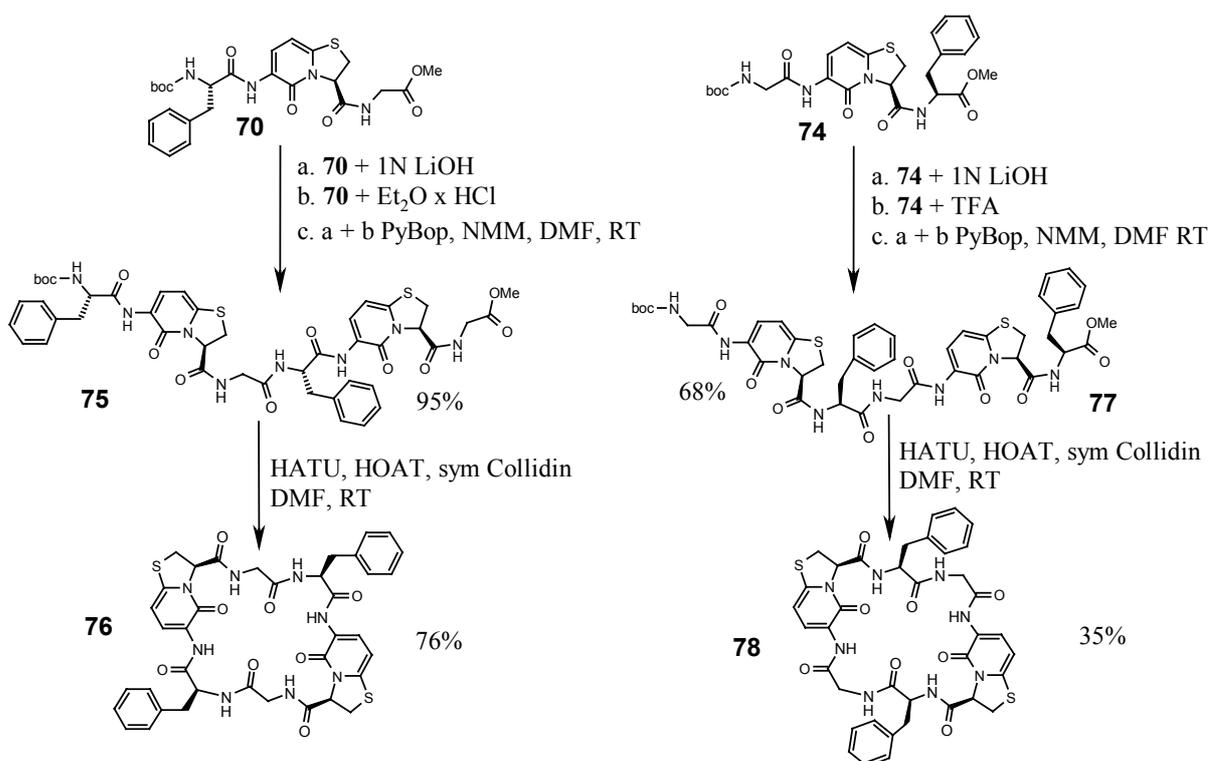


Abbildung B.2.1.-9.: Synthese zweier zyklischer Oktapeptide mit einem aromatischen Dipeptidisoster im Peptidrückgrad

Mit diesen beiden zyklischen Peptiden konnte somit klar der Nachweis erbracht werden, daß dieser neue Baustein problemlos in der Peptidsynthese Anwendung finden kann. Anschließend wurden diese beiden Verbindungen auch noch auf strukturelle Eigenschaften hin untersucht, hierbei war es dann aber nicht möglich, eine Vorzugskonformation herauszuarbeiten, was unter anderem daran lag das nur sequentielle NOEs zu beobachten waren.

2.1.2. Nachtrag

Es zeigte sich, daß der aromatische Baustein fluoreszierende Eigenschaft besitzt, als Beispiel ist hier das entsprechende Spektrum des zyklischen Peptids **76** gezeigt.

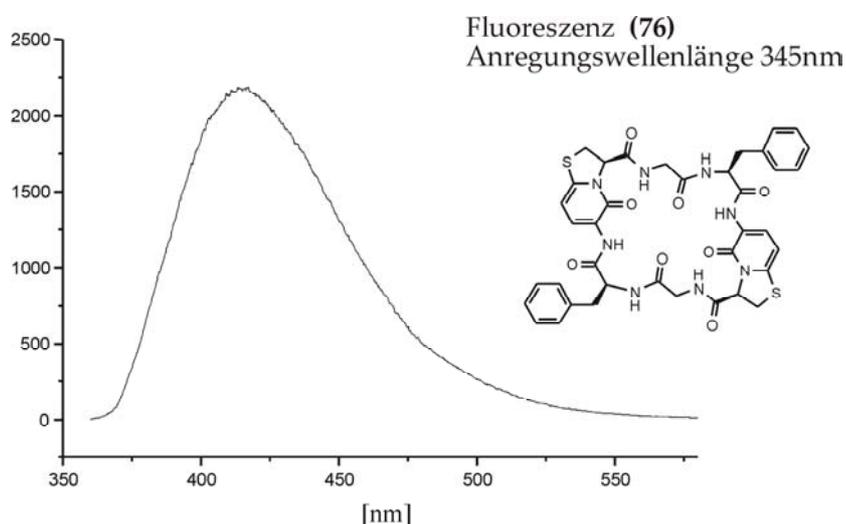


Abbildung B.2.1.-10.: Fluoreszenzspektrum des Peptids **76**

Eine genauere Betrachtung der optischen Eigenschaften dieses Verbindungstyps wurde von H. Seger im Rahmen seiner Diplomarbeit unternommen [131], welcher dieses Teilgebiet dann weiterführte.

Alles in allem hat man nun ein rigides Dipeptidisoester in der Hand, welches zusätzlich zu seinen strukturellen Eigenschaften, eingebaut in ein Peptid, als Fluoreszenzmarker dienen kann. Dies erfolgte dann auch in der Praxis, so wurde der Fmoc-geschützte Aromat **67**, von M. Haack aus der Arbeitsgruppe Beck-Sickinger, an drei unterschiedlichen Positionen in das Neuropeptid Y [132] [133] eingebaut, wobei alle drei Peptide ihre Rezeptoraffinität beibehielten.

2.2. Ein Homooligomer des 7,5-Bizyklus

Die ersten Versuche, den 7,5-Bizyklus nun in der Peptidsynthese einzusetzen, bestand darin, eine Verbindung in Angriff zu nehmen, welche sich allein aus den 7,5-Bizyklen aufbauen sollte.

Der Grund zuerst mit der Synthese eines Homooligomers zu beginnen war der, daß das einzige was sicher über die strukturellen Eigenschaften dieses neuen Bausteins gesagt werden konnte war, daß hier eine Dipeptideinheit vorlag, welche in ihrer konformationellen Beweglichkeit soweit eingeschränkt war, daß ein hieraus resultierendes Peptid nur noch vergleichsweise wenig Freiheitsgrade aufweisen kann, und betrachtet man das Peptidrückgrat, sich eine mögliche Dynamik auf die Φ - und Ψ -Winkel um die Amidbindung zwischen den Bizyklen beschränken muß.

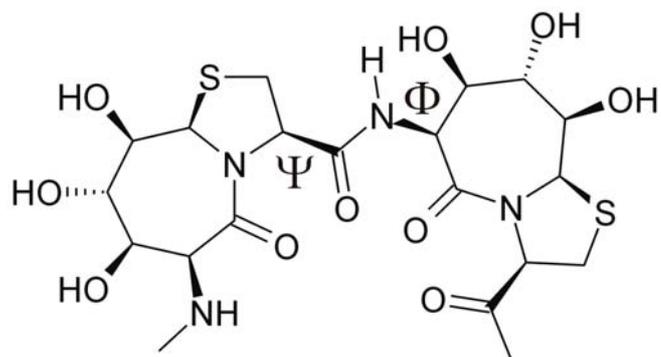


Abbildung B.2.2.-1.: Verbliebene Strukturvariablen im Peptidrückgrat eines homooligomeren Peptids aus 7,5-Bizyklen

2.2.1. Synthesen

Da mit dem Dipeptidisoester **5**, ein Baustein mit zwei orthogonalen Schutzgruppen, der säurelabilen Boc-Gruppe und dem basisch zu spaltenden Ester, vorlag, welche so in der Peptidsynthese Standard sind, war die Herangehensweise, aufgezeigt durch abertausende derartige schon erfolgreicher Synthesen, praktisch schon vorgegeben.

Allerdings gab es bis dato noch keinerlei Erfahrungen, speziell diesen Baustein nun auch in ein Peptid einzubinden, so waren die einzigen Versuche in diese Richtung die Synthese eines Tripeptids, mit der Aminosäure am Carboxyterminus, wobei hier nicht vom Dipeptid, sondern der freien Säure des Grundbausteins, resultierend aus Cystein und γ -Glucuronolacton, noch ohne Stickstofffunktion, ausgegangen wurde.

Vor allem auch in Anbetracht der Ergebnisse, welche im zuvor gezeigten Falle des 6,5-Bizyklus erhalten werden mußten, konnte dieses Unterfangen zumindest nicht als reiner Selbstläufer eingestuft werden.

Zunächst galt es somit die Bedingungen für die Entschützungen auszuarbeiten. Im Falle der Abspaltung der Boc-Gruppe kristallisierte sich schnell heraus, daß eine Umsetzung mit gesättigter, etherischer HCl, den Bizyklus über Nacht suspensiert und dann den Nd. abfiltriert, in sehr guten Ausbeuten, und hervorragender Reinheit zum Hydrochlorid **79** führte.

Die Verseifung allerdings bereitete einige Problem, zwar war hier im Gegensatz zum 6,5-Bizyklus, aufgrund des hierdurch resultierenden axialen Stickstoffs, nicht mit Epimerisierung zu rechnen, so stellt sich der 7,5-Bizyklus aber als an sich nicht sehr stabil im basischen Milieu heraus, vor allem bei längerer Reaktionszeit, erforderlichlich z.B. bei Umsatz mit nur einem Äquivalent Hydroxybase, wurden im anschließenden Kontrollspektrum, mehrere Nebenverbindungen beobachtet.

Die besten Ergebnisse konnten dann auch bei kurzen Reaktionszeiten (15 bis 30min, bei Umsatz mit 2eq. 1N LiOH/MeOH 1:2) erhalten werden. Durch diese Vorgehensweise konnte, nach Neutralisation mit 1N HCl, praktisch ausschließlich das gewünschte Carboxylat **80** erhalten werden.

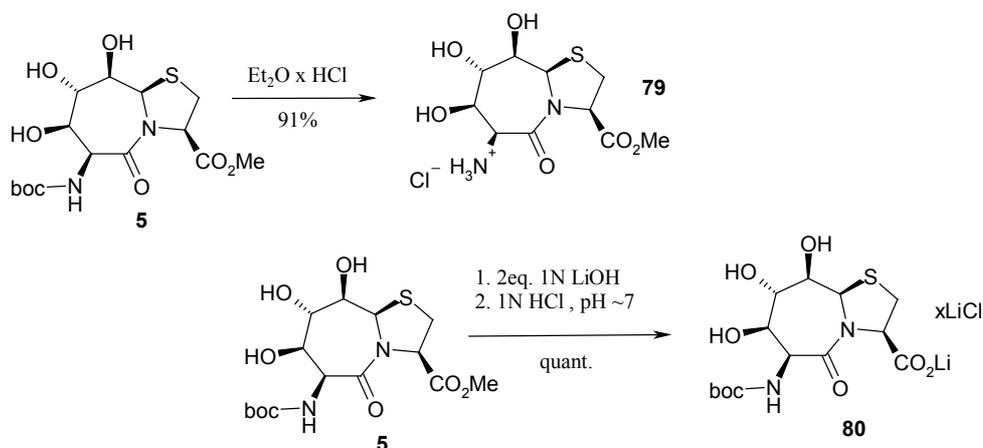


Abbildung B.2.2.-2.: Entschützung der orthogonalen Schutzgruppen

Aufgrund der etwas problematischen Verseifung, wurde dann auch immer jene Strategie gewählt, bei der, wenn möglich, das „weniger wertvolle“ Peptid verseift wurde, und jenes, in

welches schon mehr Arbeit investiert worden war, dann das war, welches mit Et₂O x HCl entschützt wurde, da letztere Methode in der Regel die problemlosere war, vor allem dar hier praktisch nie Zersetzung zu beobachten war.

Die anschließende Peptidsynthese, es wurde ein Trimer der 7,5-Bizyklen synthetisiert, bereitete dann keinerlei Probleme mehr. Da es sich hierbei um eine Standardpeptidkupplung handelte, soll es mit einem Hinweis auf das in Abbildung **B.2.2.-3.** gezeigten Reaktionsschema hierbei belassen werden.

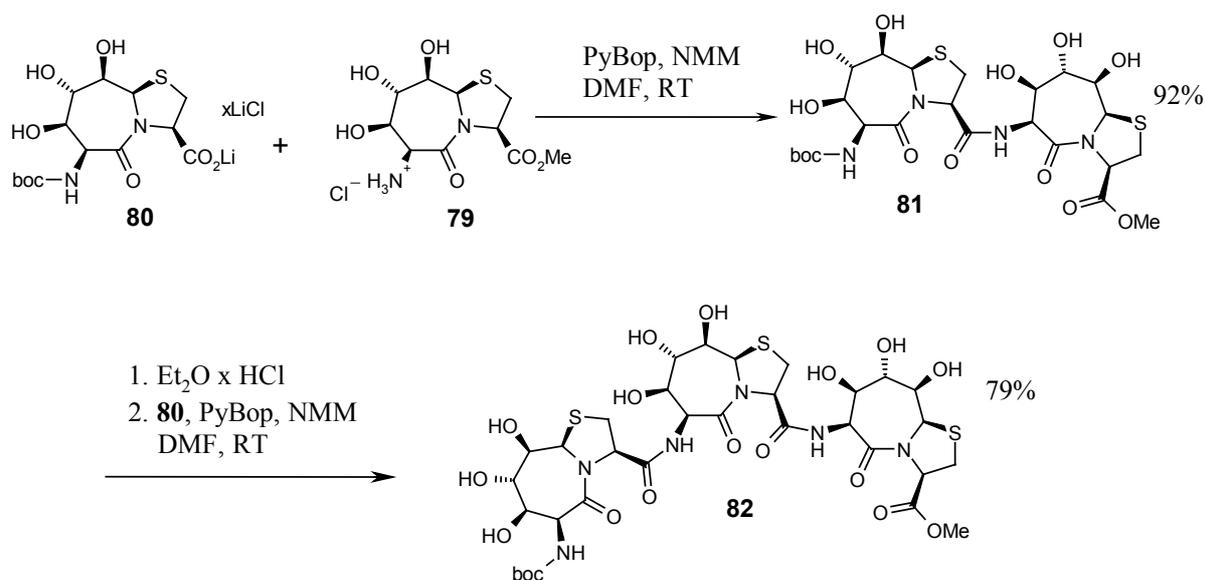


Abbildung **B.2.2.-3.**: Synthese des Trimers **82**

2.2.2 Zuordnung

Versucht man aus den Daten der NMR-spektroskopischen Untersuchungen Informationen darüber zu erhalten, aus welchen dann die Struktur einer Verbindung in Lösung ermittelt werden soll, besteht zwangsläufig der erste grundlegende Schritt in der Zuordnung der bei den Messungen erhaltenen Signale.

Da eine korrekte Zuordnung fundamental für eine spätere Strukturanalyse ist, wird nun, und auch später in den folgenden Kapiteln, anhand jeweils einer Art Musterverbindung, zumindest auf die hierbei erfolgten Schlüsselschritte eingegangen werden.

In diesem Fall kann dies selbstredend nur am Beispiel der Endverbindung **82** erfolgen.

Die Hauptschwierigkeit bei der Zuordnung der einzelnen Signale konkret dieser Verbindung bestand darin, daß die Protonen dreier identischer Bausteine zu unterscheiden waren, welche jeweils wiederum aus zwei unabhängigen Spinsystemen, dem Sieben- und Fünfring, aufgebaut waren. Zusätzlich ist es, wie schon anhand des Monomers gezeigt, über ^3J -Kopplung nur möglich vom NH bis zum benachbarten Proton 6-H zu gelangen, und nicht weiter, so daß man folglich noch ein weiteres unabhängiges Spinsystem hat.

Ein erster Schritt kann nun darin liegen, zunächst die einzelnen Molekülgruppen zuzuordnen, so besitzt man z.B. durch das HMQC-Spektrum des Monomers (Abbildung **B.1.1.-3.**) eine Art Fingerabdruck der CH-Gruppen, welcher es möglich macht, durch einen Vergleich mit der neuen Verbindung, erste wichtige Anhaltspunkte für die weitere Analyse zu erhalten.

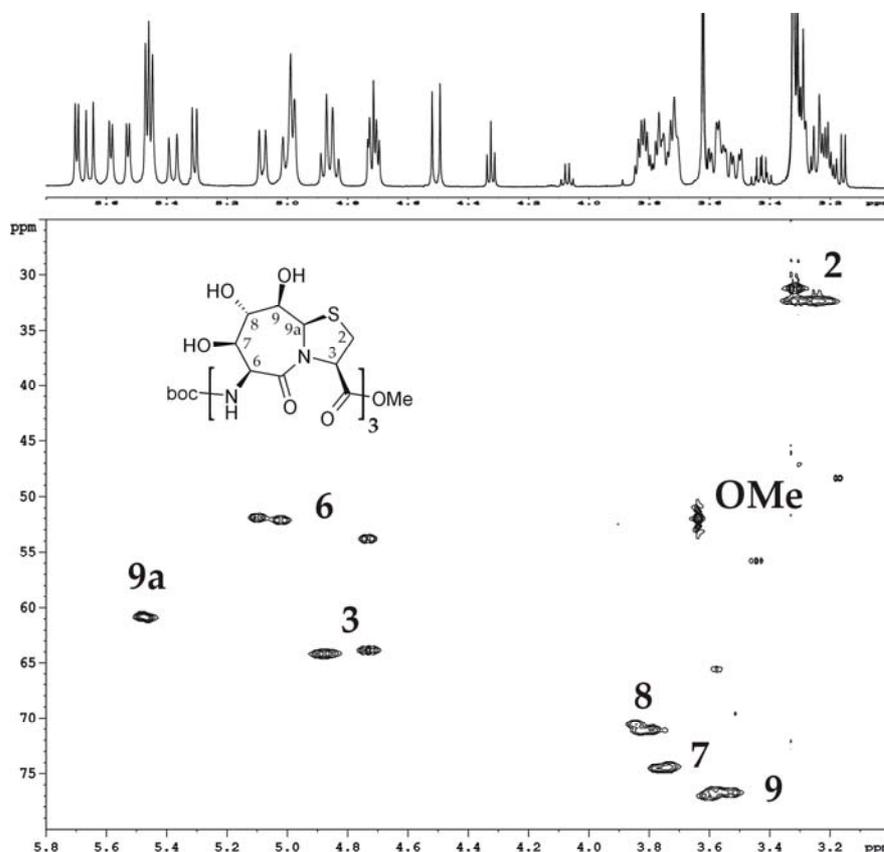


Abbildung **B.2.2.-4.**: HMQC 400MHz der Verbindung **82** in DMSO-d₆

Die in diesem Spektrum erfolgte erste Unterteilung der Signale kann fortan als Arbeitshypothese fungieren, wobei die meisten der Signale als eindeutig zugeordnet betrachtet werden können. Ein Abgleich mit anderen Daten, hat aber grundsätzlich zu erfolgen, und ist insbesondere für die CH-Gruppen 7,8 und 9 von großer Bedeutung, wo dann, wie schon gezeigt, die NOEs 9a-H/9-H und 6-H/7-H eine eindeutige Unterscheidung zulassen.

De facto wurde die Auswertung der Verbindung natürlich anhand mehrerer Spektren parallel durchgeführt, und nur aus Gründen der Übersichtlichkeit wird hier ein Spektrum nach dem anderen abgehandelt, die fraglichen NOEs wurden überprüft, und waren so auch mit der hier gezeigten Zuordnung im HMQC in Einklang zu bringen.

Mit der nun erfolgten Zuordnung der CH-Gruppen kann als folgender Schritt eine Einteilung der Hydroxylgruppen, erfolgen.

Da über die 3J -Kopplungen, aus den Kreuzsignalen des DQF-COSY Spektrums, jeder CH-ihre Hydroxylgruppe zugeordnet werden kann, und die Verschiebungsbereiche der entsprechenden aliphatischen CH-Gruppen nun bekannt sind, ist jetzt auch deren Einteilung möglich. In Abbildung B.2.2.-5. ist dann der betreffende Ausschnitt des DQF-COSY-Spektrums gezeigt. Hierdurch sind nun die einzelnen Gruppen innerhalb des Moleküls bekannt, was jetzt noch fehlt ist ihre genaue Einordnung in das Gesamtsystem.

Eine Zuordnung der Spinsysteme an sich, welche zunächst zu erfolgen hat, kann am besten durch eine Verknüpfung über NOEs erfolgen.

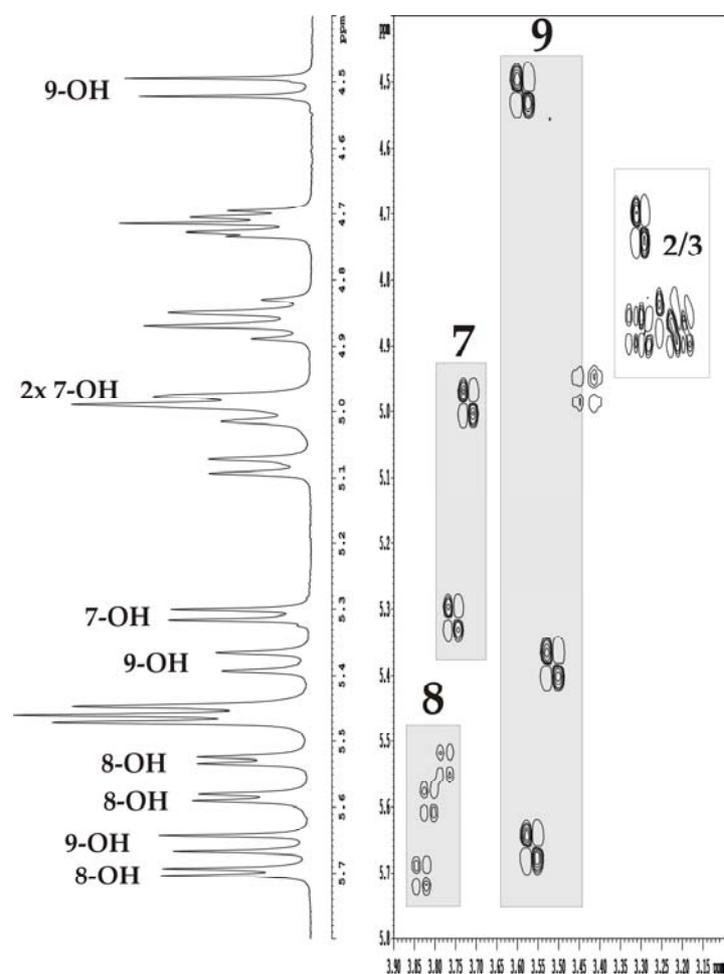


Abbildung B.2.2.-5.: 400MHz DQF-COSY der **82** in DMSO-d_6

In Abbildung B.2.2.-6. ist dann auch eine diesbezügliche Variante aufgezeigt, die einzelnen Bicyklen sind als A, B und C benannt, ausgehend vom Bicyklus am Aminoterminal.

Als Startpunkt, ein Proton dessen Zuordnung als gesichert gelten kann, wurde hier das Boc-NH gewählt, leicht zu erkennen, als das am stärksten Hochfeld verschobene NH.

Von diesem kann man über die 3J -Kopplung zum benachbarten 6A-H gelangen, ebenfalls als „Ausreißer“ im HMQC gut zuzuordnen.

Weiter wiederholt sich jetzt das, was anhand des Monomers schon aufgezeigt wurde.

Über die NOEs 6/9a und 9a/9 erreicht man die 9-OH. Hierauf erfolgt der Schlüsselschritt dieser Zuordnung, die Verknüpfung der beiden Ringe über einen NOE dieser Hydroxylgruppe zu 2-H^{proS} des Thiazolidinringes. Direkt von dieser Me-

thylengruppe führt ein weiterer NOE zur 6B-NH der Amidbindung zwischen den beiden ersten Bicyklen, von jenem gelangt man zum einen in den nächsten Siebenring, und zum anderen hat man, durch diesen Schritt schon alle drei NHs identifiziert.

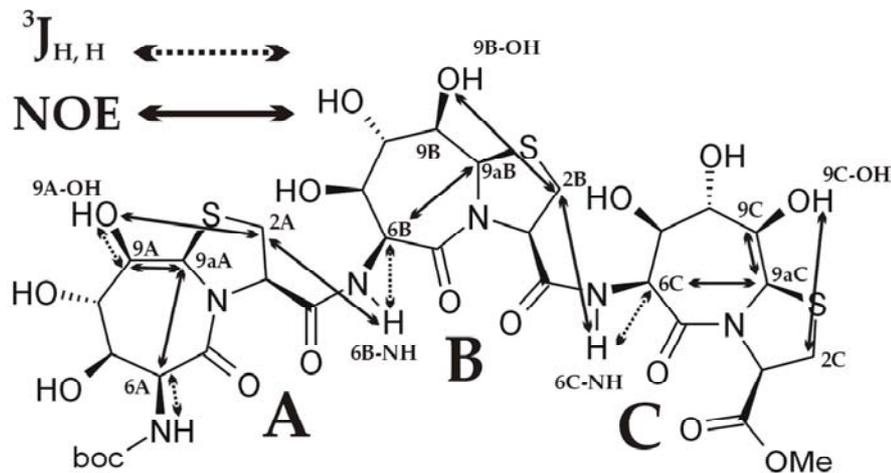


Abbildung B.2.2.-6.: Kopplungs- und NOE-Muster zur Zuordnung der einzelnen Spinsysteme von **82** (nur hierfür essentielle NOEs und 3J -Kopplungen sind aufgeführt)

Da für das verbleibende NH, das 6C-NH, ein analoges Verknüpfungsmuster zu den beiden letzten Bicyklen beobachtet werden konnte, war es jetzt möglich, jedem der einzelnen Spinsysteme seinen Platz im Peptid zuzuweisen, und, da des weiteren für jedes zumindest ein Proton bekannt war, konnte über 3J -Kopplungen und/oder NOEs, eine zweifelsfreie Zuordnung der restlichen noch ausstehenden Signale erfolgen.

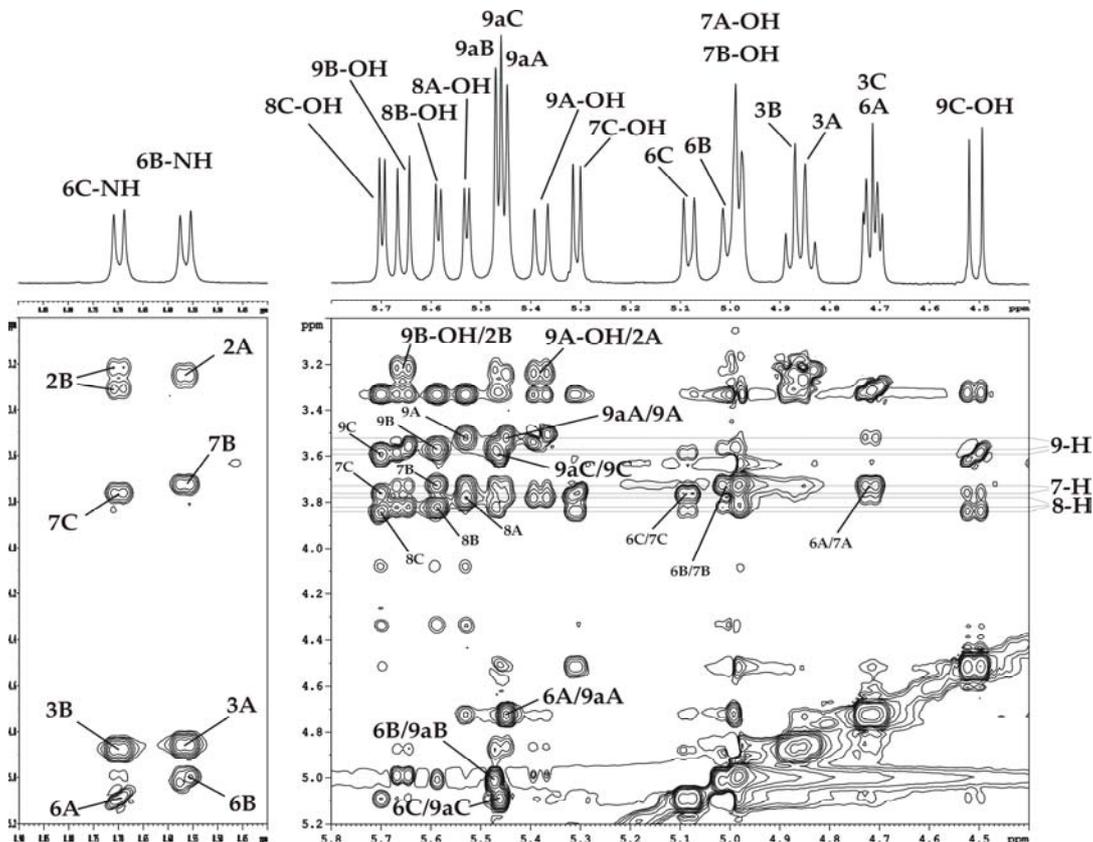


Abbildung B.2.2.-7.: 400MHz NOESY (300ms) der Verbindung **82** in DMSO- d_6

2.2.3. Strukturanalyse

Will man etwas über die strukturellen Eigenschaften eines solchen Oligomers erfahren, kann zu Beginn ein Vergleich der bis dato erhaltenen ^1H -Spektren vom Monomer, bis hin zur fertigen Endverbindung, ein erster wichtiger Schritt sein, denn schon ohne genaue Zuordnung, ist oft allein anhand des sich hier darbietenden Spektrenbildes eine erste Aussage möglich, inwieweit hier die Tendenz zu einer Struktur vorliegt, sprich gibt es möglicherweise eine oder mehrere Vorzugskonformationen, oder hat man es mit einer dynamischen Verbindung zu tun, welche sehr viele Konformationen gleichberechtigt einnehmen kann und dies folglich auch tut.

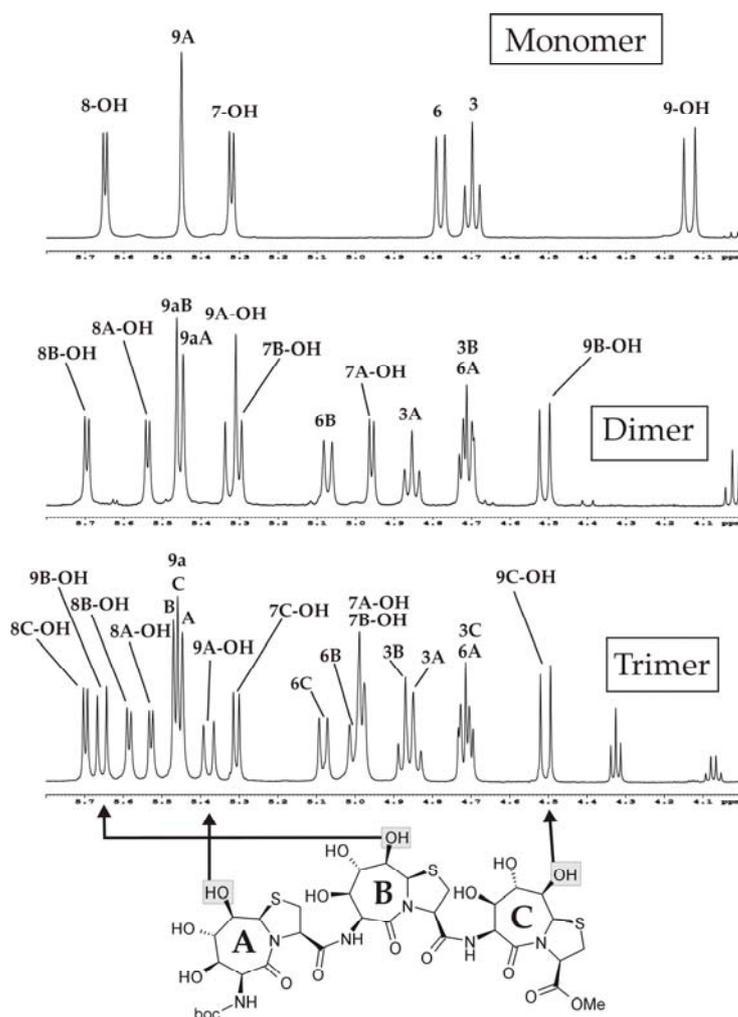


Abbildung **B.2.2.-8.**: Vergleich 400MHz ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen **5**, **81** und **82** (von oben nach unten) in DMSO-d_6

Ein gutes Indiz für eine definierte Struktur, ist ein Spektrum, in welchem vergleichbare Signale sehr unterschiedliche chemische Verschiebungen aufweisen, also eine starke Dispersion der Signale auf der Meßskala zu beobachten ist. Im umgekehrten Fall, der dynamischen Struktur, ist anstatt einer breiten Streuung, eine Häufung dieser Signale auf wenige ppm zu beobachten.

In der Abbildung **B.2.2.-8.** ist dann auch ein solcher Vergleich der jeweiligen ^1H -Spektren gezeigt.

Augenscheinlich ist hier die starke Streuung der einzelnen Signale im Spektrum, wobei vor allem die Hydroxylgruppe an Position 9 hervorsticht, welche, obwohl maximal weit vom Ort der Modifikation, der Amino- bzw. Carboxylfunktion, entfernt, die größte Dispersion in ihrer chemischen Verschiebung aufweist.

Nun ist es nicht das erste Mal, in dieser Arbeit, daß speziell dieser Gruppe besondere Beachtung zugewiesen wird, und wenn, war dies immer im Kontext mit Wasserstoffbrücken der Fall, und genau deren Vorhandensein ist auch bei diesem Molekül die plausibelste Erklärung für das Verhalten der Hydroxylgruppen an Position 9, denn geht man davon aus, daß, wie im Monomer, auch hier die besagte Wasserstoffbrücke, 9OH zum Carbonyl, vorliegt, worauf allein schon die hier erhaltenen großen Kopplungskonstanten weisen, alle drei um die 10Hz, so ist hiermit nun doch ein signifikanter Unterschied innerhalb dieser Hydroxylgruppen zu erkennen. Denn in diesem Fall würde bei 9A-OH und 9B-OH das Carbonyl eines Amids als Akzeptor fungieren, bei 9C-OH jedoch, welche sich stark in ihrer Verschiebung von den beiden anderen unterscheidet, würde das Carbonyl eines Esters diese Funktion übernehmen.

Da eine solche Situation gewichtige Auswirkungen auf eine mögliche Struktur hätte, so bliebe durch solch eine gezwungene Ausrichtung des Carbonyls nur noch der Φ Winkel um die Bindung vom NH zu C-6 als Variable, bedarf die hier aufgestellte These, noch weiterer Bestätigung.

Ein weiterer wichtiger Anhaltspunkt sind hier wiederum die Temperaturgradienten der entsprechenden Protonen.

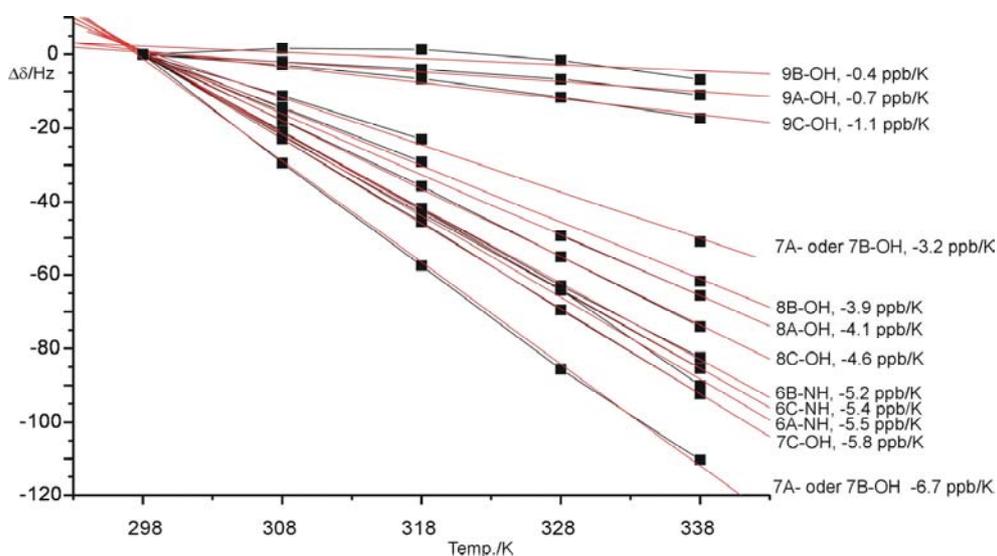


Abbildung B.2.2.-9.: Temperaturgradienten der Hydroxyl- und Amidprotonen des Trimers **82**

Der in Abbildung B.2.2.-9. gezeigte Graph, resultierend aus den Ergebnissen der Temperaturreihe, führt dann wieder zu einer klaren Deutung dieses Sachverhaltes.

So setzen sich die angesprochenen drei Hydroxylgruppen, betrachtet man die Temperaturabhängigkeit ihrer chemischen Verschiebungen, so eindeutig von den anderen ab, daß die postulierte Wasserstoffbrücke, worauf die Kopplungen schon einen klaren Anhaltspunkt lieferten, hier wie auch schon im Monomer, vorhanden sein muß.

Eine weitere Eigenschaft von Protonen, die in Wasserstoffbrücken gebunden sind, welche ebenfalls spektroskopisch zugänglich ist, ist ihr verlangsamter chemischer Austausch. Diesbezügliche Raten lassen sich z.B. über die Intensität der Austauschsignale zu anderen aziden Protonen, oder dem vorhandenen Restwasser, aus einem NOESY- oder ROESY-Spektrum bestimmen.

Ein anderer Effekt, welcher ebenfalls auf einem solchen verlangsamten Austausch beruht, kann, unter gewissen Umständen, auch schon in einem $^1\text{H-NMR}$ Spektrum beobachtet werden, nämlich dann, wenn Konzentration der Substanz und des Restwassers, sowie der pH, in einem Bereich liegen, in dem die unterschiedlichen Austauschraten so sind, daß nur noch jene mit verlangsamten Austausch scharfe Signale zeigen, während alle anderen Protonen gar nicht mehr, oder nur noch über stark verbreiterte Signale zu beobachten sind.

Ein solcher Fall kann dann auch für das gezeigte Trimer beschrieben werden, und zwar handelt es sich hier um das $^1\text{H-NMR}$ der Boc-entschützten Verbindung, welches da als Hydrochlorid vorliegend, den pH der Lösung erniedrigt, und so sauer katalysiert den Austausch beschleunigt, so daß im entsprechenden Spektrum in DMSO-d_6 , nur noch die Hydroxylgruppen an Position 9 eine definierte Multipllettstruktur aufweisen und als Duplett erscheinen.

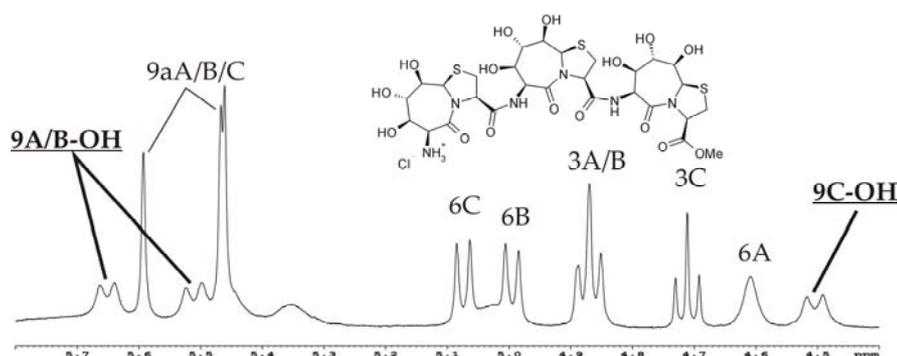


Abbildung **B.2.2.-10.**: OH-Bereich, 400MHz $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) nach Entschützung der Boc-Gruppe von Verbindung **82**

Zuletzt sprechen auch die Daten des schon in Abbildung **B.2.2.-7.** gezeigten NOESY-Spektrums, klar für diesen Sachverhalt, denn mit zu den intensivsten NOEs gehören jene vom NH zum Proton an Position 3, und genau dies ist für die beschriebene Wasserstoffbrücke zu erwarten, während das Carbonyl zur 9er OH ausgerichtet ist, zeigt als Konsequenz das NH des Amides nach „unten“, eben in Richtung des angesprochenen Protons an Position 3.

Wie desweiteren zu beobachten, sind diese angesprochenen NOEs sogar deutlich intensiver als die zum eigenen $\text{C}\alpha\text{-H}$, dem 6-H, womit nun auch schon, nachdem der Ψ Winkel durch die definierte Ausrichtung des angesprochenen Carbonyls zum Bizyklus praktisch feststeht, die letzte Variable, wenn es um konformationelle Dynamik des Peptidrückgrates geht, betrachtet werden kann, die räumliche Ausrichtung der zweiten Amidbindung.

Genau dieses soeben angesprochene NOE-Muster, intensives Kreuzsignal von 6-NH zu 3-H und ein $\alpha\text{-H/NH}$ -NOE welcher hierfür vergleichsweise intensitätsschwach auftrat, ließen schon klar eine strukturelle Tendenz, auch für diese letzte noch verbleibende Variable erkennen, so ist eine solche Intensitätsverteilung der angesprochenen NOEs typisch für eine gestreckte Konformation des Peptidrückgrats.

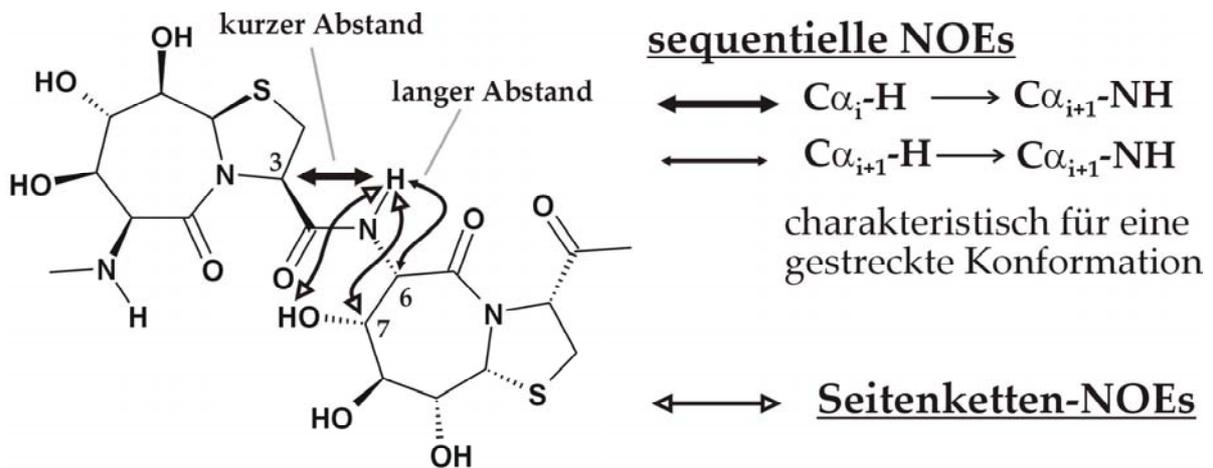


Abbildung B.2.2.-11.: NOE-Muster des Amidprotons 6-NH

Mit dieser Information ist es nun möglich zusammen mit den Kopplungskonstanten ($^3J_{6-NH,6} = 7.6-7.8\text{Hz}$) und den ebenfalls noch erhaltenen Seitenketten-NOEs 6-NH zu 7 und 7-OH (Abbildung B.2.2.-11. und NOESY Abbildung B.2.2.-7.) auch Aussagen über den noch ausstehenden Φ Winkel zu machen (Aus den Ergebnissen der MD-Simulation mit allen hier relevanten Daten konnte für Φ ein Wert von etwa -90° bestimmt werden)

Da somit auch noch der letzte verbleibende Freiheitsgrad eingeschränkt werden konnte, war es nun möglich die Vorzugskonformation dieser Verbindung zu Bestimmen.

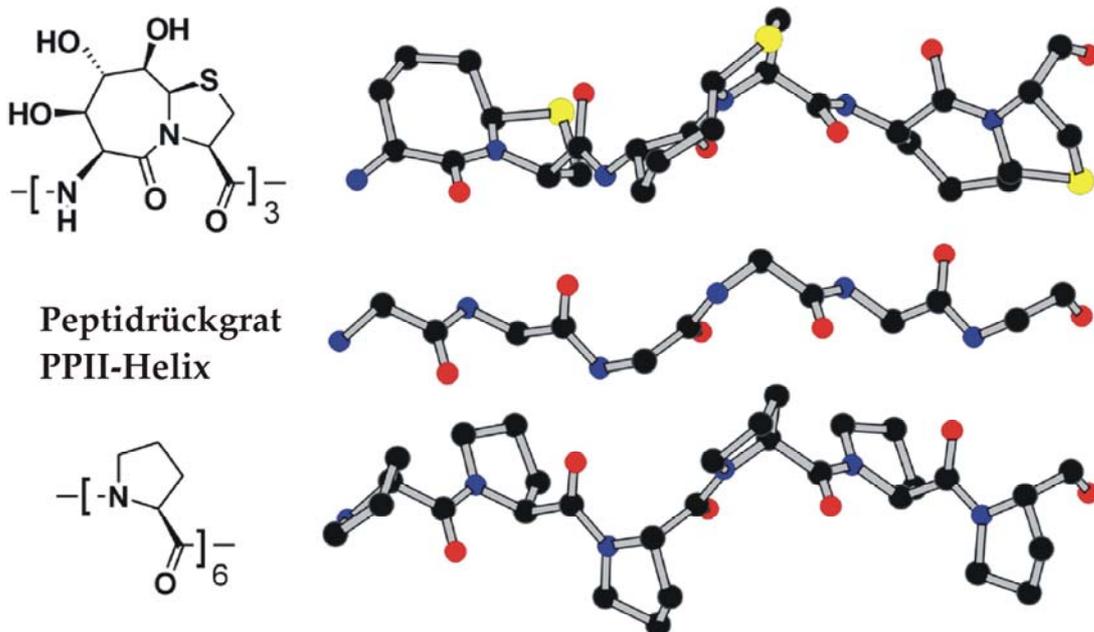


Abbildung B.2.2.-12.: oben Konformation für Peptid **82** aus den hierfür erhaltenen NMR-Daten
darunter: zum Vgl. eine PPII-Helix aus Prolin-Einheiten aufgebaut

Hier zeigte sich dann, dass die aus den erhaltenen Daten resultierende Struktur, sehr gut mit jener in Einklang zu bringen ist, wie sie für eine Polyprolin-II-Helix beschrieben wird (Abbildung B.2.2.-12.) [134].

2.3. Peptide der 7,5-Bizyklen

Wie schon in einem anderen Kapitel erwähnt, besteht eine Methode, etwas über die Eigenschaften einer Verbindung oder eines Verbindungstyps zu erfahren darin, sukzessive kleinste Veränderungen vorzunehmen, um dann anschließend deren Auswirkungen auf das Gesamtsystem zu untersuchen.

Solche Modifikationen können nun chemischer Natur sein, indem z.B. die Art bestimmter funktioneller Gruppen variiert wird, und/oder in einer strukturellen Veränderung bestehen, z.B. in einem Wechsel der Konfiguration.

Dieses Prinzip wurde dann auch in jenem Teil dieser Arbeit angewandt, als es anstand die 7,5-Bizyklen in ein Peptid einzubauen.

Da das Thiazolidinlactam **5** sich, so wie es vorlag, in der gezeigten Synthese des Hmooligomers **82** durchaus bewährt hatte, sollte dieses Dipeptidisoester auch in seiner Form beibehalten werden, was aber wiederum bedeuten mußte, daß nunmehr als einzige Möglichkeit der Veränderungen die Option blieb, einen oder mehrere zusätzliche neue Bausteine in das System einzubringen, wofür dann in erster Linie die verschiedenen Aminosäuren in Frage kamen.

Deren Auswahl ist zunächst freilich recht groß, aber da das Hauptaugenmerk hier auf der Seite der Struktur lag, trat folglich die Art der Seitenkette der Aminosäure in den Hintergrund, so daß sie in erster Linie auf ihre Konfiguration, D, L oder keine (Glycin), reduziert werden konnte.

Um die Zahl der Faktoren, welche später bei der Analyse eine Rolle spielen können, so gering wie möglich zu halten, sollten auch diese Veränderungen minimal sein, was dafür sprach für die D und die L-Form jeweils dieselbe Aminosäure einzusetzen, hier fiel die Wahl dann auf Phenylalanin.

Diese Entscheidung war in erster Linie praktischer Natur, so kann man hierdurch zum einen bei der Synthese ohne Seitenkettenschutz auskommen, und des weiteren sollten durch den hydrophoben Benzylrest die chromatographischen Trenneigenschaften der an sich schon relativ polaren Verbindungen wenn nicht verbessert, so zumindest nicht noch schlechter werden.

Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß es hier, im Gegensatz z.B. zu Alanin, möglich ist, durch die Informationen welche über die Ausrichtung der Seitenkette erhalten werden, wiederum Rückschlüsse auf die Gesamtstruktur zu ziehen.

Wurde nun die Zahl der einzusetzenden Aminosäuren schon auf drei beschränkt, neben L- und D-Phenylalanin noch Glycin, bleibt jetzt noch die Art ihrer Verknüpfung mit den Bizyklen.

Um das System nicht zu komplex zu gestalten, und eine weitere Konstante zu erzielen, sollte versucht werden, alternierende Peptide aufzubauen, in welchen sich Bizyklus und Aminosäure abwechseln sollten.

2.3.1. Zyklische Peptide

Den Anfang sollen zunächst die zyklischen Hexapeptide machen, also Peptide aus zwei Bicyklen und zwei Aminosäuren.

Bis zum Ende der Arbeit wurden dann alle diesbezüglich möglichen Variationen synthetisiert, mit den drei unterschiedlichen Aminosäuren D-Phe, L-Phe und Gly kommt man somit auf sechs zyklische Peptide, welchen folglich auch sechs lineare Verbindungen vorausgingen, diese sollen in einem späteren Kapitel noch behandelt werden.

2.3.1.1. Synthesen

Zur Synthese an sich, wieder über Boc-Strategie, wobei die Synthese über Tripeptideinheiten geführt wurde (Abbildung **B.2.3.1.-1.**), gibt es zwei Punkte anzumerken, ansonsten sollte hier ein Hinweis auf das Fließschema in Abbildung **B.2.3.1.-3.** genügen.

Synthesestrategie

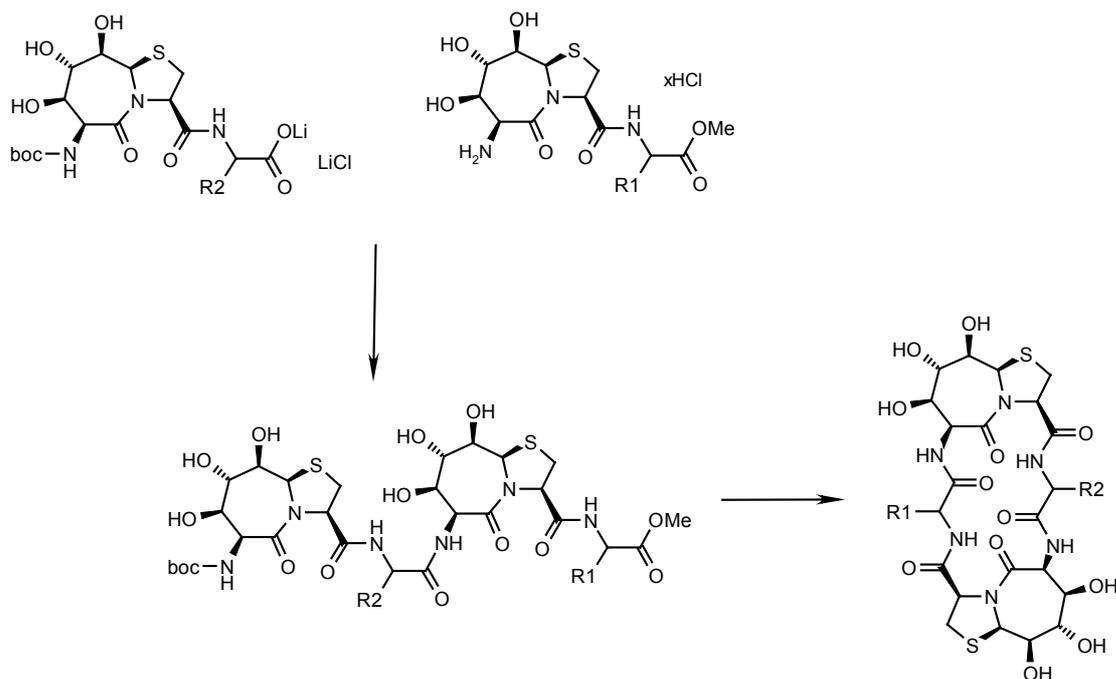


Abbildung **B.2.3.1.-1.**: Strategie zur Synthese der zyklischen Hexapeptide ($R1 \neq R2$ oder $R1 = R2$)

Als erstes sei noch einmal kurz auf die Verseifung des Methylesters eingegangen. Wie schon zuvor bei der Synthese des Trimers **82**, trat zu Beginn auch hier erneut das Problem auf, daß die basische Hydrolyse des Esters unter der Bildung von Nebenprodukten von statten ging.

Was hier unter anderem passiert war, darauf läßt das Thiazolidin **83** schließen, welches bei einer der ersten Synthesen in kleinen Mengen neben dem Hauptprodukt **84** isoliert wurde.

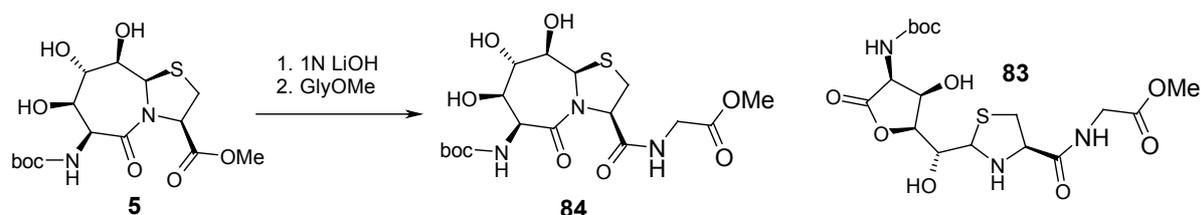


Abbildung B.2.3.1.-2.: Synthese der Tripeptideinheit **84** mit dem Thiazolidin **83** als Nebenprodukt

Folglich besteht eine der Nebenreaktionen in der Öffnung des Lactams. Aber wie im Fall des Trimers schon angemerkt, konnte durch möglichst kurze Reaktionszeiten dann eine nahezu saubere Verseifung erreicht werden, so daß dies am Anfang zu beobachtende Problem, im weiteren Verlauf keine größere Rolle mehr spielte.

Der zweite Punkt, welchen es noch anzusprechen gilt, wären die Schwierigkeiten bei der Synthese mit Peptiden, welche D-Phenylalanin als Komponente aufwiesen.

So wurde beim Versuch, Hexapeptide mit D-Phe nach dem ersten Bicyclus zu synthetisieren, also 7,5BicA-DPhe-7,5BicB-AS, immer auch Epimerisierung dieser ersten Aminosäure beobachtet (Abbildung B.2.3.1.-3.).

Da in beiden Fällen das Epimerengemisch, als solches, rein erhalten werden konnte, wurde, da hierbei weitere Epimerisierung nicht auszuschließen war, das Gemisch zur Zyklisierung eingesetzt, und lediglich eine kleinere Menge für die spätere Analytik über HPLC aufgetrennt. Bei diesen zwei Zyklisierungen war es im Falle der beiden Hexapeptide 7,5Bic-D/LPhe-7,5Bic-Gly möglich, die hieraus resultierenden beiden zyklischen Verbindungen flashchromatographisch zu trennen, wobei zyκλο(7,5Bic-L-Phe-7,5Bic-Gly) **95** nun schon das zweite mal synthetisiert wurde.

Bei der nächste Zyklisierung, jetzt von 7,5Bic-D/LPhe-7,5Bic-DPhe, konnte lediglich das Epimerengemisch der Endverbindung sauber erhalten werden, dies dann wieder aufzutrennen bedurfte auch hier der Methode der HPLC. Ein Aufwand, welcher sich in sofern lohnte, als somit durch eine Synthese zwei neue zyklische Peptide erhalten wurden, und aufgrund dessen die Synthese des letzten noch ausstehenden Peptids nicht mehr erforderlich war.

Abschließend sei auf der nächsten Seite noch das schon angesprochene Fließschema dieser Synthesebemühungen gezeigt

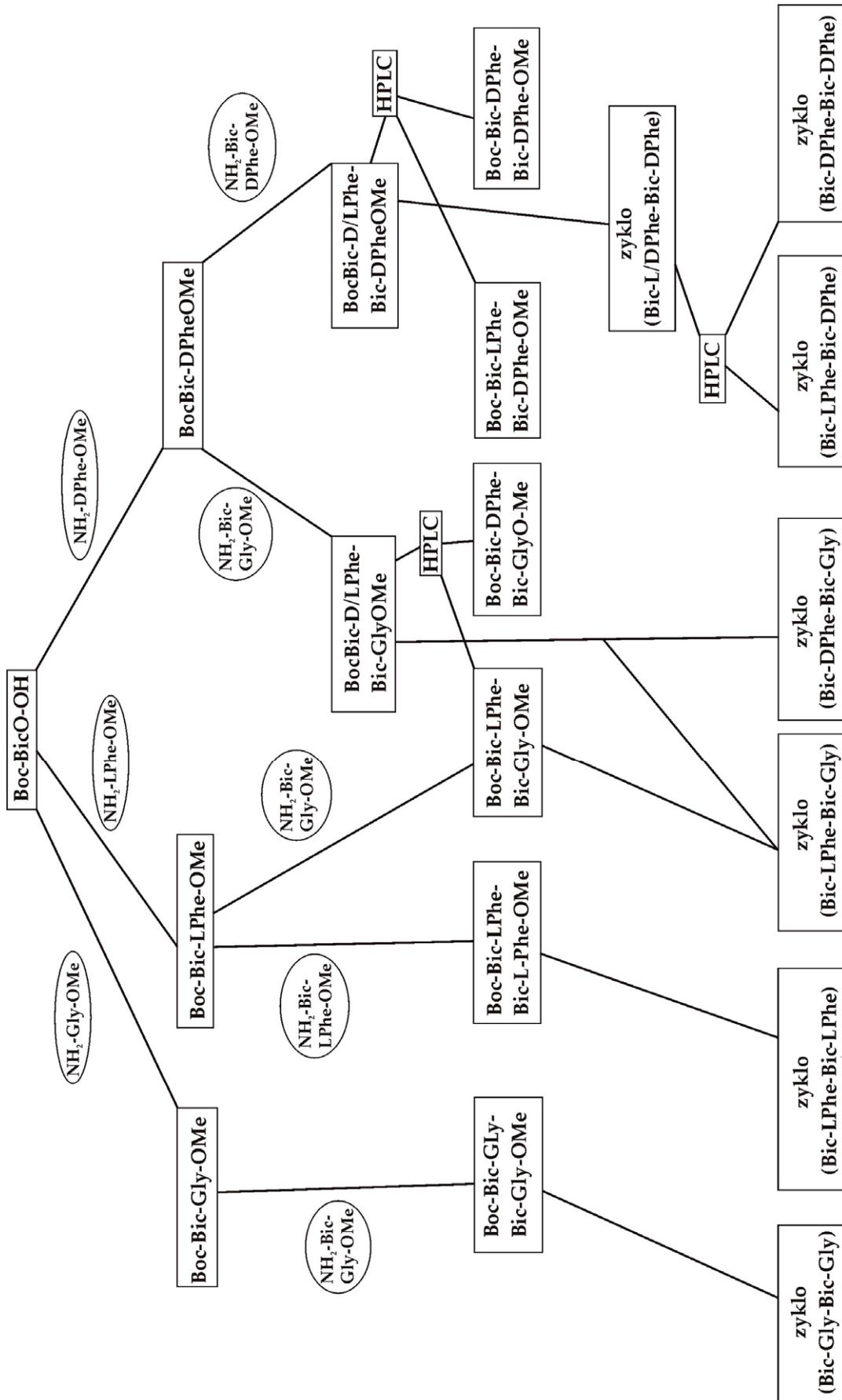


Abbildung B.2.3.1.-3.: Fließschema zur Synthese der sechs zyklischen Hexapeptide

2.3.1.2. Strukturanalysen

Zunächst soll, gegen die Chronologie der Synthese, eine genauere Betrachtung der zyklischen Endverbindungen erfolgen [127]. Diese Vorgehensweise liegt darin begründet, daß mehrere Aspekte, welche bei der Strukturanalyse eine gewichtige Rolle spielen, anhand der zyklischen Peptide eindrucksvoller und in einer extremerer Weise zu Tage traten, als dies bei den linearen der Fall war, und folglich hier auch deutlicher aufgezeigt werden können.

Somit wird zunächst die Konformation dieser Verbindungen im Vordergrund stehen, und erst anschließend soll dann versucht werden, durch die hier erhaltenen Einsichten auch etwas über die Struktur der linearen Verbindungen in Erfahrung zu bringen.

Bevor, direkt mit der Analyse begonnen wird, soll noch kurz deren Abfolge umrissen werden.

Erst wird, wieder anhand einer Verbindung, auf die Schlüsselschritte bei der Zuordnung eingegangen werden, sodann erfolgt eine detaillierte Strukturanalyse, auch wieder an einem Peptid, welches im weiteren dann als eine Art Musterverbindung fungieren wird.

Daraufhin soll versucht werden, die hieraus erhaltenen Erkenntnisse auf die restlichen Peptide zu übertragen, und aus den dabei auftretenden Gemeinsamkeiten oder Unterschieden sollte es dann möglich sein, wiederum Rückschlüsse auf jetzt deren Konformation zu ziehen.

2.3.1.2.1. Zuordnung der zyklischen Hexapeptide am Beispiel von zyκλο(7,5Bic-DPhe-7,5Bic-Gly)

Unabdingbar für die Strukturanalyse über NMR ist zweifelsohne zunächst eine gewissenhafte Zuordnung der hierbei erhaltenen Signale, folglich wird im ersten Teil auch, in aller erforderlichen Ausführlichkeit, auf diese eingegangen werden.

Zuvor noch eine Anmerkung zur gewählten Nomenklatur dieser Peptide:

- Der erste Bizeyklus, beginnend vom Aminoterminus, wird als Bizeyklus A, oder in Kurzform als BicA bezeichnet, alle weiteren dann B,C,D.. etc..
- Da es sich hier um Verbindungen handelt, welche alternierend aus einem Bizeyklus und einer Aminosäure aufgebaut sind, erhält diejenige AS, welche dem Bizeyklus folgt auch dessen Buchstaben, also z.B. BocHN-BicA-AS(A)-BicB-AS(B)-OH (Bei unterschiedlichen AS kann hierauf natürlich verzichtet werden).
- Diese Nomenklatur bleibt, im Falle der asymmetrischen zyklischen Hexapeptide erhalten, sprich was im linearen der BizeyklusA war, bleibt es auch im zyklischen, eine Unterscheidung der AS in A oder B ist hier selbstverständlich nicht mehr nötig

Als Beispiel für die Zuordnung dieser zyklischen Verbindungen wurde das asymmetrische zyklische Hexapeptid **96** gewählt, welches als Aminosäuren D-Phenylalanin und Glycin enthält.

Der Grund hierfür ist, daß es sich hierbei auch um jenes zyklische Peptid handelt, auf welches im zweiten Teil, der Strukturanalyse, detailliert eingegangen werden wird, und somit die Mu-

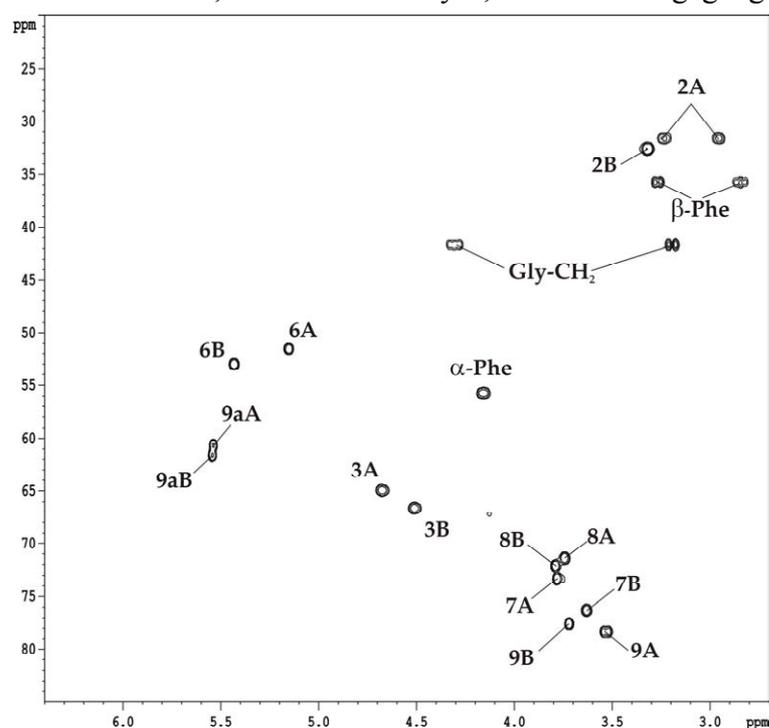


Abbildung B.2.3.1.-4.:
600MHz HMQC der Verbindung **96** in DMSO-d₆

sterverbindung darstellt, auf deren Ergebnisse die weiteren Analysen der anderen Verbindungen aufbauen werden.

Wie zuvor bei der Betrachtung des Trimers **82**, kann auch in diesem Fall der erste Schritt der Zuordnung in der Unterscheidung und Einteilung der einzelnen CH-Gruppen über das HMQC-Spektrum liegen (Abbildung B.2.3.1.-4.).

Hierbei zeigt sich schon ein erster wichtiger Punkt, so sind bei dieser Verbindung die CH-7, -8 und -9 auf der ¹³C-Skala nicht mehr so klar voneinander getrennt, daß hieraus schon eine eindeutige Unterschei-

zung möglich wäre. Auf deren genaue Zuordnung, wie sie hier schon gezeigt ist, wird folglich später noch näher eingegangen werden müssen.

Da die Vorgehensweise jener des Homooligomers **82** in vielen Punkten ähnelt, werden hauptsächlich die Unterschiede, und speziell die hier aufgetretenen Schwierigkeiten im Vordergrund stehen.

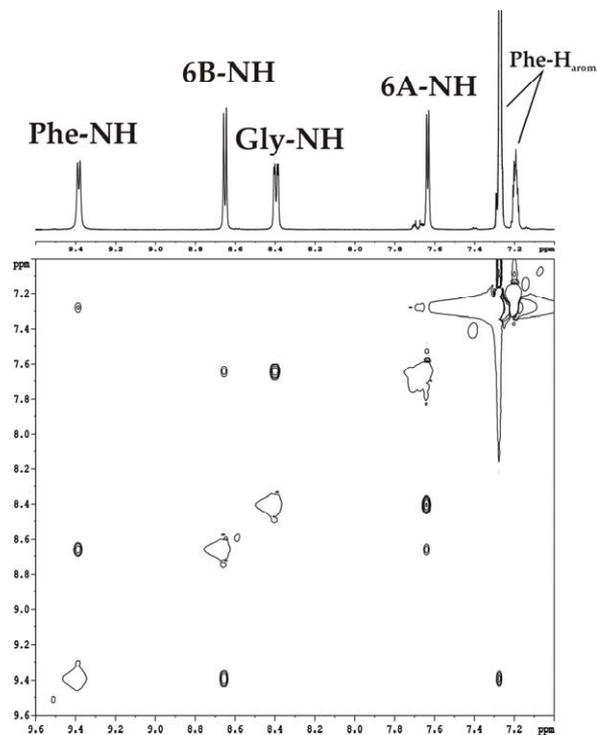


Abbildung B.2.3.1.-5.: ROESY 600MHz DMSO- d_6 NH-NH-NOEs der Verbindung **96**

Der erste Unterschied zur NMR-Analytik des Trimers besteht in der Wahl des Startpunktes, jenem sicher zuzuordnenden Proton, von welchem ausgehend sich das Gesamtsystem dann erschließen läßt.

Da vorerst die beiden Bicyklen noch nicht voneinander unterschieden werden können, kann dies nur ein Proton einer der beiden Aminosäuren sein, und hier eignen sich z.B. die Amidprotonen, wo Gly-NH als dd über seine Multiplizität, und D-Phe-NH über das entsprechende Spinsystem zweifelsfrei zugeordnet werden können.

Von diesen gelangt man über die sequentiellen NH-NH-NOEs zu den entsprechenden NHs an Position 6 der jeweiligen Bicyklen, womit der weitere Fortgang praktisch analog dem Trimer erfolgen kann. (auf den hier ebenfalls zu sehenden NOE der beiden 6-NHs untereinander

wird später, wenn die Struktur dieses Peptides behandelt wird, noch genauer eingegangen werden, wobei spätestens sobald NOEs zur Zuordnung herangezogen werden, eine klare Trennung von Strukturanalyse und Zuordnung, wie sie hier erfolgt, praktisch nicht mehr gegeben ist).

In der Abbildung unten sind dann auch die Schlüsselschritte zur Zuordnung über NOEs und $^3J_{H,H}$ -Kopplungen gezeigt.

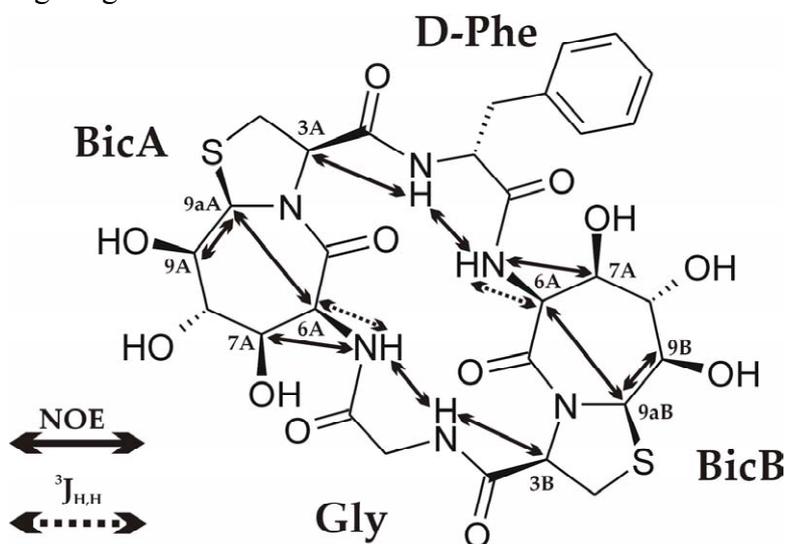


Abbildung B.2.3.1.-6.: Schlüsselschritte bei der Zuordnung von Verbindung **96**

Als nächstes soll auf die Unterscheidung der Protonen an Position 7 und 9 eingegangen werden. Die Zuordnung von 7A und 7B kann, wie im Schema gezeigt, eindeutig über den NOE zu den 6-NHs erfolgen, der entsprechende Ausschnitt des ROESYs, welcher auch noch die wichtigen sequentiellen NOEs PheNH/3A und GlyNH/3B zeigt, ist im folgenden Kapitel, Abbildung **B.2.3.1.-18.**, gezeigt.

Der nächste Ausschnitt desselben 2D-ROESYs enthält unter anderem die NOEs 6A/9aA und 6B/9aB, wobei der Folgeschritt die NOEs 9a/9 zur Unterscheidung der 9er Protonen in Abbildung **B.2.3.1.-8.** gesondert aufgeführt ist, da bei dieser Verbindung die beiden Signale der 9aH Protonen sehr nahe beieinander lagen.

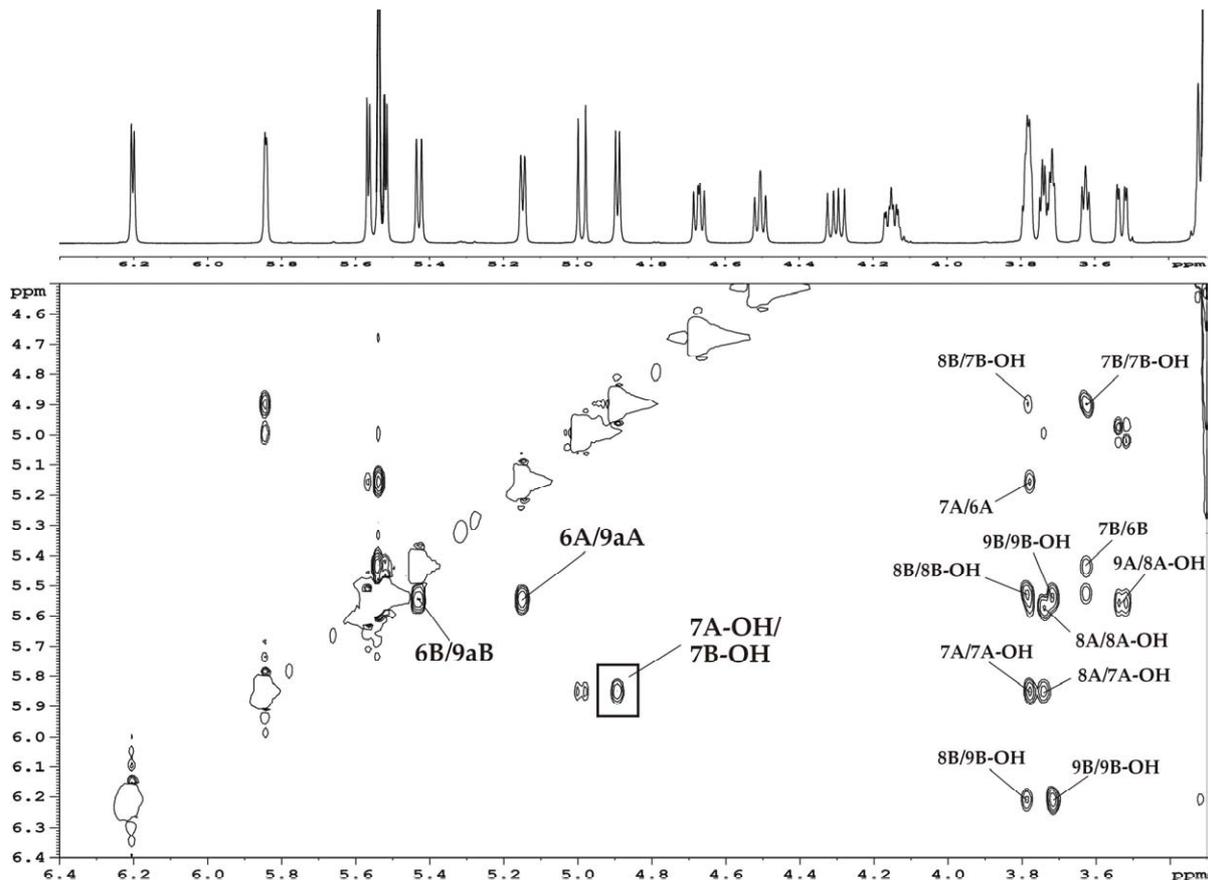


Abbildung **B.2.3.1.-7.**: Ausschnitt 600MHz ROESY der Verbindung **96** in DMSO- d_6

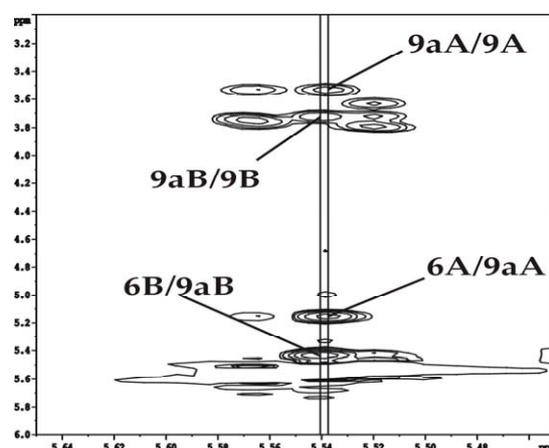


Abbildung **B.2.3.1.-8.**: Ausschnitt 600MHz ROESY der Verbindung **96** in DMSO- d_6

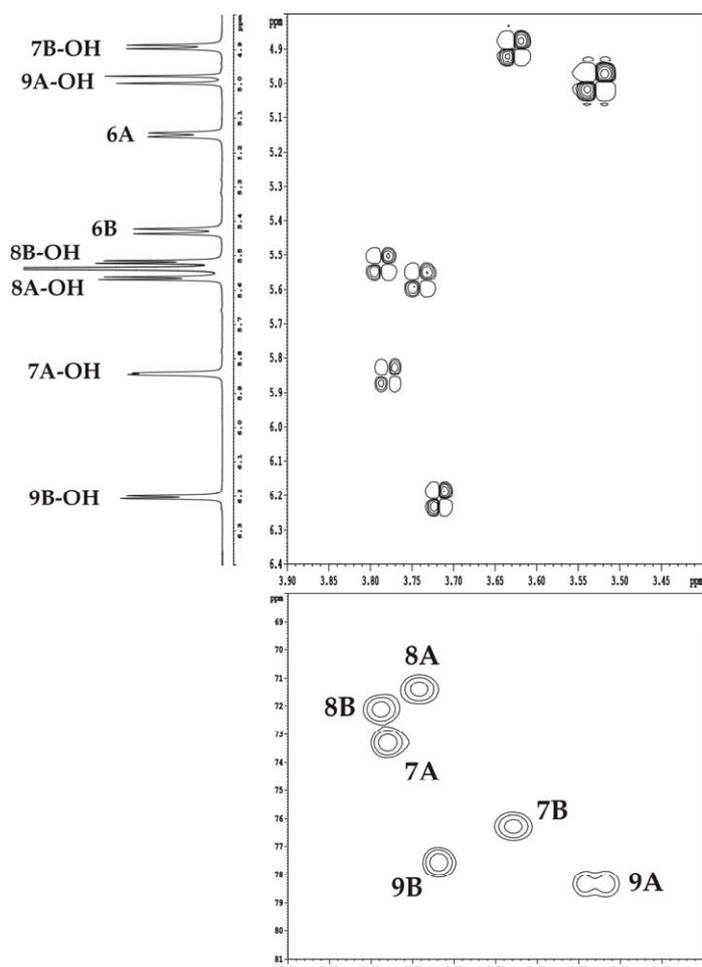


Abbildung B.2.3.1.-9.: Zuordnung der Hydroxylgruppen
 oben: 600MHz DQF-COSY von **96** in DMSO-d₆
 darunter: 600MHz HMQC von **96** in DMSO-d₆

Somit steht folglich nur noch die genaue Zuordnung der Hydroxylgruppen aus.

Hierzu ist zuletzt noch der erforderliche Ausschnitt des DQF-COSY-Spektrums, kombiniert mit den entsprechenden CH-Kopplungen aus dem HMQC, aufgezeigt, womit nach Abgleich mit den NOEs aus dem zuvor gezeigten ROESY-Spektrums diese Hydroxylgruppen jetzt als eindeutig zugeordnet angesehen werden können.

Betrachtet man die jetzt erfolgte Zuordnung dieser Hydroxylgruppen, erschließt sich auch schon, warum hier soviel Wert auf deren Korrektheit gelegt wurde, denn die hier auftretenden Unterschiede in ihren chemischen Verschiebungen und in den Kopplungskonstanten sind so augenscheinlich, daß eine nähere Betrachtung dieser Gruppen als unerlässlich anzusehen ist, und dazu müssen sie selbstredend vorher eindeutig unterschieden worden sein.

Somit wären nun praktisch alle Protonen zugeordnet, lediglich die Methylengruppe des Glycins, die diastereotopen Protonen an Position 2, und die β -Hs des Phenylalanins, deren Zuordnungen bei allen problemlos über die entsprechenden 3J -Kopplungen geführt werden können, wurden hier nicht explizit aufgeführt.

Auf die Bestimmung der prochiralen Zuordnung dieser Protonen wird, soweit dies möglich war, im zweiten Teil noch eingegangen werden.

2.3.1.2.2. Die Grundstruktur der zyklischen Hexapeptide

Wie eingangs erwähnt, sollen die Ergebnisse der Strukturanalyse zuerst detailliert anhand einer einzigen Verbindung dargelegt werden, um anschließend, Schritt für Schritt, herauszuarbeiten, ob, und wenn ja, welchen Einfluß die erfolgten Veränderungen in der Aminosäuresequenz auf die Konformation der jeweiligen Peptide haben.

Bevor aber die Peptide nun im einzelnen auf ihre speziellen strukturellen Eigenschaften untersucht werden, soll zunächst auf ein Strukturmerkmal eingegangen werden, welches, wie sich herausgestellt hat, allen hier gezeigten zyklischen Verbindungen gemeinsam ist, womit eine Basis oder Plattform vorlag, welche als Ausgangspunkt aller weiteren strukturanalytischen Untersuchungen fungieren konnte.

Und zwar handelt es sich hierbei um das in Abbildung **B.2.3.1.-10.** gezeigte Wasserstoffbrückenschema, mit H-Brücken der NHs an Position 6 des einen Bizyklus zum Carbonyl des anderen.

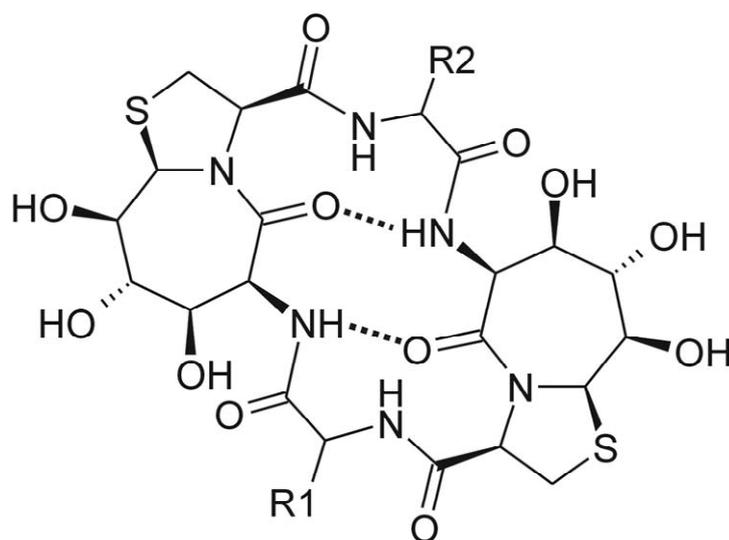


Abbildung **B.2.3.1.-10:** H-Brückenmuster welches so für allen sechs zyklischen Peptiden beobachtet wurde

Da es sich hierbei um ein wesentliches Merkmal dieses Verbindungstyps handelt, ist fraglos eine gewissenhafte Aufführung der Argumente, welche zum Postulat dieses Strukturelementes führten, unerlässlich, denn wenn diese Verbindungen wirklich dieses Wasserstoffbrückenmuster aufweisen, kann hiermit schon in Grundzügen einen erste Aussage über deren Konformation in Lösung getroffen werden. So kann unter anderem schon gesagt werden, daß sich diese bizyklischen Dipeptidisostere, hingegen der allgemeinen Auffassung, zumindest in diesen zyklischen Hexapeptiden, nicht am Kopfende, also der $i+1$ und $i+2$ Position einer β -Schleife befinden.

Der nun folgende Versuch, das Vorhandensein dieses vorgeschlagenen Strukturelementes zu untermauern, kann vorerst nur darauf abzielen, zu zeigen, daß sich diese beiden angesproche-

nen NHs in einer Wasserstoffbrücke befinden. Daß als Akzeptor das hier gezeigte Carbonyl fungiert, kann zunächst nur darauf begründet werden, daß, zieht man alle diesbezüglichen Möglichkeiten in Betracht, es sich hierbei um die plausibelste Erklärung handelt.

Je weiter jedoch dieses Kapitel voranschreiten wird, und je genauer die einzelnen Peptide untersucht werden, je mehr z.B. über die Ausrichtung der anderen Amidbindungen, über die Rolle der Hydroxylgruppen etc. bekannt ist, als um so gewisser wird dieses Strukturelement angesehen werden können.

Zunächst sollte es möglich sein über eine Temperaturreihe zu ersten Aussagen zu gelangen, in wieweit eine diesbezügliches Verhalten der angesprochenen Amidprotonen als wahrscheinlich zu erachten ist.

In der Tabelle unten sind dann auch die Temperaturkoeffizienten aller sechs zyklischen Hexapeptide aufgeführt.

	6A-NH	7A-OH	8A-OH	9A-OH	AS(A)-NH	6B-NH	7B-OH	8B-OH	9B-OH	AS(B)-NH
zyklo	7,5BicA				Gly	7,5BicB				Gly
	0.13	-3.57	-3.57	-2.95	-2.05	0.13	-3.57	-3.57	-2.95	-2.05
zyklo	7,5BicA				L-Phe	7,5BicB				L-Phe
	(1.65)*	-6.81	-4.43	-7.10	(1.35)*	(1.65)*	-6.81	-4.43	-7.10	(1.35)*
zyklo	7,5BicA				D-Phe	7,5BicB				D-Phe
	-1.42	-3.33	-3.53	-3.25	-4.58	-1.42	-3.33	-3.53	-3.25	-4.58
zyklo	7,5BicA				L-Phe	7,5BicB				D-Phe
	-0.92	-3.28	-3.80	-4.48	-0.57	-0.42	-7.10	-3.78	-1.26	-5.73
zyklo	7,5BicA				D-Phe	7,5BicB				Gly
	0.18	-7.33	-3.78	-1.15	-5.73	-1.25	-3.00	-3.73	-4.46	-0.57
zyklo	7,5BicA				L-Phe	7,5BicB				Gly
	-1.03	-3.38	-4.3	-6.35	-0.45	0.15	-6.18	-4.38	-2.0	-4.10

Tabelle B.2.-1.: Temperaturgradienten $\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K] in DMSO-d₆ der sechs zyklischen Hexapeptide
* Keine Gerade, infolge konformationeller Dynamik

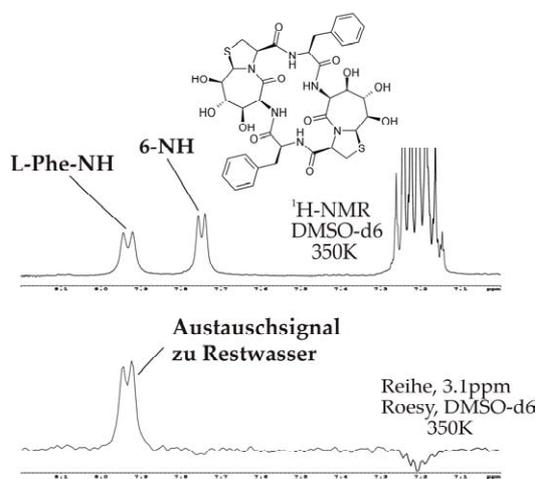


Abbildung B.2.3.1.-11.: chemischer Austausch der NH-Protonen von Verbindung 94

Sehr deutlich wird hier, daß, während z.B. die Temperaturkoeffizienten der NHs der einzelnen Aminosäuren starken Schwankungen unterworfen sind, die der betreffenden Amidprotonen an Position 6 alle vergleichbare Werte aufweisen, und vom Betrag deutlich unter der „magischen Grenze“ von -3ppb/K liegen.

Ein weiteres Merkmal von Protonen, welche in Wasserstoffbrücken gebunden sind ist, wie schon erwähnt, ein verlangsamer chemischer Austausch. Ein Vergleich der Austauschraten kann über die Intensität der positiven Austauschsignale in ROESY oder NOESY erfolgen.

Dies sei exemplarisch an zwei Beispielen dargestellt, bei welchen unverkennbar die diesbezüglichen Unterschiede der gezeigten NHs zu sehen sind.

So ist weder in Wasser (Abbildung **B.2.3.1.-12.**) noch in DMSO- d_6 bei 350K (Abbildung **B.2.3.1.-11.**) ein nennenswerter Austausch der fraglichen Amidprotonen zu beobachten, sondern lediglich die NHs der beiden Aminosäuren zeigen entsprechende Signale.

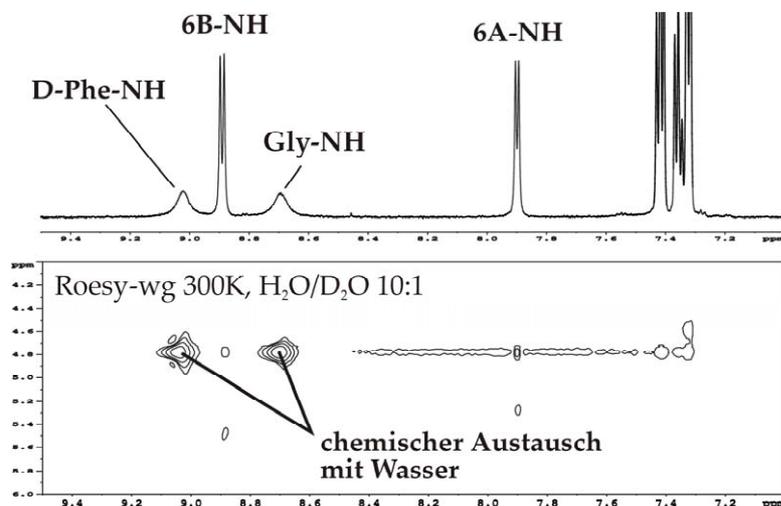


Abbildung **B.2.3.1.-12.**: Ausschnitt aus einem 2D-ROESY-wg von zyκλο(7,5Bic-DPhe-7,5Bic-Gly) **96**

Desweiteren können sich Unterschiede in den Austauschraten auch bei Messungen bemerkbar machen, bei denen versucht wird, das Wassersignal über Vorsättigung zu unterdrücken. So werden häufig Signale azider Protonen durch Sättigungstransfer ebenfalls unterdrückt, dieser Effekt ist um so größer, je schneller der Austausch mit dem Lösungsmittel stattfindet.

Exakt dies konnte anhand der Verbindung **96** beobachtet werden, als diese auch in Wasser NMR-spektroskopisch untersucht wurde.

In dem hierbei aufgenommenen ^1H -presat sind dann lediglich noch die beiden 6er NHs zu erkennen. Als Vergleich ist noch das ^1H -watergate, derselben Probe gezeigt, welches wiederum alle vier NHs aufweist.

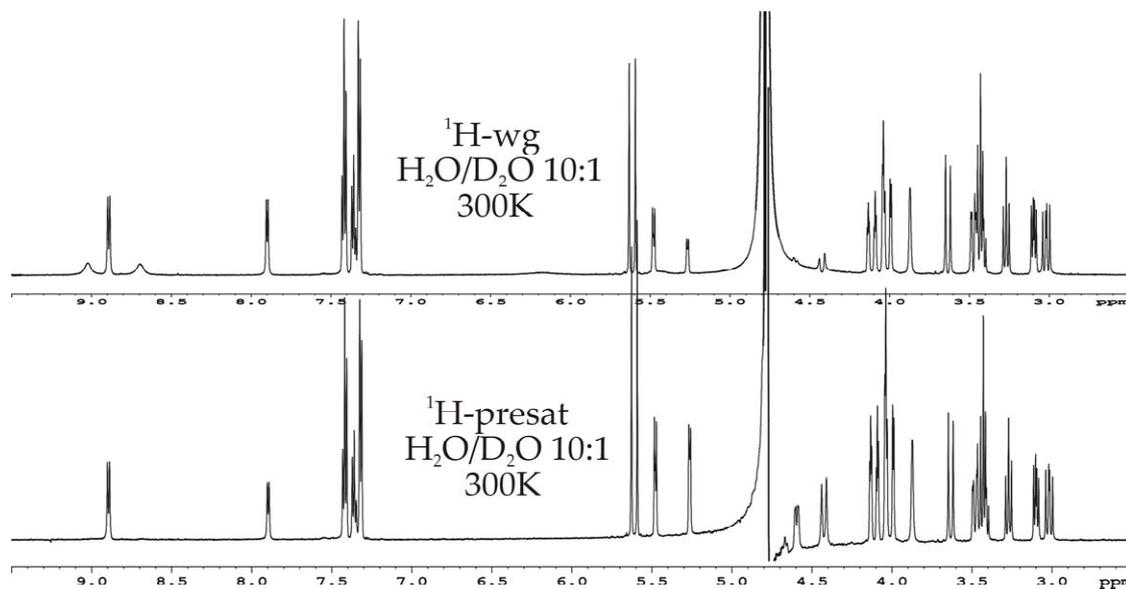


Abbildung **B.2.3.1.-13.**: ^1H -presat (600MHz) und ^1H -Watergate (600MHz) der Verbindung **96**

Als letztes wurde noch eine Methode angewandt, welche es in gewissem Sinne ermöglicht „zuzuschauen“ wie ein Proton austauscht.

In seltenen Fällen, wenn der Austausch eines Amidprotons wirklich stark eingeschränkt ist, läßt sich bei Zugabe von D₂O beobachten, wie die Intensität des entsprechenden Signals durch die fortschreitende Deuterierung abnimmt. Hierbei muß die Azidität aber schon stark herabgesenkt sein, denn im Normalfall sind, bis das erste Spektrum gemessen ist, alle NH- und erst recht OH Signale nicht mehr zu detektieren.

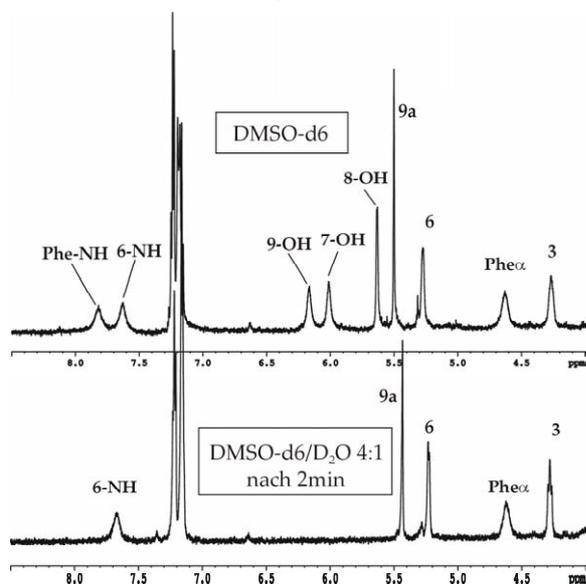


Abbildung B.2.3.1.-14.: 600MHz ¹H-NMR in DMSO-d₆ der Verbindung **94** vor und sofort nach Zugabe von D₂O

Die erste Abbildung B.2.3.1.-14., mit dem entsprechenden ¹H-NMR zuerst in DMSO-d₆ und jenem sofort nach Zugabe von D₂O, zeigt dann auch, daß die Signale aller aziden Protonen, bis auf eines, infolge Austausches mit D₂O, nicht mehr zu detektieren sind.

Nach diesem Spektrum wurden in bestimmten Zeitabständen weitere ¹H-NMR Spektren aufgenommen.

So konnte dann beobachtet werden, daß insgesamt drei Stunden vergehen mußten, bis das Signal von 6-NH nahezu vollständig verschwunden war (Abbildung B.2.3.1.-15.)

Mit diesem letzten Experiment konnte somit eindrucksvoll gezeigt werden, daß diese Amidprotonen in außergewöhnlich starken Wasserstoffbrücken gebunden sind.

Das Experiment wurde hier mit Verbindung **94**, dem symmetrischen Peptid mit zwei L-Phenylalaninen durchgeführt.

Hier wurde zu einer Lösung des Peptides in 600µL DMSO-d₆, 150µL D₂O zugegeben, so daß ein Verhältnis DMSO/D₂O von ca. 1:1 vorlag, Bedingungen bei denen in der Regel sofort Austausch erfolgt.

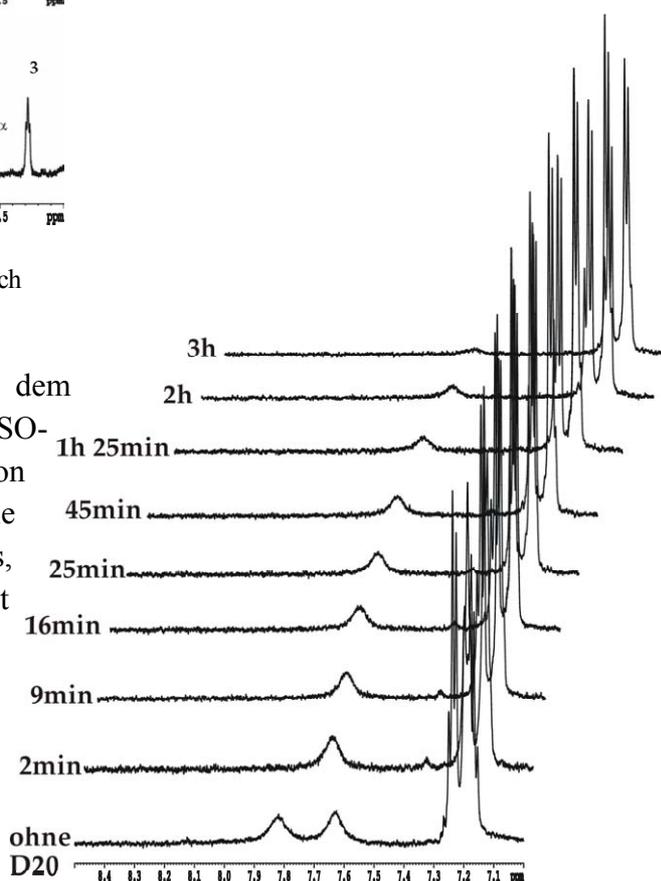


Abbildung B.2.3.1.-15.: Austauschexperiment, Verbindung **94** in DMSO-d₆ ¹H-NMR 600MHz nach Zugabe 0.15ml D₂O

Der letzte Punkt, welchen es abschließend noch aufzuführen gilt, ist der erste, welcher nicht „nur“ darauf abzielt, daß sich NH-6 in einer Wasserstoffbrücke befindet, sondern jetzt zusätzlich noch einen gewichtigen Anhaltspunkt für das eingangs gezeigte Donor-Akzeptor-Muster 6-NH zu Carbonyl des gegenüberliegenden Bizyklus liefert.

Hierbei handelt es sich um den NH-NH-NOE der beiden 6-NHs zueinander, wie er schon im ersten Teil, als die Zuordnung der Verbindung **96** behandelt wurde, kurz Erwähnung fand (Abbildung **B.2.3.1.-5.**).

Dieser NOE ist bei allen drei unsymmetrischen Peptiden zu beobachten, und typisch für ein diesbezügliches Wasserstoffbrückenmuster, wie es so auch in einem β -Faltblatt vorkommt.

In der letzten Abbildung dieses Teils ist dann anhand der Verbindung **95** nochmals dieser NOE gezeigt, wobei weder eine Änderung des Lösungsmittels, von DMSO zu Wasser, noch eine Erhöhung der Temperatur auf 350K einen Einfluß auf diesen konformationellen Aspekt haben.

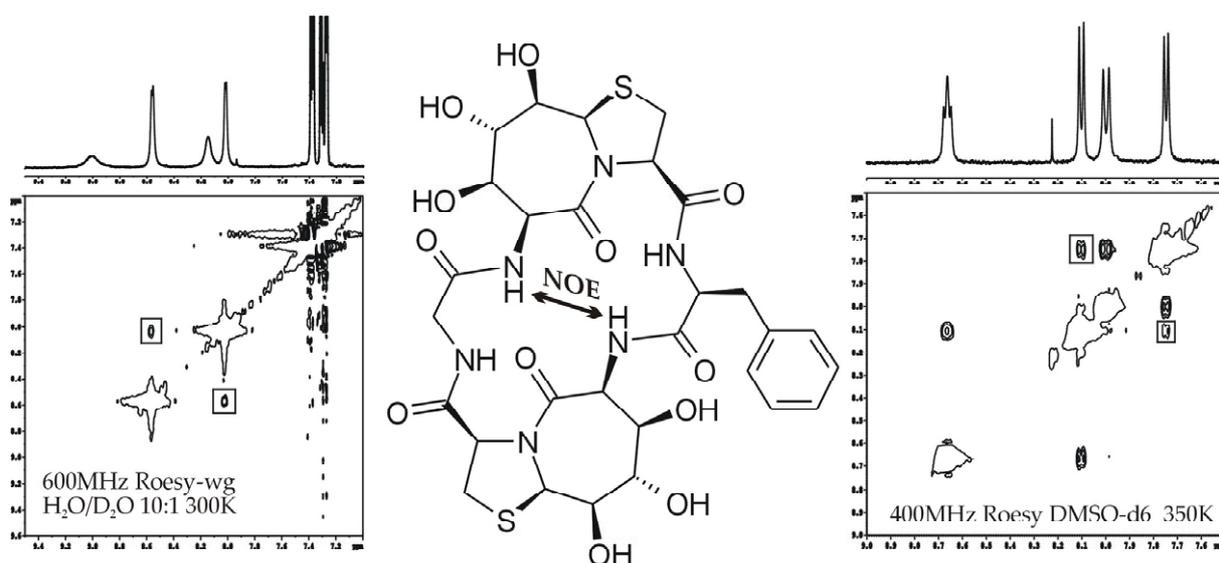


Abbildung **B.2.3.1.-16.**: NH-NH-NOEs der Amidprotonen an Position 6 der Verbindung **95**

Mit dem nunmehr gezeigten, kann schon eine wichtige Aussage über die Struktur dieser Hexapeptide erfolgen, denn wenn diese Wasserstoffbrücken so vorhanden sind, wie es nach all dem bisher aufgeführten anzunehmen ist, folgt daraus, daß hier ein zyklisches Peptid mit zwei β -Schleifen vorliegt, in welchen die beiden Aminosäuren jeweils die $i+2$ Position einnehmen.

2.3.1.2.3 Strukturanalyse des zyklischen Hexapeptids zyκλο(7,5Bic-DPhe-7,5Bic-Gly)

Im Kapitel zuvor wurde zwar schon in Grundzügen die Konformation des Peptidrückgrats besprochen, was nun als nächstes geschehen muß, wäre eine genauere Betrachtung und Einordnung der postulierten β -Schleifen, sprich zu untersuchen, welche Schleifenkonformation hier vorliegt.

Gelingt dies, hat alsdann, und dies ist quasi die nächste Ebene der Analyse, eine Betrachtung der Seitenketten zu erfolgen, jene der Aminosäuren als auch der Hydroxylgruppen der beiden Bicyklen, welchen hier ebenfalls als eine Art Seitenkette betrachtet werden können.

Wurde nun auf die Eigenschaften der Amidprotonen an Position 6 der Bicyklen schon ausführlich eingegangen, so ist der nächste konsequente Schritt, jetzt auch noch jene der beiden Aminosäuren einer genauen Untersuchung zu unterziehen.

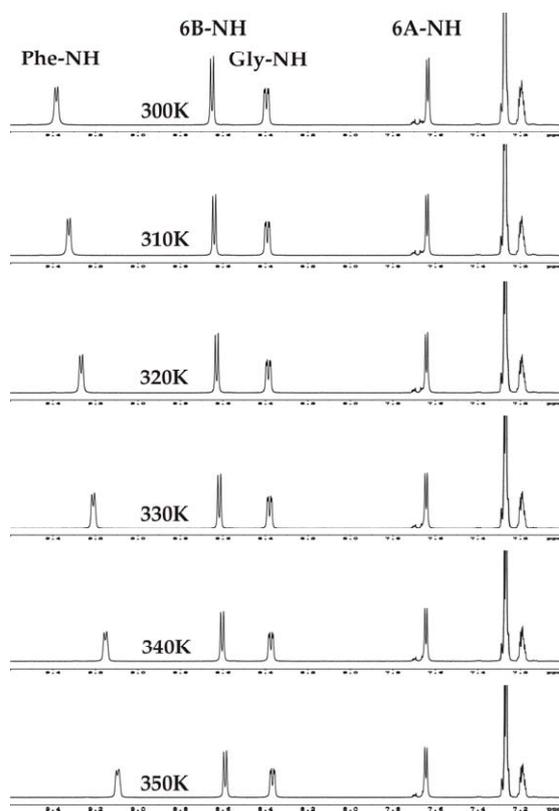


Abbildung B.2.3.1.-17.: Temperaturreihe des Peptids **96** in DMSO- d_6 ($^1\text{H-NMR}$, 600MHz)

Auch wenn eigentlich für Amidprotonen in der vorgeschlagenen Konformation, wo sie sich in der $i+2$ Position einer β -Schleife befinden, keine Wasserstoffbrücken zu erwarten sind, soll zunächst ein Blick auf ihre Temperaturgradienten erfolgen.

Noch ohne die genauen Werte zu kennen, nur anhand des Bildes welche die entsprechenden $^1\text{H-NMR}$ Spektren bieten (Abbildung B.2.3.1.-17.), ist schon ein deutlicher Unterschied dieser beiden Protonen zu erkennen.

So zeigt sich, daß die chemische Verschiebung des Glycin-NHs, im Gegensatz zu dem des Phenylalanins, kaum von der Temperatur beeinflusst wird.

Mit seinem Temperaturgradienten von -0.57 ppb/K ist also auch für dieses NH eine Wasserstoffbrücke anzunehmen, während das NH des Phenylalanins (-5.73 ppb/K), klar als nicht gebunden angesehen werden kann.

Die Frage, die sich jetzt zwangsläufig stellt, wäre jene nach dem hierzu gehörenden Akzeptor.

Erste Aufschlüsse können die Daten erbringen, welche über die Interprotonenabstände erhalten wurden.

Hier zeigt sich dann auch ein bedeutender Unterschied der beiden Aminosäuren-NHs, denn während das NH des Phenylalanins einen sehr intensiven NOE zu 3A-H des vorhergehenden Bicyklus zeigt, fällt dieser beim entsprechenden Glycin-NH, hier 3B-H, signifikant schwächer aus, folglich muß dieses NH in eine Richtung zeigen, welche mehr oder weniger diesem

Proton entgegengesetzt ist. Schaut man sich daraufhin nach einem geeigneten Akzeptor um, bleibt, bei einer diesbezüglichen Ausrichtung, als erste Wahl nur die Hydroxylgruppe an Position 9.

Im Falle des NHs des Phenylalanins, welches zum Proton 3A-H hinzeigt, folgt als Konsequenz eine Orientierung des Carbonyls zur 9er OH, vergleichbar dem zuvor gezeigten Trimer, wo 9-OH als Donor fungiert.

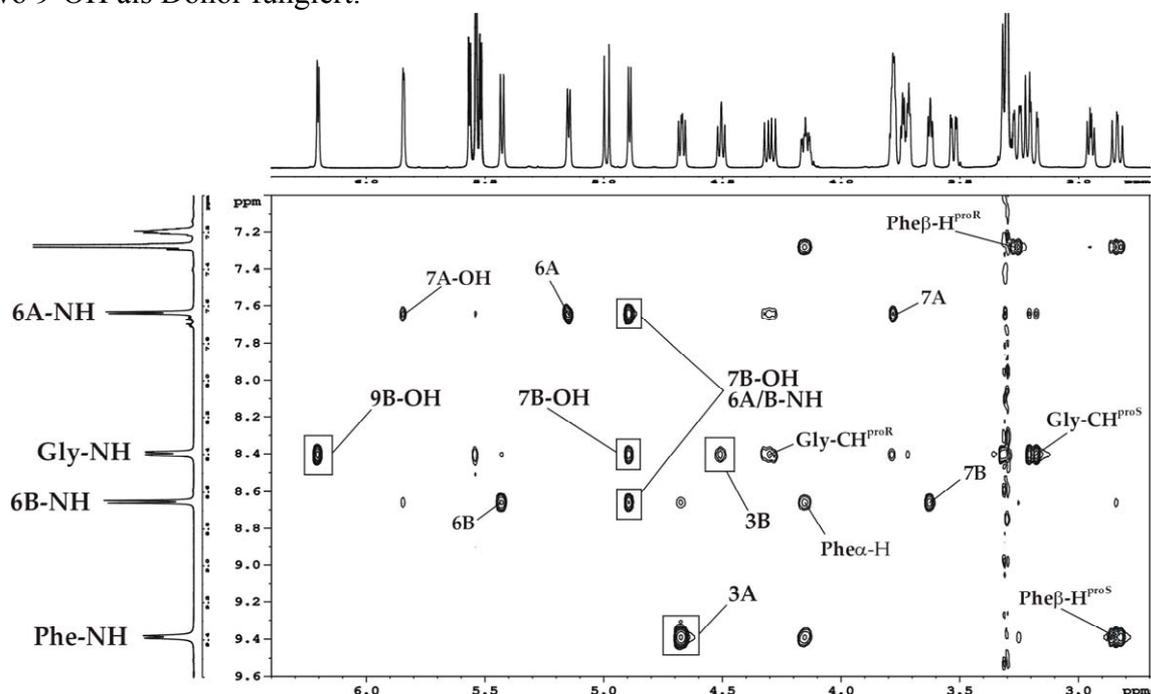


Abbildung B.2.3.1.-18.: Ausschnitt ROESY 600MHz, 300K, NH-Bereich der Verbindung **96** in DMSO- d_6

In diesem oben gezeigten Ausschnitt des ROESYs, ist dann gleich noch ein weiteres Indiz für die soeben aufgestellte These zu erkennen.

Im Gegensatz zum NH des Phenylalanins, welches hier keine weiteren NOEs zum vorhergehenden Bicyklus zeigt als der bereits Angesprochene NOE zu 3A-H, sind im Falle des Glycin NHs zwei weitere signifikante NOEs zu detektieren, ein relativ intensiver zu 9B-OH und ein etwas schwächerer zu 7B-OH, und genau dies ist wiederum sehr gut mit der angesprochenen Wasserstoffbrücke Gly-NH zu 9B-OH in Einklang zu bringen.

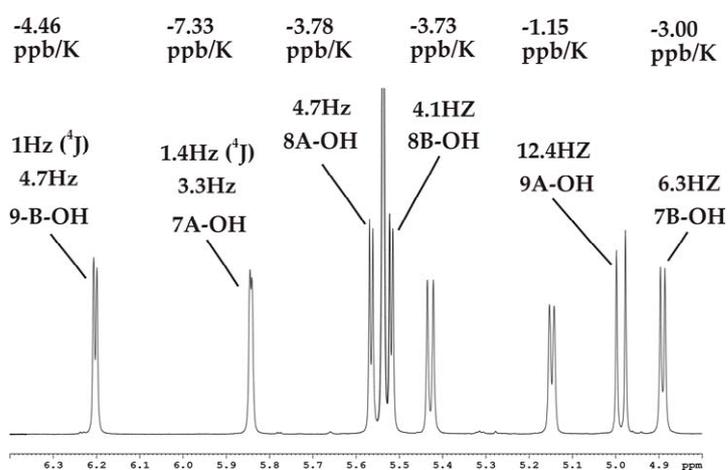


Abbildung B.2.3.1.-19.: Ausschnitt $^1\text{H-NMR}$, 600MHz, 300K, DMSO- d_6 . Hydroxylgruppen der Verbindung **96** mit ihren Kopplungskonstanten und Temperaturgradienten.

Somit besteht folgerichtig der nächste Punkt darin, die einzelnen Hydroxylgruppen einer genaueren Betrachtung zu unterwerfen.

Schon aus dem in Abbildung B.2.3.1.-19. gezeigten $^1\text{H-NMR}$ ist klar ersichtlich, daß sich die Unterschiede dieser Peptide nicht nur auf die beiden Aminosäuren beschränken, sondern wesentlich weitreichender sind.

Allein die sehr breite Streuung der Signale, z.B. der 9-OHs um

1.2ppm, zeigt, daß diese Hydroxylgruppen eine signifikante Rolle bei der Konformation spielen müssen.

Um herauszufinden, was diese Unterschiede in ihren spektroskopischen Eigenschaften nun für die Struktur des Moleküls bedeuten, ist es sinnvoll zuerst einmal nach Bekanntem Ausschau zu halten, wie es so auch schon bei vergleichbaren anderen Verbindungen dieser Arbeit beobachtet wurde.

Hier wäre vor allem die Hydroxylgruppe an Position 9 zu erwähnen, vom Betrage ein kleiner Temperaturkoeffizient und eine große Kopplungskonstante von ${}^3J_{9A-OH, 9A} = 12.4\text{Hz}$, dies gemahnt dann sehr stark an ähnliche Fälle, wo dieser 9-OH eine Wasserstoffbrücke zum Carbonyl des Bizyklus zugewiesen wurde, und just dies ist hervorragend mit dem intensiven NOE von Phe-NH zu 3A-H in Einklang zu bringen, so daß als Konsequenz eine β -Schleife mit Carbonyl nach „oben“ in Richtung 9-OH als sehr wahrscheinlich angesehen kann. Daß hier, wie zuvor schon beim Monomer, diese H-Brücke nicht nur zum Carbonyl ausgerichtet ist, sondern auch zu 7A-OH, dafür spricht die zu beobachtende sehr große Kopplung von 12.4Hz, womit hier folglich wiederum eine gegabelte Wasserstoffbrücke anzunehmen ist.

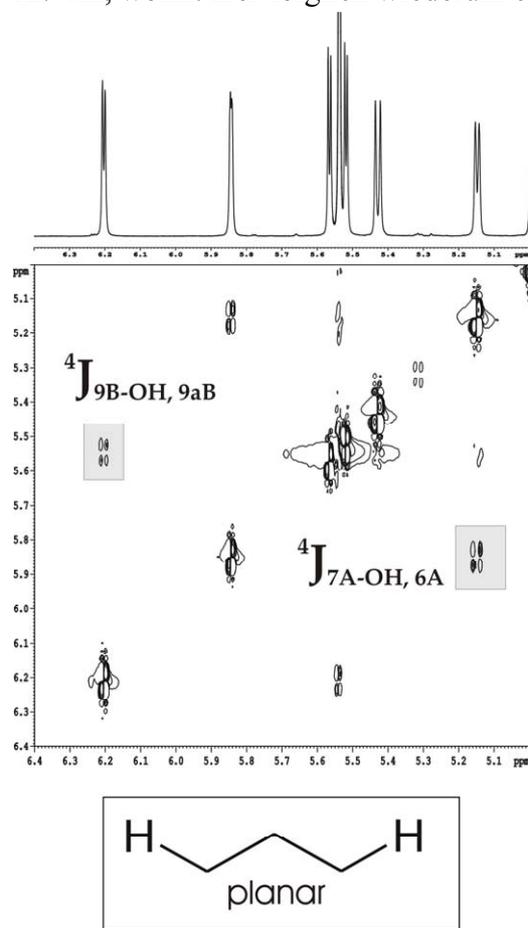


Abbildung B.2.3.1.-20.: 600MHz DQF-COSY von 96 mit 4J -Kopplung von 7-OH und 9-OH

merkenswerter Aspekt war für diese OH-Gruppe zu beobachten, so zeigte diese ein Kreuzsignal im 2D-ROESY (Abbildung B.2.3.1.-7.) zur 7B-OH des anderen Bizyklus. Hier ist es nun aber so, daß durch die aus der W-Kopplung resultierende Ausrichtung 7A-OH vom ande-

Als nächstes kann die andere 9B-OH einer genaueren analysiert werden, hier zeigt sich dann etwas, was bisher in dieser Arbeit so noch nicht aufgetreten ist, und zwar weist diese hier eine skalare Kopplung über vier Bindungen zu 9aB auf (Abbildung B.2.3.1.-20.). So etwas nun ist absolut außergewöhnlich für eine Hydroxylgruppe, den eine diesbezügliche Kopplung kann nur auftreten, wenn die entsprechenden Bindungen W-förmig in einer Ebene ausgerichtet sind.

Ist dies nun bei einer Hydroxylgruppe zu konstatieren, muß es, vergleichbar der sehr großen Kopplung der anderen Hydroxylgruppe an Position 9, einen Grund dafür geben.

Dieser kann dann auch gefunden werden, denn orientiert man dieses Proton entsprechend der angesprochenen W-Konformation, zeigt sie vom Bizyklus weg (Abbildung B.2.3.1.-26.), genau dies aber ist für den angesprochenen Fall einer H-Brücke von Gly-NH zu eben dieser OH zu erwarten, womit also die vermutete Struktur für die zweite β -Schleife noch mehr an Wahrscheinlichkeit gewinnt.

Aber nicht nur diese Hydroxylgruppe weist diese 4J -Kopplung auf, sondern auch noch jene an Position 7A (hier zu 6A-H). Und noch ein weiterer be-

ren Bicyklus „wegsieht“, folglich muß die andere Hydroxylgruppe, über das zyklische System hinweg, zu dieser hin ausgerichtet sein.

Genau dies wäre auch eine Erklärung für eine weitere Beobachtung, daß eben jene 7B-OH NOEs zu beiden 6-NHs zeigt (Abbildung **B.2.3.1.-18.**). Faßt man nun alles zusammen, kann dieses Verhalten am plausibelsten mit einer H-Brücke von 7B-OH zu 7A-OH erklärt werden, zu eben jener, welcher durch den NOE schon eine räumliche Nähe nachgewiesen werden konnte, woraus sich dann wiederum deren W-Kopplung erklärt, da so, in der Rolle des Protonen-Akzeptors, genau solch eine Ausrichtung zu erwarten ist, wie sie für eben diesen Effekt grundlegend ist.

Damit wäre jetzt ein Phänomen beschrieben, wie es für kleinere Peptide äußerst ungewöhnlich ist, eine Seitenkette-zu-Seitenkette-Wechselwirkung, wie dies so hauptsächlich nur in Proteinen zu beobachten ist.

Diese zuletzt angesprochene Wasserstoffbrücke und ebenso die von Gly-NH zu 9B-OH haben eines gemeinsam, es handelt es sich bei beiden um sogenannte sequentielle Wasserstoffbrücken.

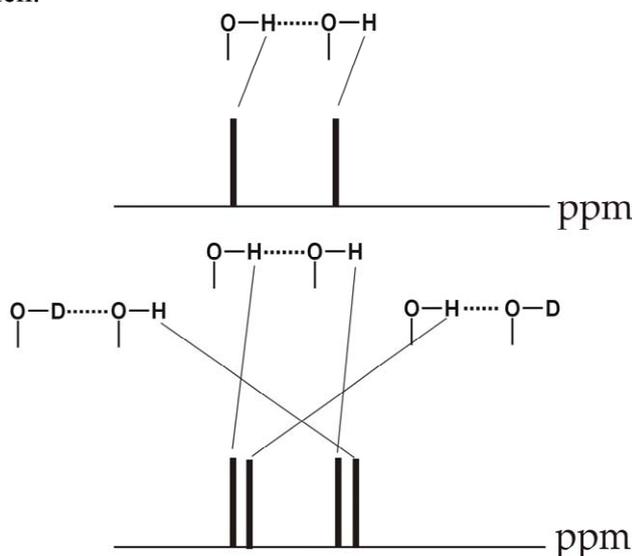


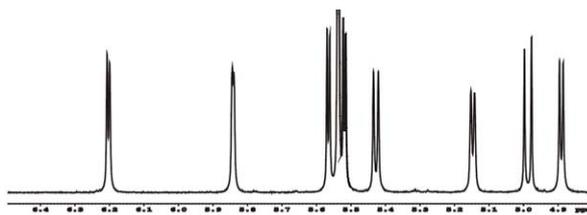
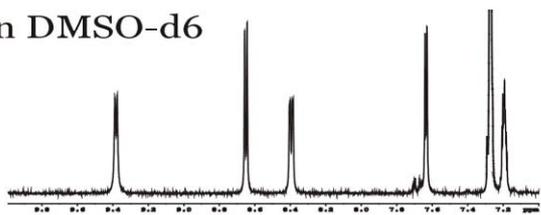
Abbildung **B.2.3.1.-21.**: Schema Isotopeneffekt am Beispiel einer sequentiellen H-Brücke zweier Hydroxylgruppen

Diese können in einigen Fällen über ihren Isotopeneffekt im NMR nachgewiesen werden [135].

Hierbei macht man sich zu Nutze, daß bei Zugabe von sehr wenig D_2O (im Idealfall soll das Verhältnis azider Protonen zu Deuterium etwa 2:1 betragen), durch Teildeuterierung ein Proton einmal zu einem Donor X-H, und das andere mal zu X-D ausgerichtet ist. Dieser kleine Unterschied führt in vielen Fällen zu einer minimal anderen chemischen Verschiebung des Protons des Donors. Aber auch umgekehrt, erfährt das Signal des Rezeptors eine diesbezüglich Änderung, wenn in einem Fall der Donor protoniert, und im

anderen Fall deuteriert vorliegt, so daß auch hier Signalverdopplung beobachtet werden kann. In Abbildung **B.2.3.1.-21.** wurde dann versucht, dies anhand einer sequentiellen H-Brücke zweier OHs darzustellen (Anmerkung zur Zeichnung: ein schwarzer Balken bedeutet ein Signal, gleich welcher Multiplizität, zwei Balken stehen somit folglich für zwei eigenständige Signale sind also kein Dublett)

in DMSO-d6



in DMSO-d6
+3µL D₂O

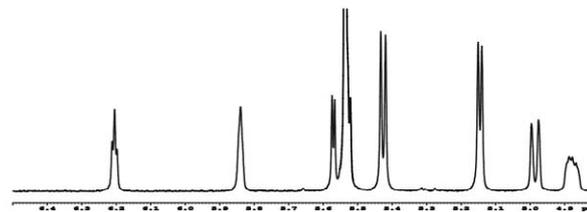
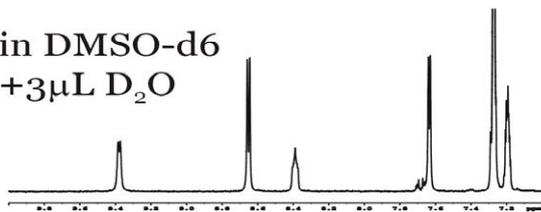


Abbildung **B.2.3.1.-22.**: Isotopeneffekt nach Titration mit D₂O der Verbindung **96**
600MHz ¹H-NMR links NH-Bereich, recht OH-Bereich
Zuordnung: siehe z.B. **B.2.3.1.-5.** (NH) und **B.2.3.1.-19.** (OH)

Aus den hier abgebildeten Spektren ist dieser Effekt dann auch teilweise ersichtlich. So zeigten alle Protonen, welchen eine diesbezügliche Wasserstoffbrücke zugewiesen wurde, den angesprochenen Effekt.

Da solch eine Änderung in der chemischen Verschiebung immer nur in einem sehr kleinen Bereich ablaufen kann, ist dies z.T., wie im Falle der 7A-OH recht schwer zu erkennen, wohingegen Gly-NH und sein Partner 9B-OH sowie 7B-OH deutlich diesen Effekt erkennen lassen.

In Abbildung **B.2.3.1.-23.** wurde dann noch versucht, das hier erhaltene Muster dieses Wasserstoffbrückennetzwerkes zu skizzieren.

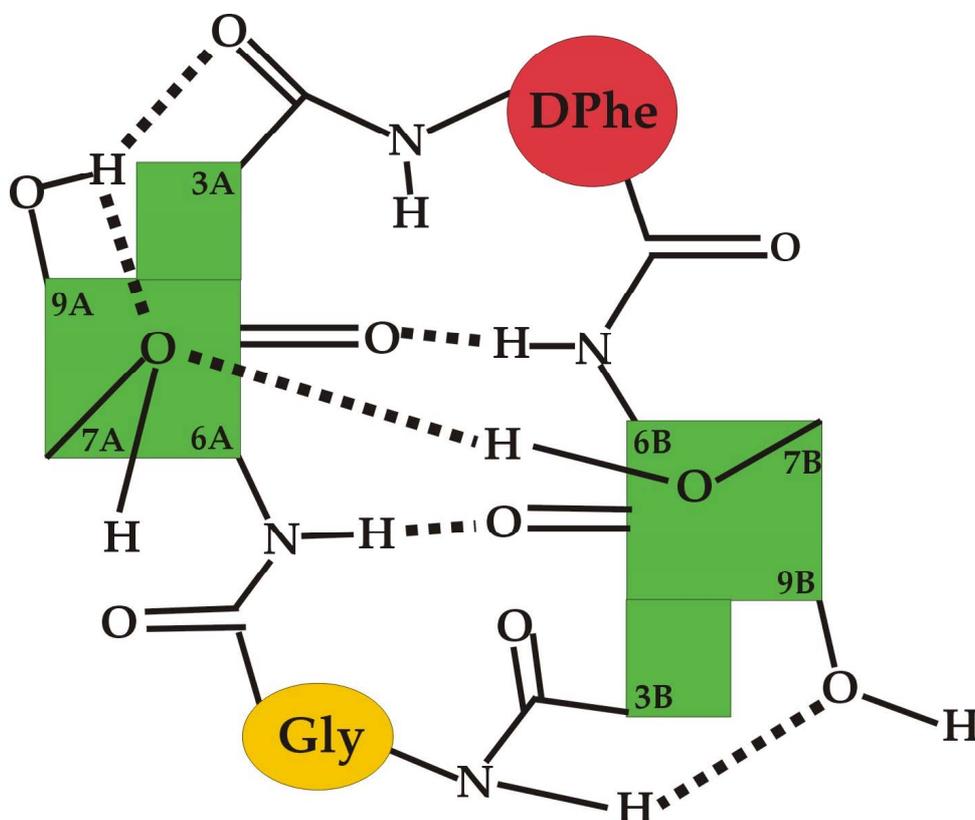


Abbildung **B.2.3.1.-23.**: Schematische Darstellung des Wasserstoffbrückennetzwerkes von **96**

Bleibt jetzt noch die Konformation der Seitenketten der Aminosäuren. Darauf, daß sowohl die Methylengruppe des Glycins, als auch die Seitenkette des Phenylalanins in ihrer Beweglichkeit deutlich eingeschränkt sind, weisen sowohl die breite Streuung in der chemischen Verschiebung als auch die stark unterschiedlichen Kopplungskonstanten der jeweiligen diastereotopen Protonen hin.

Ferner läßt sich für jedes dieser Protonen ein eigenständiges NOE-Muster beobachten (NOEs zu den Amidprotonen sind in Abbildung **B.2.3.1.-18.** gezeigt).

Daraufhin konnte jeweils auch ein Strukturvorschlag für die beiden β -Schleifen ausgearbeitet werden.

Abbildung **B.2.3.1.-24.** zeigt dann die Unterscheidung der diastereotopen Protonen des Glycins, sowie den Versuch einer Darstellung ihrer räumlichen Orientierung, aufbauend auf den entsprechenden NOEs und jeweiligen Kopplungskonstanten.

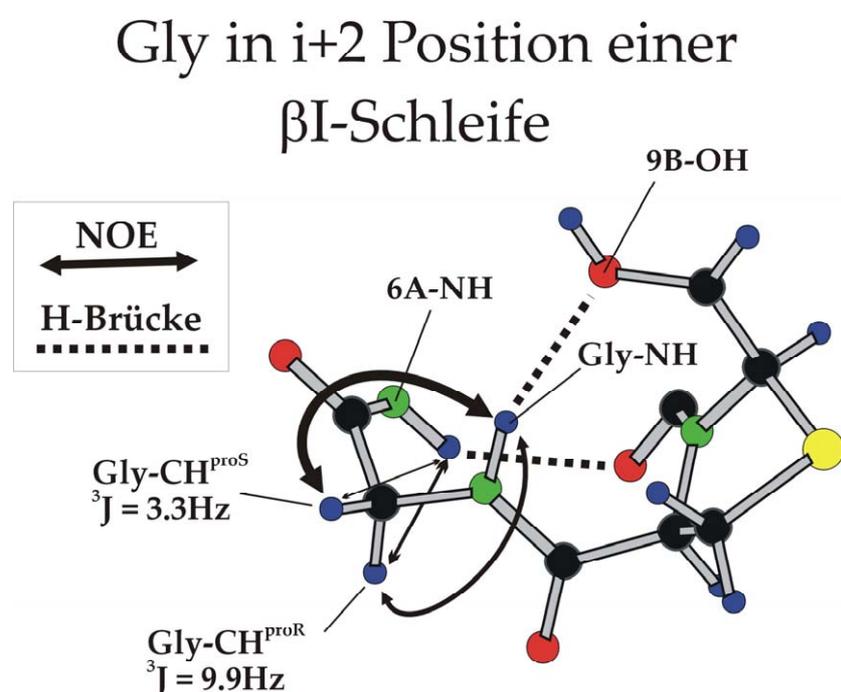


Abbildung **B.2.3.1.-24.**: Strukturvorschlag der β -Schleife mit Glycin in der i+2 Position des zyklischen Peptids **96**

Das Hauptargument für die so erfolgte Zuordnung war die große Kopplung von Gly-CH^t, welche kombiniert mit dem schwächeren NOE der beiden Methylenprotonen zum Gly-NH, dessen Ausrichtung durch die H-Brücke zu 9B-OH definiert wird, nur mit einer trans-Stellung, und somit proR Konfiguration in Einklang zu bringen war (Die unterschiedliche Intensität der NOEs wurde versucht durch eine entsprechende Änderung in der Strichdicke der Pfeile darzustellen).

Zuletzt erfolgt noch die Zuordnung der diastereotopen Protonen des Phenylalanins und ein Vorschlag für die räumliche Ausrichtung der Seitenkette.

Der wichtigste Aspekt in Hinblick auf die Konformation der β -Schleife, die Ausrichtung von DPhe-NH, bedingt durch die Wasserstoffbrücke von 9A-OH zum Carbonyl, wurde schon eingehend behandelt, und kann für alles weitere folglich als Ausgangspunkt dienen.

Betrachtet man jetzt nur die Seitenkette und ihre Orientierung, so war das erste, was hierüber gesagt werden konnte, daß hier eine gauche-, trans-Konformation der beiden β -Protonen zu Phe α -H vorliegen muß.

Dafür, daß eine gauche-gauche-Konformation praktisch auszuschließen ist, sprach unzweideutig die große 3J -Kopplungskonstante von $^3J_{\beta, \alpha} = 11.5\text{Hz}$ des später als Phe β -H^{proS} zuge-

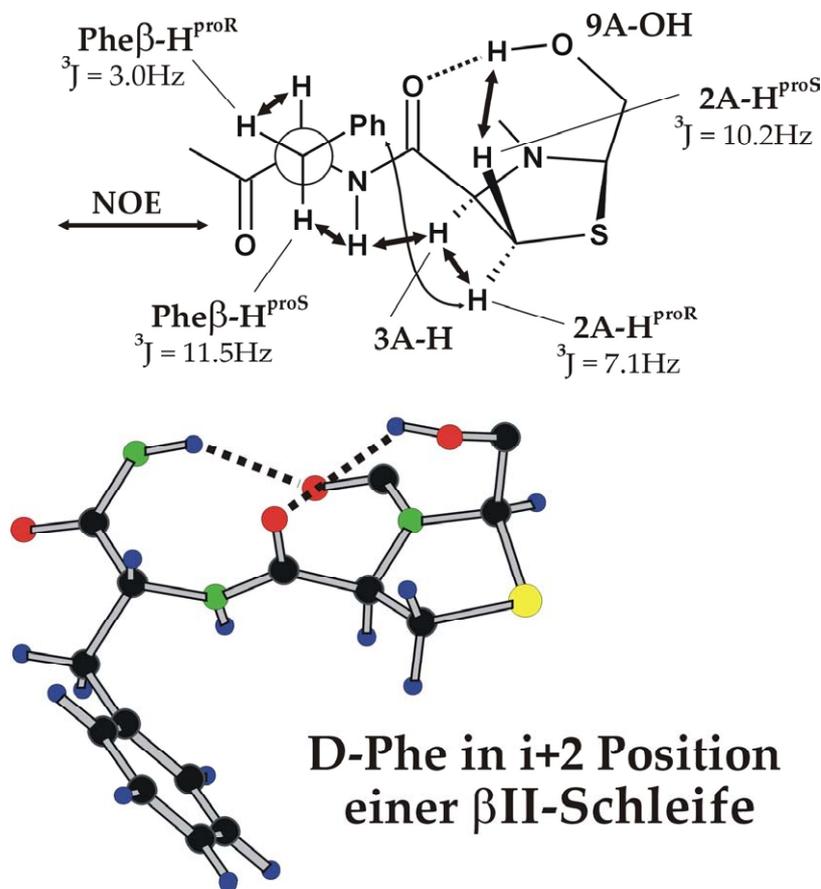


Abbildung B.2.3.1.-25.: NMR Daten und hieraus bestimmte Konformation der βII Schleife mit D-Phe in der i+2 Position des zyklischen Peptids 96

wiesenen Protons, welche in Kombination mit dem intensiven NOE zu Phe-NH nur mit einer trans-Konformation zu Phe-α-H in Einklang zu bringen war.

Blieb noch die Unterscheidung der zwei möglichen gauche-Positionen des zweiten Methylenprotons. Für die in Abbildung B.2.3.1.-15. dargestellte Konformation sprach dann ein, wenn auch sehr schwacher, NOE vom Phenylrest zu 2A-H^{proR} des Thiazolidinrings.

Was sich weiterhin offenbarte war, daß dem Fünfring des Thiazolidins ebenfalls eine definierte Konformation zugewiesen werden kann.

So zeigt die große Kopplungskonstante von 10.2 Hz des 2A-H^{proS}-Protons, zusammen mit dem intensiven NOE 3A-H zu 2A-H^{proR}, daß hier wenn, dann nur im sehr geringen Maße mit einem anderen Konformer zu rechnen ist, denn diese Daten können schwerlich aus einer Mittelung hervorgegangen sein, zu welcher eine andere Konformation einen bedeutenden Beitrag zu liefern im Stande gewesen wäre.

So daß alles in allem mit einer Konformation zu rechnen ist, wie sie auch in der entsprechenden Abbildung B.2.3.1.-25. gezeigt ist, mit Schwefel nach unten und CH₂-Gruppe nach oben, entsprechend der Darstellung.

Summiert man nun all die zuvor aufgeführten Punkte, zeigt sich augenscheinlich, daß wir es hier mit einer „sehr guten Struktur“ zu tun haben, oder präziser ausgedrückt, alles weist darauf hin, daß hier, in Grundzügen eine sehr dominante Vorzugskonformation existiert, welche aufgrund einer Vielzahl, zum Teil hervorragend ineinandergreifender und sich ergänzender Daten, auch beschrieben werden kann.

So zeigt Abbildung B.2.3.1.-26. einen Strukturvorschlag, welcher nunmehr auf einer solchen Fülle von Daten, von z.T. sehr hoher Qualität, aufbauen kann, die so nicht alltäglich ist, und darum der tatsächlichen Konformation in Lösung beträchtlich nahe kommen dürfte.

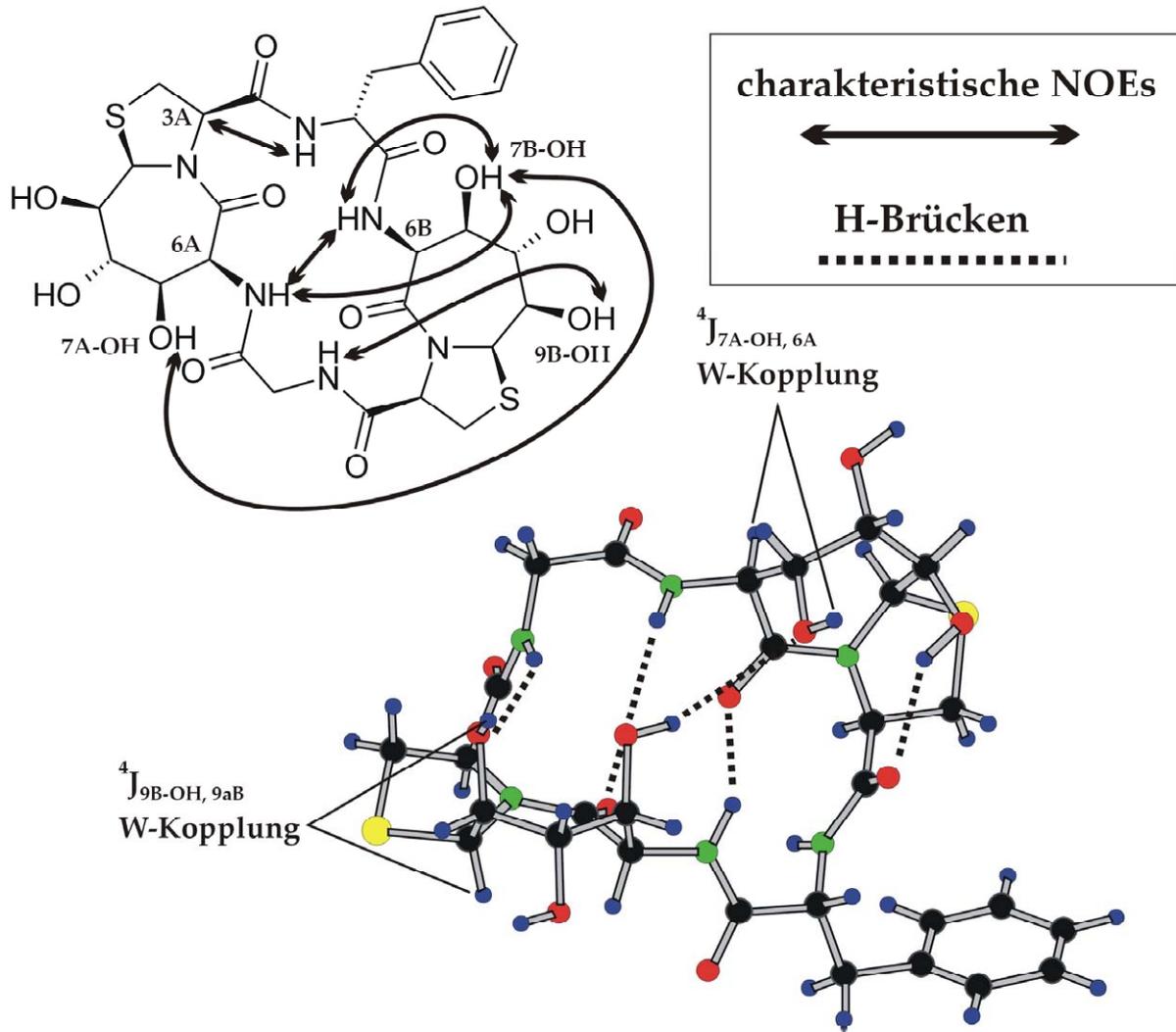


Abbildung B.2.3.1.-26.: Strukturvorschlag für das zyklische Peptid 96

Betrachtet man alles zuvor Gebrachte, so wurde bisher genaugenommen „lediglich“ gezeigt, welche Vorzugskonformation die zyklische Verbindung **96** in DMSO einnimmt, und wenn auch DMSO als Lösungsmittel immer eine Art Härte-test für die Konformation eines Peptides darstellt, so ist dessen „natürlicher Lebensraum“ doch das Wasser, womit schlußendlich dies auch das Feld ist, auf dem es sich bewähren muß.

Folglich war der nächste Schritt, dem vorangegangenen jetzt eine Analyse in Wasser folgen zu lassen.

Nun ist aber Wasserlöslichkeit bei zyklischen Peptiden nicht unbedingt eine Selbstverständlichkeit, so ist diese Eigenschaft bei vielen Modellpeptiden welche im Laufe der Jahre synthetisiert wurden, gar nicht, oder nur in sehr bescheidenem Ausmaße gegeben, so daß es im Grunde schon als Erfolg anzusehen ist, wenn gezeigt werden kann, daß die Analyse eines solchen Peptids in Wasser überhaupt möglich ist.

Diese erste Hürde konnte dann auch mühelos überwunden werden, womit sich das Konzept, durch Hydroxylgruppen die hydrophilen Eigenschaften in einem Peptid zu verbessern, somit schon bewährt hatte.

Was sich jetzt weiter zeigte, war, daß alle hierbei erhaltenen Daten dafür sprachen, daß die zuvor gezeigte Konformation, so wie beschrieben, auch in wäßrigem Milieu wieder vorzufinden ist.

Die Tatsache, daß die intramolekularen H-Brücken der beiden Amidprotonen an Position 6, auch in Wasser so gegeben sind, wurde schon im entsprechenden Kapitel aufgezeigt (sehr geringer chemischer Austausch, und 6ANH-6BNH-NOE), weiter untermauert wurde dies jetzt noch durch die Temperaturgradienten, wie sie in Wasser bestimmt wurden.

6A-NH	DPhe-NH	6B-NH	Gly-NH
-0.4ppb/K	-6.18ppb/K	-2.55ppb/K	-1.01ppb/K

Tabelle **B.2.-2.**: Temperaturgradienten der Verbindung **96** in Wasser

Wie zu sehen entspricht das Verhalten der Amidprotonen in Wasser weitgehend dem in DMSO-d₆.

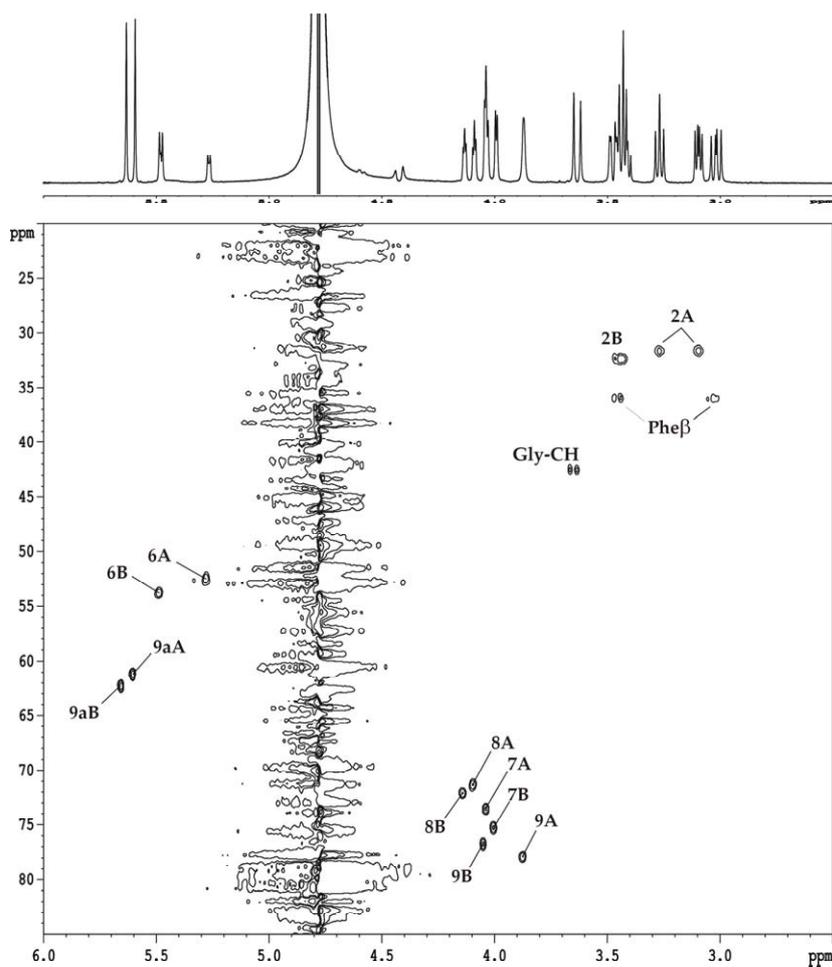


Abbildung B.2.3.1.-27.: 600MHz HMQC-wg, der Verbindung **96** in H₂O/D₂O 10:1 bei 300K

Weiter konnte beobachtet werden, daß das Verschiebungs- und Kopplungsmuster in Wasser dem in DMSO sehr stark ähnelt, so unterschieden sich z.B. die aussagekräftigen ³J-Kopplungskonstanten der diastereotopen Protonen an 2A und Phe β kaum von den zuvor beobachteten Werten. Auch die CH-Gruppen 7 und 9 zeigen ein vergleichbares Verhalten in ihren chemischen Verschiebungen. So ist auch hier 9A-H wieder deutlich hochfeldverschoben gegenüber jenem an Position 9B. Dies ist in sofern von Bedeutung, als die hier auftretenden Unterschiede hauptsächlich in dem unterschiedlichen Donor-Akzeptor-Verhalten der H-Brücken ihrer OHs zu suchen sind, so daß dies ein

ganz klarer Hinweis darauf ist, daß das zuvor beobachtete Wasserstoffbrückenmuster auch in Wasser so erhalten bleibt.

Was weiter als sicher angesehen werden kann, wären die Konformationen der β -Schleifen, so werden auch diese durch den Wechsel des Lösungsmittels praktisch nicht beeinflusst. Es konnte auch in Wasser ein deutlicher NOE von Phe-NH zu 3A-H beobachtet werden, während der von Gly-NH jetzt nicht einmal mehr zu detektieren war, was dann wiederum mit den erhaltenen Temperaturgradienten (Tabelle B.2.-2.) sehr gut in Einklang zu bringen ist.

Um das Peptid über einen möglichst großen Temperaturbereich beobachten zu können, wurde abschließend noch eine NMR-Analytik in einem Lösungsmittelgemisch H₂O/DMSO-d₆ 4:1 durchgeführt. Bei einem molekularen Verhältnis Wasser zu DMSO von etwa 16:1 können hier näherungsweise wieder Bedingungen angenommen werden, wie sie mit denen in reinem Wasser zu vergleichen sind.

Als erstes wurde eine Temperaturreihe von 256K bis 340K durchgeführt, gezeigt in Abbildung B.2.3.1.-28. auf der nächsten Seite.

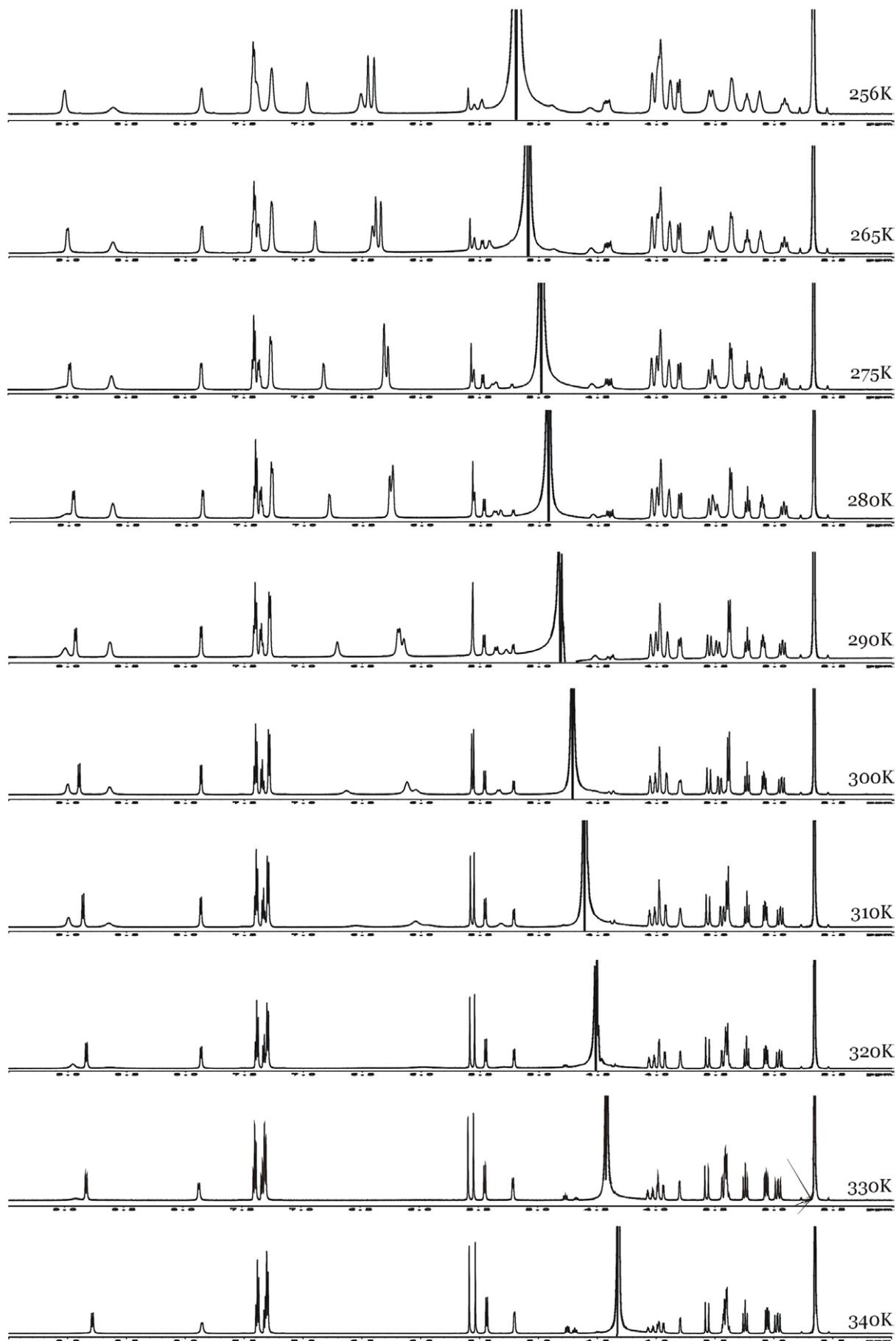


Abbildung B.2.3.1.-28.: 600MHz ¹H-wg, Temperaturreihe (256-340K) der Verbindung 96 in H₂O/DMSO-d₆ 4:1

Auch hier waren dann wiederum einige bemerkenswerte Punkte zu konstatieren.

- So konnten bei 290K die Signale aller Hydroxylgruppen erhalten und zugeordnet werden.

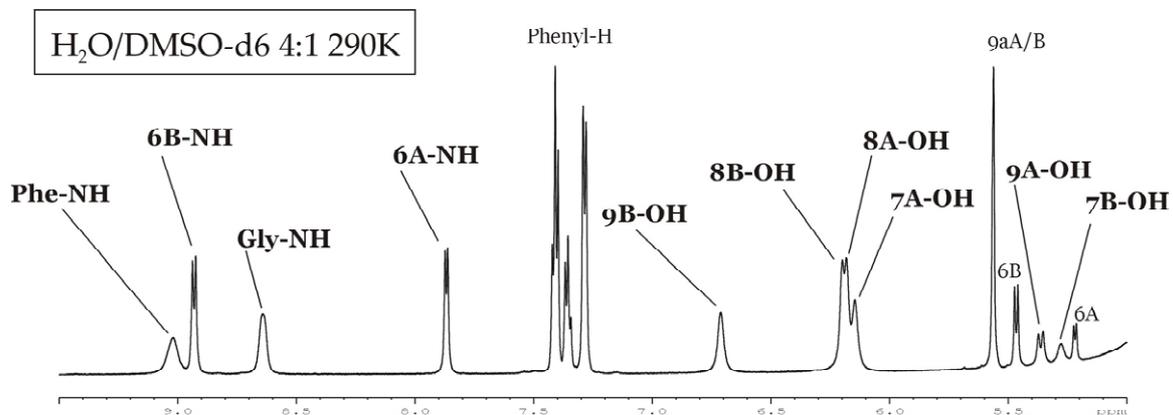


Abbildung B.2.3.1.-29.: 600MHz ^1H -wg der Verbindung **96** in $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO-d}_6$ 4:1 bei 290K

- Innerhalb dieser Hydroxylgruppen zeigten 9A-OH und 7B-OH, jene welche bisher als in einer Wasserstoffbrücke gebunden angesehen wurden, die geringste Abhängigkeit ihrer chemischen Verschiebung vom Lösungsmittel, so fiel die Änderung in ihren Verschiebungen, im Vergleich zu den Werten in DMSO, hier geringer aus, als bei den vier anderen Hydroxylgruppen, welchen keine H-Brücken zugeordnet worden waren, und somit folglich stärker zum Lösungsmittel hin orientiert angesehen werden müssen, womit sich, wie beobachtet, ein Wechsel des Lösungsmittels auch stärker in ihren spektroskopischen Daten widerspiegeln sollte.
- Des Weiteren war bei letzteren OHs eine signifikant größere Temperaturabhängigkeit zu beobachten, so war, im Gegensatz zu 9A- und 7B-OH, hier eine deutliche Verschiebung zu tieferem Feld bei fallender Temperatur offensichtlich.
- Betrachtet man weiter das Verhalten der einzelnen Protonen in ihren chemischen Verschiebungen, so fällt auf, daß die beiden 6-NH Protonen, welche hierin zuvor schon relativ weit auseinander lagen, bei sinkenden Temperaturen noch weiter auseinanderdriften.
- Zuletzt fällt dann noch das „seltsame Verhalten“ des Signals von Phe-NH auf, welches, bei sinkenden Temperaturen, zuerst immer deutlicher erscheint, ein Umstand welcher durch einen verlangsamten chemischen Austausch noch verständlich erklärt werden kann, dann aber, bei weiterer Abkühlung des Lösungsmittelgemisches, wieder eine Signalverbreiterung erfährt, welche schließlich im völligen Verschwinden des Signals bei 265K endet.

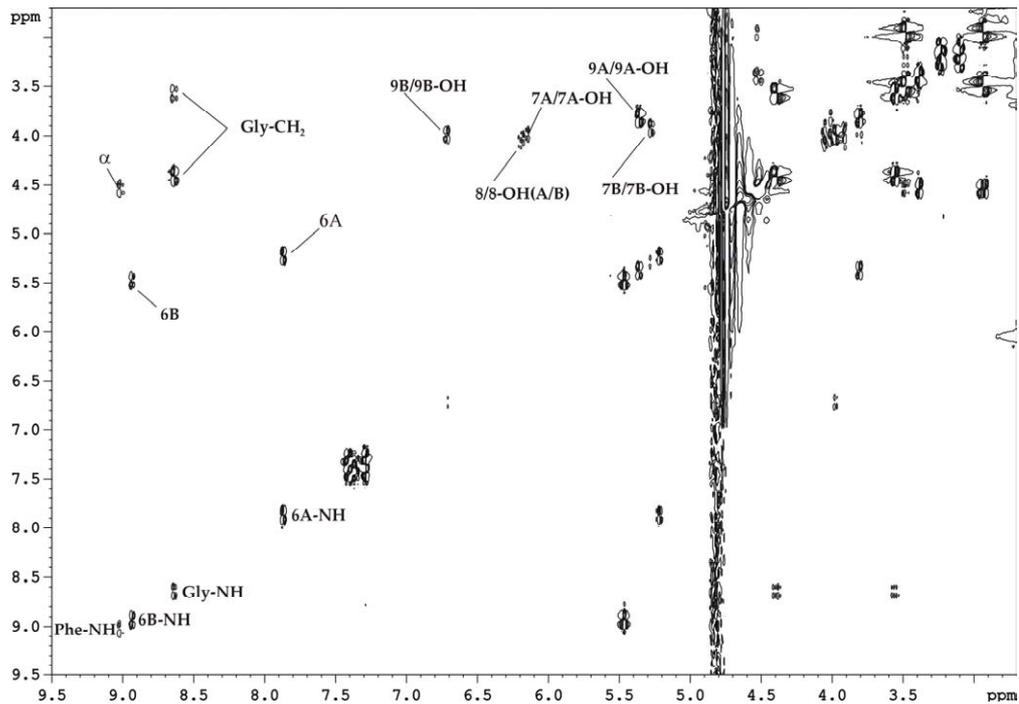


Abbildung B.2.3.1.-30.: 600MHz DQF-COSY-wg der Verbindung **96** in H₂O/DMSO-d₆ 4:1 bei 290K

Zwar wurde auf wesentliche Aspekte bei der Zuordnung zuvor schon näher eingegangen, aber da „OHs in Wasser“ bei nahezu Raumtemperatur, nicht alltäglich sind, werden hier noch einmal zwei Spektren gezeigt, welche in Hinblick auf die Zuordnung wesentlich waren.

So ist es u.a. bemerkenswert, daß hier die Hydroxylgruppen unter diesen Verhältnissen deutliche Kreuzsignale im DQF-COSY zeigen.

Mit dem letzten gezeigten Spektrum, einem 2D-ROESY, soll nun der NMR-spektroskopische Teil, was diese Verbindung betrifft, abgeschlossen werden, um zum Schluß noch einer zweiten Methode der Strukturanalyse ein wenig Platz einzuräumen.

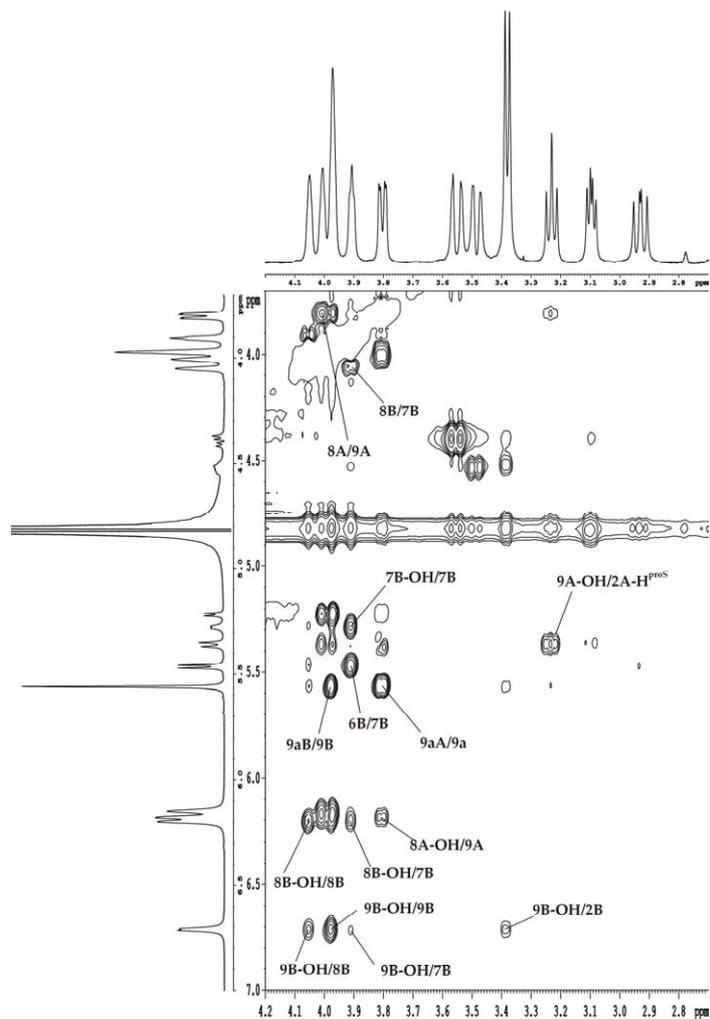


Abbildung B.2.3.1.-31.: 600MHz Roesy-wg der Verbindung **96** in DMSO-d₆/H₂O 1:4 bei 290K

Nach erfolgter Analyse über NMR war es dann auch noch möglich, die Verbindung **96** aus Wasser zu kristallisieren.

In der hierbei erhaltenen Kristallstruktur konnten dann praktisch auch alle zuvor erarbeiteten Strukturelemente wiedergefunden werden:

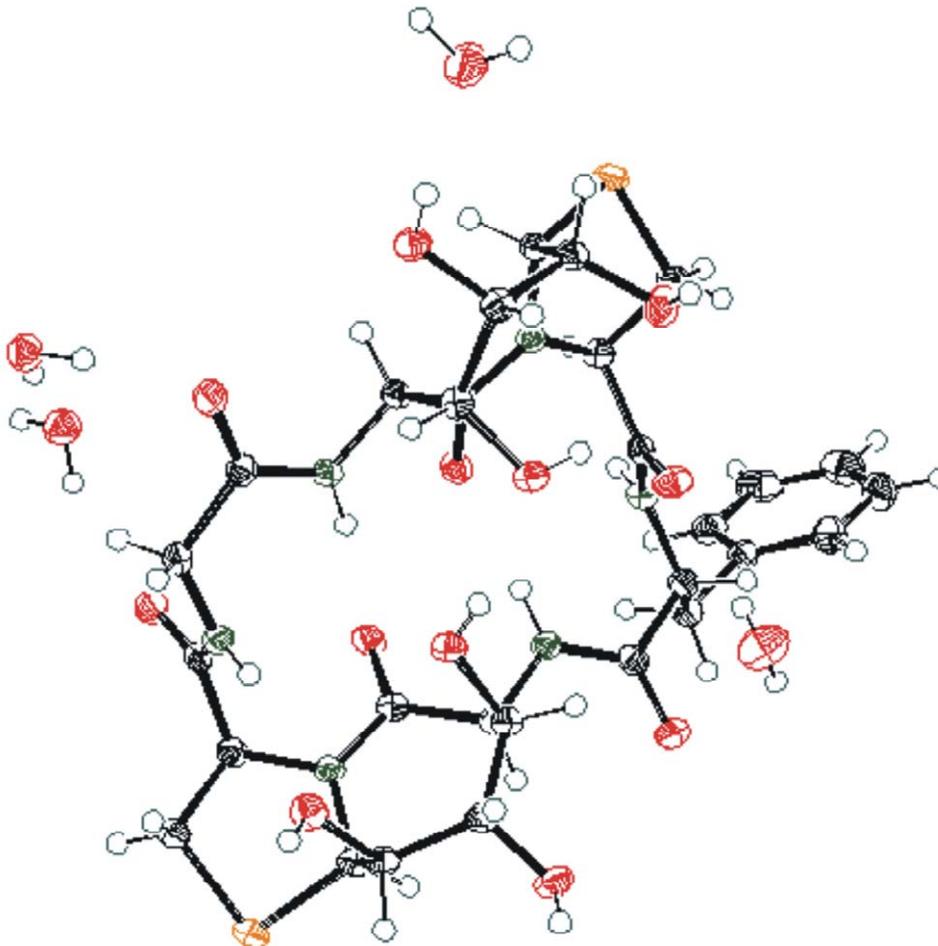


Abbildung B.2.3.1.-32.: Kristallstruktur von **96**

- So zeigte sich auch hier die Grundkonformation mit H-Brücken von 6-NH zum Carbonyl des anderen Bicykluses, und den beiden Aminosäuren jeweils in der $i+2$ Position einer β -Schleife.
- Die Konformationen der beiden β -Schleifen entsprachen denen wie sie auch in Lösung postuliert wurden (Gly in β I, DPhe in β II)
- Auch die Seitenketten-zu-Seitenketten-Wasserstoffbrücke 7B-OH zu 7A-OH war hier wiederzufinden
- Als einziger Unterschied zur Struktur in Lösung ist hier die Orientierung von 9A-OH auszumachen, welche in Lösung eine H-Brücke zum Carbonyl aufweist, im Kristall aber jetzt vom Peptid weg zeigt, ein Verhalten, welches auf eine intermolekulare H-Brücke im Kristall zurückzuführen ist.

2.3.1.2.4. Vergleich der zyklischen Peptide

Nachdem bisher hauptsächlich auf nur eine Verbindung eingegangen worden ist, folgt jetzt ein Vergleich dieser hierbei erhaltenen Ergebnisse mit den Daten, welche von den restlichen fünf zyklischen Peptiden gewonnen werden konnten.

Die nächsten drei Seiten zeigen zunächst die ^1H -NMR Spektren, und die jeweiligen Ausschnitte des NH-Bereichs aus den 2D-ROESYs, welcher, wie gezeigt, sehr aussagekräftig, sowohl im Hinblick auf die Konformation der β -Schleifen, als auch generell auf die Ausrichtung der Wasserstoffbrücken war.

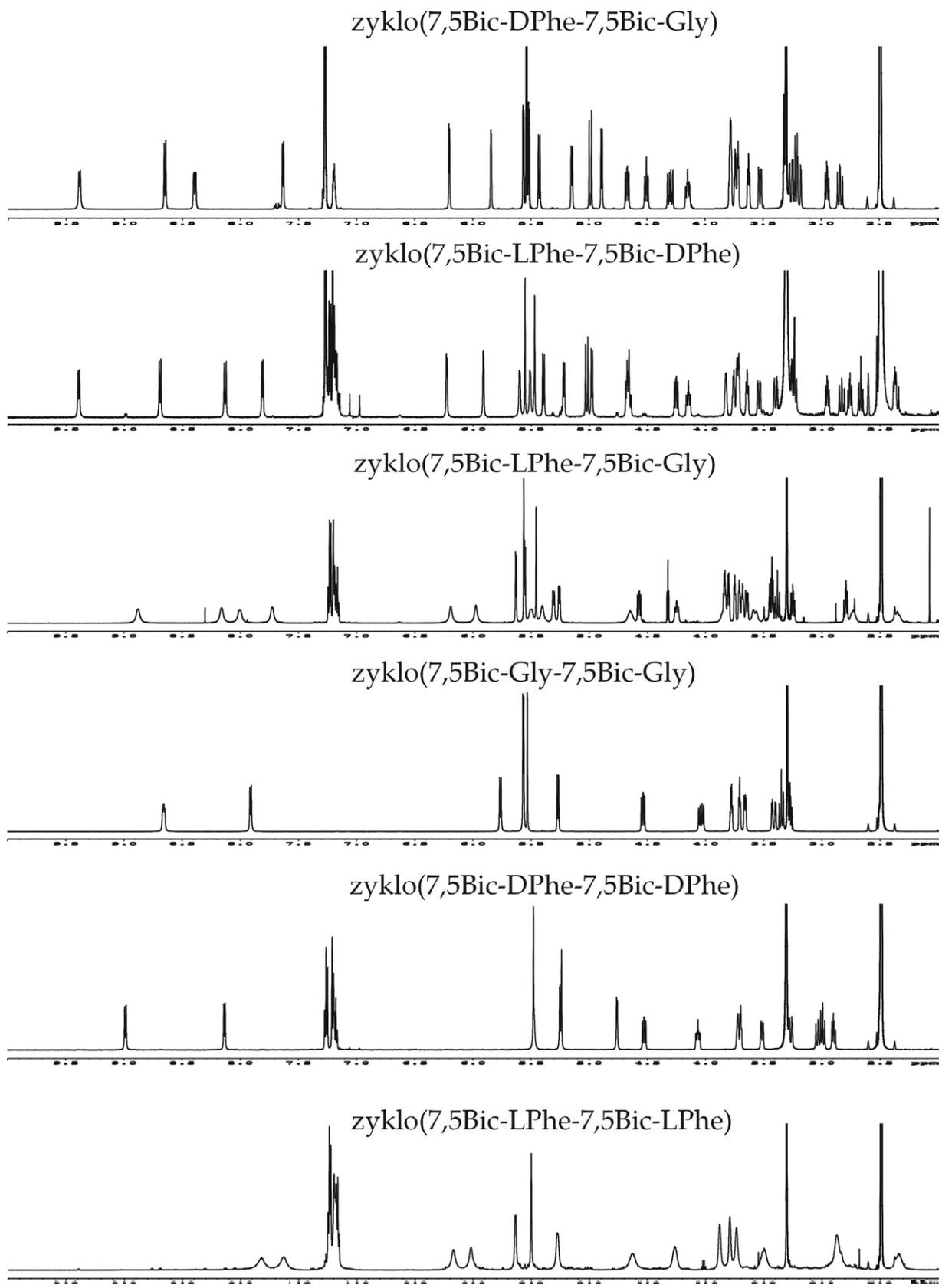
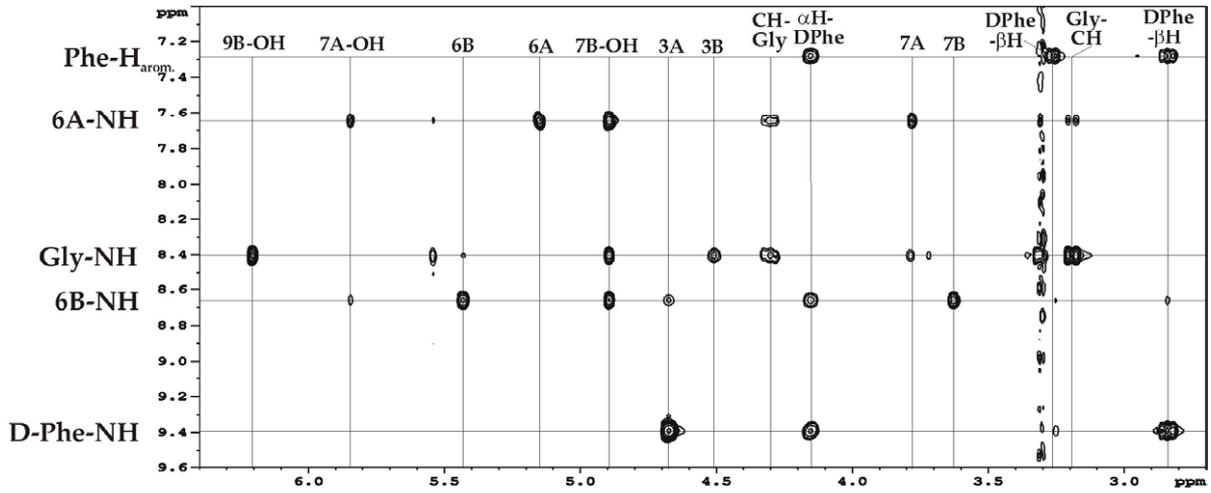
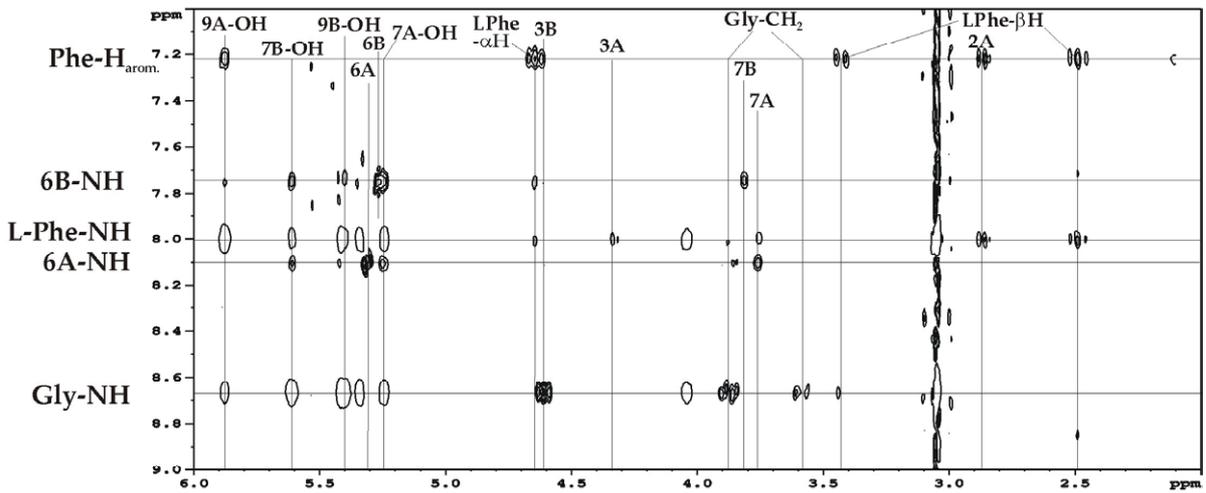


Abbildung B.2.3.1.-33.: Vergleich der 600MHz ¹H-NMR Spektren der zyklischen Verbindungen zyκλο(7,5Bic-AS-7,5Bic-AS) 93-98 in DMSO-d₆ bei 300K

zyklo(7,5BicA-DPhe-7,5BicB-Gly), 600MHz ROESY DMSO-d₆, 300K



zyklo(7,5BicA-LPhe-7,5BicB-Gly), 400MHz ROESY DMSO-d₆, 350K



zyklo(7,5BicA-LPhe-7,5BicB-DPhe), 600MHz ROESY DMSO-d₆, 300K

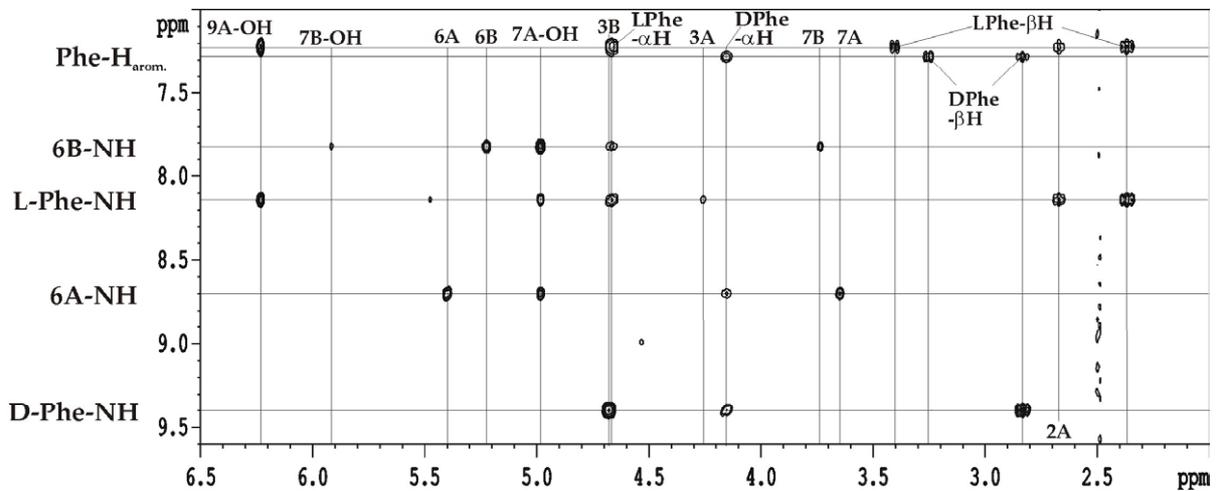
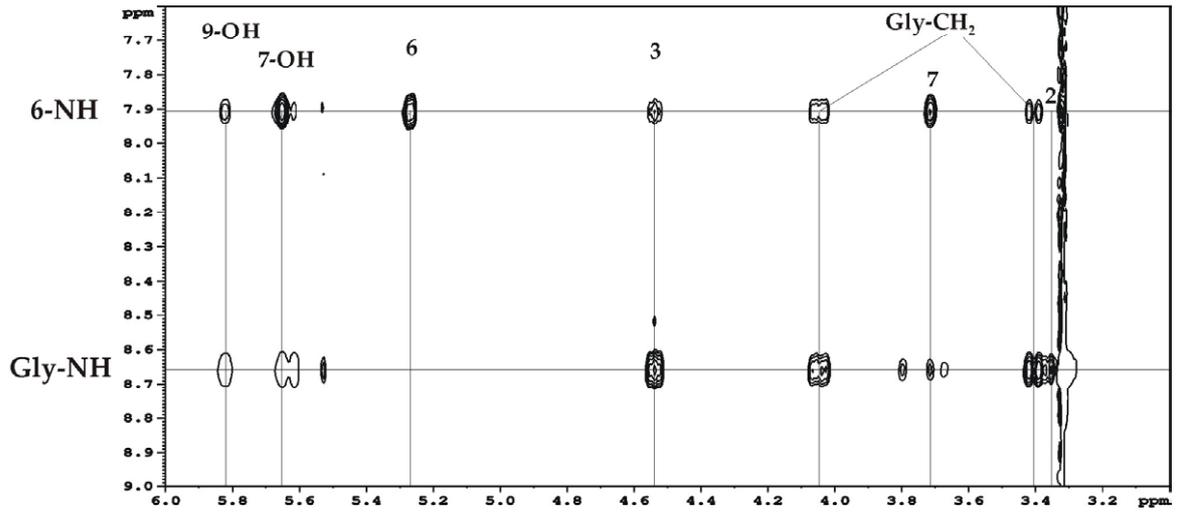
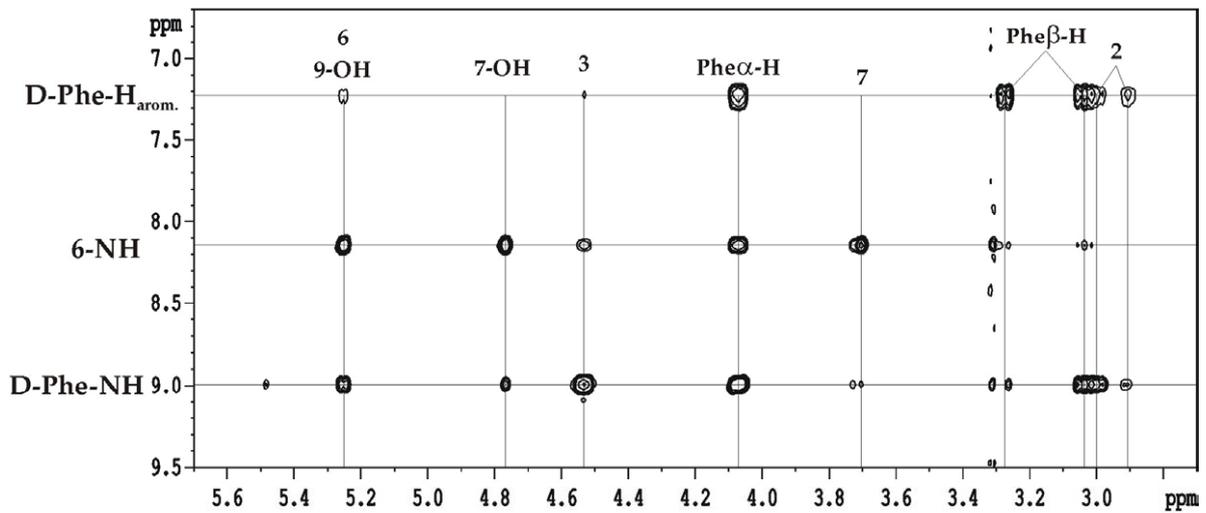


Abbildung B.2.3.1.-34.: Ausschnitte (NH-Bereich) ROESY-Spektren der zyklischen Peptide 96, 95 und 97

zyklo(7,5Bic-Gly-7,5Bic-Gly), 600MHz ROESY DMSO-d₆, 300K



zyklo(7,5Bic-DPhe-7,5Bic-DPhe), 600MHz ROESY DMSO-d₆, 300K



zyklo(7,5Bic-LPhe-7,5Bic-LPhe), 400MHz ROESY DMSO-d₆, 350K

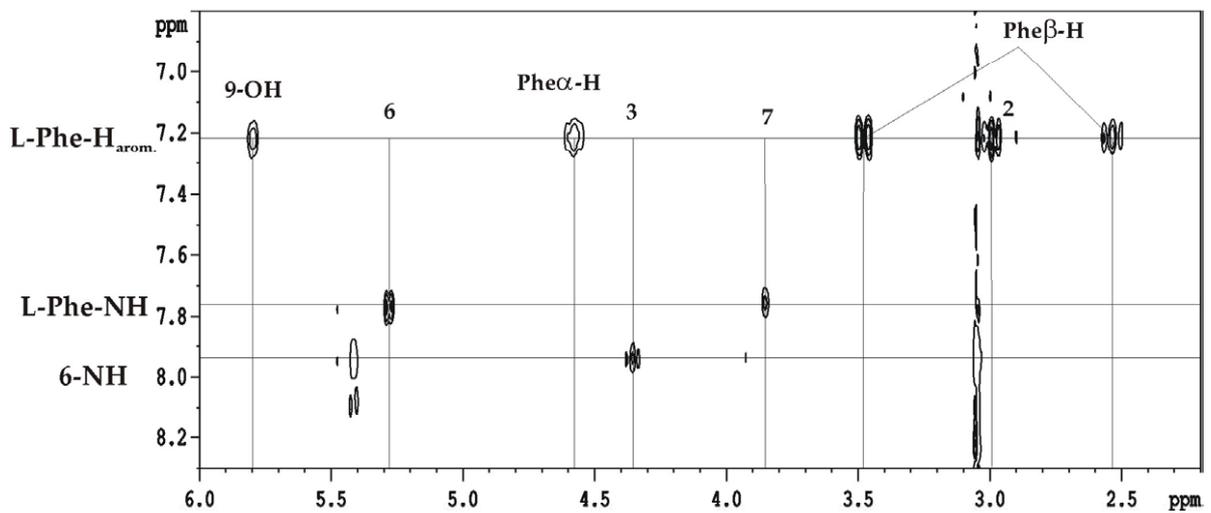


Abbildung B.2.3.1.-35.: Ausschnitte (NH-Bereich) ROESY-Spektren der zyklischen Peptide 93, 98 und 94

2.3.1.2.4.1. zyκλο(7,5Bic-LPhe-7,5Bic-Gly)

Der erste gravierende Unterschied zum soeben vorgestellten zyklischen Peptid **96**, welcher sich in Anbetracht des $^1\text{H-NMR}$ Spektrums der Verbindung **95** offenbart, ist schon, ohne überhaupt ein einziges Proton zugeordnet zu haben, allein aus dem Erscheinungsbild der Signale, welches sich hier bietet, ersichtlich.

So ist in diesem Spektrum bei 300K eine Verbreiterung einiger Signale zu beobachten. Die naheliegende Möglichkeit das hier aufgrund chemischen Austauschs die Multipllettstruktur verloren ging, konnte ausgeschlossen werden, da sich dieses Phänomen zum einen nicht auf die aziden Protonen beschränkte, und zum anderen die beiden Hydroxylgruppen an Position 8 wiederum deutlich als Dublett zu erkennen waren.

Als nächste Erklärung kam konformationeller Austausch in Betracht. Aus diesem Grund wurde anschließend eine Temperaturreihe durchgeführt, da, wenn die zuvor aufgestellte Vermutung zutrifft, man durch die Beschleunigung eines solchen dynamischen Prozesses, hierdurch wieder eine definierte Signalstruktur im NMR erhalten sollte.

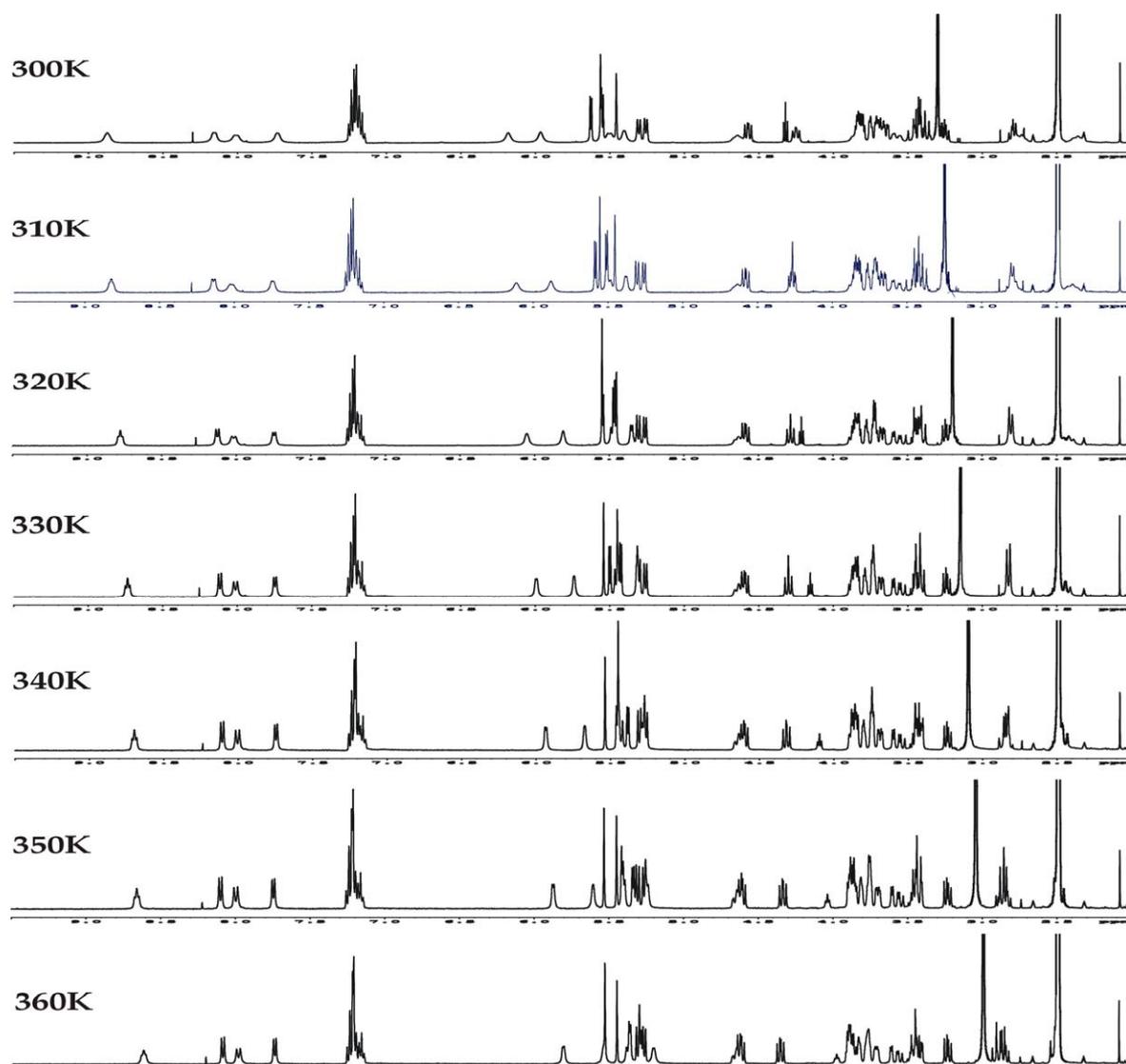


Abbildung B.2.3.1.-36.: Temperaturreihe 400MHz $^1\text{H-NMR}$ des zyklischen Peptids **95** in DMSO-d_6

Wie aus Abbildung **B.2.3.1.-36.** ersichtlich, konnte der angesprochene Effekt erzielt werden, so lagen bei höherer Temperatur alle Signale wieder in einer definierten Multipllettstruktur vor, womit die Hypothese, dieser Verbreiterung könnte ein konformationeller Wechsel zugrunde liegen, eine Bestätigung fand.

Da eine eindeutige Bestimmung der Art dieser Konformere nur bei getrennten Signalen zu erreichen ist, soll dieser Punkt zunächst hinten angestellt werden, und das Hauptaugenmerk vorerst darauf gerichtet werden, zu versuchen, ob es möglich sei, trotz allem eine Grundstruktur herausarbeiten zu können, welche von diesem konformationellen Wechsel nicht, oder nur wenig tangiert wird, denn bei diesem Phänomen kann es sich immer auch um eine Art Randerscheinung handeln, welche lediglich auf einen kleinen Teil des Moleküls beschränkt ist, und läßt man diese außer Acht, man dann doch zu einer Strukturaussage gelangen kann.

Der Umstand, daß dieser Effekt nun speziell hier zu beobachten war, heißt nicht zwangsläufig, daß beim Peptid zuvor, welchem ziemlich eindeutig eine Vorzugskonformation zugewiesen werden konnte, nicht auch ein konformationeller Austausch vorliegt kann, welcher möglicherweise hier nur einfach schneller erfolgte, und somit nicht zu beobachten war.

Zunächst soll mit einer nähere Betrachtung des NH/OH-Bereiches begonnen werden, da die Analyse zuvor gezeigt hat, daß hierdurch schon zu ersten wichtigen Einschätzungen gelangt werden kann, in wieweit mit einer Vorzugskonformation zu rechnen ist.

Wiederum, wie schon für das Musterpeptid zuvor, war dann auch für Verbindung **95** eine breite Streuung aller zuvor als relevant erachteten Signale (7/9-OH und NHs) im $^1\text{H-NMR}$ zu beobachten, womit es folglich möglich sein sollte, nun ebenfalls einige signifikante strukturelle Merkmale zu ergründen.

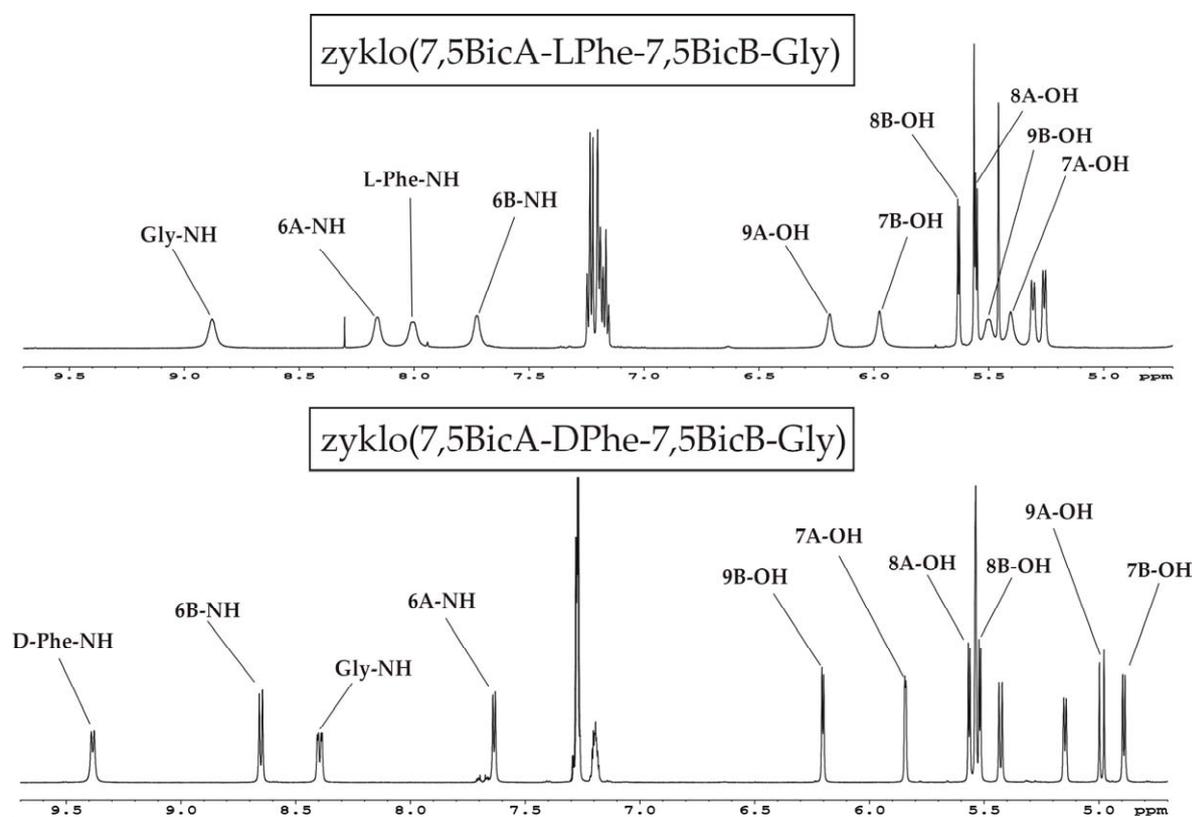


Abbildung **B.2.3.1.-37.**: 600MHz $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Verbindungen **95** und **96** in DMSO-d_6 , 300K

Was anhand dieses Spektrums sofort ins Auge sticht sind zwei Punkte. Erstens, auch hier liegt eine dem zuvor gezeigten Peptid vergleichbare Dispersion der NH- und OH-Signale vor, nur daß jetzt ihre Streuung weniger breit ist, ein erster Hinweis darauf, daß das zyklische Peptid mit D-Phe **96** doch die „bessere“ Struktur hat.

Zweitens sind hier die Signale in ihren Verschiebungen „vertauscht“, Abbildung **B.2.3.1.-27.**, so daß nun z.B. die Signale, welche vorher von jenem Bizyklus erhalten wurden, welcher dem Glycin vorausging, nun in einem Bereich auftreten, wie es zuvor für den zweiten Bizyklus, jenem vor Phenylalanin, beobachtet wurde.

Da hier die spektroskopischen Eigenschaften hauptsächlich als von der Konformation der β -Schleife abhängig erachtet werden können, ist die naheliegende Vermutung die, daß bei diesem Peptid nun umgekehrte Verhältnisse walten, also die entsprechenden Amidbindungen und ihr Donor-Akzeptor-Verhalten mit den 9-OHs hier invertiert sind.

Dies wird dann durch die Daten des 2D-ROESYs, aufgenommen bei 350K, bestätigt, denn hier zeigt jetzt das Glycin-NH, welches sich zuvor im Peptid **96** in einer Wasserstoffbrücke zur 9B-OH befand, einen intensiven NOE zu 3-H, wohingegen das entsprechende Kreuzsignal beim NH des L-Phenylalanins kaum zu detektieren ist (Abbildung **B.2.3.1.-24.**)

Somit scheint bei diesem Peptid die zuvor besprochene Konformation, grundsätzlich so auch hier vorzuliegen, nur jetzt mit umgekehrten Vorzeichen.

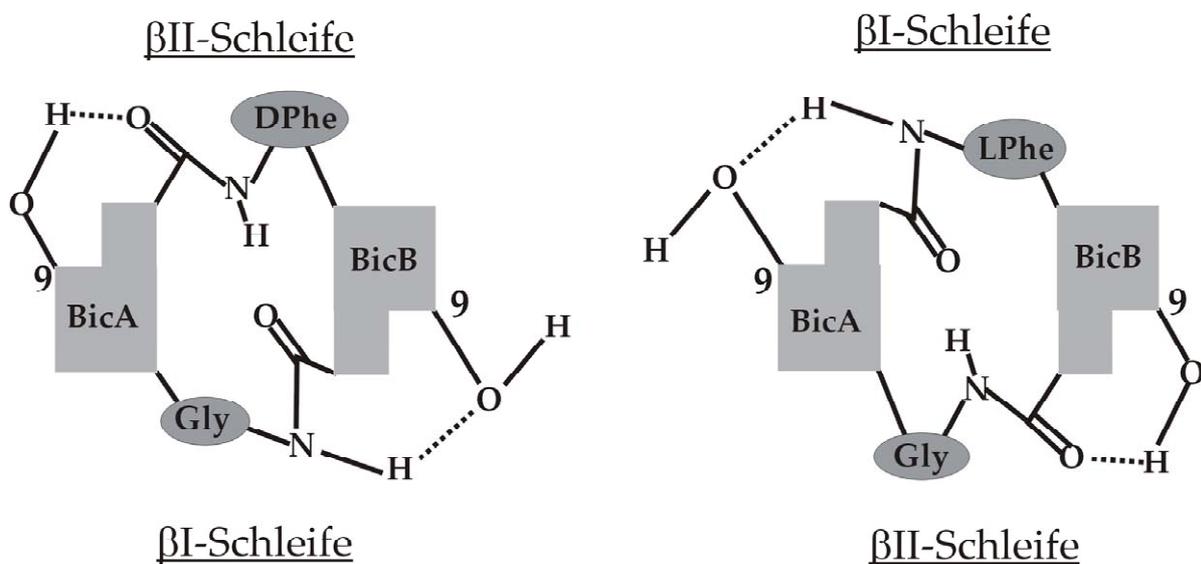


Abbildung **B.2.3.1.-38.**: Schematische Darstellung der β -Schleifen von **95** und **96**

Dieses dem Beispiel zuvor gegenläufige Verhalten, spiegelt sich so auch in den entsprechenden Temperaturgradienten wieder (Tabelle **B.2.-1.**), so besitzt nun das NH des Glycins, welchem zuvor eine H-Brücke zugeordnet worden war, mit -4.10ppb/K den vom Betrag her deutlich größeren Koeffizienten, vergleicht man ihn mit dem des Amidprotons von Phenylalanin, welches einen Wert von -0.45ppb/K aufweist, was jetzt für dieses eine Wasserstoffbrücke zu 9A-OH (-6.35ppb/K) nahelegt.

Als Schlußfolgerung bleibt vorerst, daß das Gerüst mit seinen beiden β -Schleifen so wohl in Grundzügen erhalten bleibt, wobei eine Änderung der Konfiguration einer Aminosäure, D-Phe zu L-Phe, hier zu einer Inversion des Gesamtsystems führt.

Als nächstes folgt jetzt eine genauere Betrachtung der Schleifen an sich.

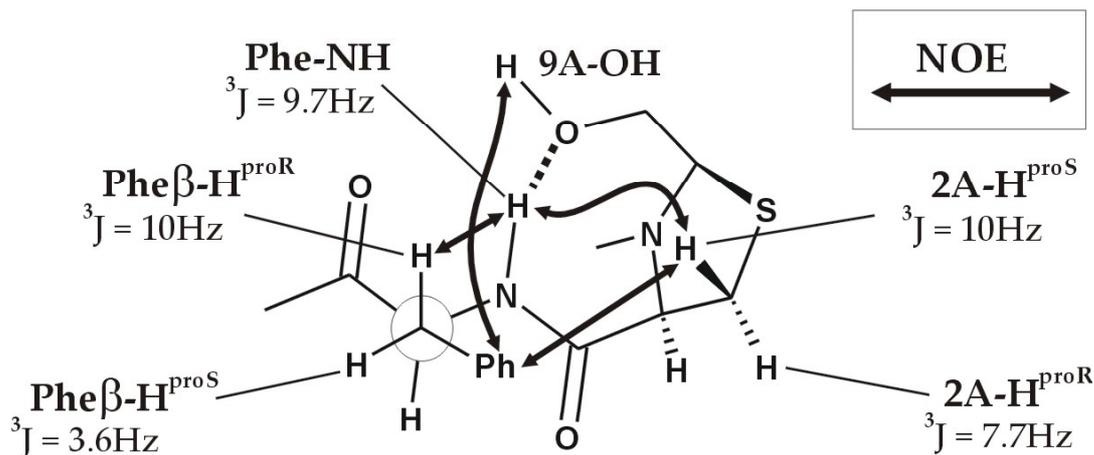


Abbildung **B.2.3.1.-39.**: Größe der 3J -Kopplungskonstanten und das NOE Muster der β -Schleife mit L-Phe in der $i+2$ Position, bei 350K in DMSO- d_6
(NOEs von 2/3 und Phe- β/α sind nicht eingezeichnet da hier im entsprechenden 2D-ROESY eine Überlagerung durch COSY Signale stattfand)

Hierbei fällt sofort der relativ intensive NOE der aromatischen Protonen der Benzyl Seitenkette zu $2A-H^{proS}$ auf, dies, in Kombination mit den deutlichen Unterschieden in den chemischen Verschiebungen und in den Größen der Kopplungskonstanten der β -Protonen des Phenylalanins, läßt schon erste weitreichende Schlüsse auf deren Orientierung zu.

In der Skizze, Abbildung **B.2.3.1.-39.** sind im weiteren noch alle anderen relevanten Daten bezüglich der Seitenkettenausrichtung dargestellt, welche bei 350K in DMSO- d_6 erhalten werden konnten.

Da die hier erhaltenen Ergebnisse eindeutig und übereinstimmend zu einem Ergebnis führen, weder Kopplungen noch NOEs als gemittelt erscheinen, kann diese hier gezeigte β -Schleife als ein Strukturvorschlag angenommen werden, welcher der tatsächlichen Konformation sehr nahe kommt, wobei sowohl für die Seitenkettenausrichtung, als auch Konformation des Thiazolidinringes eine eindeutige Zuordnung möglich war.

Auch läßt sich hier schon ein möglicher Hinweis darauf finden, warum L-Phe jenen, und D-Phe den anderen Typ β -Schleife bevorzugt.

Eine Gemeinsamkeit, welche beide aufweisen, liegt in der bevorzugten Ausrichtung des Phenylrestes zum Thiazolidinring, begünstigt wahrscheinlich durch eine hydrophobe Wechselwirkung, eine solche Orientierung scheint in der jeweils alternativen Konformation (umge-

L-Phe in β I-Schleife

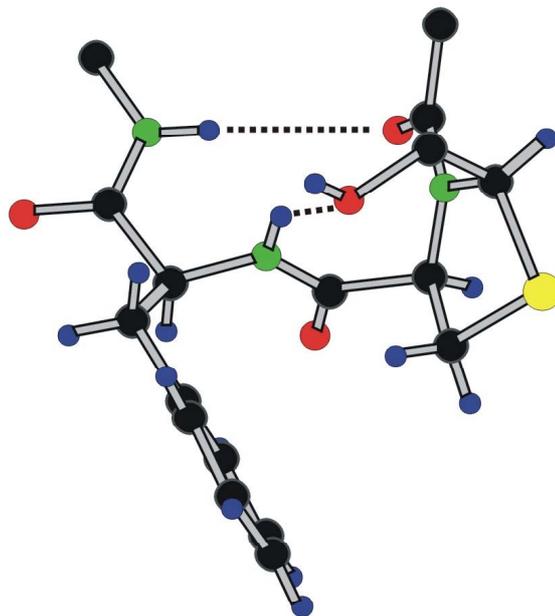


Abbildung **B.2.3.1.-40.**: Strukturvorschlag für die β -Schleife des Peptids **95** mit L-Phe in der $i+2$ Position

kehrtes Donor-Akzeptor-Verhalten der H-Brücke zu 9-OH) wenig plausibel. Auch wenn es sich hierbei nicht um die treibende Kraft handeln sollte, ist anzunehmen, daß hierdurch die beobachtete Konformation zumindest begünstigt wird.

Steht noch die zweite Schleife aus, jene mit Glycin in der i+2 Position. Die Ausrichtung des Amids, durch die postulierte Wasserstoffbrücke von 9B-OH (-2.0ppb/) zum Carbonyl vorerst definiert, bleibt noch die Methylengruppe.

Da hier die beiden ^3J -Kopplungskonstanten (5.1Hz, 7.1Hz) vergleichsweise ähnliche Werte aufweisen, so daß hier auch eine Mittelung in Betracht zu ziehen ist, wurde dann auf die diastereotope Zuordnung und auf einen Vorschlag für deren räumliche Ausrichtung verzichtet

Was bisher noch nicht angesprochen wurde, ist die Rolle der 7-OHs, und hier offenbart sich zum ersten mal ein gravierender Unterschied, denn jetzt zeigen 7A-OH (Hochfeld) und auch 7B-OH (Tieffeld) die beiden NOEs zu 6A- und 6B-NH, verwunderlich vor allem für 7B-OH, jener Hydroxylgruppe, welche vom Verschiebungsmuster, vergleicht man es mit dem Peptid zuvor, und Temperaturgradienten (-6.35ppb/K) die Rolle des Akzeptors spielen sollte, woraus eine Ausrichtung vom Ring weg folgt (W-Kopplung, Kapitel 2.3.1.2.3.), aufgrund dessen sollten, zumindest zum NH des anderen Bicyklus, keine diesbezüglichen Kreuzsignale zu detektieren sein.

Möglicherweise ist dies ein erstes Zeichen, worin der beobachtete konformationelle Wechsel liegen könnte, so tauschen hier eventuell die beiden 7-OHs ab und an ihr Donor-Akzeptor-Verhältnis, infolge dessen 7B-OH auch teilweise nach innen, in das zyklische Peptid gerichtet ist. Auch eine teilweise Umorientierung des Wasserstoffbrückenmusters ist denkbar, so sind wie gesagt die Daten der hieran beteiligten Protonen nicht ganz so extrem ausgeprägt, wie bei dem zyklischen Peptid zuvor.

Anschließend wurde die Verbindung noch in Wasser spektroskopisch untersucht, hier zeigte sich wiederum ein vergleichbares Kopplungs- und Verschiebungsmuster wie schon in DMSO-d₆.

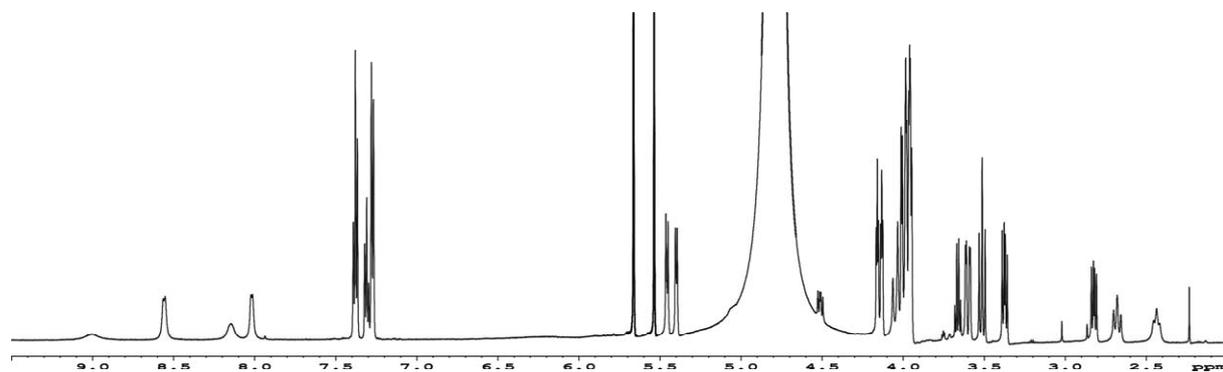


Abbildung B.2.3.1.-41.: 600MHz ^1H -wg der Verbindung **95** in $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ 10:1 bei 300K

Bemerkenswert hierbei, daß die 2A-Protonen in ihren chemischen Verschiebungen „ihre Plätze getauscht haben“ (DMSO-d₆: 2A-H^{proS} 2.88ppm 2A-H^{proR} 2.83ppm, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ 10:1: 2A-H^{proR} 2.82ppm 2A-H^{proS} 2.44ppm).

Genaugenommen hat sich hierbei nur die Verschiebung von 2A-H^{proS} geändert, jenem Proton, welches nun auch in Wasser einen deutlichen NOE zu den aromatischen Protonen der Seitenkette des Phenylalanins zeigt (Abbildung B.2.3.1.-42.).

Dies könnte darin begründet sein, daß, wie zu erwarten, die angenommene hydrophobe Wechselwirkung, Benzylrest zu Thiazolidinring, in Wasser eine noch größere Rolle spielt, und sich so in der chemischen Verschiebung von 2-H^{proS} widerspiegelt, jenem Proton welches dem Aromaten am nächsten kommt.

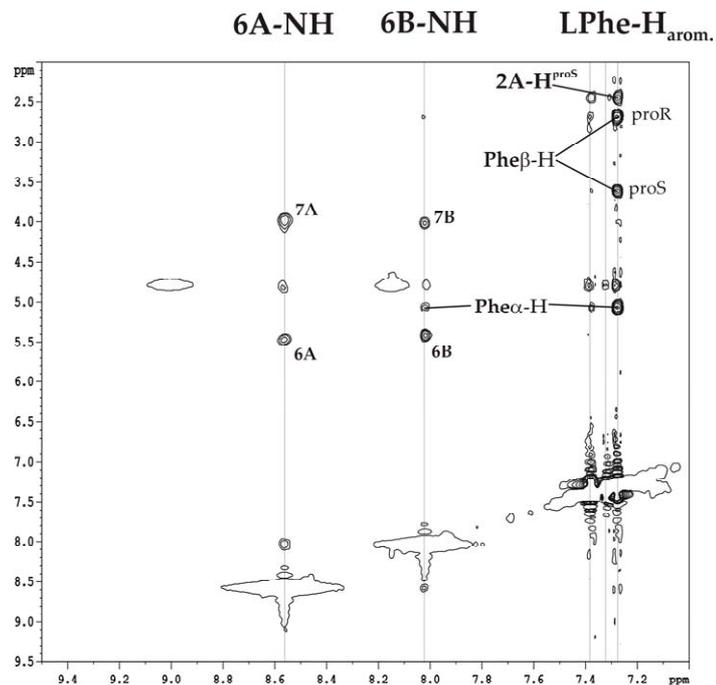


Abbildung B.2.3.1.-42.: 600MHz NOESY-wg, 500ms, der Verbindung **95** in H₂O/D₂O 10:1 bei 300K

Wie am Anfang schon erwähnt, wurde dieses zyklische Peptid zwei mal synthetisiert, somit war dann genügend Substanz vorhanden, um auch hier einen Kristallisationsansatz durchzuführen (Abbildung B.2.3.1.-43.)

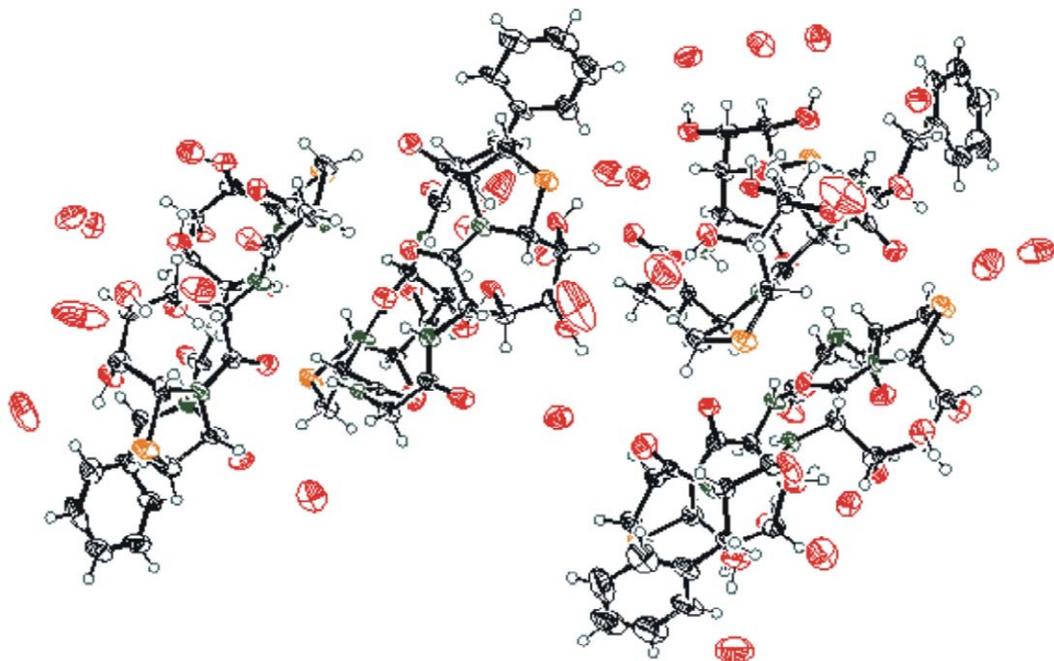


Abbildung B.2.3.1.-43.: Ergebnis der Röntgenstrukturanalyse eines Kristalls von Verbindung **95**

Alles, was aus diesem Bild ersichtlich ist, ist vorerst, daß das zyklische Peptid in vier verschiedenen Formen kristallisierte, wobei zusätzlich noch eine Menge Kristallwasser zu beobachten ist.

Eine genauere Betrachtung offenbart dann, daß die Unterschiede innerhalb dieser vier Strukturen relativ gering sind (Abbildung **B.2.3.1.-44.**). So zeigte sich, daß alle vier Peptide im Kristall eine nahezu identische Konformation ihres Gerüsts aufweisen, so liegen beide β -Schleifen in jener Form vor, wie sie ihnen auch für die Konformation in Lösung bisher zugewiesen wurde. Des Weiteren ist auch die Anordnung der beiden Bicyklen, mit den zwei unterschiedlichen Wasserstoffbrücken ihrer 6-NHs bei allen so wiederzufinden. Selbst die Orientierung des Phenylrestes und die Konformation der Methylengruppe des Glycins sind in diesen vier Strukturen identisch.

Somit sprechen nun auch diese Daten dafür, daß, trotz aller Dynamik, welche zweifelsohne vorhanden sein muß, die bisher beschriebene Konformation, mit den beiden unterschiedlichen β -Schleifen, durchaus als eine Struktur anzusehen ist, welche so auch in Lösung eine nicht unerhebliche Rolle spielt.

Der Punkt in welchem die einzelnen Moleküle im Kristall sich nun unterscheiden, ist praktisch nur die Ausrichtung ihrer Hydroxylgruppen.

Dies kann nun als Hinweis auf den beobachteten konformationellen Wechsel betrachtet werden, wobei ganz klar ist, daß die Orientierung der OHs, genaugenommen nur jene des Wasserstoffatoms, jener Punkt ist, welcher am wenigsten, ohne Bedenken, vom Kristall auf die Konformation in Lösung übertragen werden kann.

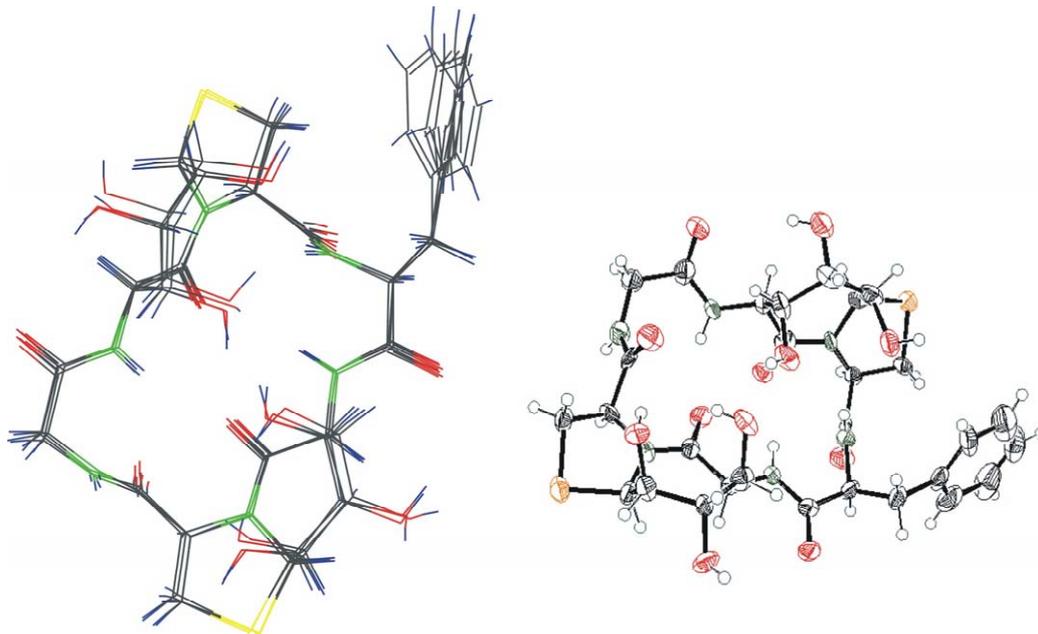


Abbildung **B.2.3.1.-44.**: links: Überlagerung der vier Konformere aus der Kristallstruktur von **95**
rechts: eines der vier Konformere aus dem Kristall

Eine Aussage, welche aber gewagt werden kann, ist die, daß diese bei beiden bisher gezeigten Peptiden postulierte Grundkonformation, mit den zwei unterschiedlichen β -Schleifen, einer hierin symmetrischen Anordnung energetisch bevorzugt sein muß, denn wie sonst ist es zu erklären, daß die Ausrichtung der β -Schleife mit Glycin sich in beiden Fällen so anzupassen scheint, daß eben besagte Grundkonformation dabei herauspringt.

2.3.1.2.4.2. zyκλο(7,5Bic-LPhe-7,5Bic-DPhe)

Was die Struktur des Peptides **97** betrifft, so kann diese recht schnell über einen Vergleich mit den Daten des zyklischen „Musterpeptides“ **96** erschlossen werden, denn so sehr ähneln sich diese.

Nomenklatur: Da bei diesen beiden zyklischen Peptiden BicA und BicB „vertauscht“ sind, soll, um Irritationen zu vermeiden und um den Vergleich der Daten zu erleichtern, für die folgende Tabelle eine Umbenennung erfolgen:

96 ist zyκλο(7,5Bic(I)-DPhe-7,5Bic(II)-Gly)

97 ist zyκλο(7,5Bic(I)-DPhe-7,5Bic(II)-LPhe)

	Peptid 96			Peptid 97		
	δ [ppm]	3J [Hz]	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	δ [ppm]	3J [Hz]	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]
D-Phe-NH	9.38	7.7	-5.73	9.39	7.7	-5.73
6-NH (II)	8.65	8.5	-1.25	8.69	8.5	-0.92
Gly-NH	8.40	9.9/3.6	-0.57			
L-Phe-NH				8.13	10.0	-0.57
6-NH (I)	7.64	6.6	0.18	7.81	6.9	-0.42
9-OH (II)	6.20	4.7/1(4J)	-4.46	6.23	4.1/1(4J)	-4.48
7-OH (I)	5.84	3.3/1.4(4J)	-7.33	5.91	3.3./1.3(4J)	-7.10
9-OH (I)	4.99	12.4	-1.15	5.02	12.3	-1.26
7-OH (II)	4.89	6.3	-3.00	4.98	6.7	-3.28
3 (I)	4.67			4.67		
L-Phe α -H				4.66		
3 (II)	4.51			4.26		
D-Phe α -H	4.15			4.45		
L-Phe β -H ^t				3.40	3.1 proS	
D-Phe β -H ^t	3.26	3.0 proR		3.25	2.8	
2-H ^t (I)	3.23	10.2 proS		3.24	10.5 proS	
2-H ^h (I)	2.95	7.1 proR		2.95	6.9 proR	
D-Phe β -H ^h	2.84	11.5 proS		2.83	11.5	
2-H ^t (II)	3.31			2.76	7.4 proR	
2-H ^h (II)	3.31			2.67	10.7 proS	
L-Phe β -H ^h				2.36	11.8 proR	

Tabelle B.2.-3.: Vergleich der NMR-Daten (in DMSO-d₆) der Verbindungen **96** und **97**

Wie zu sehen, verhalten sich hier die Daten nahezu deckungsgleich, nur daß bei diesem Peptid nun L-Phenylalanin die Rolle einnimmt welche bei **96** von Glycin besetzt wurde.

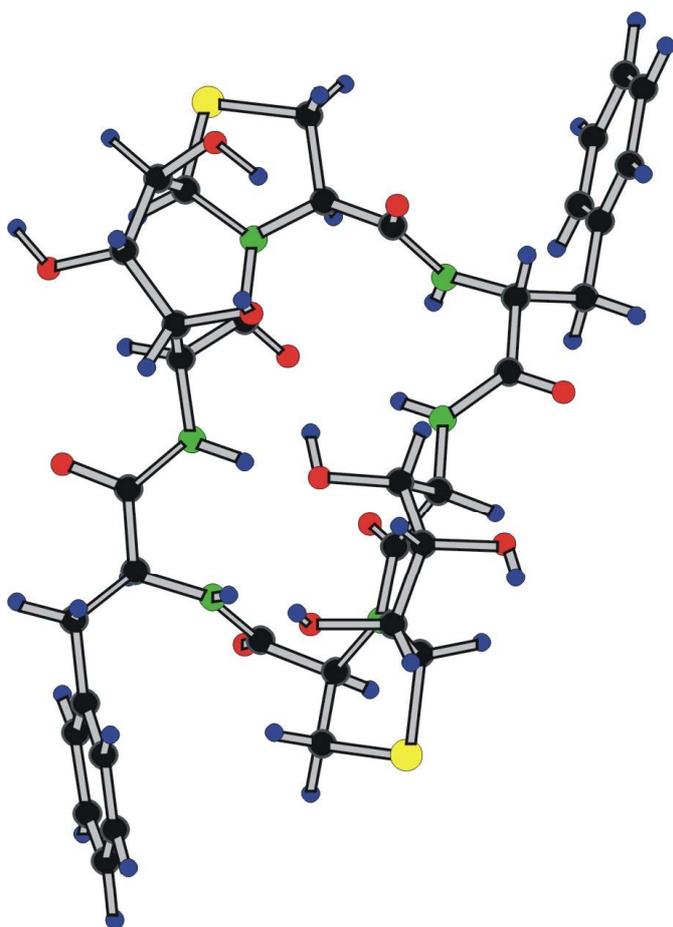


Abbildung B.2.3.1.-45.: Strukturvorschlag für die Konformation des Peptids **97** in Lösung

Fehlen jetzt nur noch die Daten der Interprotonenabstände, wo sich dann fortsetzt, was soeben beobachtet wurde. So zeigt L-Phe-NH, wie das entsprechende Glycin-NH der Vergleichsverbindung **96**, einen sehr schwachen NOE zu 3-H, während dieser bei D-Phe-NH wiederum sehr intensiv auftritt, und auch die Hydroxylgruppe mit dem vom Betrage kleineren Temperaturkoeffizienten, hier 7A-OH (ab jetzt wieder alte Nomenklatur), zeigt erneut die Kreuzsignale zu beiden 6-NHs.

Daß die aussagekräftigen W-Kopplungen (Tabelle B.2.-3.) ebenfalls wieder auftreten, unterstreicht dann nur noch, daß bei Peptid **97** nahezu identische konformationelle Verhältnisse vorliegen, wie sie zuvor für das „Musterpeptid“ **96** beobachtet werden konnten.

Der sich hieraus ergebende Strukturvorschlag ist dann in Abbildung B.2.3.1.-45. zu sehen

Jetzt zu einem anderen Punkt. Bisher wurde vorausgesetzt, daß die Epimerisierung am Phenylalanin A stattgefunden hat, und somit nun eine L-Aminosäure an dieser Position vorliegt. Dies bedarf fraglos einer fundierten Begründung, weshalb im folgenden dann einige Punkte aufgeführt werden, welche sich für eben diesen Sachverhalt ins Felde führen ließen:

- So war dies das zweite Peptid, bei welchem dieser Wechsel in der Konfiguration zu beobachtet war, und bei der ersten Verbindung (Synthese von **90**, 7,5Bic-DPhe-7,5Bic-Gly ergibt als Nebenprodukt **89**, 7,5Bic-LPhe-7,5Bic-Gly) konnte zweifelsfrei gezeigt werden, daß dies eben genau an dieser Position erfolgte, so war das Peptid **89** zuvor schon synthetisiert worden, womit ein direkter Vergleich möglich war, und zusätzlich konnte nach der Zyklisierung des Epimerengemischs **89/90**, von beiden hierbei erhaltenen Peptiden **96** und **95** noch Kristalle erhalten werden. Infolgedessen war zunächst die plausibelste Erklärung auch bei der zweiten Epimerisierung ein analoges Verhalten anzunehmen.
- Eine Epimerisierung an Position 6 des Bicykluses ist auszuschließen, da beide Protonen weiterhin keine ³J-Kopplung zu 7-H zeigen.
- Position 3 ist ebenfalls unwahrscheinlich, so ist hier keine signifikante Änderung im Kopplungsmuster zu erkennen, und des weiteren wäre, mit einem invertierten Car-

boxyterminus, das beobachtete Wasserstoffbrückenmuster der β -Schleifen zu den 9-OHs nun nur noch schwer vorstellbar.

- Alle Werte welcher der „D-Phe-Schleife“ zugeordnet wurden sind nahezu deckungsgleich mit denen der bekannten Konformation.
- Wie Abbildung **B.2.3.1.-46.** zeigt, lassen sich Kopplungen und NOE-Muster der „L-Phe-Schleife“, nur mit L-Phenylalanin plausibel erklären

L-Phe in β I-Schleife

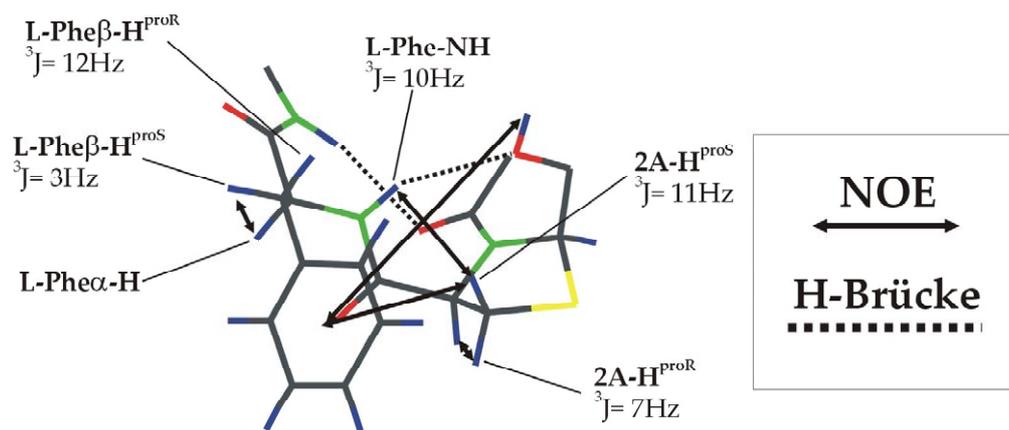


Abbildung **B.2.3.1.-46.**: Konformation der β -Schleife mit LPhe in der $i+2$ Position von Peptid **97** aus den hier erhaltenen NMR-Daten (DMSO- d_6)

2.3.1.2.4.3. Die symmetrischen zyklischen Hexapeptide

Folgen nun als Abschluß noch die Ergebnisse der Strukturanalyse der letzten drei Verbindungen, jenen, mit zwei Bicyklen und zwei identischen Aminosäuren, und somit vom Aufbau her symmetrischen Hexapeptiden.

Obwohl auf den ersten Blick deren Strukturanalyse als vermeintlich einfacher erscheint, als jene der asymmetrischen Peptide, handelt es sich hierbei doch um den weitaus heikleren Fall, da es wesentlich schwieriger ist anhand dieser Peptide zu eindeutigen und klaren Schlußfolgerungen zu gelangen.

Der Grund hierfür liegt darin, daß ein symmetrischer Aufbau nicht zwangsläufig auch Symmetrie in der Konformation zur Konsequenz hat, und da die bisherigen Ergebnisse zu dem Schluß führten, daß bei diesen Modellverbindungen eine Konformation mit zwei unterschiedlichen β -Schleifen und einer unterschiedlichen räumlichen Ausrichtung der Bicyklen als bevorzugt erachtet werden muß, war ein ähnliches Verhalten bei den nunmehr symmetrischen Peptiden zumindest nicht auszuschließen.

Liegt dann tatsächlich eine solche asymmetrische Vorzugskonformation in Lösung vor, gibt es prinzipiell zwei Möglichkeiten, wie sich dies in den NMR-Spektren widerspiegelt:

Der dankbarere Fall ist hierbei, wenn sich diese Asymmetrie auch direkt auf die Signale im Spektrum auswirkt, diese durch den Symmetriebruch nun nicht mehr identischen Protonen auch getrennt, als eigenständige Signale, erscheinen.

Wesentlich schwieriger wird es, wenn das Spektrum einer vermeintlich symmetrischen Verbindung erhalten wird, so halbiert sich hiermit zwar die Zahl der Signale, welche es zuzuordnen gilt, gleichzeitig geht aber auch Information verloren, so kann z.B. der sehr aussagekräftige NH-NH-NOE der beiden 6-NHs nicht mehr detektiert werden, da nunmehr eine Unterscheidung der beiden Protonen nicht mehr erfolgen kann.

Liegt nun ein solcher „halbierter Signalsatz“ vor, kann dieser aus einer tatsächlich symmetrischen Konformation herrühren, oder aber aus einer Mittelung zweier oder mehrerer sich schnell ineinander umwandelnder asymmetrischer Strukturen resultieren, so ist z.B. vorstellbar, daß die fraglichen Peptide auch in Lösung mit zwei unterschiedlichen Schleifen vorliegen, welche sich schnell ineinander umwandeln, so daß sie im NMR nicht separiert voneinander beobachtet werden können.

Es wurden dann auch bei allen drei zyklischen Peptiden ein symmetrischer Signalsatz erhalten, wobei im Spektrum des zyklischen Peptides mit zwei L-Phenylalaninen **94** wiederum eine Verbreiterung der Signale zu beobachten war, hier sogar noch weitgehend, in Form von noch weniger Signalen mit klarer Multiplettstruktur, als zuvor bei **95**.

Um die für die symmetrischen Verbindungen erhaltenen Daten einordnen zu können, sind in Tabelle **B.2.-4.** nochmals die Eckdaten aufgeführt, wie sie bis dato für das vorgestellte Wasserstoffbrückenmuster beobachtet werden konnten.

	AS-NH β I	AS-NH β II	6-NH β I	6-NH β II	9-OH Donor	9-OH Akzeptor	7-OH Donor	7-OH Akzeptor
δ [ppm]	8.1-8.4	9.4	7.6-7.8	8.7	5.0	6.2	4.9	5.8-5.9
3J [Hz]	10	7.7	6.6-6.9	8.5	12.3	4.1-4.7	6.3-6-7	3.3
$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	-0.6	-5.7	-0.4-0.1	-1.3- -0.9	-1.2	-4.5	-3.3- -3.0	-7.3- -7.1

Tabelle **B.2.-4.**: NMR Daten (DMSO- d_6) wie sie bisher für die beiden Schleifenkonformationen erhalten wurden

		AS-NH	6-NH	9-OH	7-OH
Zyklus 93 AS = Gly	δ [ppm]	8.66	7.90	5.82	5.65
	3J [Hz]	8.5/4.2	7.4	7.4	4.2
	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	-2.05	-0.13	-2.95	-3.57
Zyklus 98 AS = D-Phe	δ [ppm]	8.99	8.14	5.25	4.76
	3J [Hz]	7.9	7.4	10.2	4.4
	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	-4.58	-1.42	-3.25	-3.33
Zyklus 94 AS = L-Phe	δ [ppm]	7.83	7.64	6.16	6.01
	3J [Hz] (350K)	9.4	6.9	5.5	-
	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	(1.35)	(1.65)	-7.1	-6.81

Tabelle **B.2.-5.**: NMR-Daten der symmetrischen Peptide in DMSO- d_6

Hier ist zu sehen, daß alle drei zyklischen Peptide zwar eine gewisse Tendenz zu einer der beiden Schleifen aufweisen, die Extremwerte werden hierbei aber nicht erreicht. Am ehesten gelingt dies noch der Verbindung mit L-Phenylalanin als Aminosäure, hier deuten die Werte recht eindeutig auf eine β I-Schleife hin, mit H-Brücke des NHs zu 9-OH als Akzeptor, so wie dies bei den anderen beiden Peptiden, in welche L-Phe eingebaut worden war, auch beobachtet werden konnte.

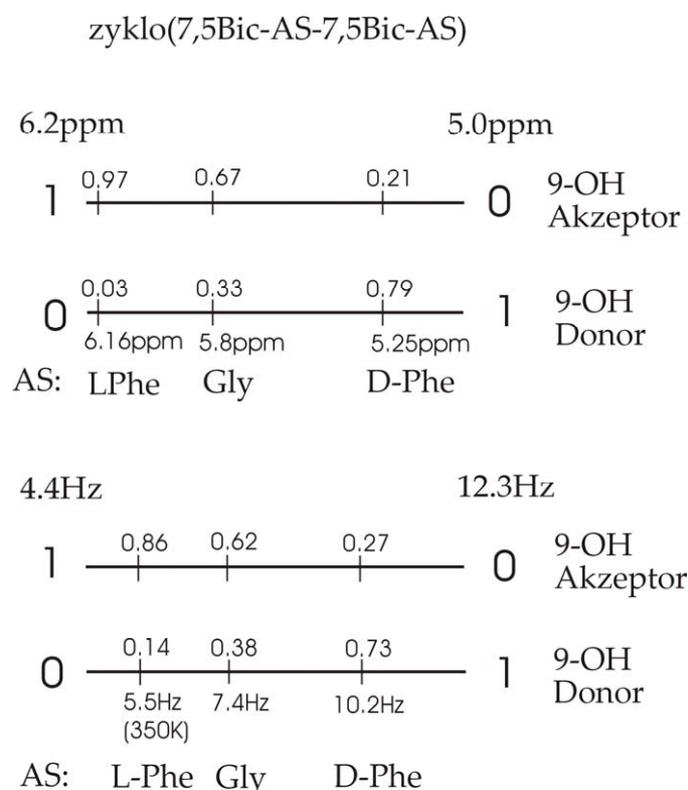


Abbildung B.2.3.1.-47.: Vergleich der Kopplungskonstanten und chemischen Verschiebungen der 9-OHs der symmetrischen Peptide, mit den bisher erhaltenen Extremwerten (in DMSO- d_6)

Da die Werte von 9-OH mit zu den charakteristischsten zählen, wenn die Konformation der β -Schleife behandelt wird, wurde in Abbildung B.2.3.1.-47. versucht, die verschiedenen hierbei erhaltenen Kopplungen und Verschiebungen, und ihr Verhältnis zu den Extremwerten, graphisch darzustellen.

Zur Vereinfachung wird hier vorausgesetzt, daß nur zwei Einstellungen, zwei definierte Orientierungen von 9-OH, existieren, und daß diese durch die bisher erhaltenen Extremwerte, wie sie für die beiden zyklischen Peptide **96** und **97** erhalten wurden, charakterisiert sind.

Somit läßt sich dann ein Verhältnis 9-OH(Akzeptor) zu 9-OH(Donor) abschätzen, dieses sollte nun wiederum mit jenem von β I-Schleife: β II-Schleife korrelieren.

Die Tatsache, daß nach obiger Abschätzung jeweils die Tendenz für eine bestimmte β -Schleife vorzuliegen scheint, führt zu dem Schluß, daß in Lösung auch hierin symmetrische Strukturen vorhanden sind, sich also z.B. eine Konformation β I/ β I mit β I/ β II im Gleichgewicht befindet.

Eine Erklärung hierfür könnte sein, daß nun zwei konkurrierende Effekte eine Rolle spielen, so sollte einerseits die asymmetrische Grundkonformation die energetisch günstigere sein, andererseits hat sich aber gezeigt, daß z.B. D-Phe die β II-Schleife bevorzugt, bei zwei identischen Aminosäuren führt dies dann aber wieder, zumindest was die Art der Schleifen entspricht, zu einer symmetrischen Konformation, so daß zwei Effekte, welche sich bei dem zyklischen Peptid mit D-Phe und L-Phe noch ergänzt haben, nun miteinander konkurrieren, wobei sich keiner vollständig durchsetzen kann, und sich somit die asymmetrische (β I/ β II) mit der symmetrischen (β I/ β I bzw. β II/ β II) im Gleichgewicht befindet.

So würde beim symmetrischen Peptid mit D-Phe, nach der obigen Abschätzung, das Verhältnis (β II/ β II):(β II/ β I) etwa bei 1:1 liegen (bei diesem Verhältnis kommen auf drei 9-OH (Do-

nor) ein 9-OH (Akzeptor)), unter der Voraussetzung daß die in zweifacher Hinsicht ungünstige Konformation ($\beta I/\beta I$) praktisch nicht populiert wird.

Dafür, daß hier prinzipiell ein Gleichgewicht vorliegt, sprechen ebenfalls die hierbei erhaltenen NOEs, so zeigt D-Phe-NH ein Kreuzsignal zumindest zu 7-OH (der NOE zu 9-OH kann nicht mit aller Bestimmtheit zugeordnet werden, da dieses Signal mit 6-H überlagert ist) welches nur für eine Konformation mit „NH nach oben“, der von D-Phe weniger bevorzugten βI -Schleife, zu erwarten ist.

Die Aminosäure welcher der stärkste dirigierende Einfluß zugewiesen werden kann, ist L-Phenylalanin, wo, macht man die Abschätzung über die Verschiebung, bei RT die symmetrische Konformation ($\beta I/\beta I$) mit mehr als 90% klar überwiegt (bei 350K, über die Kopplungen, ergibt sich ein Verhältnis ($\beta I/\beta I$):($\beta II/\beta I$) 2:1). Eine mögliche Erklärung dafür, daß dieser Einfluß bei L-Phe größer ist als bei D-Phe, könnte darin zu suchen sein, daß bei L-Phe der Phenylring, wie im Kristall, näher zum Thiazolidin orientiert ist, und somit hier die hydrophobe Wechselwirkung einen größeren Beitrag zur Stabilität liefert.

Weiter könnte der Umstand, daß hier ($\beta I/\beta I$) Konformation am stabilsten ist, den verbreiterten Signalsatz erklären, da durch einen größeren Energiebarriere dieser konformationelle Austausch $\beta I \leftrightarrow \beta II$ nun soweit verlangsamt ist, daß er sich über das Spektrenbild bemerkbar macht.

Bleibt noch die Aminosäure mit der geringsten dirigierenden Eigenschaft, wobei es sich hierbei, wenig überraschend, um das Glycin handelt, welches nach obiger Abschätzung βI -Konformation bevorzugt. In diesem Fall scheint der Einfluß der asymmetrischen Grundkonformation zu überwiegen, (($\beta I/\beta I$):($\beta II/\beta I$) 1:2 Abschätzung über die Kopplungskonstanten, aus einem Vergleich der Verschiebung würde sich ein Verhältnis von 2:3 ergeben). Ferner zeigt auch der NOE von Gly-NH zu 3-H, daß neben der βI auch eine βII -Schleife mit ins Kalkül gezogen werden muß.

Da letztere Verbindung über eine flashchromatographische Trennung, nie als Reinsubstanz erhalten werden konnte, so enthielten die gesammelten Fraktionen neben dem an sich sauberen

Peptid auch immer noch HOBT und/oder HOAT, wurde diese Verbindung noch kristallisiert (Abbildung **B.2.3.1.-48**).

Das hierbei erhaltene Ergebnis zeigt dann auch eine Struktur, in welcher beide Male Gly-NH als Donor fungiert, und als Akzeptor einmal hauptsächlich 9-OH, und das andere Mal 9-OH und 7-OH wirken.

Somit spricht also auch dieses Ergebnis dafür, daß Glycin, wie die beiden anderen Aminosäuren, eine bestimmte Schleifenkonformation bevorzugt.

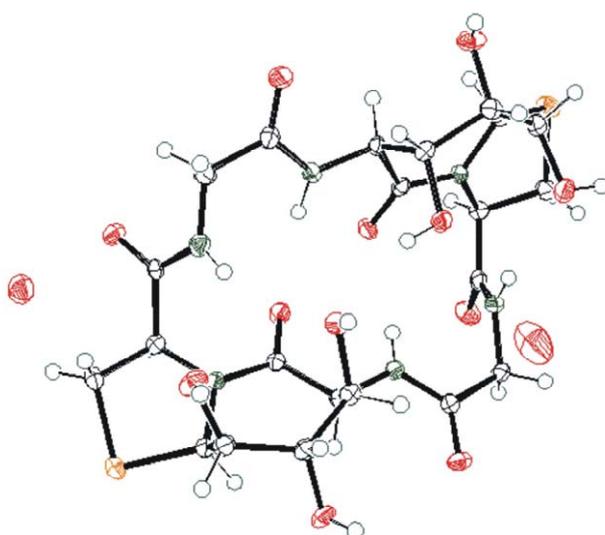


Abbildung **B.2.3.1.-48**: Kristallstruktur des zyklischen Peptids **93**

Hiermit muß nun aber unweigerlich noch einmal ein Blick zurück geworfen werden, auf jene beiden asymmetrischen Verbindungen, welche als AS je ein Glycin aufwiesen, denn hier wurde bekanntermaßen der Schleife mit Gly in der i+2 Position einmal eine β I- (**96**) und das andere Mal eine β II-Konformation (**95**) zugewiesen.

Die Vermutung, daß die β I-Schleife jene ist, welche von Glycin favorisiert wird, läßt sich dann auch sehr gut mit der Struktur des „Musterpeptides“ **96** in Einklang bringen, wo D-Phe die β II-Schleife bevorzugt, und infolgedessen die als energetisch günstiger angesehene asymmetrische Grundstruktur erhalten wird, so daß hiermit, wie beim Peptid mit D- und L-Phe **97**, sich der Einfluß der jeweiligen Vorzugskonformationen addiert, und man zu einer insgesamt wohldefinierten Struktur kommt.

Anders sieht es nun beim Peptid mit L-Phe und Gly **95** aus, der Verbindung welche durch Verbreiterung der Signale im $^1\text{H-NMR}$ auffiel, und für welches, aufgrund der geringeren Dispersion dieser Signale, bisher etwas lapidar bemerkt wurde, daß das Peptid mit D-Phe und Gly **96**, im Vergleich zu diesem wohl „die bessere Struktur“ hätte.

Und für eben diesen konformationellen Austausch, welcher hier zu beobachten war, könnte das zuletzt aufgeführte, möglicherweise eine Erklärung sein. Denn bei diesem Peptid würde, nach der bisherigen Annahme, ein System vorliegen, bei welchem, wie bei den symmetrischen Peptiden, gegenläufige Tendenzen zu beobachten wären, so bevorzugen hier beide Aminosäuren, gegen die als begünstigt angesehene Grundkonformation, jeweils die selbe β -Schleife, beide β I.

Daher könnte man jetzt sagen, daß sich in diesem Fall, die Grundstruktur mit (β I/ β II) durchgesetzt hat, wobei die weniger stark dirigierende Aminosäure Glycin in ihrem Verlangen, ebenfalls, wie das dominierende L-Phenylalanin, eine β I-Schleife einzunehmen, nachgeben mußte, und sich dadurch die bisher beschriebene Vorzugskonformation ergibt.

Als mögliche Abweichung von dieser Vorzugskonformation käme dann somit in erster Linie eine Inversion der β -Schleife mit Glycin in Frage, welches nach der aufgestellten Theorie hier „in der falschen Schleife sitzt“.

Aus diesem Grund erfolgt jetzt noch eine Gegenüberstellung der relevanten Daten mit denen des Musterpeptides **96**.

Nomenklatur:**96** ist zyκλο(7,5Bic(I)-DPhe-7,5Bic(II)-Gly) (somit A=I und B=II)

95 ist zyκλο(7,5Bic(I)-Gly-7,5Bic(II)-LPhe) (somit A=II und B=I)

Tabelle B.2.-6.: Vergleich der NMR-Daten der Peptide **96** und **95** in DMSO- d_6

	Peptid 96			Peptid 95		
	δ (300K) [ppm]	^3J (350K) [Hz]	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	δ (300K) [ppm]	^3J (350K) [Hz]	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]
D-Phe-NH	9.38	8	-5.73			
6-NH (II)	8.65	8.0	-1.25	8.16	7.7	-1.03
Gly-NH	8.40	3.3/9.6	-0.57	8.88	7.1/5.3	-4.10
L-Phe-NH				8.01	9.7	-0.45
6-NH (I)	7.64	6.3	0.18	7.73	7.0	0.15
9-OH (II)	6.20	4	-4.46	6.19	4.6	-6.35
7-OH (I)	5.84	-	-7.33	5.98	3.8	-6.18
9-OH (I)	4.99	12.1	-1.15	5.50	8.7	-2.00
7-OH (II)	4.89	6.3	-3.00	5.41	5.1	-3.38

Was dann z.B. für die beiden Hydroxylgruppen an Position 9 zu beobachten war, entsprach ziemlich genau dem, was für den angesprochenen Fall zu erwarten wäre, denn während die Werte von 9A-OH, als Akzeptor von L-Phe-NH, den bisherigen Extremwerten sehr nahe kommen (6.19ppm zu 6.20ppm sowie 4.6Hz zu ~4Hz), weichen diese bei 9B-OH, welche wie gesagt bei einer β II-Schleife als Donor fungiert, doch deutlich von den Werten ab, welche bisher als Eckdaten für besagte Konformation standen (5.50ppm zu 4.89ppm sowie 8.7Hz zu 12.1Hz), womit diese Werte nun klar als gemittelt anzusehen sind, und somit ein zeitweiser Wechsel der Konformation dieser Schleife auch hier vorzuliegen scheint.

Wohingegen die Schleife mit L-Phe, wie bisher angenommen weiterhin als wohldefiniertes Strukturmerkmal dieses zyklischen Peptides betrachtet werden kann.

Demnach ist davon auszugehen, daß jetzt auch für Verbindung **95** ein Gleichgewicht vorliegt, bei welchem hauptsächlich zwei Konformationen einen Rolle spielen.

Ob die beobachtete Verbreiterung der Signale durch konformationellen Wechsel nun genau dieser Wechsel von β I/ β I zu β I/ β II ist, läßt sich aber nicht mit aller Gewißheit sagen, man kann es lediglich vermuten.

2.3.1.2.4.4. Das Modell

„Nun freilich starren Sinnes zu behaupten, daß das, was ich gesprochen habe, auch unbedingt Wahrheit sei, das schickt sich nicht für einen, der zu denken pflegt“
Platon

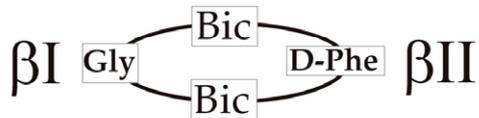
Fast man die Gesamtheit der hier erhaltenen Ergebnisse zusammen, ist es nunmehr möglich ein Modell aufzustellen, mit welchem es gelingt, das Verhalten der hier gezeigten Peptide, in Grundzügen, vorerst widerspruchsfrei zu erklären:

- Als Basis kann für alle sechs zyklischen Peptide eine Konformation angenommen werden, bei welcher sich die beiden Aminosäuren in der $i+2$ Position einer β -Schleife befinden. Gemein ist allen Verbindungen ein Wasserstoffbrückenmuster der beiden 6-NHs zum Carbonyl des gegenüberliegenden Bizykluses.
- Eine $i+1/i+2$ Position des Bizykluses kann in allen Fällen praktisch ausgeschlossen werden.
- Prinzipiell bevorzugen diese Hexapeptide eine Konformation mit zwei unterschiedlichen β -Schleifen (β I und β II)
- D-Phe bevorzugt eine β II-Schleife
- L-Phe und Glycin bevorzugen die β I-Schleife, wobei die diesbezüglich Tendenz von L-Phe ausgeprägter ist als beim Glycin.
- Befinden sich 2 Aminosäuren mit unterschiedlichen Präferenzen in der Schleifenkonformation im Peptid, liegt ein wohldefiniertes Hauptkonformer mit einer β I- und einer β II-Schleife vor.
- Befinden sich zwei Aminosäuren mit derselben Präferenz in der Schleifenkonformation im Peptid, liegt ein Gleichgewicht hauptsächlich zweier Konformationen vor, ein „symmetrisches“ zyklisches Peptid mit zwei gleichen β -Schleifen, eben jener wie sie von den beiden Aminosäuren bevorzugt wird, und eine asymmetrische Konformation, mit einer β I und einer β II-Schleife, wobei, sind zwei unterschiedliche Aminosäuren enthalten, die stärker dirigierende ihre Konformation nahezu beibehält, und die hierin schwächere, die

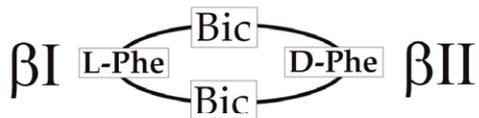
weniger favorisierte Konformation einnimmt. Zumindest ist dies so für den Fall L-Phe/Gly so anzunehmen.

Fraglos beruht dieses vorgestellte Modell auf einigen Annahmen und Vereinfachungen, und hat auch deswegen mit Sicherheit nicht den Anspruch hier exakt die Wirklichkeit zu beschreiben. Nur stellt sich im Moment, mit diesen hier aufgestellten Thesen ein System dar, welchem es gelingt, alle bisher erhaltenen Ergebnisse widerspruchslös zu vereinen, und kann somit so lange Geltung besitzen, bis neue Fakten auftauchen, welche hiermit nun nicht mehr in Einklang zu bringen sind.

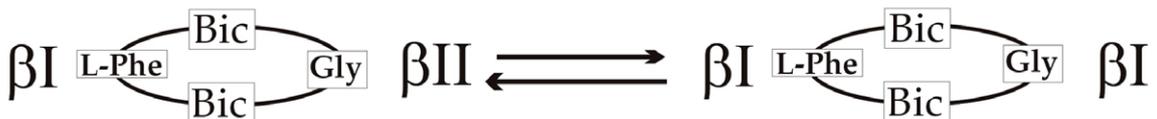
zyklo(7,5Bic-DPhe-7,5Bic-Gly)



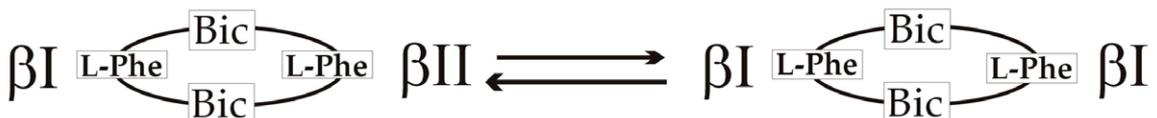
zyklo(7,5Bic-DPhe-7,5Bic-L-Phe)



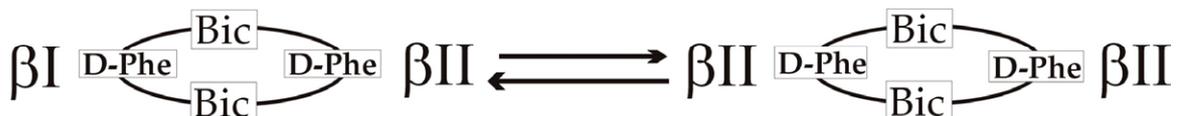
zyklo(7,5Bic-LPhe-7,5Bic-Gly)



zyklo(7,5Bic-LPhe-7,5Bic-LPhe)



zyklo(7,5Bic-DPhe-7,5Bic-DPhe)



zyklo(7,5Bic-Gly-7,5Bic-Gly)

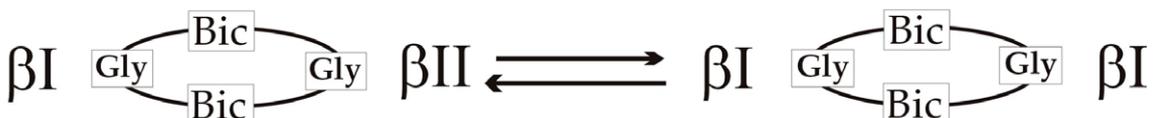


Abbildung B.2.3.1.-49.: Übersicht über die Konformationen der sechs zyklischen Peptide in Lösung

2.3.1.3. Intermezzo

Bevor anschließend die Analyse nun auch der linearen Peptide erfolgen wird, sollen zunächst noch zwei zyklische Hexapeptide vorgestellt werden, welche in gewisser Hinsicht den soeben gezeigten vom Aufbau in einigen wesentlichen Punkten entsprechen, aus welchem Grund nun deren Betrachtung vorgezogen werden soll.

Es handelt sich hierbei um zwei zyklische Peptide, welche sich von den anderen zyklischen Hexapeptiden dadurch unterscheiden, daß ein 7,5Bicyklus durch den im Kapitel 2.1.1.2. vorgestellten aromatischen Bausteine ausgetauscht ist.

2.3.1.3.1. Synthesen

Zunächst soll noch auf deren Synthese eingegangen werden, da sich hier ein Problem offenbarte, welches in der Folge wiederholt auftrat.

Naheliegenderweise bestand der erste Versuch zur Synthese solch einer zyklischen Verbindung darin, analog der Synthese der zuvor gezeigten Peptide zu verfahren, so sollte man in einem Schritt durch Kupplung zweier Tripeptideinheiten zum linearen, und schließlich zum zyklischen Hexapeptid gelangen, zumal die beiden Tripeptide an sich schon existierten.

Nur stellte sich hierbei der erste Schritt schon als unüberwindbare Hürde heraus, denn die Kupplung der beiden bekannten Verbindungen **69** und **99** war schlichtweg unmöglich.

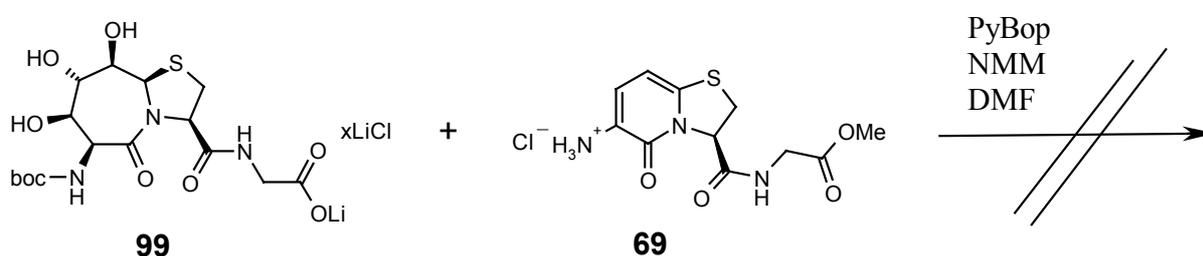


Abbildung B.2.3.1.-50.: Gescheiterter Kupplungsversuch von **69** und **99**

Exakt dieses Problem trat später noch einmal auf, als versucht wurde ein Homooligomer der aromatischen Bausteine darzustellen.

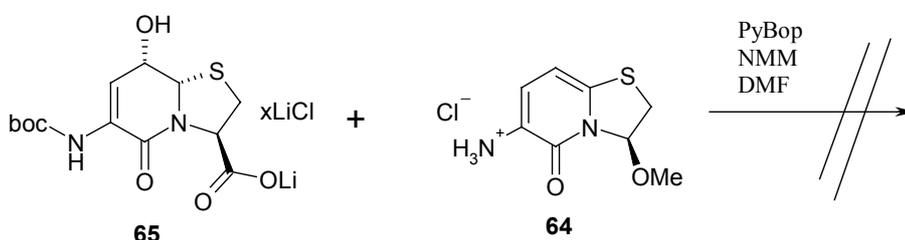


Abbildung B.2.3.1.-51.: Gescheiterter Kupplungsversuch von **65** und **64**

Wiederum war es das Salz eines Bausteins, welcher aus einer Esterseifung resultierte, und genau dies scheint der springende Punkt hierbei zu sein, denn wie gezeigt stellte die Kupplung einer „normalen“ käuflichen Boc-geschützten Aminosäure auf das Amin des Aromaten bisher keinerlei Probleme dar (Kapitel 2.1.1.2.).

Ferner trat besagtes Problem nicht nur hier, sondern auch später in der Arbeit von Harald Seeger wieder auf [131], welcher die Synthesen der hier vorgestellten Aromaten weiterführte. So waren hier ebenfalls solange keinerlei Probleme zu beobachten, solange nicht versucht wurde, das Salz eines Carboxylats auf das Amin des Aromaten zu koppeln.

Dann aber war auch hier kein Umsatz vorhanden, wenn die Carbonsäure aus der Verseifung eines Methylresters hervorging. Wurde aber dieselbe Verbindung, nur mit dem Unterschied, daß sie diesmal durch Hydrierung eines Benzylesters gewonnen wurde, eingesetzt, erfolgte problemlos die erwünschte Kupplung zum Amid.

Infolge dieser Probleme war jetzt ein kleiner Umweg vonnöten, anstatt direkt über die zwei Tripeptide zum Hexapeptid zu gelangen, erfolgte zuerst eine Kupplung von Boc-Glycin auf das Hydrochlorid desamins des Aromaten zum Tetrapeptid **100**, auf welches dann, nach erfolgter Boc-Entschützung **101**, das Carboxylat des 7,5-Bicyklus **80** gekuppelt werden konnte. So konnte dann schließlich auf diesem Weg das gewünschte Peptid **102** doch noch erhalten werden.

Ebenso wurde noch ein 7,5-Bicyklus auf das schon gezeigte Tetrapeptid **74** zum zweiten Hexapeptid **104** gekuppelt. Beide linearen Verbindungen noch zyklisiert, ergab dann die zwei neuen zyklischen Peptide **103** und **105**, nun also welche mit einem Fluoreszenzmarker im Peptidrückgrat.

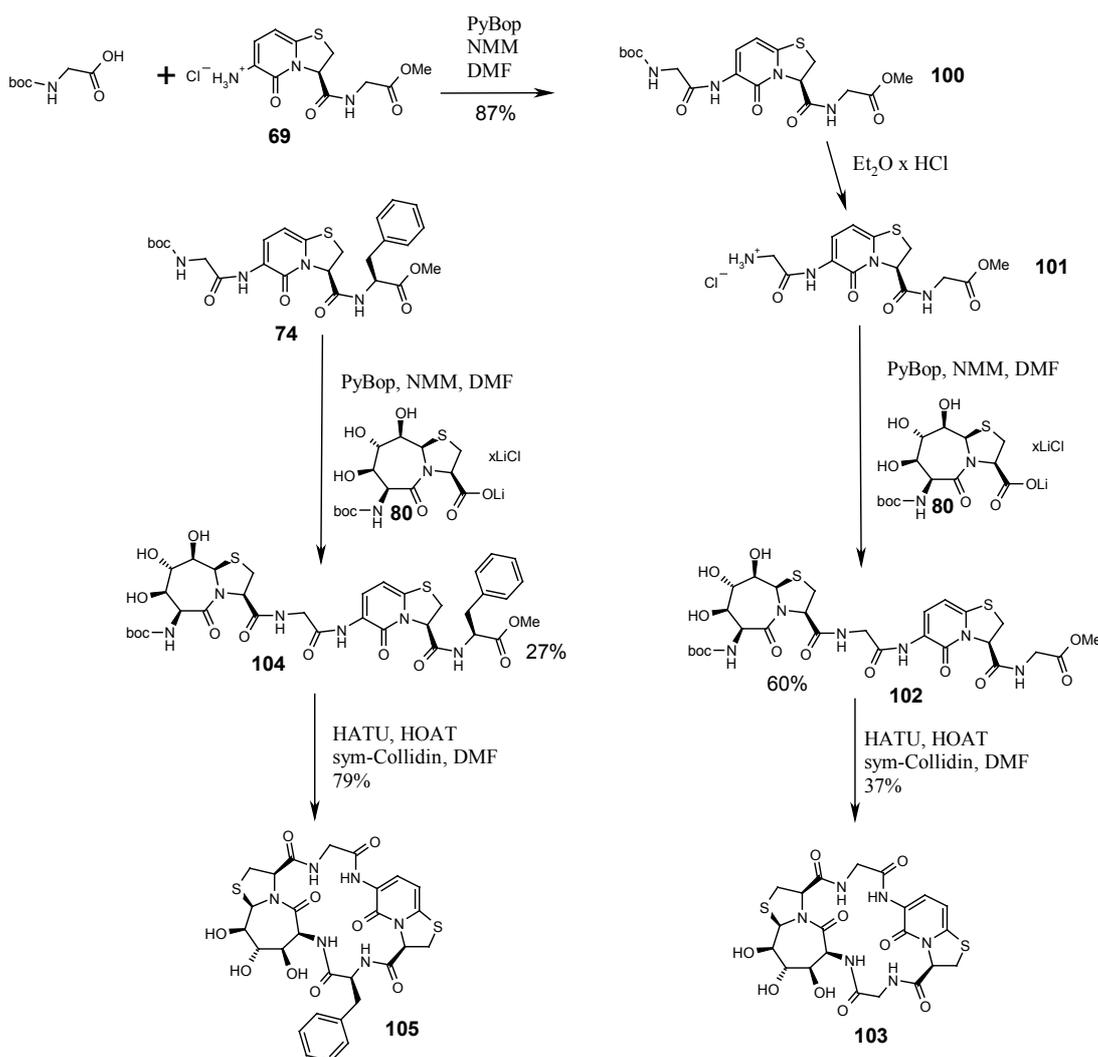


Abbildung B.2.3.1.-52.: Synthese zweier weiterer zyklischer Hexapeptide, **105** und **103**

2.3.1.3.2. Strukturanalyse

Durch den „Austausch“ einer der 7,5Bicyklen durch den Aromaten (Ar) wurde die Veränderung des Peptides nun um einen bedeutenden Schritt vorangetrieben, vom Gesichtspunkt, daß die Modifikationen möglichst gering ausfallen sollten, wohl sogar zu weit.

Auf der anderen Seite, wenn diese zyklischen Peptide „Struktur zeigen“, hätte man hier ein Peptid in einer Vorzugskonformation, welches zusätzlich noch mit einem Fluoreszenzmarker im Peptidrückgrat versehen ist.

Nun zur Strukturanalyse. Nach allem zuvor Gebrachten, kann der erste Schritt fraglos nur darin bestehen, die NMR-Daten der Hydroxylgruppen und Amidprotonen untereinander, und mit denen der Peptide zuvor zu vergleichen.

103 zyκλο(7,5Bic-GlyA-6,5(Ar)-GlyB)*

105 zyκλο(7,5Bic-Gly-6,5(Ar)-LPhe)

		9-OH	7-OH	GlyA-NH	6-NH	6(Ar)-NH	GlyB-NH
Zyκλο 103	δ [ppm]	6.08	5.23	8.62	8.83	8.73	9.33
	3J [Hz]	4.9	m	9.3/3.6	8.2	s	6.9/5.5
	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	-4.73	-5.95	-0.32	-2.26	0.08	-5.45
		9-OH	7-OH	Gly-NH	6-NH	6(Ar)-NH	LPhe-NH
Zyκλο 105	δ [ppm]	5.85	4.80	8.75	8.19	8.76	8.52
	3J [Hz]	6.9	4.1	8.7/4.1	7.2	s	8.2
	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	-3.28	-5.58	-1.25	-1.22	0.02	-3.5

Tabelle B.2.-7.: NMR-Daten der OH-Gruppen an Position 9 und 7, sowie der Amidprotonen der zyklischen Peptide **103** und **105** in DMSO-d₆

Da jeweils wiederum bei allen vier Amidprotonen an Position 6 die Temperaturkoeffizienten vom Betrage klar unter 3ppb/K liegen, kann das Strukturelement mit den beiden Wasserstoffbrücken zum Carbonyl des Lactams als gesetzt gelten, womit abermals die Konformation mit den beiden β -Schleifen als Ausgangspunkt dienen kann.

Als nächster Schritt erfolgt eine Betrachtung der einzelnen β -Schleifen. Eine Schleife, welche, sieht man von 6-NH (hier 6(Ar)-NH) ab, sehr gut mit der des Musterpeptids **96** verglichen werden kann, wäre jene mit Glycin nach dem 7,5Bicyklus, bei **96** eine β I-Schleife. Aus diesem Grunde nochmals die Eckdaten.

	zyκλο(7,5BicA-DPhe-7,5BicB-Gly)		
	δ [ppm]	3J [Hz]	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]
Gly-NH	8.40	9.9/3.6	-0.57
9B-OH	6.20	4.7/1(⁴ J)	-4.46

Tabelle B.2.-8.: NMR-Daten für Gly-NH und 9B-OH der Verbindung **96** in DMSO-d₆

- Zu den Abkürzungen: 7,5Bic ist natürlich der 7,5Bicyklus wie zuvor, und unter dem Kürzel 6,5(Ar) verbirgt sich der aromatische Baustein.

Stellt man jetzt diesen Vergleich an, so ist offensichtlich, daß die Daten der Verbindung **103** (GlyA in der entsprechenden Schleife) sehr gut mit diesen Richtwerten übereinstimmen, wohingegen die von Verbindung **105**, jenem zyklischen Peptid mit L-Phe in der gegenüberliegenden Seite, zwar tendenziell auch Werte aufweisen, wie sie für eine β -Schleife mit Glycin-NH in einer H-Brücke zu 9-OH zu erwarten sind, nur reichen sie hier nicht ganz an die zuvor gebrachten Eckdaten heran.

Weiter sprechen dann auch die Daten des 2D-ROESYs von zyκλο(7,5Bic-GlyA-6,5(Ar)-GlyB) **103** dafür, daß sich hier GlyA in einer β I-Schleife befindet, so ist der charakteristische NOE GlyA-NH/3-H vergleichsweise schwach, dafür sind deutliche NOEs dieses Amidprotons zu 7- und 9-OH zu beobachten.

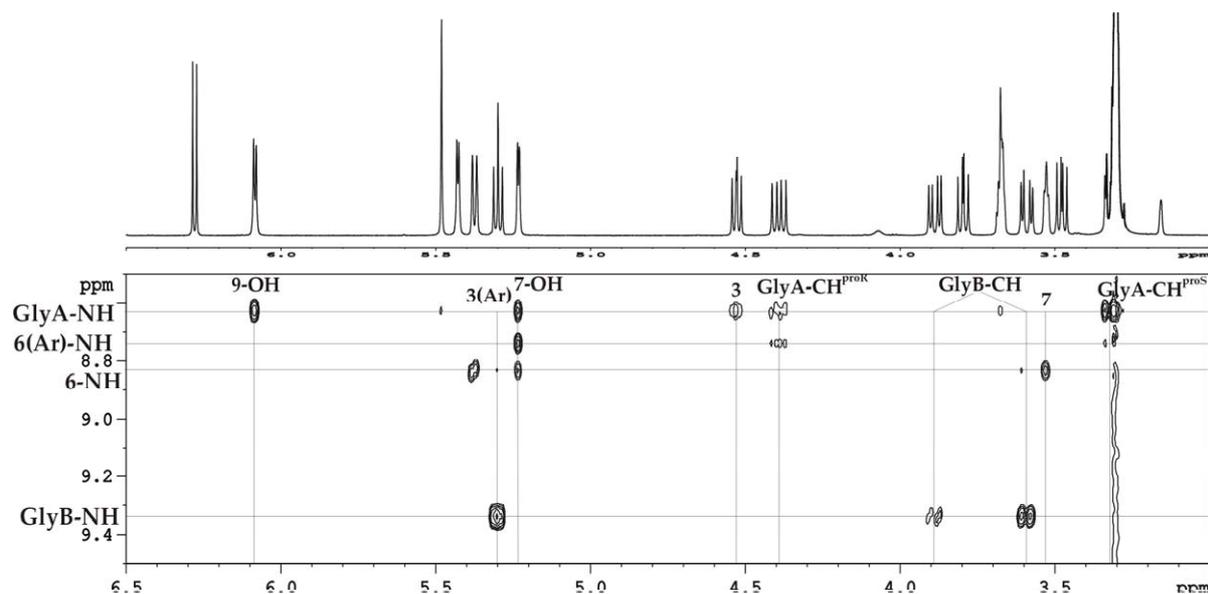


Abbildung B.2.3.1.-53.: 600MHz ROESY des zyklischen Peptids **103** in DMSO- d_6

Daß 7-OH auch hier beide 6-NHs sieht, zeigt übrigens, daß die zuvor beobachtete Wasserstoffbrücke zur zweiten 7-OH, nicht zwangsläufig dafür verantwortlich sein muß.*

Ein weiteres Argument für eine β I-Konformation dieser Schleife ist die Tatsache, daß GlyA-NH einen deutlichen Isotopeneffekt bei der Titration mit D_2O in DMSO- d_6 zeigt, was klar für eine H-Brücke zu einer OH spricht, wobei auch bei 7-OH dieser Effekt zu beobachten ist**, was dafür spräche, daß zumindest zeitweilig eine Situation wie im Kristall von zyκλο(7,5Bic-Gly-7,5Bic-Gly) **93** vorliegt, mit einer gegabelten H-Brücke des Gly-NHs zu beiden Hydroxylgruppen.

Daß dieser Effekt hier bei 9-OH nicht zu sehen ist, hat nicht viel zu bedeuten, da nicht zwangsläufig wenn eine solche sequentielle H-Brücke vorliegt, sich dies jedesmal in einer Verdopplung des Signals zeigt. Nur wenn dieser Effekt zu beobachten ist, dann muß es auch einen Grund dafür geben, und nicht umgekehrt.

Auch die große Dispersion der beiden Methylenprotonen in ihrer chemischen Verschiebung, von ca. 1.1ppm, sowie ihre klar unterschiedlichen Kopplungskonstanten (Gly-CH^t $^3J = 9.3\text{Hz}$,

* Diese Feststellung ändert jedoch kaum etwas an der Wahrscheinlichkeit des Vorhandenseins dieser 7-OH/7-OH-HBrücke, da die beobachtete W-Kopplung weiterhin das Hauptargument für diesen Zustand erhalten kann.

** Dieser Effekt könnte prinzipiell auch daraus resultieren, daß die β -Schleife doch zeitweilig invertiert, und 9-OH eine gegabelte H-Brücke zum Carbonyl und 7-OH macht. Da aber kaum konformationeller Wechsel hier vorzuliegen scheint, ist diese Alternative als wenig wahrscheinlich zu erachten.

Gly-CH^h ³J = 3.6Hz) und NOEs zu Gly-NH (siehe Abbildung **B.2.3.1.-53.**), führen zum Schluß, daß hier von einer definierten Grundkonformation dieser Schleife ausgegangen werden kann.

Da die hier erhaltenen Daten nun nahezu deckungsgleich mit denen sind, welche für die Protonen der entsprechenden β I-Schleife mit Glycin im Musterpeptid **96** erhalten wurden, kann davon ausgegangen werden, daß die Konformation dieser Schleife dem entspricht, wie es schon in der entsprechenden Abbildung **B.2.3.1.-24.** zuvor dargestellt wurde.

Bleibt nun noch die zweite Schleife dieses Peptides, jene mit Glycin nach dem Aromaten. Im Gegensatz zu den Kopplungskonstanten der beiden Methylenprotonen, welche mit 6.9Hz und 5.5Hz wenig aussagekräftig sind, und eher auf ein konformationelles Gleichgewicht hindeuten, läßt der intensive NOE GlyB-NH/3(Ar)-H den Schluß zu, daß nun die β II-Schleife, jene „mit Carbonyl nach oben“, zumindest eine bedeutende Rolle spielt, so daß, betrachtet man jetzt das ganze Peptid eine Konformation mit einer β I- und einer β II-Schleife relativ sicher als ein Energieminimum angenommen werden kann.

Ein Problem bei der Einschätzung, in wieweit diese Konformation populiert wird, besteht darin, daß im Falle der β -Schleife mit GlyB in der i+2 Position, nun, dadurch daß es keine 9-OH gibt, eine Unterscheidung zwischen „oben (9-OH) und unten (3-H)“ nicht mehr so einfach möglich ist.

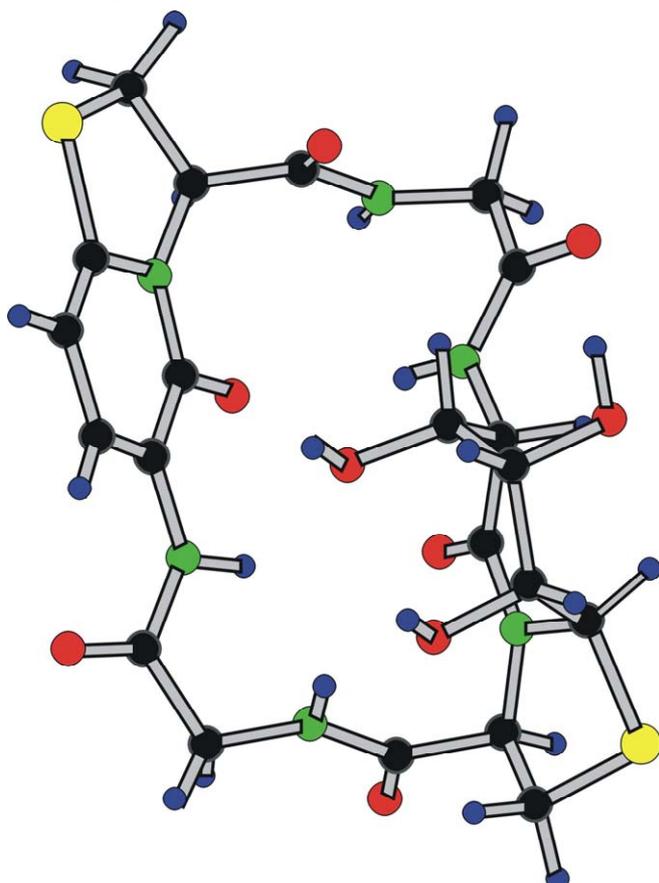


Abbildung **B.2.3.1.-54.**: Postulierte Vorzugskonformation des zyklischen Peptids **103**

So zeigt der intensive NOE GlyB-NH zu 3(Ar)-H zwar, daß eine, und mit Sicherheit auch starke Tendenz zur β II-Schleife vorhanden sein muß, im Gegensatz zur Aminosäure nach einem 7,5Bicyklus, wo z.B. ein gleichzeitiger NOE zu 9-OH schon klar sagt, daß eine zeitweilige Inversion des Amids vorliegt, ist es hier nur schwer möglich, Aussagen darüber zu treffen, ob und in wieweit die β II-Schleife im konformationellen Gleichgewicht mit der β I-Schleife steht.

Trotz allem sollte aber die Aussage gewagt werden können, daß die zuvor als asymmetrisch bezeichnete Konformation mit den beiden unterschiedlichen β -Schleifen höchstwahrscheinlich das Hauptkonformer dieses Peptides darstellt.

Folgt abschließend noch die Analyse des zweiten zyklischen Peptids **105**, welches in diesem letzten Abschnitt vorgestellt wurde.

Wie schon angeschnitten, sind die Werte für die Schleife nach dem 7,5-Bizyklus mit Glycin in i+2 Position zwar immer noch in einem Bereich wie es für eine β I-Schleife zu erwarten ist, aber wenn sie auch noch klar den jeweiligen Extremwerten zugeordnet werden können, so weichen sie doch eindeutig von diesen ab.

Daß sich diese Schleife, wie es die Daten nahelegen, in einem konformationellen Gleichgewicht befindet, dafür sprechen auch die Daten des 2D-ROESYs, so ist hier ein NOE von Gly-NH zu 3-H zu beobachten, welcher für eine „100%- β I-Schleife“ in solcher Intensität nicht zu erwarten ist.*

Folglich spricht alles dafür, daß jetzt durch den Austausch von Glycin durch Phenylalanin die gegenüberliegende β -Schleife nun nicht mehr nur eine Vorzugskonformation populierte, so daß nicht wie zuvor bei Peptid **103** nach dem 7,5-Bizyklus nur eine, die β I-Schleife, vorliegt, sondern nunmehr ein Gleichgewicht β I/ β II vorhanden ist.

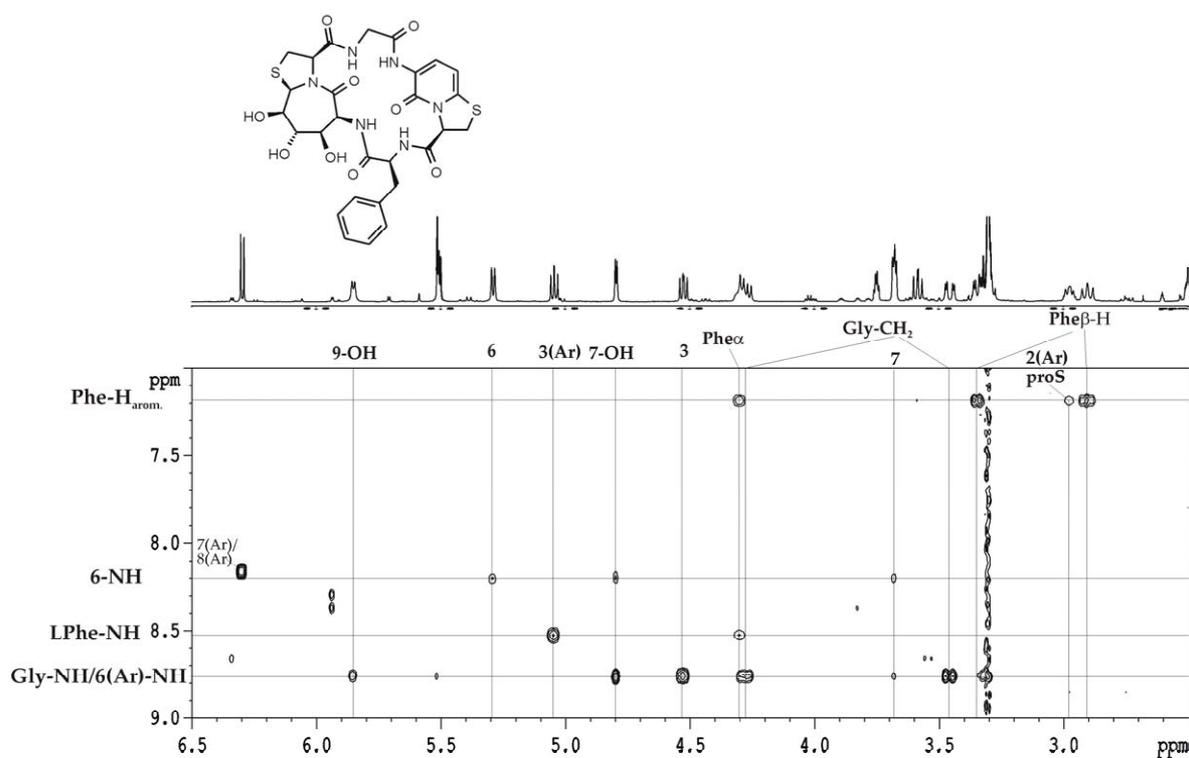


Abbildung B.2.3.1.-55.: 600MHz Roesy der Verbindung **105** in DMSO-d₆

Bleibt nun noch die gegenüberliegende β -Schleife, jene mit L-Phe in der i+2 Position.

Für die Ausrichtung der Benzylseitenkette folgt aus den ³J-Kopplungskonstanten der diastereotopen Protonen (4.1Hz β -H^t/11.8Hz β -H^h), daß hier eine gauche/trans-Konformation, α zu β , als Hauptrotamer vorliegt.

Wie bei den anderen zyklischen Peptiden kann auch hier wieder angenommen werden, daß die Seitenkette zum Thiazolidinring des vorhergehenden Bizykluses (hier 6,5(Ar)) ausgerich-

*Zwar kann in dem gezeigten ROESY infolge einer Signalüberlagerung mit 6(Ar)-NH, keine klare Trennung der jeweiligen Kreuzsignale erfolgen, den Beitrag, welcher ein möglicher NOE 6(Ar)NH/3-H zu dem angesprochenen NOE leisten könnte, sollte aber so gering sein, daß das beobachtete Signal näherungsweise als jenes von Gly-NH/3-H gesehen werden kann.

tet ist. Dafür spricht zum einen der NOE Phe- $H_{\text{arom.}}/2-H^{\text{proS}}$, sowie die Verschiebung von $2(\text{Ar})-H^{\text{proS}}$ um ca. 0.5ppm zu höherem Feld, vergleicht man dies Signal mit dem entsprechenden von **103** (**105** $2(\text{Ar})-H^{\text{proS}}$: 2.97ppm/ **103** $2(\text{Ar})-H^{\text{h}}$ 3.48ppm).

Nach der Ausrichtung der Seitenkette folgt als nächstes zwangsläufig die Frage β I- oder β II-Schleife. Worauf die Antwort wäre: und nicht oder.

Auf den ersten Blick spricht zwar der NOE $3(\text{Ar})-H/\text{Phe-NH}$ für eine β II-Schleife, jedoch ist dieser von der Intensität vergleichbar dem von $3-H/\text{Gly-NH}$, wo, wie aufgeführt (Kopplung und Verschiebung 9-OH), davon ausgegangen werden kann, daß als Hauptkonformation die β I-Schleife vorliegt, und die für diesen NOE verantwortliche β II-Schleife nur eine, wenn auch sicher bedeutende, Nebenkonformation darstellt.

Ein weiteres Argument, welches gegen nur ein Hauptkonformer β II spricht, ist in Abbildung **B.2.3.1.-56.** gezeigt. Hier sind die beiden alternativen Schleifenkonformationen abgebildet.

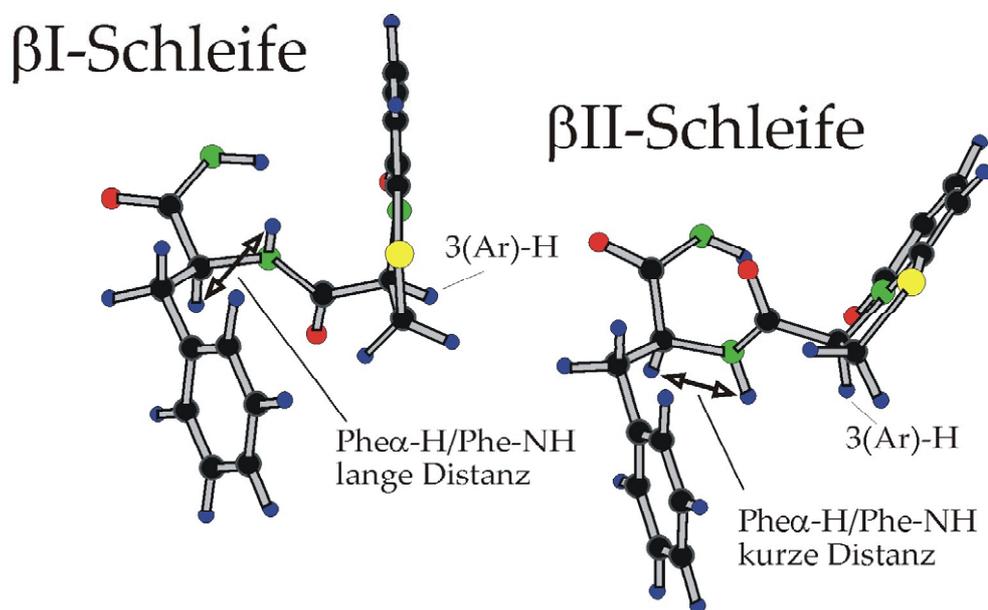


Abbildung **B.2.3.1.-56.**: Zwei alternative Konformationen der β -Schleife von Peptid **105**

So kann mit einer β II-Schleife einerseits zwar der NOE $\text{Phe-NH}/3(\text{Ar})\text{-H}$ erklärt werden, auf der anderen Seite sollte aber bei einer derartigen Konformation, durch den sehr geringen Abstand, welchen $\text{Phe}\alpha\text{-H}$ und Phe-NH hier einnehmen, ein wesentlich intensiverer NOE zu erwarten sein als dies hier der Fall ist (ROESY Abbildung **B.2.3.1.-55.**).

Alles in allem ist also davon auszugehen, daß auch im Fall der zweiten Schleife ein Gleichgewicht β I/ β II vorliegt.

Faßt man nun zusammen, so zeigt das letzte zyklische Peptid nun Dynamik in beiden β -Schleifen, somit sind also 4 Grundstrukturen möglich (β I/ β I, β I/ β II, β II/ β I, β II/ β II). Ob tatsächlich alle vier in Lösung vorliegen und in welchem Verhältnis kann aus diesen Daten nicht erschlossen werden, dies wäre praktisch nur möglich wenn die Barriere zwischen den einzelnen Konformeren so hoch wäre, daß jedes im NMR als einzelner Signalsatz beobachtet werden könnte.

Um vergleichbar den zyklischen Hexapeptiden zuvor ein Modell aufzustellen, um das soeben gezeigte konformationelle Verhalten zu erklären, reichen diese zwei Moleküle ganz gewiß nicht aus. Ein Punkt läßt sich jedoch mit Sicherheit sagen, und zwar, daß hier wiederum kein unabhängiges Verhalten der beiden β -Schleifen vorliegt, denn, wie gezeigt, hat der Austausch von Glycin durch Phenylalanin bewirkt, daß die andere β -Schleife nun nicht mehr nur eine Konformation populiert, sondern jetzt ein Gleichgewicht β I/ β II vorliegt.

Wenn auch eine fundierte Erklärung des Verhaltens dieser zwei Peptide noch nicht möglich ist, so soll doch zum Schluß, quasi als Gedankenspiel, eine Hypothese gewagt werden, ein Erklärungsversuch worauf das hier beobachtete konformationelle Geschehen beruhen könnte. Das ganze sei dann auch mehr als eine Art Denkanstoß gedacht.

Wie gezeigt, liegt das erste Peptid **103** hauptsächlich in der zuvor als asymmetrisch bezeichneten Konformation mit einer β I-Schleife auf der einen und einer β II-Schleife auf der gegenüberliegenden Seite vor. Angenommen auch diese Peptide würden generell diese β I/ β II Konformation vorziehen, und Glycin würde auch wie zuvor im Fall der sechs Hexapeptiden eine β I-Schleife bevorzugen, würde dies für das erste Peptid bedeuten, daß jene Schleife mit 7,5Bic-Gly(i+2) die dominierende ist und sich gegen 6,5(Ar)-Gly(i+2) durchsetzt.

Nimmt man weiter an, daß auch L-Phe wieder β I dirigiert und auch hier wieder den stärkeren Einfluß besitzt im Vergleich zu Glycin, so hätte man im zweiten Peptid **105** einen Fall wo wieder beide Aminosäuren β I dirigieren, gegen das System, wobei hier die schwächere Aminosäure im stärkeren Turn 7,5Bic-Gly(i+2), und die stärkere Aminosäure im schwächeren Turn sitzt, so daß sich schlußendlich beides aufhebt, und sich keine der beiden Schleifen ganz durchsetzen kann, so daß schließlich beide zwischen β I und β II wechseln, man also hauptsächlich ein Gleichgewicht β I/ β II \leftrightarrow β II/ β I hat.

2.3.2. Lineare Peptide

Wie zuvor angesprochen, folgt nach der Strukturanalyse der zyklischen Peptide, jetzt eine Betrachtung der entsprechenden Ergebnisse, welche anhand der linearen Verbindungen erhalten werden konnten.

Hierbei wird es sich in erster Linie um die sechs Hexapeptide handeln, den Vorläuferverbindungen der zyklischen Peptide. Zusätzlich konnten, durch Verdoppelung zweier Hexapeptide, **88** bzw. **89**, noch zwei Dodekapeptide, **106** und **107** erhalten werden, deren Strukturanalyse ebenfalls in diesem Kapitel ihren Platz finden wird.

2.3.2.1. Synthesen

Da auf die Synthese der Hexapeptide bereits eingegangen wurde, fehlt noch jene der beiden Dodekapeptide (Abbildung **B.2.3.2.-1.**).

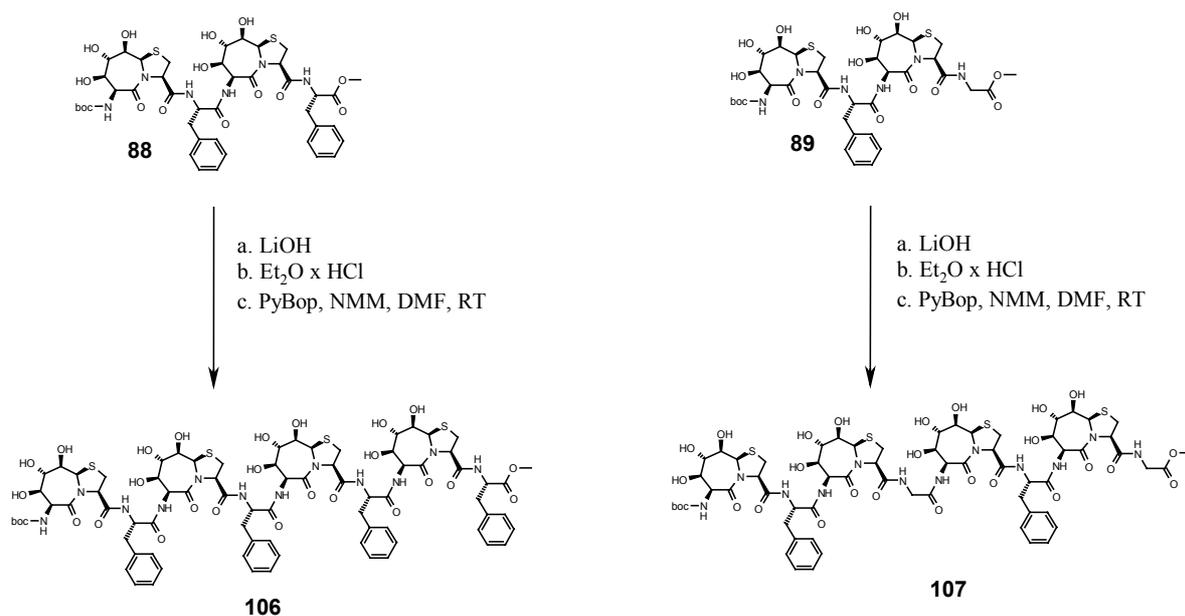


Abbildung **B.2.3.2.-1.**: Synthese zweier Dodekapeptide

2.3.2.2. Zuordnung

Bevor im nächsten Kapitel die strukturellen Eigenschaften dieser Verbindungen im Vordergrund stehen werden, soll zunächst noch einmal auf die Vorgehensweise bei der Zuordnung der NMR-Signale eingegangen werden.

Als Beispiel dient hier das Dodekapeptid **106**, dem in dieser Hinsicht anspruchsvollsten Molekül, da hier eine Verbindung vorlag, die aus vier identischen Untereinheiten aufgebaut war, welche es folglich zu unterscheiden und einzuordnen galt.

Durch die in Abbildung **B.2.3.2.-2.** gezeigten Ausschnitte des DQF-COSY- und des HMQC-Spektrums der Verbindung **106**, konnte zunächst eine Unterteilung der Hydroxylgruppen. erfolgte

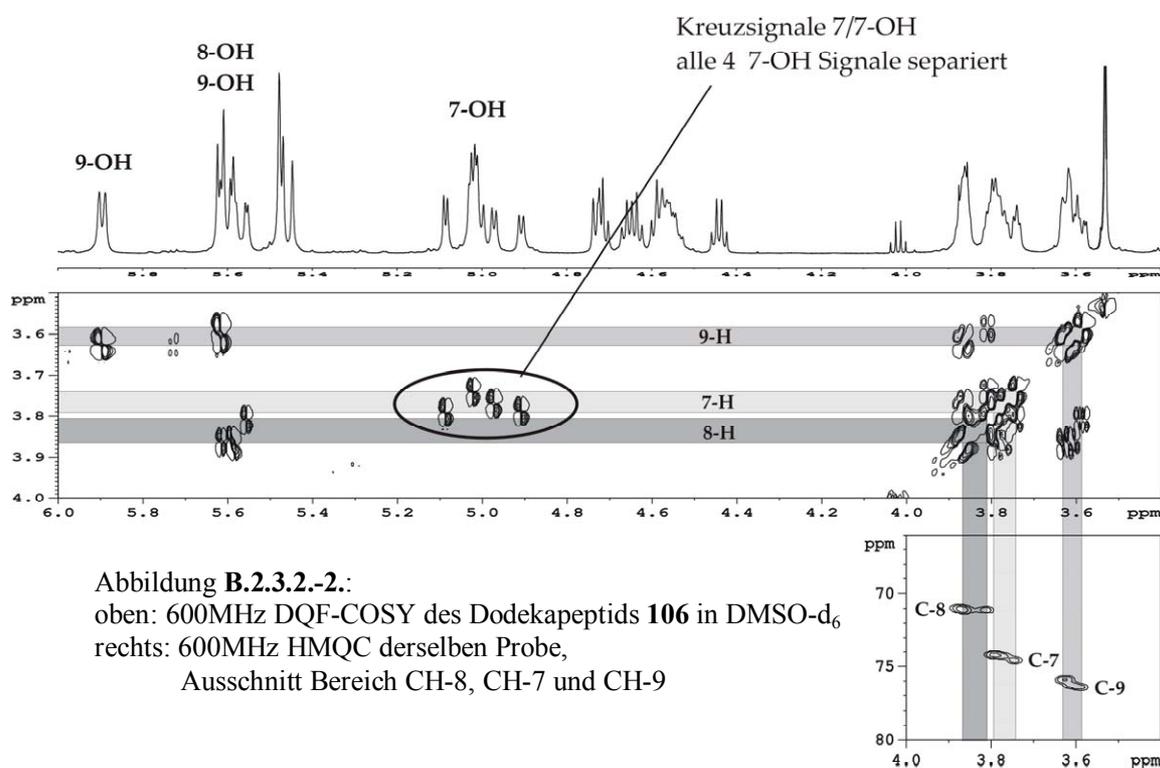


Abbildung **B.2.3.2.-2.**:
oben: 600MHz DQF-COSY des Dodekapeptids **106** in DMSO-d₆
rechts: 600MHz HMQC derselben Probe,
Ausschnitt Bereich CH-8, CH-7 und CH-9

Als hilfreich für die weitere Zuordnung zeigte sich dann vor allem die Tatsache, daß alle vier Hydroxylgruppen an Position 7 klar voneinander zu unterscheiden waren (in Abbildung **B.2.3.2.-2.** hervorgehoben). Somit hatte man jetzt für jeden Siebenring praktisch so etwas wie eine Antenne, ein Signal eines Protons von jedem Bicyclus, von welchem aus jeweils die restlichen Protonen dieser Untereinheit erschlossen werden konnten.

In der folgenden Abbildung **B.2.3.2.-3.** ist dann gezeigt, wie zum einen jede dieser 7-OH dem entsprechenden Bicyclus zugeordnet werden konnte, und wie dann insgesamt, beginnend von PheD-NH, dem einzigen Phe-NH ohne NH-NH-NOE, die jeweiligen Spinsysteme über NOEs miteinander verknüpft werden konnten, so daß es schlußendlich gelang, jedem einzelnen auch seinen Platz im Gesamtsystem zuzuweisen.

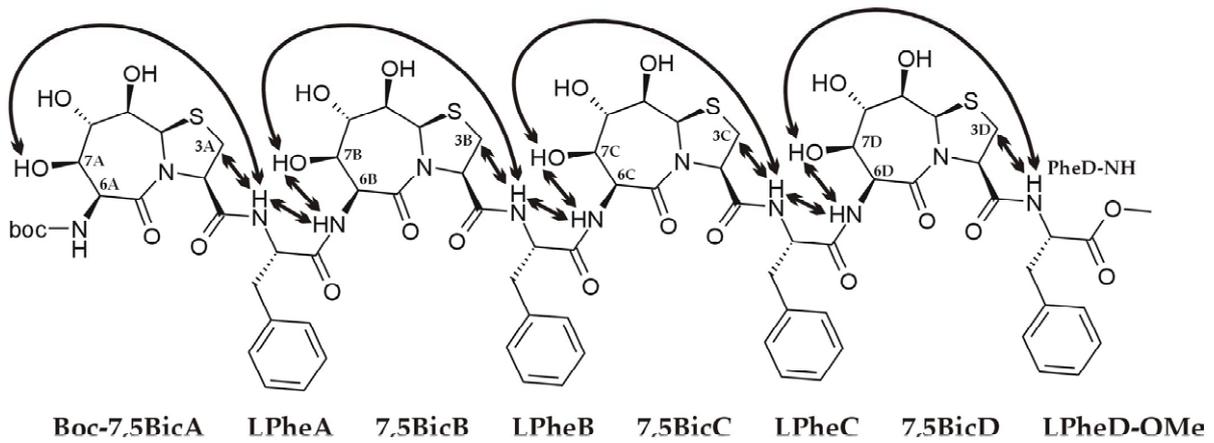


Abbildung B.2.3.2.-3.: NOE-Muster zur Einordnung der einzelnen Spinsysteme

Abbildung B.2.3.2.-4. zeigt dann die entsprechenden Ausschnitte des 2D-ROESYs, mit dem angesprochenen NOE-Muster.

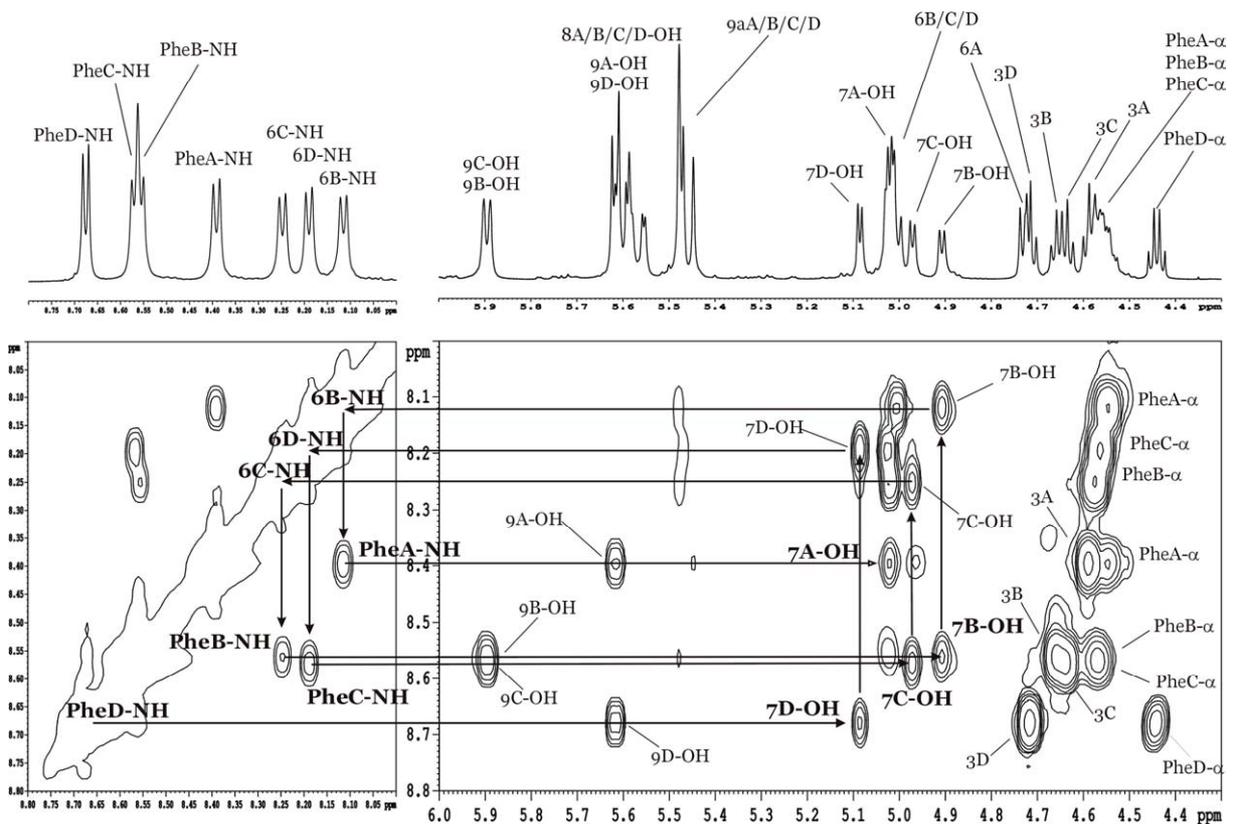


Abbildung B.2.3.2.-4.: 600MHz ROESY von 106 in DMSO-d₆, Pfeile: „Weg durch das Spinsystem“

Das letzte Spektrum, welches noch Erwähnung finden soll, ist das von dieser Verbindung erhaltene 2D-TOCSY, also ein Spektrum, dem entnommen werden kann, welche Protonen sich innerhalb eines Spinsystems befinden, vorausgesetzt sie weisen eine 3J -Kopplung zu ihren Nachbarn auf.

Auf diese Weise können dann auch solche Protonen zugeordnet werden, bei denen dies, infolge Signalüberlagerung, z.B. durch ein COSY Spektrum nicht mehr möglich war.

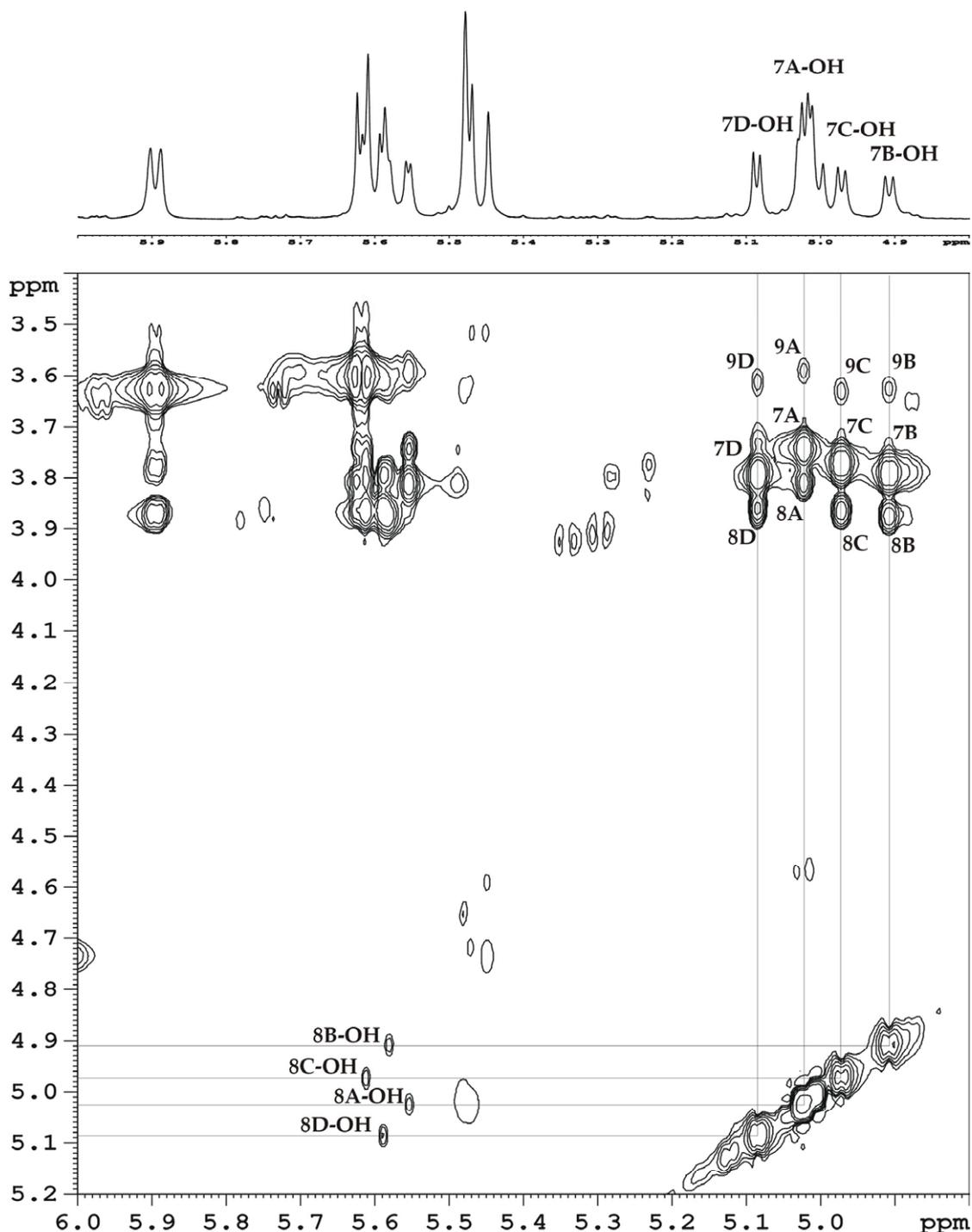


Abbildung B.2.3.2.-5.: 600MHz 2D-TOCSY der Verbindung 106 in DMSO-d_6
Zuordnung CH-7, -8, -9 und 8-OH über die TOCSY-Signale zu den 7-OHs A,B,C und D

2.3.2.3. Strukturanalyse

Zunächst werden auf den folgenden Seiten wiederum die ^1H -NMR-Spektren, sowie die 2D-ROESY-Spektren (NH-Bereich), jetzt der sechs linearen Hexapeptide **87-92**, im Vergleich zueinander gebracht.

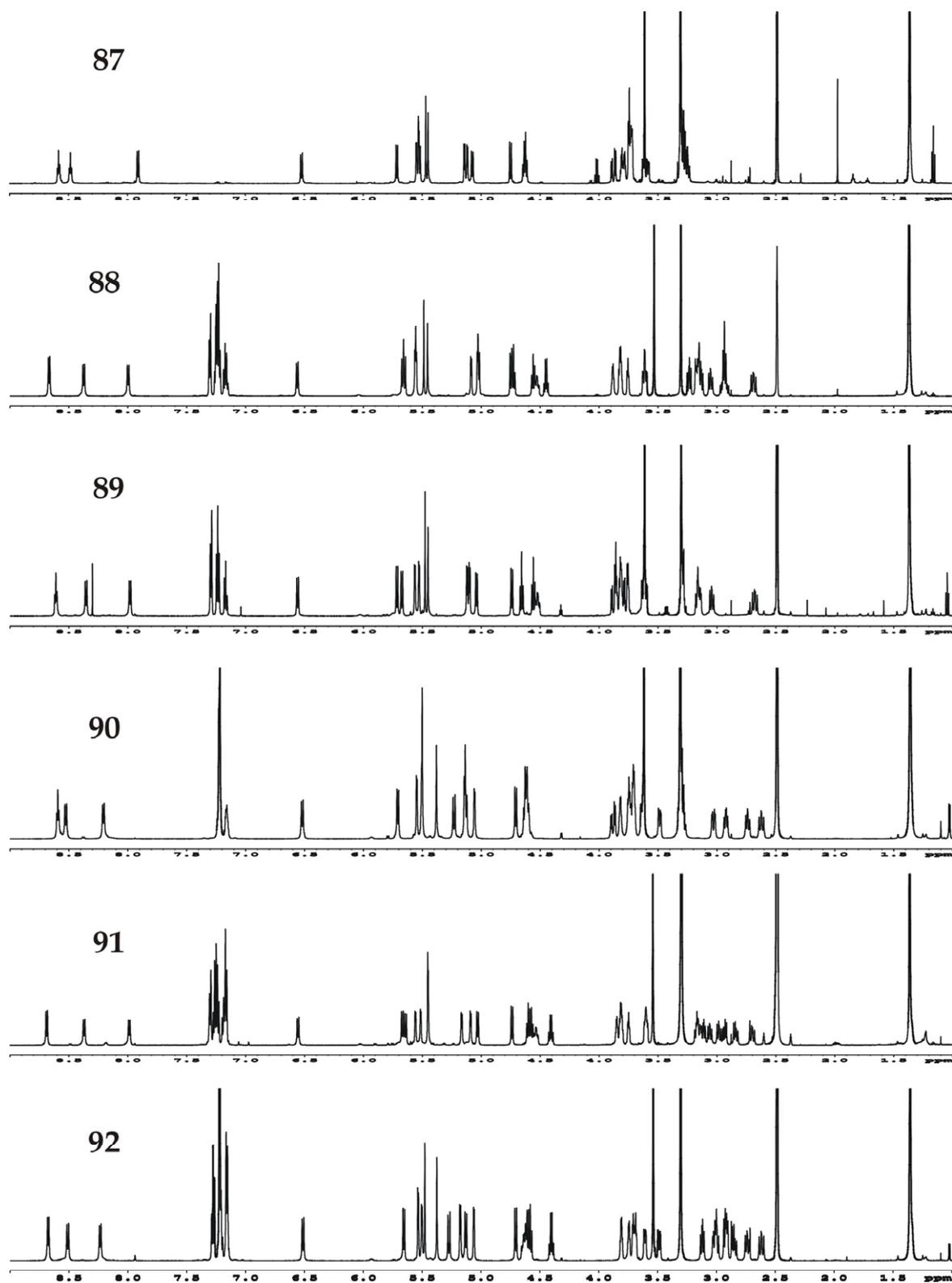
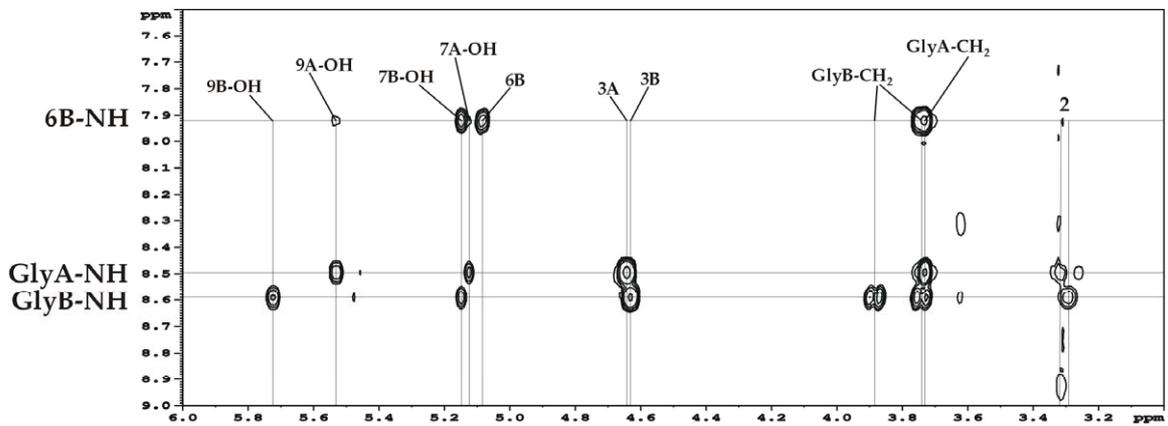
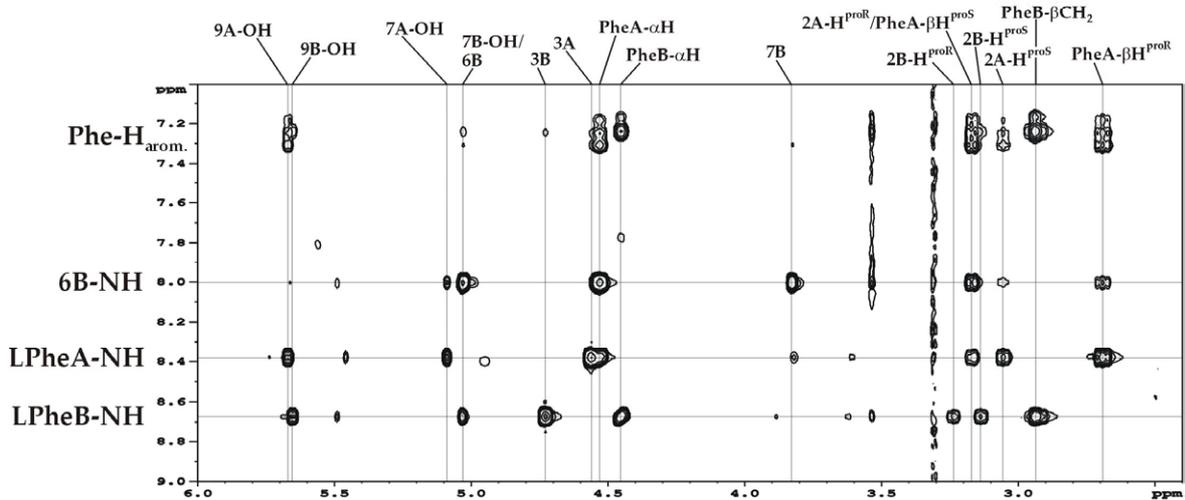


Abbildung B.2.3.2.-6.: 600MHz ^1H -NMR Spektren der linearen Peptide **87-92** in DMSO-d_6

87 Boc-7,5BicA-GlyA-7,5BicB-GlyB-OMe, 600MHz ROESY, DMSO_{d6}



88 Boc-7,5BicA-LPheA-7,5BicB-LPheB-OMe, 600MHz ROESY, DMSO_{d6}



89 Boc-7,5BicA-LPhe-7,5BicB-Gly-OMe, 600MHz ROESY, DMSO_{d6}

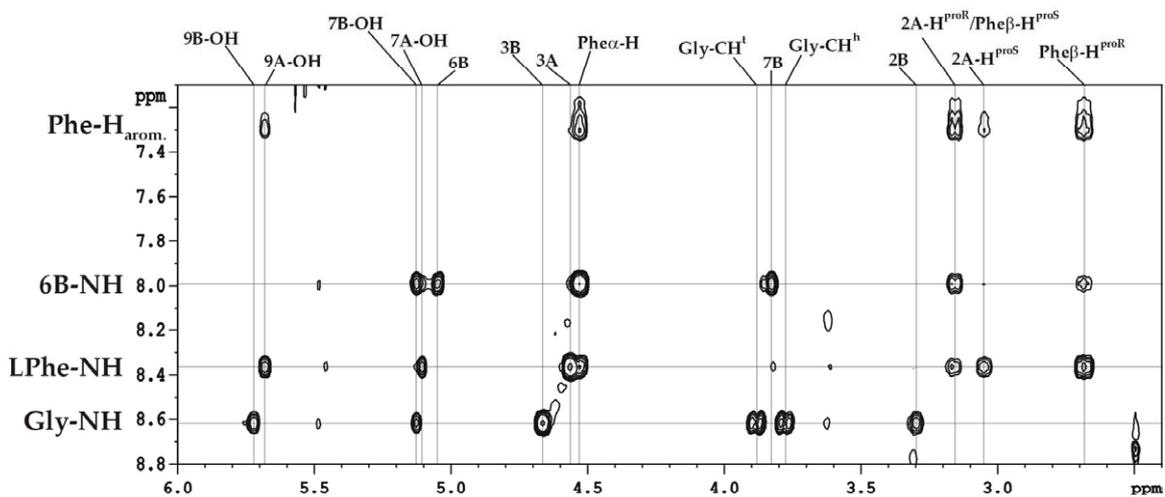
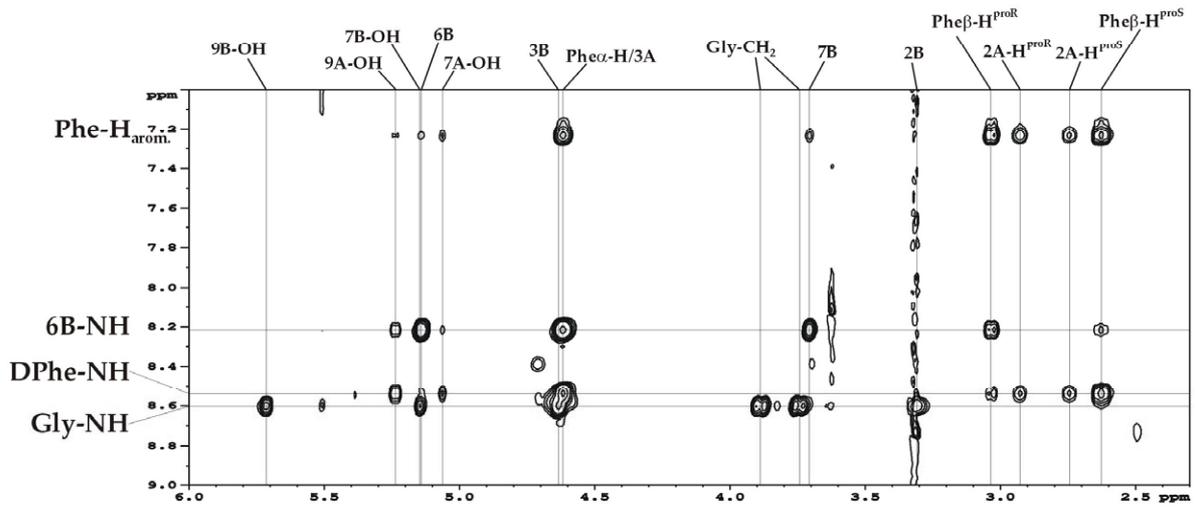
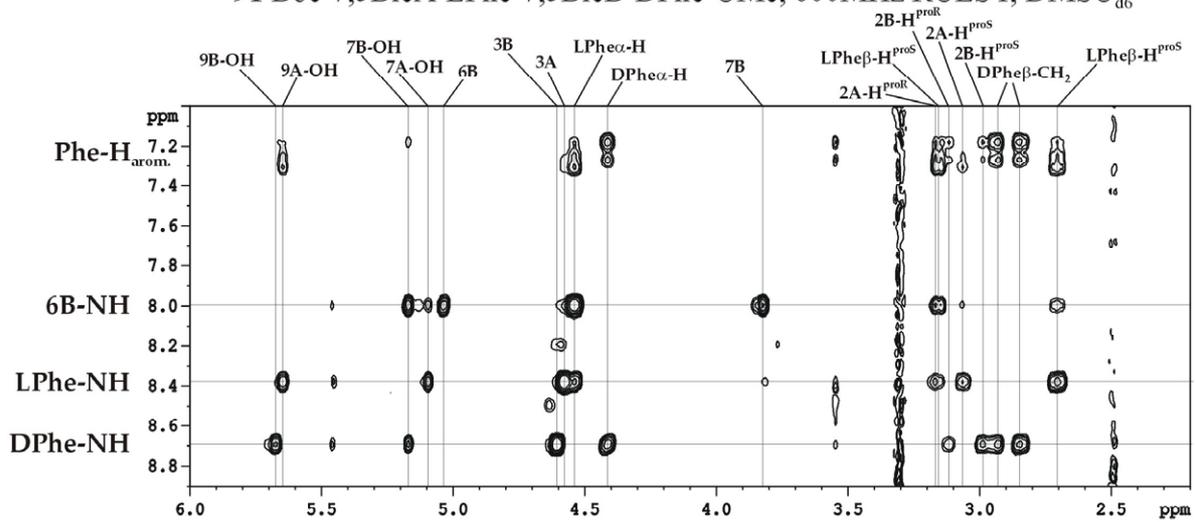


Abbildung B.2.3.2.-7.: 600MHz ROESY DMSO-*d*₆ (Ausschnitt: Amidprotonen zu CH und OH)

90 Boc-7,5BicA-DPhe-7,5BicB-Gly-OMe, 600MHz ROESY, DMSO_{d6}



91 Boc-7,5BicA-LPhe-7,5BicB-DPhe-OMe, 600MHz ROESY, DMSO_{d6}



92 Boc-7,5BicA-DPheA-7,5BicB-DPheB-OMe, 600MHz ROESY, DMSO_{d6}

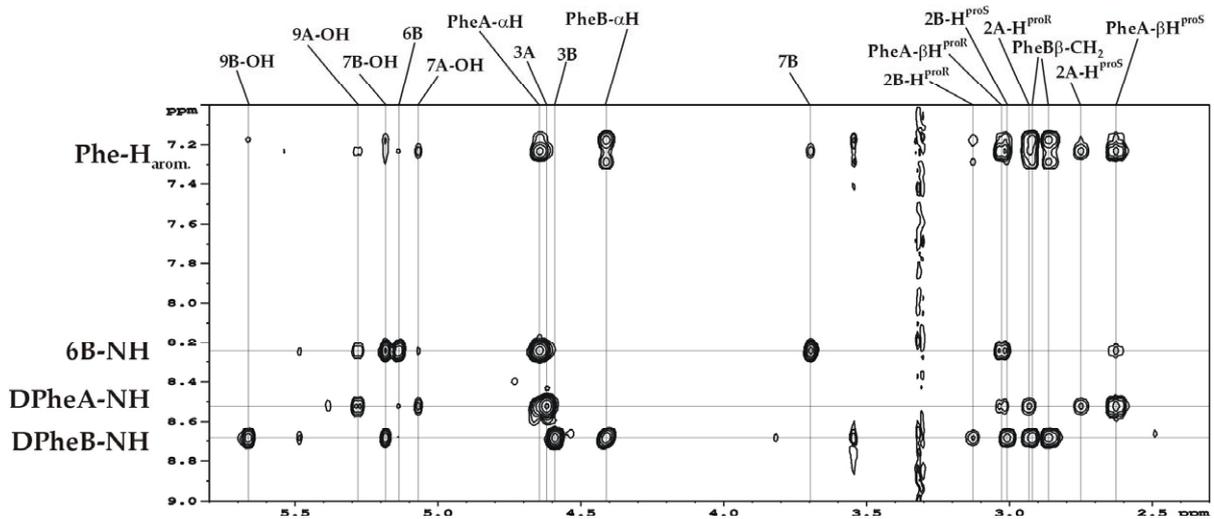


Abbildung B.2.3.2.-8.: 600MHz ROESY, DMSO-d₆ (Ausschnitt: Amidprotonen zu CH und OH)

Ein erster, wichtiger Punkt welcher die Konformation dieser linearen Peptide in Lösung betrifft, wurde indirekt schon im vorhergehenden Teil dieses Kapitels gebracht, als die Zuordnung anhand des Dodekapeptids **106** erläutert wurde.

Wie gezeigt (Abbildung **B.2.3.2.-3.** und **B.2.3.2.-4.**), erfolgte die Verknüpfung der einzelnen Spinsysteme zum einen über NOEs der Amidprotonen der Aminosäuren zum Thiazolidinring (NOE Phe-NH zu 3-H) des vorhergehenden Bicykluses, und zum anderen durch die entsprechenden Kreuzsignale wiederum dieses Proton jetzt zu 7-OH und 9-OH des Siebenringes desselben Bicykluses, ein NOE-Muster, wie es so bei allen hier vorgestellten linearen Peptiden gefunden werden konnte.

Dieses bedeutet dann aber für die Konformation, daß das entsprechende Amid-NH einmal nach „oben“ zu den beiden OHs und einmal nach „unten“ Richtung 3-H orientiert sein muß, da eine einzige Konformation, welche alle drei NOEs, in dieser Intensität, erklären würde, praktisch ausgeschlossen werden kann, woraus dann eben folgt, daß diese NOEs aus einer Dynamik in der Konformation herrühren müssen.

In Anbetracht der Ergebnisse, welche zuvor anhand der zyklischen Verbindungen erhalten werden konnten, liegt eine erste plausible Erklärung für dieses Verhalten darin, jetzt wiederum anzunehmen, daß das Amid mit der 9-OH über Wasserstoffbrücken wechselwirkt, wobei hier, vergleichbar den Peptiden bei denen die β I- mit der β II-Schleife im Gleichgewicht lag, das Donor-Akzeptor-Verhalten wechselt, also einmal das Amid-NH als Donor fungiert, und das andere mal die 9-OH zum Carbonyl des Amids eine Wasserstoffbrücke ausbildet.

Aufschluß darüber, inwiefern hier mit diesbezüglichen Wasserstoffbrücken zu rechnen ist, können fürs erste die entsprechenden Temperaturgradienten geben.

So folgen als nächstes, tabellarisch aufgelistet, die Daten, welche aus den erfolgten VT-Messungen in DMSO- d_6 erhalten werden konnten (Tabelle **B.2.-9.** und **B.2.-10.**).

Da das Beispiel der zyklischen Verbindungen zeigte, daß sowohl die Kopplungskonstanten, als auch die chemischen Verschiebungen weiter wertvolle Anhaltspunkte liefern können, wenn man sie im Vergleich zueinander betrachtet, sind diese ebenfalls hier mit aufgeführt.

	6-NH	7-OH	8-OH	9-OH	AS-NH
(84)	7,5Bic				Gly
δ [ppm]	6.50	5.09	5.54	5.54	8.56
3J [Hz]	8.8	4.4	4.4	8.2	6.0
$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	-4.78	-1.87	-	-	-3.17
(85)	7,5Bic				LPhe
δ [ppm]	6.49	5.04	5.55	5.42	8.61
3J [Hz]	8.8	4.6	4.0	9.2	7.3
$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	-4.60	-1.70	-3.13	-0.03	-3.15
(86)	7,5Bic				DPhe
δ [ppm]	6.46	5.14	5.53	5.50	8.64
3J [Hz]	9.1	4.1	4.1	8.8	8.0
$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	-4.58	-1.18	-3.43	-1.88	-3.55

Tabelle **B.2.-9.**: chemische Verschiebungen, Kopplungskonstanten und Temperaturgradienten der Hydroxy- und Amidprotonen der Tripeptide **84-86** in DMSO- d_6

	6A -NH	7A -OH	8A -OH	9A -OH	AS(A) -NH	6B -NH	7B -OH	8B -OH	9B -OH	AS(B) -NH
(88)	7,5BicA				LPheA		7,5BicB			LPheB
δ	6.56	5.09	5.56	5.67	8.37	8.00	5.03	5.55	5.65	8.67
3J	9.0	4.8	4.8	8.5	8.5	8.5	-	4.8	9.0	7.4
$\Delta\delta/\Delta T$	-4.38	-1.57	-3.28	-1.65	-1.48	-5.23	-3.45	-3.28	-0.28	-3.22
(91)	7,5BicA				LPhe		7,5BicB			DPhe
δ	6.56	5.09	5.56	5.64	8.37	7.99	5.17	5.52	5.67	8.69
3J	8.5	4.9	4.1	8.5	8.2	8.2	4.9	3.8	8.2	8.0
$\Delta\delta/\Delta T$	-4.72	-1.85	-3.42	-1.55	-1.50	-5.76	-4.07	-3.32	-2.33	-3.76
(92)	7,5BicA				DPheA		7,5BicB			DPheB
δ	6.52	5.06	5.51	5.28	8.51	8.24	5.18	5.54	5.66	8.68
3J	9.1	4.1	3.8	10.2	9.1	8.5	4.9	4.1	8.2	7.7
$\Delta\delta/\Delta T$	-5.21	(-0.62)	-3.05	(1.42)	-1.67	-8.01	-4.05	-3.40	-2.45	-3.48
(90)	7,5BicA				DPhe		7,5BicB			Gly
δ	6.52	5.06	5.51	5.23	8.53	8.21	5.14	5.55	5.71	8.59
3J	9.1	4.1	4.1	10.4	8.8	8.5	5.2	4.1	8.2	5.8
$\Delta\delta/\Delta T$	-5.10	(-0.47)	-3.03	(1.53)	-1.98	-7.53	-4.10	-3.03	-2.68	-3.18
(89)	7,5BicA				LPhe		7,5BicB			Gly
δ	6.56	5.10	5.56	5.68	8.36	7.98	5.12	5.53	5.72	8.61
3J	8.7	4.9	4.1	8.2	8.5	8.2	5.1	4.1	8.2	5.9
$\Delta\delta/\Delta T$	-4.73	-1.83	-3.42	-1.77	-1.55	-5.72	-4.25	-3.42	-2.32	-3.45
(87)	7,5BicA				Gly		7,5BicB			Gly
δ	6.52	5.12	5.53	5.52	8.49	7.91	5.14	5.55	5.72	8.58
3J	8.8	4.4	4.1	8.8	5.8	8.2	5.2	4.1	8.2	5.8
$\Delta\delta/\Delta T$	-4.25	-1.26			-2.12	-4.31	-3.70		-2.32	-2.86
(102)	7,5Bic				Gly		6,5(A)			Gly
δ	6.58	5.28	5.55	5.68	8.60	8.91				8.73
3J	9.0	4.0	3.9	7.5	5.9	s				5.9
$\Delta\delta/\Delta T$	-4.07	-2.05	-3.28	-2.53	-1.60	-2.78				-4.48
(104)	7,5Bic				Gly		6,5(A)			LPhe
δ	6.58	5.26	5.57	5.68	8.61	8.92				8.77
3J	9.0	4.8	3.8	7.9	6.1	s				7.7
$\Delta\delta/\Delta T$	-4.28	-2.05	-3.60	-2.73	-1.66	-3.03				-4.97

Tabelle B.2.-10.: chemische Verschiebungen δ [ppm], Kopplungskonstanten 3J [Hz] und Temperaturgradienten $\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K] der linearen Hexapeptide in DMSO-d₆.

Wenn die Werte der Temperaturgradienten in Klammern gesetzt sind, bedeutet dies, daß hier keine Gerade erhalten werden konnte, sondern infolge Konformationsänderung ein nichtlinearer Verlauf zu beobachten war.

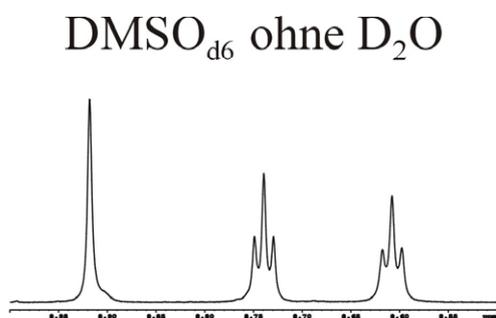
Die hierbei erhaltenen Daten unterstützen dann auch die zuvor aufgestellte These. So zeigten vor allem die Amidprotonen der Aminosäure A alle einen Temperaturgradienten, welcher vom Betrag klar unter -3ppb/K lag, man folglich davon ausgehen kann, daß diese, zumindest teilweise, in einer Wasserstoffbrücke gebunden sind.

Dies ist weiter auch für die NHs der Aminosäure B der Peptide **87-92** anzunehmen. Zwar liegen diese alle im Grenzbereich, den -3ppb/K , sind aber vom Betrag klar kleiner als die Werte wie sie für die entsprechenden Aminosäuren nach dem Aromaten (-4.48ppb/K bzw. -4.97) erhalten wurden, bei denen keine diesbezügliche Wasserstoffbrücke vorliegen kann.

Da, wie gesagt, die begründete Annahme besteht, daß hier ein Wechsel im Donor-Akzeptor-Verhalten vorliegt, rührt dieser Wert somit aus einer Mittelung der beiden postulierten Einstellungen, so daß hieraus ein vom Betrag größerer Wert resultiert, als wenn ausschließlich das NH in der Wasserstoffbrücke gebunden wäre.

Ein weiterer Punkt, welcher dafür sprach, daß die angesprochenen Amidprotonen in einer Wasserstoffbrücke gebunden sind, war die Tatsache, daß bei der Titration mit D_2O bei allen Peptiden, welche nach einem 7,5-Bizyklus folgten, die NHs der Aminosäuren den in Kapitel **2.3.1.2.3.** angesprochenen Isotopeneffekt zeigten. Exemplarisch sei dies anhand der

Boc-7,5Bic-GlyA-6,5(Ar)-GlyB-OMe



DMSO_{d6} + 1.0µL D₂O

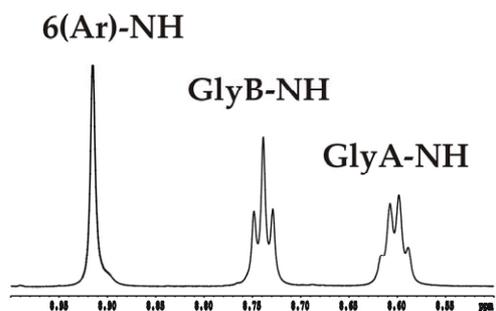
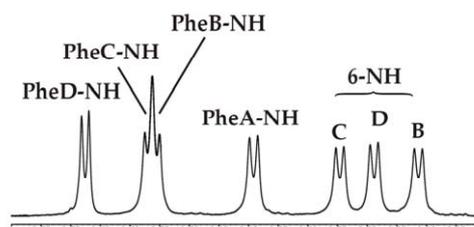
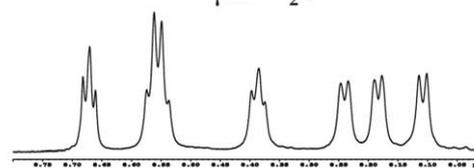


Abbildung **B.2.3.2.-10.**: 600MHz $^1\text{H-NMR}$, D_2O -Titration des Hexapeptids **102** in DMSO-d_6

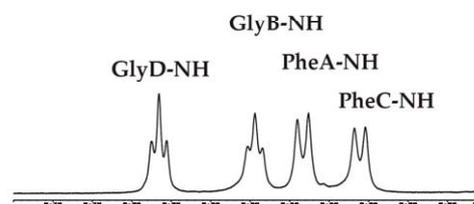
Boc-7,5BicA-LPheA-7,5BicB-LPheB-7,5BicC-LPheC-7,5BicD-LPheD-OMe



+ 1µL D₂O



Boc-7,5BicA-LPheA-7,5BicB-GlyB-7,5BicC-LPheC-7,5BicD-GlyD-OMe



+ 1µL D₂O

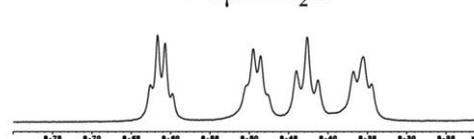


Abbildung **B.2.3.2.-9.**: 600MHz $^1\text{H-NMR}$, D_2O -Titration der Verbindungen **106** und **107** in DMSO-d_6

beiden Hexapeptide **92** und **102** (Abbildung **B.2.3.2.-11.** und **B.2.3.2.-10.**) und der Dodekapeptide (Abbildung **B.2.3.2.-9.**) gezeigt.

Dieser beobachtete Effekt offenbart jetzt aber nicht nur, daß das NH, zumindest zeitweise, in einer H-Brücke gebunden sein muß, sondern sagt auch ganz klar, daß als Akzeptor nur eine Hydroxylgruppe in Frage kommt, und hier in erster Linie dann jene an Position 9, wobei eine gegabelte H-Brücke zu 7- und 9-OH ebenfalls denkbar und plausibel erscheint.

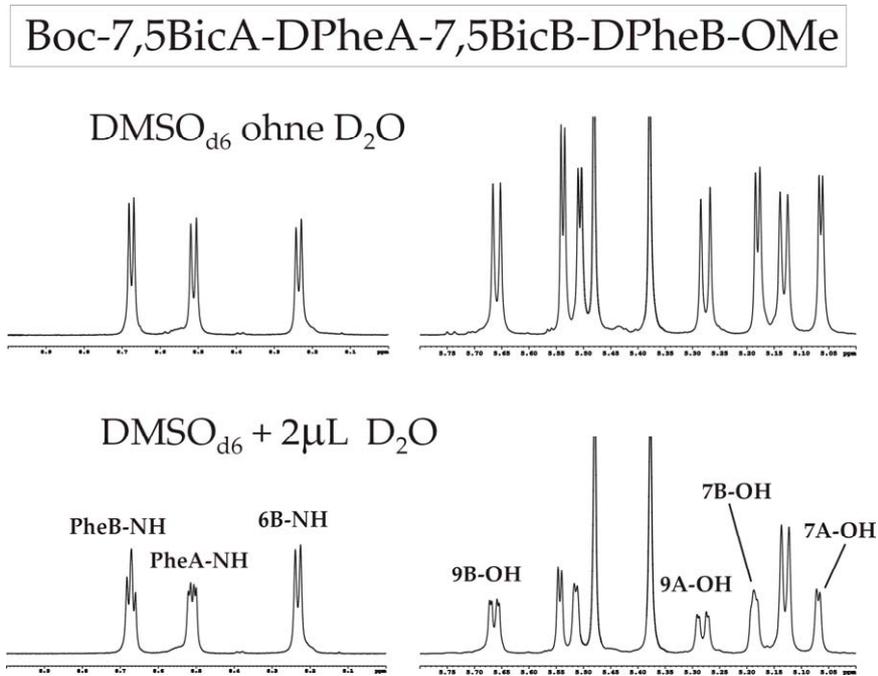


Abbildung **B.2.3.2.-11.**: 600MHz ¹H-NMR Spektren des Peptids **92**

Diese soeben angesprochene OH-Gruppe an Position 9 zeigt dann gleichfalls einen Isotopeneffekt, wobei hier das PheA-NH oder aber auch eine Wechselwirkung zu 7-OH für dieses Verhalten als Erklärung dienen können, zumal im Falle der 7-OHs ebenfalls eine Signalverdoppelung erkennbar ist.

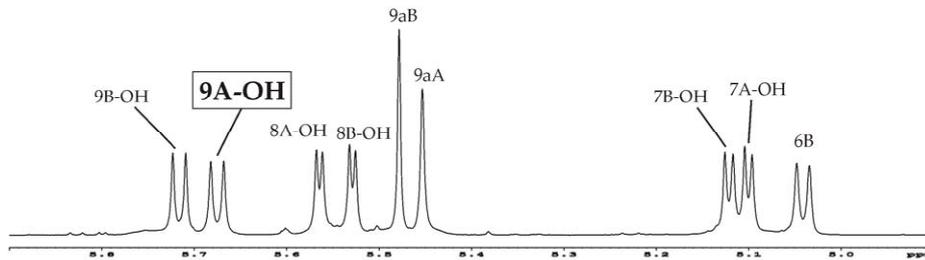
Keinen Isotopeneffekt zeigen erwartungsgemäß die NHs an Position 6, sowie LPhe-NH bzw. GlyB-NH der Hexapeptide **104** und **102**, jene AS welche nach dem aromatischen Baustein folgen.

Betrachtet man weiter die aufgeführten Daten in Tabelle **B.2.-10.** fällt zum wiederholten mal das Verhalten der Hydroxylgruppe an Position 9A auf, so ist zu beobachten, daß, wechselt man von L- auf D-Phe, das Signal Hochfeld verschoben erscheint, und man zusätzlich eine größere ³J-Kopplungskonstante beobachten kann.

Als Beispiel sind in Abbildung **B.2.3.2.-12.** (nächste Seite) die entsprechenden Ausschnitte der ¹H-NMR Spektren der Verbindungen **89** und **90** gezeigt.

Hierbei handelt es sich nun wiederum um einen Effekt, wie er schon für die zyklischen Peptide beschrieben wurde, wo eine Verschiebung zu niedrigeren ppm, einhergehend mit einer größeren Kopplungskonstante, mit einer H-Brücke 9-OH zum Carbonyl der Aminosäure in Verbindung gebracht wurde.

Boc-7,5BicA-LPhe-7,5BicB-Gly-OMe **89**



Boc-7,5BicA-DPhe-7,5BicB-Gly-OMe **90**

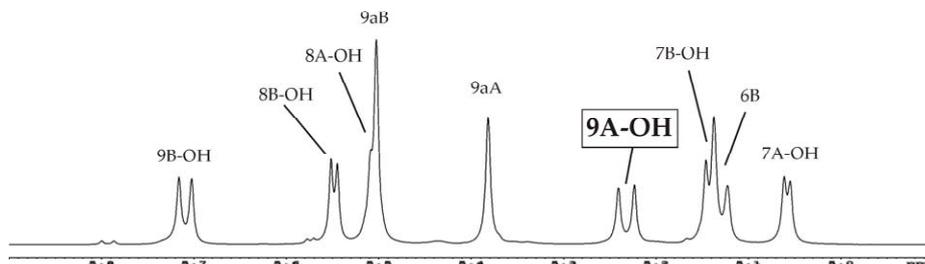


Abbildung B.2.3.2.-12.: Vergleich der 600MHz ¹H-NMR Spektren der beiden linearen Hexapeptide **89** und **90** in DMSO-d₆
Hervorgehoben 9A-OH, wenn AS(A) L- → D-Phe

Wohingegen dann im Falle der Peptide mit L-Phe als erster AS, die entsprechenden Werte der Hydroxylgruppen an Position 9 eher in Bereichen liegen, welche für eine H-Brücke von LPhe-NH zu 9-OH (Akzeptor) sprechen.

So daß nun, faßt man zusammen, anzunehmen ist, daß im Fall der linearen Peptide zwar ein Gleichgewicht dieser beiden unterschiedlichen H-Brücken-Donor-Akzeptor-Muster vorliegt, aber, vergleichbar den zyklischen, im Falle 7,5Bic-LPhe das Muster NH-Donor-zu-9-OH, und wenn die Sequenz 7,5Bic-DPhe vorliegt, jenes mit 9-OH-Donor-zum-Carbonyl überwiegt.

Unterstützt wird diese Annahme auch durch die Beobachtung, daß die NOEs von DPhe-NH zu 9-OH bzw. 7-OH bei den Peptiden mit D-Phe als erste Aminosäure weniger intensiv ausfallen, als bei jenen, wo L-Phe diesen Platz einnimmt.

(Eine Art Faustregel, welche sich aus den Ergebnissen der zyklischen Peptide ableiten ließe, um schnell aus dem ¹H-NMR-Spektrum abschätzen zu können, welches Wasserstoffbrückenmuster bevorzugt wird: liegt das Signal 9-OH hochfeld von 9a-H, immer gut zu erkennen als Singulett, fungiert diese Hydroxylgruppe bevorzugt als Donor, wohingegen eine chemische Verschiebung tieffeld von 9a-H eher dafür spricht, daß diese Hydroxylgruppe überwiegend als Akzeptor des Amidprotons dient)

Betrachtet man jetzt die Temperaturgradienten von 9-OH ist zu konstatieren, daß erstens alle, auch bei Peptiden mit L-Phe, diese vom Betrag unter -3ppb/K liegen.

Weiter konnte beobachtet werden, daß bei den 9A-OH der DPheA-Peptide **90** und **92** ein nichtlinearer Verlauf auftrat. Dies kann daher rühren, daß durch Temperaturerhöhung die postulierte H-Brücke von 9-OH zu Carbonyl geschwächt wird (→ shift zu größeren ppm), durch diese Schwächung aber nun die Temperaturabhängigkeit, da die Abschirmung vom

Lösungsmittel geringer wird, zunimmt (→ Shift zu niedrigeren ppm), woraufhin man, schließlich dann beim Auftragen der Werte ein Kurve erhält.

Was ferner auffiel, war der Umstand, daß die Temperaturgradienten von 7A-OH alle vom Betrag unter 3ppb/K lagen. Folglich sollte auch dieses Proton in einer Wasserstoffbrücke gebunden sein. Am wahrscheinlichsten dürfte hier eine H-Brücke zu 9-OH sein, so daß möglicherweise teilweise ein H-Brückenmuster vorliegt, wie dies z.B. im Kristall von Verbindung **40** (Abbildung **B.1.3.-9.**, 7,5BicOEt) zu sehen ist, mit 7-OH als Donor zu 9-OH und diese weiter ebenfalls als Donor zum Carbonyl. Aber auch eine H-Brücke zum Carbonyl liegt durchaus im Bereich des Möglichen, so ist denkbar, daß das Phe-CO als Akzeptor für OH-9 und OH-7 fungiert.

Nicht unwahrscheinlich ist, daß hier mehrere, verschiedene H-Brücken-Muster miteinander im Gleichgewicht liegen. Da aber nur ein Signalsatz vorliegt, können folglich nur Daten erhalten werden, welche aus einer Mittelung resultieren, so daß, wenn mehr als zwei bevorzugte Einstellungen vorliegen, eine genaue Einordnung dieser Zustände praktisch nicht mehr erfolgen kann.

Ganz am Anfang, als die Synthese dieser Peptide besprochen wurde, war ein Punkt die Wahl der Aminosäuren, und die Entscheidung Phenylalanin einzusetzen und nicht z.B. Alanin. Als Grund hierfür wurde genannt, daß durch die Informationen, welche in diesem Fall über die Ausrichtung der Seitenkette erhalten werden können, wiederum Rückschlüsse auf die Gesamtkonformation des Peptides in Lösung möglich sind.

Womit der nächste nun folgende Punkt dieses Kapitels angesprochen wäre, die Analyse der NMR-Daten, welche über die Benzylgruppen des Phenylalanins erhalten werden konnten.

	δ [ppm]	3J [Hz]	NOE 6-NH	NOE Phe-NH	NOE Phe α -H	Seitenketten-NOEs Phe-H _{arom.} zu
88 L-PheA	3.16	4.2	+	-	+	9A-OH, 2A-H ^{proS}
	2.69	9.5	-	+	-	
89 L-Phe	3.15	3.8	+	-	+	9A-OH, 2A-H ^{proS}
	2.68	9.7	-	+	-	
90 D-Phe	3.03	4.4	+	-	+	2A-H ^{proS} , 2A-H ^{proR} , 7B-H
	2.62	10.2	-	+	-	
91 L-Phe	3.15	4.1	+	-	+	9A-OH, 2A-H ^{proS}
	2.70	9.6	-	+	-	
92 D-PheA	3.02	4.4	+	-	+	2A-H ^{proS}
	2.62	10.2	-	+	-	
106 L-PheA	3.15	~4*	+	-	+	2-H ^{proS} , 9-OH
	2.70	9.7	-	+	-	
L-PheB	3.14	~4*	+	-	+	
	2.74	10	-	+	-	
L-PheC	3.15	~4*	+	-	+	
	2.74	10	-	+	-	
107 L-PheA	3.14	4.1	+	-	+	2-H ^{proS} , 9-OH
	2.69	9.5	-	+	-	
L-PheC	3.17	-	+	-	+	
	2.66	9.7	-	+	-	

Tabelle **B.2.-11.**: NMR Daten und NOEs der diastereotopen Protonen Phe β -CH₂, sowie NOEs der Benzyl-Seitenkette in DMSO-d₆ (+ intensiver NOE; - schwacher NOE; * 3J -Kopplung Abschätzung aus DQF-COSY)

Hier zeigt sich jetzt ein jeweils einheitliches Verhalten, so daß es möglich ist, den Seitenketten, für alle Phenylalanine zwischen den Bizyklen, abhängig von ihrer Chiralität, eine definierte Vorzugskonformation zuzuweisen.

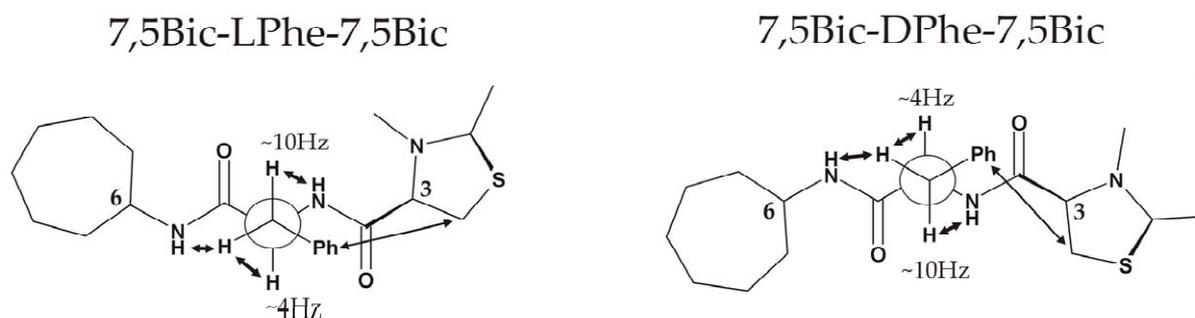


Abbildung **B.2.3.2.-13.**: Vorzugskonformationen für die Seitenketten von DPhe bzw. LPhe zwischen zwei 7,5Bizyklen, welche sich aus den Daten der Tabelle **B.2.-11.** ergeben (Pfeile: NOEs)

Eindeutig aus den Kopplungen abzuleiten war die Zuordnung der gauche-trans-Konformation, dafür, daß, wie bei den zyklischen Peptiden, eine Orientierung der Phenylalaninseitenkette zum Thiazolidinring bevorzugt wird, sprach, neben den NOEs (Phe- $H_{\text{arom./2-H}}$), das Verhalten der diastereotopen Protonen an Position 2, betrachtet man ihre chemischen Verschiebungen. So ist mit Glycin als Aminosäure nach dem Bizyklus, wie auch beim Monomer, keine Dispersion der Signale dieser beiden Protonen zu beobachten, folgt jedoch statt Glycin jetzt Phenylalanin zeigt sich eine klare Aufspaltung, einhergehend mit einer Verschiebung zu hohem Feld, wobei zusätzlich die Werte ihrer chemischen Verschiebung noch von der Chiralität des Phenylalanins abhängig sind.

In der folgenden Tabelle sind die angesprochenen Daten aufgelistet (die diastereotope Zuordnung erfolgte über den NOE 9-OH/2- H^{proS}).

Peptid	87	88	89	90	91	92	106
AS A	Gly	L-Phe	L-Phe	D-Phe	L-Phe	D-Phe	L-Phe
	δ [ppm]						
2A- H^{proR}	~3.3	3.17	3.17	2.92	3.17	2.93	3.17
2A- H^{proS}	~3.3	3.05	3.04	2.74	3.06	2.74	3.04

Tabelle **B.2.-12.**: chemische Verschiebung der diastereotopen Protonen an Position 2A in DMSO- d_6 , wenn eine Sequenz 7,5BicA-AS(A)-7,5BicB vorliegt

Geht man davon aus, daß diese hier auftretende hydrophobe Wechselwirkung der Phe-Seitenkette mit dem Thiazolidinring eine Verschiebung der Signale in Richtung höherem Feld bewirkt, so wie sie hier beobachtet wurde, läßt sich aus diesen Werten ableiten, daß im Falle von D-Phe, diese Wechselwirkung hier stärker vorhanden sein müsse als bei der entsprechenden L-konfigurierten Aminosäure (z.B. AS(A):Gly \rightarrow 2A- H^{proS} ~3.3ppm, AS(A):L-Phe \rightarrow 2A- H^{proS} ~3.0ppm, AS(A):D-Phe \rightarrow 2A- H^{proS} ~2.7ppm).

Eine Aussage, die so gut mit den erhaltenen NOEs der aromatischen Benzylprotonen übereinstimmt, welche im Falle von D-Phe zum einen zu beiden diastereotopen Protonen zu beobachten sind (bei L-Phe nur NOE Phe- $H_{\text{arom./2-H}^{\text{proS}}}$), und zum anderen hier auch deutlich intensiver auftreten (siehe z.B. ROESY von **90**, Abbildung **B.2.3.2.-8.**).

Wenn der Benzyl-Seitenkette hiermit auch je ein Hauptkonformer zugewiesen werden konnte, zeigt schon die Größe der jeweiligen Kopplungskonstanten, daß natürlich nicht ausschließlich die hier postulierte Form eingenommen wird, so erklärt sich z.B. auch der NOE von DPhe-H_{arom.} zu 7B-H der Verbindung **90** (2D-ROESY Abbildung **B.2.3.2.-8.**), welcher dann dafür spricht, daß in geringem Maße auch die alternative gauche-trans-Konformation, jetzt mit Seitenkette zu 7,5BicB, populiert wird.

Da nun eine ganze Reihe von Daten aufgelistet worden sind, sei noch einmal kurz, als kleiner Einschub, auf das Problem der Epimerisierung bei der Synthese von Hexapeptiden mit D-Phe eingegangen:

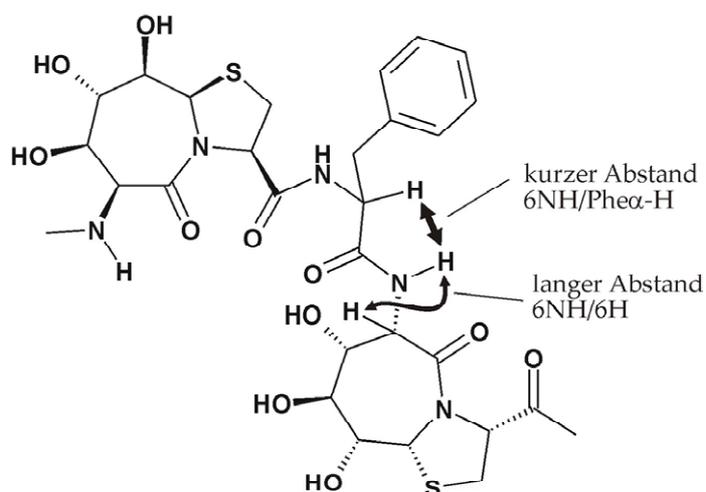
Wie gesagt, sprach alles dafür, daß als Ort der Epimerisierung bei der Synthese von **92** praktisch nur Phenylalanin A in Frage kam (Kapitel **2.3.1.2.4.2.**), und man folglich als Nebenprodukt zur Verbindung **91** mit L-Phe als erster AS gelangt.

Dies wird jetzt weiter auch durch die hier aufgeführten Daten bestätigt, wo die Werte für die Sequenz -7,5BicA-Phe- von **91** immer mit den Peptiden übereinstimmen, bei denen L-Phe die erste AS bildet, und sich klar von **92** und **90** unterscheiden, wo nun D-Phe diesen Platz einnimmt.

Nachdem jetzt die Ausrichtung der Amidbindung, nach dem Bicyklus, an Position 3 besprochen wurde (konformationeller Wechsel), und der Seitenkette ein Hauptkonformer zugewiesen werden konnte, fehlt noch die räumliche Orientierung der Amidbindung von 6-NH, des folgenden Bicykluses, bei den Hexapeptiden 7,5BicB.

Aufschluß hierüber können, neben der ³J-Kopplungskonstante, vorrangig die für NH-6 erhaltenen NOEs liefern.

Betrachtet man die zuvor in Abbildung **B.2.3.2.-7.** und **B.2.3.2.-8.** gezeigten Ausschnitte der 2D-ROESYs dieser Hexapeptide, so ist für alle 6B-NHs ein, bezüglich ihrer Intensitäten, vergleichbares NOE-Muster zu beobachten.



So ist der intensivste NOE in allen Fällen jener von 6B-NH zu Pheα-H, während jener zum eigenen α-Proton (6B-H) klar schwächer ist. Weitere NOEs, welche beobachtet werden konnten, sind jene zu 7-H, 7-OH und der NH-NH-NOE zu Phe-NH, alle in vergleichbaren Intensitäten.

Abbildung **B.2.3.2.-14.**: Ausrichtung von 6-NH

Um genauer abschätzen zu können, welche konformationellen Verhältnisse hier vorliegen wurden die entsprechenden Kreuzsignale noch integriert, und daraus dann der Abstand berechnet, welcher sich für das entsprechende Protonenpaar ergeben würde.

	AS(A)	r (6B-NH/7B-OH) [Å]	r (6B-NH/7B-H) [Å]	r (6B-NH/Phe α H) [Å]	r (6B-NH/6B-H) [Å]	r (6B-NH/Phe-NH) [Å]
88	L-Phe		2.8	2.4		3.0
89	L-Phe	3.0	2.9	2.4	3.0	3.2
90	D-Phe		2.9	2.4		3.3
91	L-Phe	3.0	2.8	2.4	2.9	3.2
92	D-Phe	2.9	2.8	2.3	2.9	3.3

Tabelle **B.2.-13.**: Protonen-Protonen-Abstände welche sich aus der Integration der NOEs aus den 2D-ROESY-Spektren (Abbildung **B.2.3.2.-7.** und **B.2.3.2.-8.**) ergeben.

Somit sind jetzt insgesamt genügend Daten vorhanden, um nun auch genauere Aussagen im Hinblick auf die Konformationen der linearen Peptide machen zu können.

Zunächst soll die Sequenz 7,5BicA-LPhe-7,5BicB betrachtet werden:

Da mit Sicherheit gesagt werden kann, daß die Amidbindung an Position 3A einer Dynamik unterworfen ist, wobei es sich hierbei mit aller Wahrscheinlichkeit um eine Umkehrung des Donor-Akzeptor-Verhaltens der 9A-OH zu dieser Amidbindung handelt, kann es folglich nur darum gehen, zu untersuchen, in wieweit dennoch eine Konformation bevorzugt wird, um dann aus den hier erhaltenen Daten, immer unter dem Vorbehalt, daß diese mehr oder weniger aus einer Mittelung herrühren, einen Strukturvorschlag für diese zu erarbeiten.

Wie angesprochen sprachen die NMR-Daten der Hydroxylgruppen an Position 9A im Falle der Sequenz 7,5BicA-LPhe dafür, daß das Gleichgewicht auf jener Seite liegt, bei der 9A-OH als Protonenakzeptor von PheA-NH fungiert. Zu diesem Resultat gelangt man auch, wenn man versucht die restlichen Daten, (Orientierung der Seitenketten und NOE-Muster) miteinander zu verknüpfen. So lassen sich diese nur zur Deckung bringen, wenn besagte Orientierung des 3A-Amids vorliegt (Abbildung **B.2.3.2.-15.**, Struktur links).

Betrachtet man die alternative Einstellung, H-Brücke 9A-OH zum Carbonyl, so sind die erhaltenen Daten jetzt nur noch in sich konsistent, wenn man auf die Orientierung der Seitenkette zum Thiazolidinring „verzichtet“ (Abbildung **B.2.3.2.-15.**, rechte Struktur).

Setzt man hingegen voraus, daß die Benzylgruppe weiter zum besagten Fünfring zeigt, so weicht die nunmehr resultierende Struktur klar von den erhaltenen Daten der ROESY-Spektren ab (es wäre nun z.B. ein deutlich intensiverer NOE von Phe- α H zu Phe-NH zu erwarten, auch sollten die diastereotopen Phe β -Protonen ein signifikant anderes NOE-Muster aufweisen).

Somit ist es dann auch möglich, einen Strukturvorschlag für eine Hauptkonformation der Peptide mit der Sequenz $-7,5\text{Bic-LPhe-7,5Bic-}$ zu machen (Abbildung **B.2.3.2.-15.**)

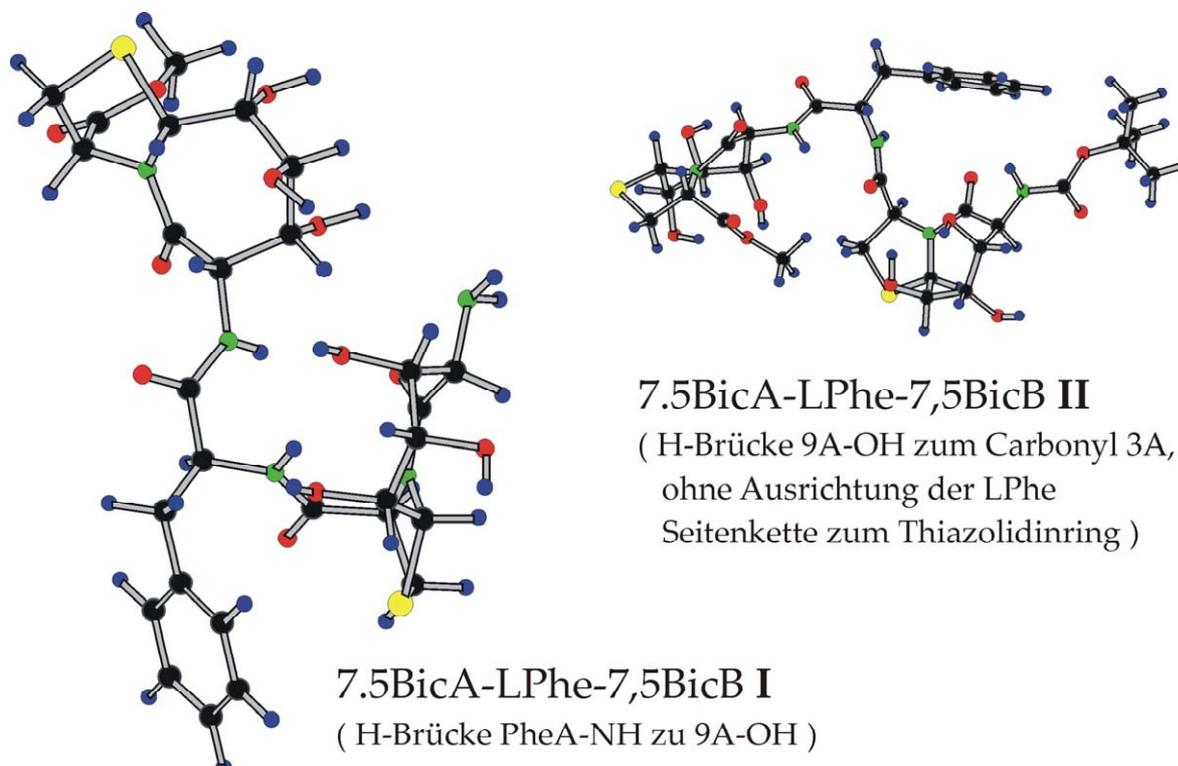


Abbildung **B.2.3.2.-15.**: Darstellung der nach der restrained MD (10x28ps, dann 10ps ohne restrains) erhaltenen Struktur für die 7,5BicA-LPhe-7,5BicB-Untereinheit der linearen Peptide links: Strukturvorschlag für das Hauptkonformer mit postulierter H-Brücke (9A-OH-Akzeptor)
rechts: Struktur mit alternativer H-Brücke (9A-OH-Donor)

Wenn soeben davon die Rede war, daß die linke Struktur in der Abbildung zuvor, mit den erhaltenen Ergebnissen der NMR-Analytik in Einklang zu bringen sei, heißt das nicht, daß dieser Strukturvorschlag für die Hauptkonformation mit allen erhaltenen Daten übereinstimmt, denn da diese zweifelsohne teilweise gemittelte Werte darstellen, würde eine Struktur basierend auf diesen Daten, wenig wahrscheinlich ein Energieminimum darstellen, sondern eher zu einer Struktur führen welche sich in einem diesbezüglichen Maximum befinden würde.

Voraussetzung um anhand der hier erhaltenen Daten zu einem zufriedenstellenden Ergebnis zu gelangen, war erstens herauszufinden, wo, an welcher/en Position/en des Moleküls ein dynamischer Prozeß eine Rolle spielt, und zweitens, war es weiter erforderlich, daß man auch in der Lage war, für die jeweils hier auftretenden Gleichgewichtseinstellungen einen Strukturvorschlag abgeben zu können.

Bei dem soeben gezeigten Strukturproblem ist der postulierte Flip des Amids an Position 3A solch ein Fall, so würde eine Strukturanalyse, welche auf den erhaltenen NOEs (Phe-NH intensiver NOE zu 3A und 9A-OH) basieren würde, mit Sicherheit zu einer Konformation führen, welche praktisch so gut wie nie populiert wird. Aus diesem Grund war es unumgänglich, sich vorher für eine Hauptkonformation zu entscheiden, in diesem Fall zuerst einmal für die als favorisiert angenommene Ausrichtung mit Phe-NH in einer H-Brücke zu 9A-OH.

Von diesem Punkt aus, konnte jetzt eine genauere Betrachtung der restlichen Strukturvariablen, der Ausrichtung von 6B-NH sowie der Konformation der Seitenkette, erfolgen.

Im Falle der zweiten Amidbindung ist ein NOE Muster zu beobachten, welches für diesen Molekülteil nun überwiegend für eine Hauptkonformation spricht, so bewegen sich die hier erhaltenen Abstände insbesondere von 6B-NH zu 6B bzw. zu Phe α -H deutlich im Grenzbereich, so entspricht zum einen der Abstand von $\sim 3\text{\AA}$ für 6B-NH zu 6B, welcher aus den NOEs bestimmt wurde (Tabelle **B.2.-13.**), recht genau der maximal hier zu erwartenden Entfernung, und zum anderen sind die 2.4\AA , welche für 6B-NH/Phe α -H berechnet wurden, in etwa das, was für eine minimale Entfernung dieser Protonen zu erwarten wäre (absolutes Minimum wäre hier 2.15\AA).

So daß schlußendlich folgt, daß diese Werte sehr wahrscheinlich nicht aus einer Dynamik in der Konformation herrühren, und damit auch so in die Strukturermittlung mit einfließen konnten, und dies folglich dann auch taten.

Bleibt noch die Orientierung der Seitenkette, auf welche schon ausführlich eingegangen wurde, und welcher ebenfalls eine Hauptkonformation zugewiesen werden konnte.

Diese wurde dann, auch wenn die hier erhaltenen ^3J -Kopplungskonstanten (9-10Hz trans, 4-5Hz gauche) von den zu erwartenden Extremwerten abweichen, so daß hier sicher die anderen Rotamere noch eine Rolle spielen, ebenfalls in die durchgeführte MD mit einbezogen.

Zu der zweiten in Abbildung **B.2.3.2.-15.** gezeigten Konformation ist zu sagen, daß diese zunächst einmal in erster Linie aus Gründen der Anschaulichkeit gebracht wurde, um zu verdeutlichen, was zuvor über diese mögliche Konformation hier ausgesagt wurde.

Daß diese Struktur neben dem Vorschlag für das Hauptkonformer steht, soll nicht heißen, daß das zu beobachtende dynamische Gleichgewicht auf einem Wechsel genau dieser beiden hier dargestellten Konformationen beruht, auch wenn sich die erhaltenen Ergebnisse der NMR-Analyse in ihren Grundzügen mit einem Gleichgewicht der postulierten Hauptkonformation mit dieser zweiten Struktur, als weniger stark populierte Nebenkongformation, in Einklang bringen lassen würden.

Da es jetzt also gelang der Sequenz 7,5BicA-LPhe-7,5BicB eine mögliche Vorzugskonformation zuzuweisen, wird es im Folgenden vor allem interessant sein, in wieweit sich das hier vorgeschlagene strukturelle Verhalten auf das Dodekapeptid **106**, welches aus mehreren dieser Untereinheiten aufgebaut ist, übertragen läßt.

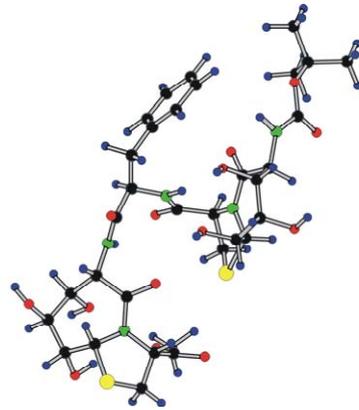
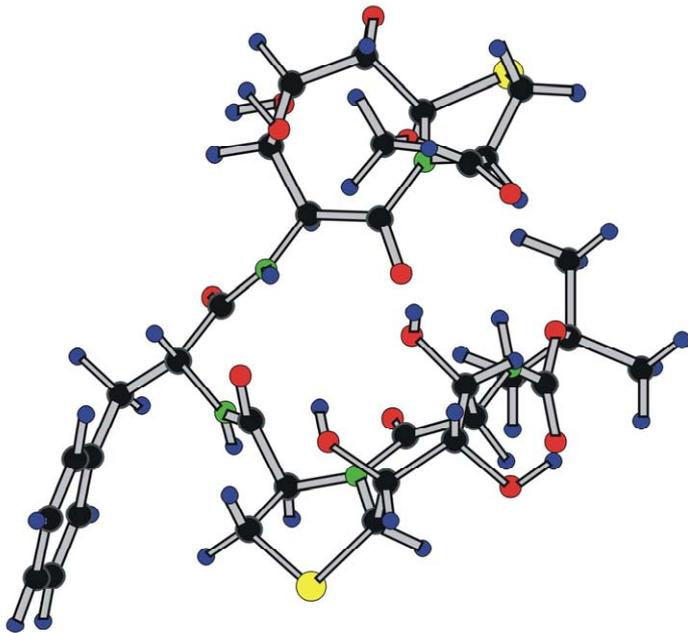
Doch bevor nun die größeren Peptide betrachtet werden, steht noch die Antwort auf die Frage im Raum, wie sich eine Änderung der Konfiguration des Phenylalanins auf die Gesamtkonformation dieser Peptide auswirkt.

Einige wichtige Punkte wurden schon gebracht, so unterliegt auch hier die Amidbindung mit ihrem Wasserstoffbrückenmuster einem dynamischen Prozeß, nur daß jetzt die chemische Verschiebung der 9A-OH, mehr Richtung Tieffeld als zuvor bei den Peptiden mit L-Phe, dafür spricht, daß in diesem Fall eine Konformation bevorzugt wird, in welcher diese Hydroxylgruppe als Protonendonator zum Carbonyl der Amidbindung fungiert.

Diese Aussage wird dann auch durch die restlichen Daten unterstützt, denn vergleichbar dem Fall zuvor, kann eine widerspruchslöse Verknüpfung mit den restlichen Parametern (Orientierung der Seitenketten und NOE-Muster von 6B-NH), nur dann erreicht werden, wenn der Hauptkonformation besagtes H-Brückenmuster zugewiesen wird.

Weiter ist auch hier die alternative Konformation (H-Brücke: DPhe-NH zu 9A-OH als Akzeptor) nur dann möglich, wenn die Ausrichtung der Benzyl-Seitenkette zum Thiazolidinring, nicht mehr vorausgesetzt wird (Abbildung **B.2.3.2.-16.**, Struktur rechts)

7.5BicA-DPhe-7,5BicB I
(H-Brücke 9A-OH zu CO-NH-DPhe)



7.5BicA-DPhe-7,5BicB II
(H-Brücke DPhe-NH zu 9A-OH,
ohne Ausrichtung der DPhe
Seitenkette zum Thiazolidinring)

Abbildung **B.2.3.2.-16.**: Darstellung nach der restrained MD (10x10ps, dann 10ps ohne restraints) erhaltenen Struktur für die 7,5BicA-DPhe-7,5BicB-Untereinheit der linearen Peptide
links: Strukturvorschlag für das Hauptkonformer mit H-Brücke „9A-OH-Donor“
rechts oben: Struktur für alternative H-Brücke „9A-OH-Akzeptor“
(MD ohne restraints DPhe-Seitenkettenabstand zu 2A-CH₂)

Beim nächsten Punkt, welcher behandelt werden soll, handelt es sich um die Ergebnisse aus der Strukturanalyse der beiden Dodekapeptide **106** und **107**.

Einige wichtige Aspekt, bezüglich der Konformation dieser beiden Verbindungen, wurden zuvor schon angesprochen, so konnte zum einen gezeigt werden, daß auch bei diesen Peptiden ein Gleichgewicht des Donor-Akzeptor-Verhaltens, zwischen 9-OH/3-CO und Phe-NH/9-OH, vorliegt.

Ebenso wurde anhand der entsprechenden Spektren gezeigt, daß für alle Amidprotonen der Aminosäuren bei der Titration mit D₂O in DMSO-d₆ ein Isotopeneffekt beobachtet werden konnte, infolgedessen diese sich, zumindest teilweise, in einer sequentiellen Wasserstoffbrücke zu einer Hydroxylgruppe befinden müssen.

Weiter wurde die Orientierung der Phenylalanin Seitenkette erörtert, wobei als Ergebnis für das Hauptrotamer eine gauche-trans-Konformation der beiden β-Protonen zu H-α, vergleichbar jener von L-PheA der Hexapeptide, vorgeschlagen wurde, also eine Konformation mit Ausrichtung der Benzylgruppe zum Thiazolidinring.

Was jetzt noch fehlt sind die NMR Daten, Kopplungskonstanten, chemischen Verschiebungen und Temperaturgradienten der Hydroxylgruppen und der Amidprotonen, sowie die Ergebnisse, welche aus der Bestimmung der Interprotonenabstände erhalten wurden, und hier insbesondere wiederum jene von 6-NH, um dadurch genaueres über die Orientierung dieser zweiten Amidbindung zu erfahren.

	106			107		
	δ [ppm]	3J [Hz]	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]	δ [ppm]	3J [Hz]	$\Delta\delta/\Delta T$ [ppb/K]
7A-OH	5.02	-	-1.43	5.08	4.9	
9A-OH	5.67	8.7	-0.22/-1.23*	5.66	8.5	-1.68
PheA-NH	8.39	8.5	-1.96	8.36	8.7	-1.68
6B-NH	8.12	8.2	-6.50	8.03	8	-5.58
7B-OH	4.91	6.4	-2.12	5.06	-	-2.10
9B-OH	5.90	8.7	-3.10/-3.50*	5.75	~8.5	-3.05
PheB-NH	8.56	7.4	-3.28			
GlyB-NH				8.49	5.9 (pt)	-2.90
6C-NH	8.25	8.2	-7.30	8.01	8	-5.58
7C-OH	4.97	6.1	-2.20	5.05	-	-3.57
9C-OH	5.89	8.7	-3.10/-3.50*	5.99	7.7	-4.32
PheC-NH	8.57	7.9	-3.00	8.43	8.5	-1.98
6D-NH	8.19	8.2	-7.12	8.04	8.2	-5.58
7D-OH	5.09	5.4	-4.21	5.18	5.1	-4.02
9D-OH	5.67	8.7	-0.22/-1.23*	5.76	8.2	-2.20
PheD-NH	8.67	7.4	-3.38			
GlyD-NH				8.67	5.9 (pt)	-2.90

Tabelle **B.2.-14.** : NMR Daten der Amid- und Hydroxylprotonen der beiden Dodekapeptide in DMSO-d₆
 *Infolge Signalüberlagerung von 9A- mit 9D-OH, bzw. 9B- mit 9C-OH bei 300K, war eine Unterscheidung dieser Signale im weiteren Verlauf der Temperaturmessung nicht möglich.

Zunächst sollen die Hydroxylgruppen an Position 9 einer genaueren Analyse unterzogen werden. Als Vergleich sind noch einmal die Werte gebracht, welche für die 9A-OHs der Hexapeptide mit L-Phe als AS (A) erhalten wurden.

$$\delta: \sim 5.6 \text{ ppm}; \quad {}^3J_{9A-OH, 9A} \sim 8.5 \text{ Hz}; \quad \Delta\delta/\Delta T: -1.6 \text{ ppb/K}$$

Betrachtet man nun die entsprechenden Daten dieser Peptide fällt auf, daß hier die Werte der Hydroxylgruppen an Position 9 der mittleren beiden Bizyklen B und C, doch deutlich von jenen der Hexapeptide abweichen, und zwar in sofern, daß sich diese jetzt den Werten noch weiter annähern, welche, aufgrund der Ergebnisse, die bei den zyklischen Peptiden erhalten wurden, für eine Situation mit Phe-NH in einer H-Brücke zu 9-OH, als Akzeptor, sprechen. So liegt die chemische Verschiebung bei höheren ppm (5.89-5.99 ppm), die 3J -Kopplung wird kleiner (7.7 Hz) und der berechnete Temperaturgradient vom Betrage größer (-3.1 bis -4.3 ppb/K)

Dies wäre ein Hinweis dafür, daß die Struktur nach außen hin mehr Dynamik zeigt, oder positiv ausgedrückt, zeigt sich für die mittleren Einheiten dieses Peptids jetzt eine noch stärkere Bevorzugung hin zu nur einer Konformation.

Gegen diese Vermutung spricht dann allerdings der Temperaturgradient von PheB- und PheC-NH, der gegen diesen Trend nun einen größeren Betrag aufweist (-2.0 bis -3.3 ppb/K im Gegensatz zuvor mit ~ -1.5 ppb/K).

Ergänzend zu den schon gebrachten Informationen über die Orientierung der Phe-Seitenkette sind in der nächsten Tabelle wiederum die chemischen Verschiebungen der diastereotopen Protonen an Position 2A-D gebracht

Tabelle **B.2.-15.**: chemische Verschiebung der diastereotopen Protonen an Position 2 von **107**, **108** in DMSO- d_6

AS X	106				107			
	L-PheA	L-PheB	L-PheC	L-PheD	L-PheA	GlyB	L-PheC	GlyD
	δ [ppm]	δ [ppm]	δ [ppm]					
2X-H ^{proR}	3.17	3.21	3.21	3.23	3.17	3.30 H ^t	3.17	3.29
2X-H ^{proS}	3.04	3.00	3.01	3.14	3.04	3.26 H ^h	2.98	3.29

Wie schon bei den Hexapeptiden zeigt sich jetzt wiederum deutlich der Einfluß der Aminosäure auf die chemische Verschiebung dieser diastereotopen Protonen, so ist auch in diesem Fall zu beobachten, daß, wenn Glycin dem Bizyklus folgt, kaum Dispersion der beiden Signale auftritt. Nimmt dagegen Phenylalanin diesen Platz ein, so ist zum einen ein klarer Unterschied in der Verschiebungen, sowie ein genereller Shift zu niedrigeren ppm vorhanden, wobei 2-H^{proS} das höherfeldige Proton ist, also jenes, welches näher zum Aromaten der Seitenkette hin orientiert ist (nur dieses diastereotope Proton zeigt den NOE zu Phe-H_{arom.}).

Ein struktureller Aspekt auf den bisher noch nicht eingegangen wurde, ist die Konformation des Thiazolidinringes. Hier deuten die Werte für die 3J -Kopplungskonstanten der CH₂-Gruppe dieses Fünfringes darauf hin, daß, und dies gilt für alle gezeigten linearen Peptide, ein dynamisches Verhalten dieses Strukturelements anzunehmen ist (ring puckering), so konnten hier immer gemittelte Werte (${}^3J_{2-HproS, 3} \sim 8.5$ Hz, ${}^3J_{2-HproR, 3} \sim 7.5$ Hz) erhalten werden, ganz im Gegensatz zu den zyklischen Hexapeptiden (hier z.B. ${}^3J_{2-HproS, 3} \sim 11$ Hz), bei welchen dem Thiazolidin eine klare Vorzugskonformation zugewiesen werden konnte.

Als letzter wichtiger Punkt für die Konformationsanalyse, stehen jetzt noch die Ergebnisse an, welche über die Interprotonenabstände der beiden Peptide erhalten wurden.

Der hierbei relevante Ausschnitt des ROESY-Spektrums des Dodekapeptides **106** wurde schon zu Beginn dieses letzten Kapitels gezeigt (Abbildung **B.2.3.2.-4.**). Aus Gründen der Vollständigkeit sei in der folgenden Abbildung noch das entsprechende 2D-Spektrum des zweiten Peptids **107** gebracht.

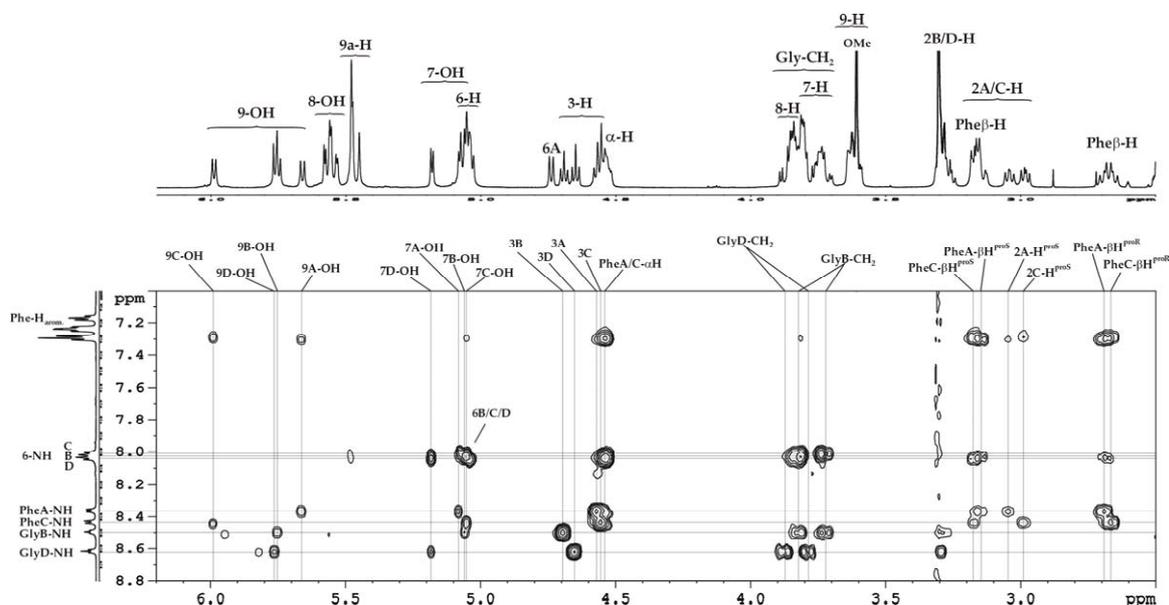


Abbildung **B.2.3.2.-17.**: 600MHz ROESY der Verbindung **107** in DMSO- d_6 , Ausschnitt NH-Bereich

Hier zeigt sich ein Umstand, welcher dann bei der Auswertung dieses Spektrums teilweise Probleme bereitete. So sind die einzelnen Signale zwar noch so weit separiert, daß hierüber eine Zuordnung geführt werden konnte, auch ist wiederum das Gleichgewicht um Amidbindung $C3-CONH$, mit den signifikanten NOEs (NH zu 3-H und 7-OH/9-OH) ersichtlich, und das NOE-Muster der Phe β -Protonen ist gleichfalls erkennbar, was anhand dieses Spektrums dann aber nicht mehr möglich war, und einen wesentlichen Punkt der Strukturanalyse zuvor darstellte, wäre die Integration der einzelnen, relevanten Kreuzsignale zu 6-NH, um hierüber die Interprotonenabstände zu berechnen, da diese weitestgehend Signalüberlagerung erfuhren. Folglich war hier nur eine grobe Abschätzung der Intensitätsverteilung möglich.

Im Falle des Peptids **106** hingegen war eine Integration der entsprechenden Signale möglich, die hier erhaltenen Werte sind in der folgenden Tabelle aufgezeigt.

106		r (6-NH/7-OH)	r (6-NH/7-H)	r (6-NH/Phe α -H)	r (6-NH/6-H)	r (6-NH/Phe-NH)
		[Å]	[Å]	[Å]	[Å]	[Å]
6B-NH	ROESY	3.5	3.0	2.4	3.1	3.7
	NOESY	3.0	2.6	2.3	2.8	2.9
6C-NH	ROESY	3.5	3.0	2.4	3.1	4.1
	NOESY	3.0	2.7	2.2	2.8	2.9
6D-NH	ROESY	3.3	3.0	2.4	3.2	3.8
	NOESY	3.0	2.7	2.2	2.9	2.9

Tabelle **B.2.-16.**: Berechnete Abstände aus den NOESY/ROESY-Spektren von **106** in DMSO- d_6

Hier weichen die erhaltenen Werte, einmal aus einem 2D-ROESY und das andere mal aus einem 2D-NOESY zwar leicht voneinander ab, zeigen aber schon die zuvor beobachtete Tendenz.

Die größte Abweichung ist erwartungsgemäß für die Signale zu den ebenfalls aziden Protonen 7-OH und Phe-NH zu beobachten. Es wurden dann zum einen, wie auch schon bei der MD zuvor, die Werte zu 7-OH nicht mit einbezogen, da diese zudem grundsätzlich stark abhängig von deren Ausrichtung sind, welche schwer zu ermitteln ist, und mit Sicherheit mehrere Einstellungen aufweist, und weiter wurde für den NHNH-NOE ein Abstand von 3.3Å gewählt. (Die restlichen restraints die verwendet wurden waren: 6NH/7H 2.9Å; 6NH/Phe α -H 2.4Å und 6NH/6H 3Å)

Zusammenfassend kann dann gesagt werden, daß vor allem im Falle des Dodekapeptids **106** Boc-(7,5Bic-LPhe)₄-OMe, ein konformationelles Verhalten angenommen werden kann, wie dies zuvor für die Sequenz 7,5BicA-LPhe-7,5BicB postuliert wurde.

Somit wurde jetzt für die Sequenz 7,5Bic-(LPhe-7,5Bic)₃ eine Moleküldynamik durchgeführt, welche auf denselben Voraussetzungen wie zuvor basierte :

- H-Brücke Phe-NH zu 9-OH (Akzeptor)
- Den Werten für die Abstände von 6-NH (s.o.) aus den NOE-Daten
- Seitenkettenrotamer mit Ausrichtung der Benzylgruppe zu Thiazolidinring

Die Moleküldynamiksimulation, welche hier durchgeführt wurde, bestand aus einem Zyklus von 10x10ps. In der folgenden Abbildung sind dann zum einen eine Überlagerung der hierbei erhaltenen 10 Strukturen gezeigt, und rechts davon die gemittelte und nochmals energieminierte Struktur, resultierend aus diesen 10 Strukturen.

(Diese gemittelte Struktur wurde nochmals für 10ps, ohne jegliche restraints minimiert, wobei die hierbei erhaltene Konformation keine signifikanten Abweichungen erkennen ließ, und praktisch deckungsgleich mit der Ausgangsstruktur war)

7,5Bic-LPhe-7,5Bic-LPhe-7,5Bic-LPhe-7,5Bic

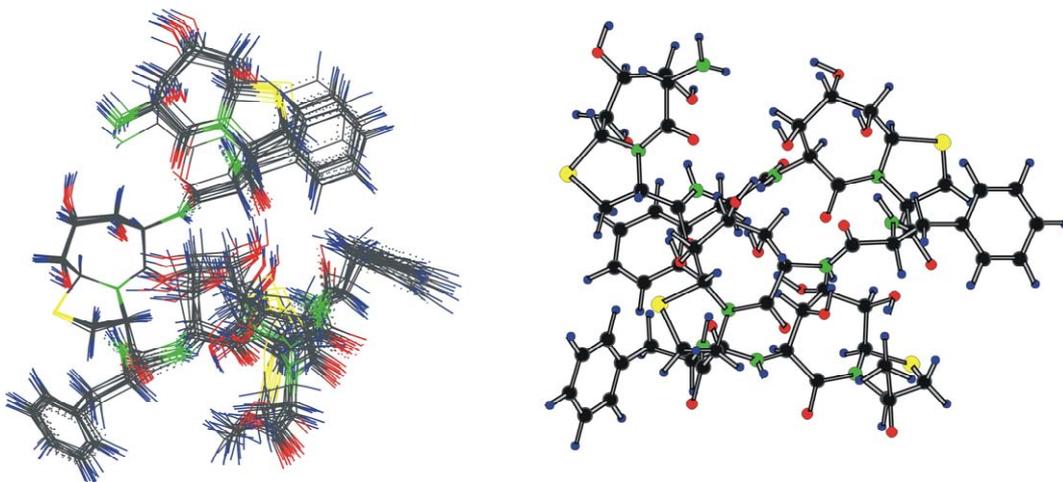


Abbildung **B.2.3.2.-18**: Konformation aus einer 10x10ps MD
links: Superposition der 10 Strukturen
rechts: Struktur aus Mittelung dieser 10 „Schnappschüsse“

Da es relativ schwer ist, die hier erhaltene Konformation in einer übersichtlichen Weise darzustellen, wird in der folgenden Abbildung zum einen auf die Wasserstoffatome verzichtet (Struktur links) und in der zweiten Darstellung, rechts, ist dann nur noch das Peptidrückgrat gebracht.

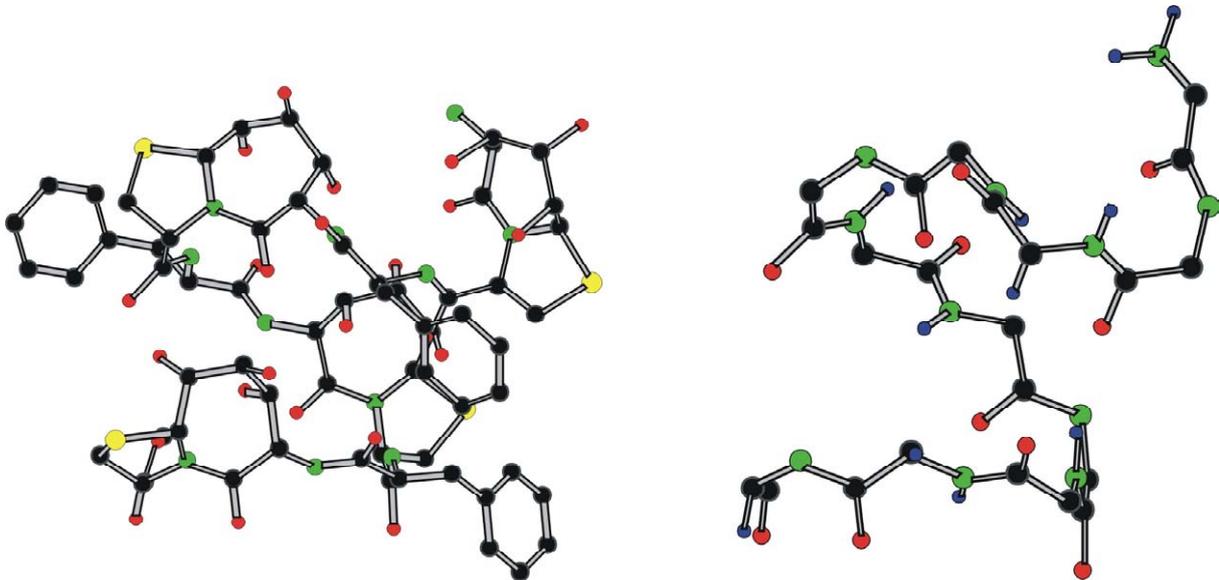


Abbildung B.2.3.2.-19.: Konformer aus 10x10ps MD (links: ohne H-Atome, rechts: nur Peptidrückgrat)

Hier zeigt sich jetzt eine Art helikale Struktur, wobei in diesem Fall keine gestreckte Helix vorliegt, wie beim Homooligomer, sondern nunmehr eine, mit einer niedrigeren Ganghöhe. Prinzipiell ist dies natürlich nur ein Strukturvorschlag für eine plausible Konformation. Allein durch die angesprochene Dynamik der Amidbindung von Phe-NH, ergeben sich, unter der Voraussetzung, daß alle anderen Freiheitsgrade ausgefroren sind, schon acht verschiedene Konformere. Was hier zu sehen ist, ist nur die Struktur welche nach Auswertung der Daten am plausibelsten eine bevorzugte Stellung unter all den denkbaren Konformeren einzunehmen im Stande zu sein scheint, wobei nicht einmal ausgeschlossen werden kann, daß diese Konformation praktisch nie populiert wird.

(Um das gesagte vielleicht noch etwas anders zu verdeutlichen:

Wäre es möglich, tatsächlich so etwas wie einen Schnappschuß eines Peptides in Lösung zu erlangen, welcher dieses dann in seiner momentanen Konformation zeigen würde, und gäbe es ein Gewinnspiel, bei welchem man tippen könnte, welche Konformation eben auf diesem Bild zu sehen ist, so erscheint, nach Auswertung der NMR Daten, jene soeben gezeigte Struktur die zu sein, welche die größten Gewinnchancen erwarten ließe)

Um eine Idee zu vermitteln, wie diese Struktur im „Idealfall“ aussehen könnte, wurde das alternierende Bic-LPhe Peptid noch verlängert, und eine Struktur aus $7,5\text{Bic}-(\text{LPhe-Bic})_5$ aufgebaut.

Da die Werte aus den NMR-spektroskopischen Untersuchungen der Sequenzen $7,5\text{Bic-LPhe-7,5Bic}$ näherungsweise bei allen linearen Peptiden immer die gleichen Ergebnisse brachten, folgt hieraus im Idealfall ein symmetrischer gleichförmiger Aufbau dieser Peptide.

Somit ergibt sich die in Abbildung **B.2.3.2-20.** gezeigte Struktur, bei der man ein Strukturelement vergleichbar den zyklischen Hexapeptiden wiederfindet, mit dem Bizyklus in der langen Seite und Phenylalanin in der engeren Windung.

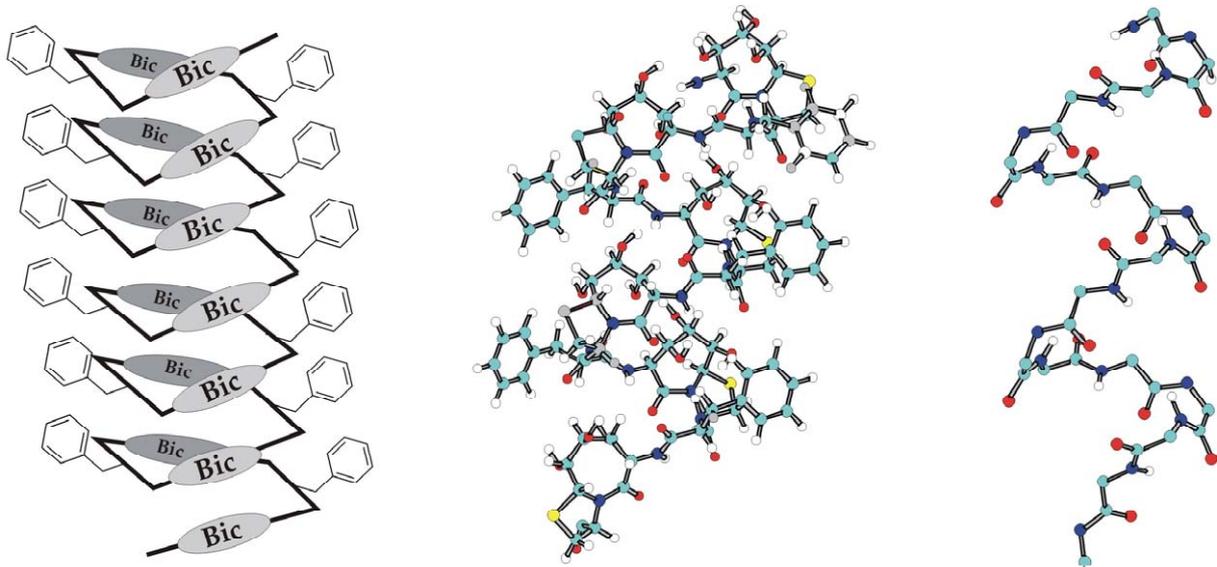


Abbildung **B.2.3.2-20.**: Links: Schema einer idealisierten Struktur von poly(7,5Bic-LPhe)
 Mitte: eine Konformation von ideal-7,5Bic(LPhe-7,5Bic)₅
 Rechts: Peptidrückgrat von ideal-7,5Bic(LPhe-7,5Bic)₅

Noch mehr als bei der zuvor gezeigten Struktur des Dodekapeptids gilt hier, daß das, was soeben gezeigt wurde, nicht die Konformation dieser Peptide in Lösung, ist, es ist, unter der Voraussetzung, daß alle Phe-NHs als Donor zu den 9-OHs fungieren, eine Konformation, die so wie sie hier vorgestellt wird, mit den erhaltenen Daten aus den NMR-spektroskopischen Untersuchungen in Einklang zu bringen ist.

Es handelt sich hierbei um ein Konformer, welches plausibel erscheint, und unter allen denkbaren mit zu den wahrscheinlichsten zählt.

In dieser Abbildung geht es lediglich darum, ein Bild zu vermitteln, um welche Struktur sich diese linearen Peptide in ihrem dynamischen Verhalten bewegen.

2.3.2.4. Copolymere des 7,5Bicykluses mit Glycin als Aminosäure

In diesem letzten Unterkapitel werden noch die linearen Peptide behandelt, welche sich alternierend aus dem 7,5Bicyklus und Glycin aufbauten, also Peptide des Typs $(7,5\text{Bic-Gly})_n$.

Hier sollte zum einen untersucht werden, inwieweit sich die Substitution von Phenylalanin, durch die, im allgemeinen mehr Dynamik zulassende, Aminosäure Glycin auf das Gesamtsystem auswirkt.

Ein zweiter Punkt, welcher dann von eher speziellem Interesse war, war der Gedanke, daß solch ein Peptid, aufgebaut aus den identischen Tripeptiduntereinheiten 7,5Bic-Gly, vergleichbar dem Collagen, ebenfalls aufgebaut aus Tripeptiduntereinheiten, hier $(\text{Pro-Hyp-Gly})_n$, möglicherweise auch in der Lage sein könnte eine diesbezügliche Tripelhelix auszubilden (Abbildung **B.2.3.2-21.**), man somit ein Collagenmimetikum in der Hand hätte [136]-[139]. Hierauf hin wurden dann auch größere Peptide, bis $n = 6$, der Sequenz 7,5Bic-Gly synthetisiert.

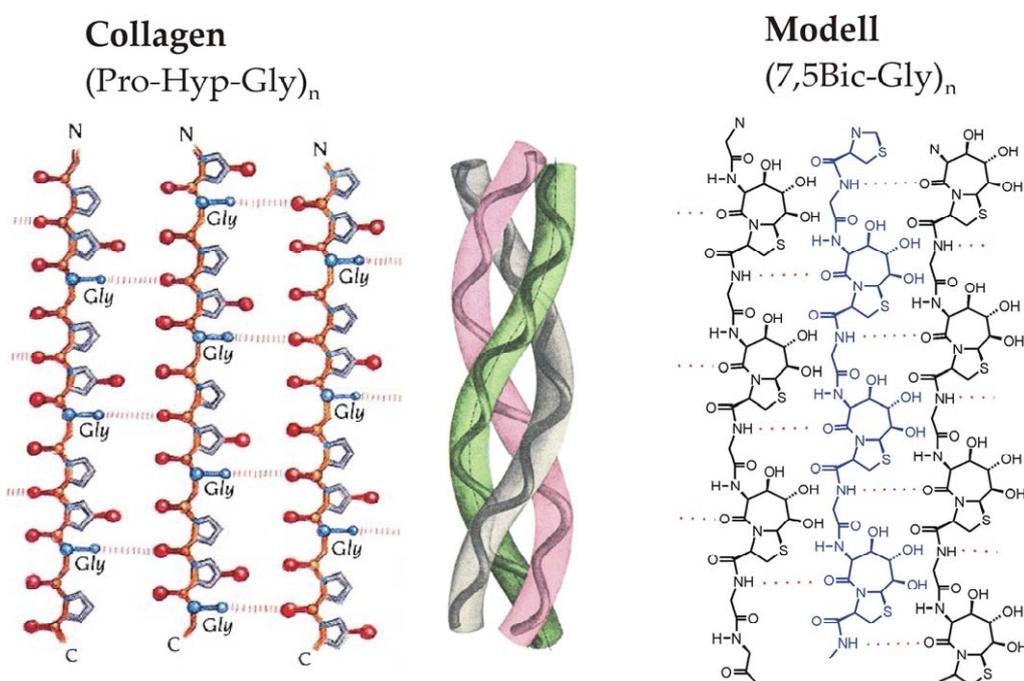


Abbildung **B.2.3.2-21** : links: Strukturmodell von natürlichem Collagen
rechts: Modell eines Collagenmimetikums aufbauend auf 7,5Bic-Gly

2.3.2.4.1. Synthesen

Wie angedeutet wurden in dieser Arbeit Musterpeptide, aufgebaut auf 7,5Bic-Gly-Untereinheiten, bis hin zu einem Oktadekapeptid synthetisiert.

Ausgangspunkt war das zuvor schon vorgestellte Hexapeptid **87**. Auf dieses wurde zuerst ein eine Tripeptideinheit, 7,5Bic-Gly, gekuppelt, womit folglich das aus drei Dreiereinheiten bestehende Nonapeptid **108** erhalten wurde. Dieses wurde nun nochmals verdoppelt zur Endverbindung **109**.

Da sich im Gegensatz zu den unpolaren Dodekapeptiden **106** und **107**, welche problemlos flashchromatographisch aufgereinigt werden konnten, schon bei Verbindung **108** erste kleine-

re Probleme bei diesem Reinigungsschritt zeigten, die Zielverbindung konnte zwar sauber isoliert werden, eluierte aber sehr spät, bei schon sehr polaren Lösungsmittelverhältnissen, war die Entscheidung nun, das Oktadekapeptid **109** direkt nach der Kupplung gleich über HPLC aufzureinigen. Dies gelang.

Abbildung B.2.3.2.-22. zeigt dann die soeben angesprochene Synthese.

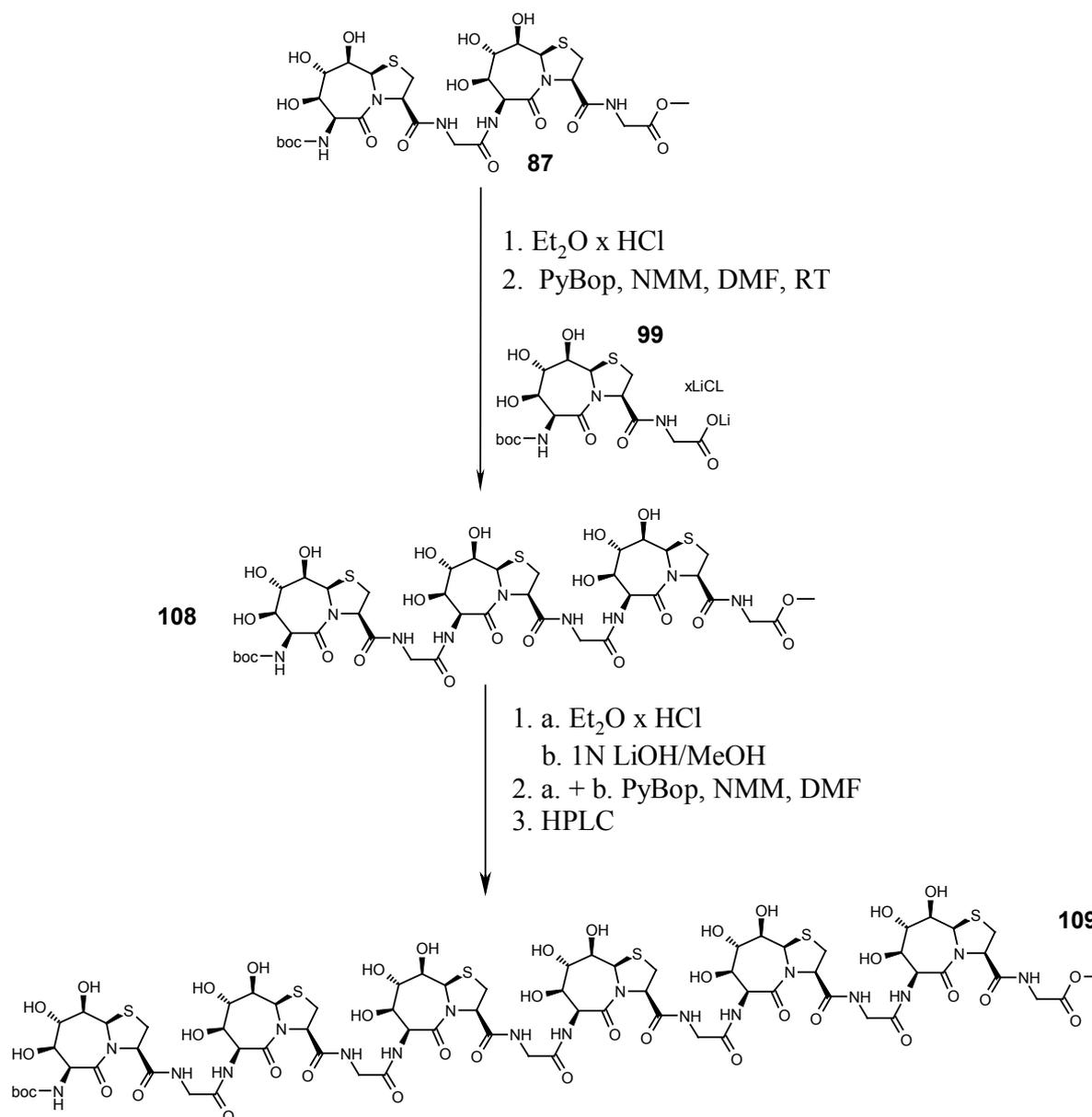


Abbildung B.2.3.2.-22.: Synthese von Verbindungen des Typs $(7,5\text{Bic-Gly})_n$.

2.3.2.4.2. Strukturanalyse

Der erste Punkt, welcher behandelt werden soll, ist die Frage, ob die hier gezeigten Verbindungen, vergleichbar dem Collagen, ebenfalls eine Tripelhelix auszubilden in der Lage waren. Auf das Vorhandensein solch einer Struktur, konnten dann jedoch keinerlei Hinweise erhalten werden.

- So zeigten die CD-Spektren der Verbindung **109**, aufgenommen bei verschiedenen Temperaturen, keine signifikanten Änderungen (Abbildung **B.2.3.2.-23**.)

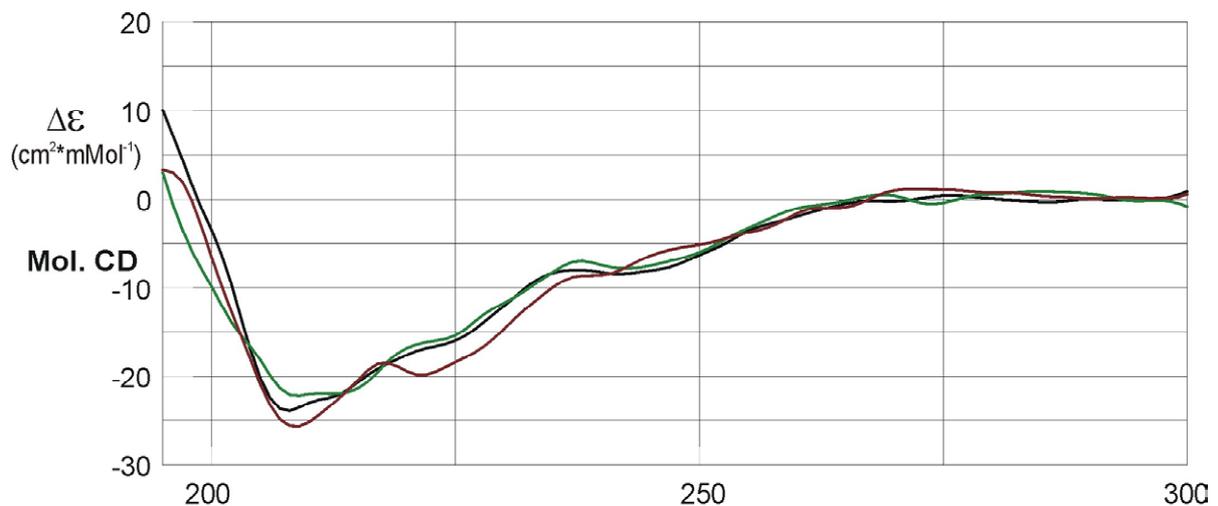


Abbildung **B.2.3.2.-23**: CD Spektren der Verbindung **109** bei unterschiedlichen Temperaturen (schwarz 18.4°C, grün 39.1°C, rot 60.4°C)

- Bei einer Temperaturreihe der ¹H-NMR-Spektren konnte nur der „normale“ Temperaturshift (gleichförmige Verschiebungsänderung der Signale), beobachtet werden, aber keine signifikante Änderung des Spektrenbildes.
- 2D-ROESY-Spektren in DMSO_d₆ und H₂O/D₂O 10:1 (275K, 300K, 330K), zeigten keine NOEs welche nur durch die beschriebene Überstruktur zu erklären gewesen wären. Schon allein die Anzahl der hier auftretenden Kreuzsignale widersprach einer diesbezüglichen Anordnung der linearen Peptide, so waren es schlicht zu wenige. Auch konnte anhand der, bei verschiedenen Temperaturen aufgenommenen, Spektren in Wasser keine bedeutenden Veränderungen des hier auftretenden NOE-Musters beobachtet werden
- „Es ging auf keine Kuhhaut“:
Eine Untersuchung ob das Oktadekapeptid **109** an Collagen bindet, führte ebenfalls zu einem negativen Resultat (Hierzu wurde Collagen aus Kälberhaut in D₂O/Deuteroessigsäure → pH 3 gelöst und dann **109** zugegeben)
Es konnte dann weder Verbreiterung, noch eine Abnahme der Intensität der Signale von **109** beobachtet werden. Auch ein ebenfalls durchgeführtes STD-Experiment [140] zeigte,

daß keine nennenswerte Affinität des Modellpeptids zum natürlichen Vorbild vorhanden ist.

Nachdem zuerst jetzt eine sehr spezielle Fragestellung im Vordergrund stand, soll im folgenden das Interesse wieder darauf gerichtet werden, welche allgemeinen strukturellen Eigenschaften diesem letzten hier vorgestellten Verbindungstyp zugeschrieben werden kann.

Boc-(7,5Bic-Gly)_n-OMe

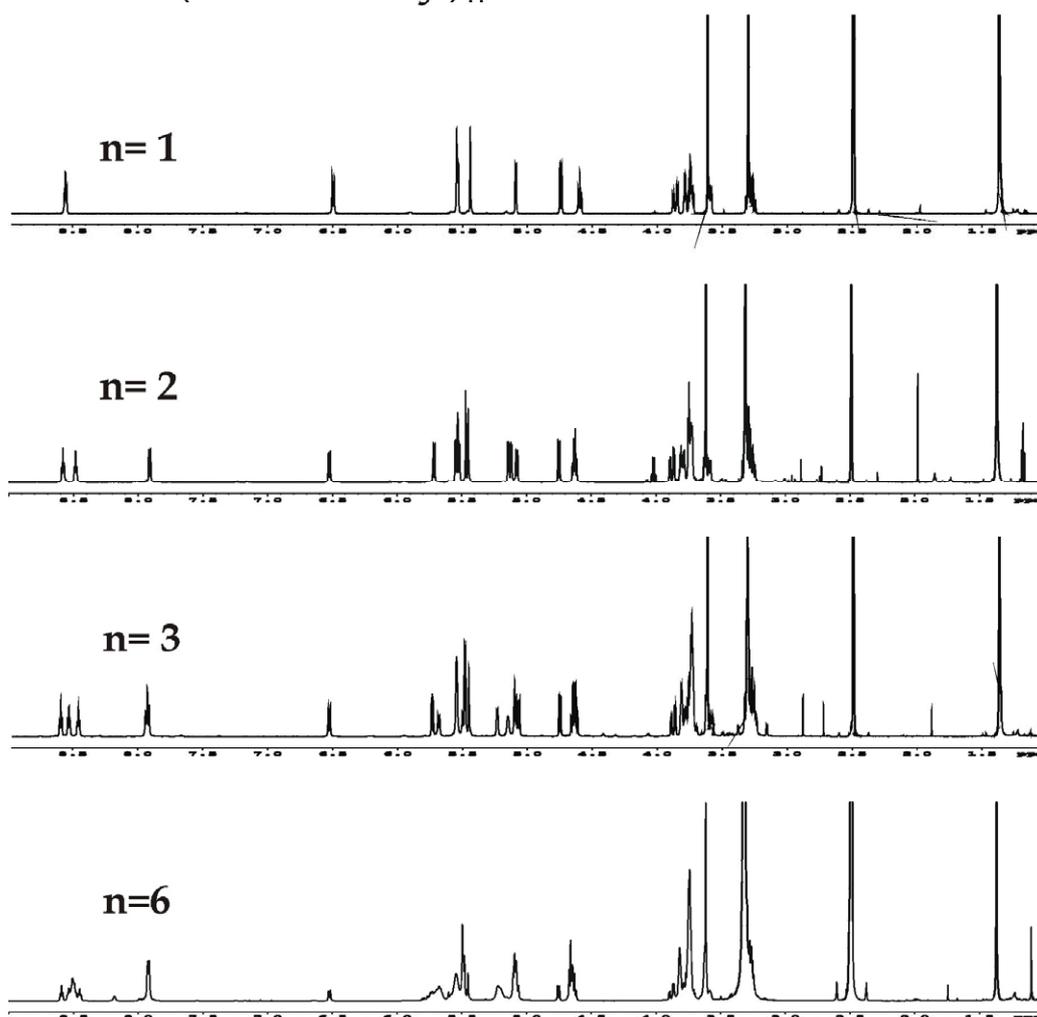


Abbildung B.2.3.2.-24.: Vergleich der 600MHz ¹H-NMR Spektren der linearen Peptide des Typs Boc-(7,5Bic-Gly)_n-OMe in DMSO-d₆

War schon die Strukturanalyse der linearen Peptide zuvor nicht unproblematisch, so kommt bei diesen letzten Verbindungen noch erschwerend hinzu, daß neben der schon beschriebenen Dynamik der Amidbindung (siehe z.B. ROESY der Verbindung **87** mit NOEs GlyA-NH zu 9A-OH/7A-OH und 3A-H, Abbildung B.2.3.2.-7., am Anfang dieses letzten Kapitels), jetzt auch noch die Informationen wegfallen, welche zuvor über die Seitenketten erhalten wurden. Was ferner noch erhebliche Probleme bereitete, waren Signalüberlagerung, hier insbesondere jene der Protonen der Methylengruppen des Glycins und derer an Position 2 des Bicykluses,

so daß hier keine Unterscheidung mehr möglich war, und diese somit auch nicht mehr getrennt den jeweiligen Bausteinen (7,5BicA-F bzw. GlyA-F) zugewiesen werden konnten. So mußte dann eine genaue Zuordnung der Protonen des größten Peptides **109** als nahezu aussichtslos angesehen werden, woraufhin dementsprechend nur noch eine Unterteilung der einzelnen Signale erfolgte (also z.B. 9-OH, aber nicht mehr 9A-OH, 9B-OH etc.).

Aber nicht nur bei der Zuordnung bereitete diese Überlagerung Probleme, sondern hiermit ging auch eine weitere wichtige Information bezüglich des räumlichen Baus dieser Moleküle verloren, denn lieferte zuvor noch der 6-NH/Phe α -H-NOE wichtige Hinweise auf die Orientierung dieser Amidbindung, so waren diesbezügliche Aussagen über die entsprechenden Protonen 6-NH/Gly-CH₂ jetzt nicht mehr möglich, zumal die beiden diastereotopen Protonen des Glycins auch noch von den Signalen von 7-H überlagert wurden.

Aber nicht nur die Signale der Protonen, welche zuvor wichtige Kreuzsignale zu 6-NH zeigten, waren überlagert, sondern auch jene von 6-NH selbst, zumindest in soweit, daß eine Integration der Kreuzsignale im ROESY bzw. NOESY erschwert bis unmöglich war.

Somit bleibt zunächst nur eine Betrachtung der chemischen Verschiebungen, Kopplungen und Temperaturgradienten der Hydroxyl- bzw. Amidprotonen, um über mögliche Analogien zu den zuvor gezeigten Verbindungen, Anhaltspunkte bezüglich der Konformation dieser neuen Verbindungen zu erhalten.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind hier zusätzlich zu Trimer **108** nochmals die Daten von Monomer **84** und Dimer **87** gebracht. Da, wie zuvor erwähnt, eine genaue Zuordnung von Hexamer **109** nicht mehr möglich war, müssen diese Daten entfallen.

108	7A-OH	9A-OH	GlyA-NH	6B-NH	7B-OH	9B-OH	GlyB-NH	6C-NH	7C-OH	9C-OH	GlyC-NH
δ	5.09	5.50	8.46	7.93	5.15	5.68	8.53	7.92	5.23	5.73	8.59
3J	4.6	~10	5.9	8.5	5.1	8.5	5.9	8.5	5.1	8.2	5.9
$\Delta\delta/\Delta T$	-1.8		-2.53	-4.58	-3	-2.20	-2.35	-3.95	-3.8	-2.35	-3.0
87											
δ	5.12	5.52	8.49	7.91	5.14	5.72	8.58				
3J	4.4	8.8	5.8	8.2	5.2	8.2	5.8				
$\Delta\delta/\Delta T$	-1.26		-2.12	-4.31	-3.70	-2.32	-2.86				
84											
δ	5.09	5.54	8.56								
3J	4.4	8.2	6.0								
$\Delta\delta/\Delta T$	-1.87		-3.17								

Tabelle **B.2.-17.**: NMR Daten der Amid- und Hydroxylprotonen der Verbindungen (7,5BicGly)₁₋₃ in DMSO-d₆

Bei der Betrachtung dieser Daten zeigt sich nun nichts wesentlich neues. In erster Linie findet der zuvor schon angesprochene Flip der Amidbindung hier seine Bestätigung, da zum einen sowohl 9-OH als auch Gly-NH einen Temperaturkoeffizienten aufweisen, welcher vom Betrag unter oder knapp über 3ppb/K liegt und die Verschiebungen/Kopplungen von 9-OH sich wiederum in einem Bereich zwischen Akzeptor und Donor, so wie dieser zuvor definiert wurde, bewegen.

Bemerkenswert sind dann nur noch die Temperaturgradienten von 7-OH, wobei allen 3 Peptiden für 7A-OH ein Betrag von kleiner 2 erhalten wurde, während die anderen, 7B- und 7C-OH, vom Betrag über 3ppb/K lagen, wobei es hierbei dann bei der schlichten Feststellung dieses Sachverhalts bleiben muß, da eine schlüssige Erklärung für diese Verhalten momentan nicht vorliegt.

Hierzu muß prinzipiell gesagt werden, daß speziell diese Hydroxylgruppe einige Probleme bereitet, so fällt z.B. bei den beiden Dodekapeptiden 7D-OH durch einen Wert von -4ppb/K auf, während die restlichen, bis auf eine, einen Temperaturkoeffizienten von etwa -2ppb/K haben.

Der Versuch, die Werte der 7-OHs damit zu erklären, daß 7-OH eine H-Brücke zu 9-OH macht, wenn diese als Donor zum Carbonyl fungiert, scheitert zumindest teilweise, denn hierbei müßten sich beide Temperaturkoeffizienten in dieselbe Richtung bewegen, dem wiederum widerspricht z.B. Verbindung **106**, mit 7D-OH -4.21ppb/K (max. Betrag) und 9D-OH $-0.22/-1.23\text{ppb/K}$ (min. Betrag).

Als letzte Möglichkeit, vielleicht doch noch etwas mehr über die konformationellen Gegebenheiten dieser Verbindungen zu erfahren, bleiben noch die Spektren über die Interprotonenabstände.

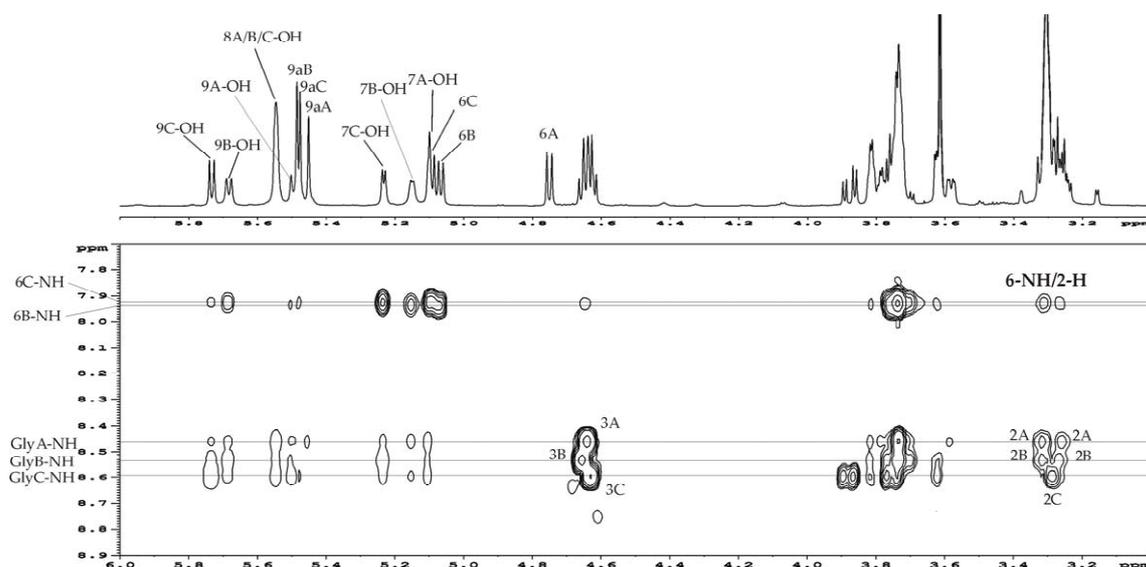


Abbildung B.2.3.2.-25.: 600MHz ROESY der Verbindung **108** in DMSO- d_6

Bei dem oben gezeigten Spektrum fallen dann vor allem die NOES von 6-NH zu 2-H auf, ein NOE wie er so bisher noch nicht beobachtet wurde, nur tritt hier dann wieder das Problem der Signalüberlagerung auf, so daß diese NOEs nicht eindeutig zugeordnet werden können, das einzige was gesagt werden kann, ist daß 6B- und/oder 6C-NH einen NOE zu 2B-H^h und 2A und/oder 2B-H^t zeigt/zeigen, wobei am wahrscheinlichsten ein NOE 6B-NH/2A-H und 6C-NH/2B-H anzunehmen ist, mit der möglichen Erklärung, daß durch das Mehr an Flexibilität, infolge der Methylengruppe, sich diese Protonen jetzt näher kommen können.

Womit eigentlich schon das Stichwort geliefert wäre, wenn man versuchen sollte eine mögliche Aussage über diese letzten Strukturen zu machen. So ist nach allem bisher gebrachten

anzunehmen, daß ein ähnliches strukturelles Verhalten wie zuvor bei den Verbindungen mit Phenylalanin wahrscheinlich ist, nur daß diese Moleküle erwartungsgemäß, noch flexibler, dynamischer sind als die anderen zuvor.

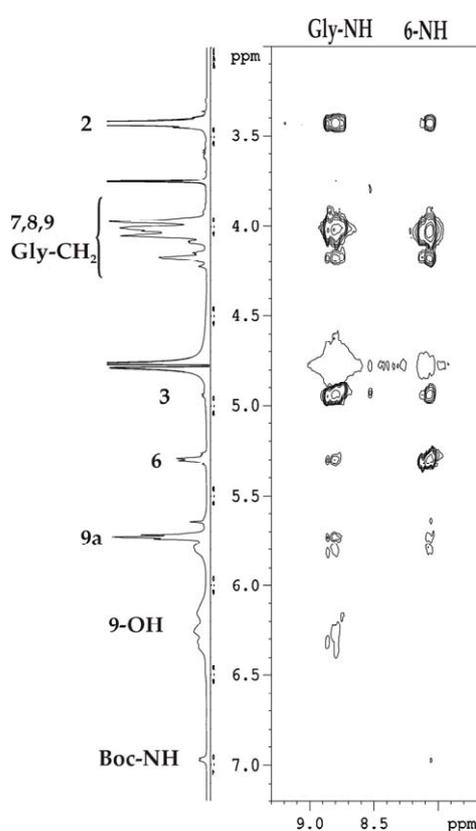


Abbildung B.2.3.2.-26.: 600MHz ROESY-wg von **109** in H₂O/D₂O 9:1 bei 300K

Die nächsten beiden Abbildungen zeigen dann noch die entsprechenden ROESY Ausschnitte des Hexamers **109** in DMSO_{d6} bzw. in H₂O/D₂O 9:1 (300K). Wie schon beim Trimer **108** zeigt auch diese Verbindung NOEs von 6-NH zur Methylengruppe des Thiazolidinringes (2-H) sowie zu 3-H, wobei letzterer NOE nur in Wasser so deutlich erscheint.

Hieraus jetzt näheres über die Struktur auszusagen, dafür reicht diese Information einfach nicht aus, so daß es bei der zuvor aufgestellten Vermutung belassen werden muß, daß hier anzunehmen ist, daß ähnliche strukturelle Verhältnisse wie bei den Peptiden mit Phe vorliegen, zumindest spricht nichts dagegen, und man es insgesamt aber mit einer dynamischeren Konformation zu tun hat.

Weshalb nun nur noch der letzte erwähnenswerte Punkt folgen soll. Wie im Spektrum links zu sehen, waren in Wasser schon bei Zimmertemperatur klar Signale für 9-OH zu beobachten, welche auch im COSY-wg deutlich Kreuzsignale zu 9-H zeigten (Abbildung B.2.3.2.-29., übernächste Seite). Bei 275K zeigten dann auch 7-OH und 8-OH entsprechende Kopplungssignale

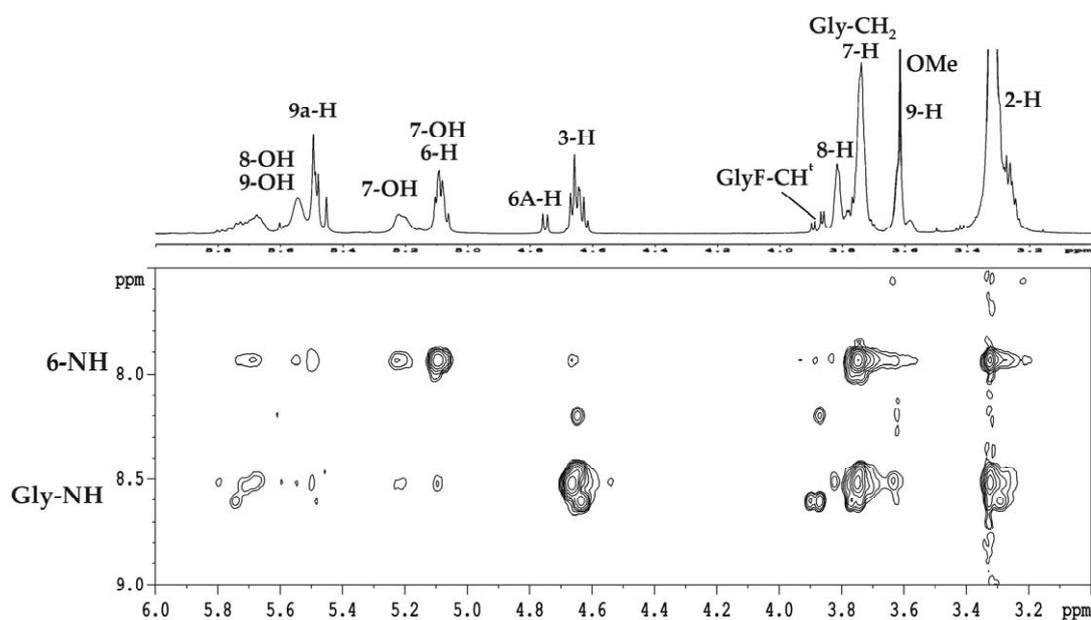


Abbildung B.2.3.2.-27.: 600MHz ROESY der Verbindung **109** in DMSO-d₆ bei 300K

Auf den letzten Seiten folgt deshalb zuerst die Temperaturreihe in Wasser, und zum Schluß noch die beiden angesprochenen DQF-COSYs (Abbildung B.2.3.2.-29. und B.2.3.2.-30.).

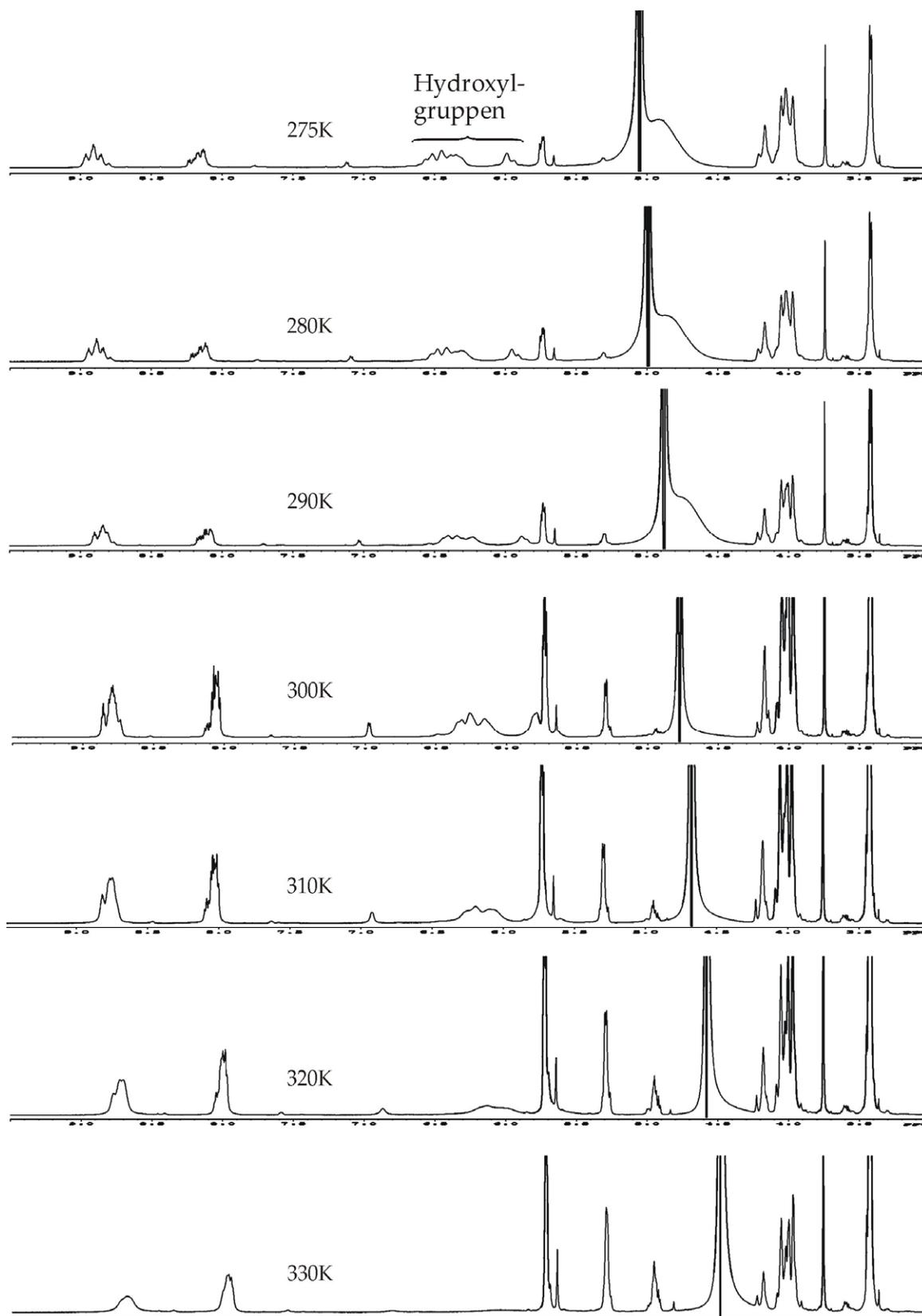


Abbildung B.2.3.2.-28.: Temperaturreihe des Hexamers **109** in H₂O/D₂O 10:1, 600MHz ¹H-watergate NMR

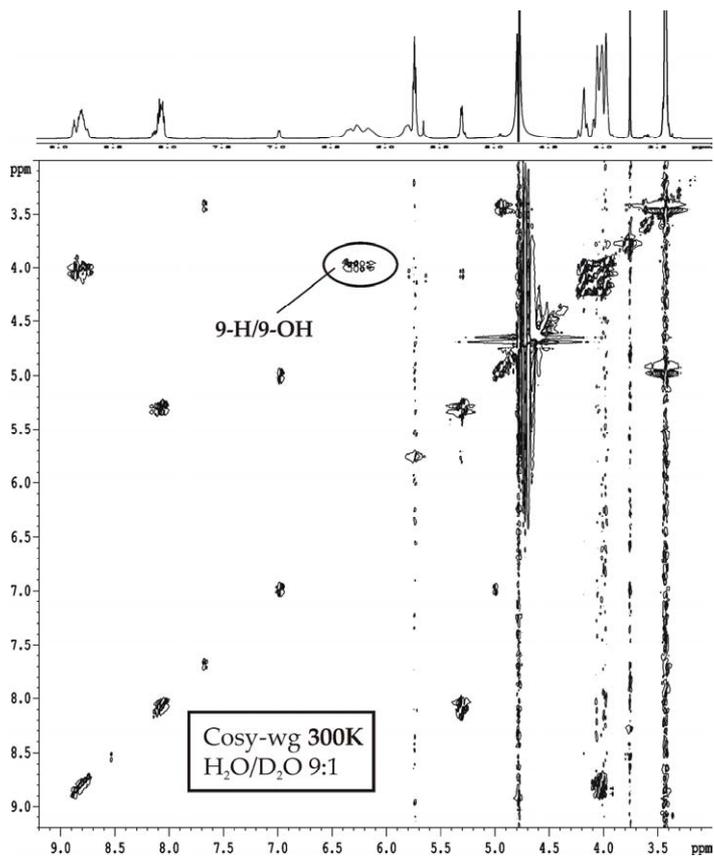


Abbildung B.2.3.2.-29.: 600MHz COSY-wg 300K von **109** in H₂O/D₂O 9:1

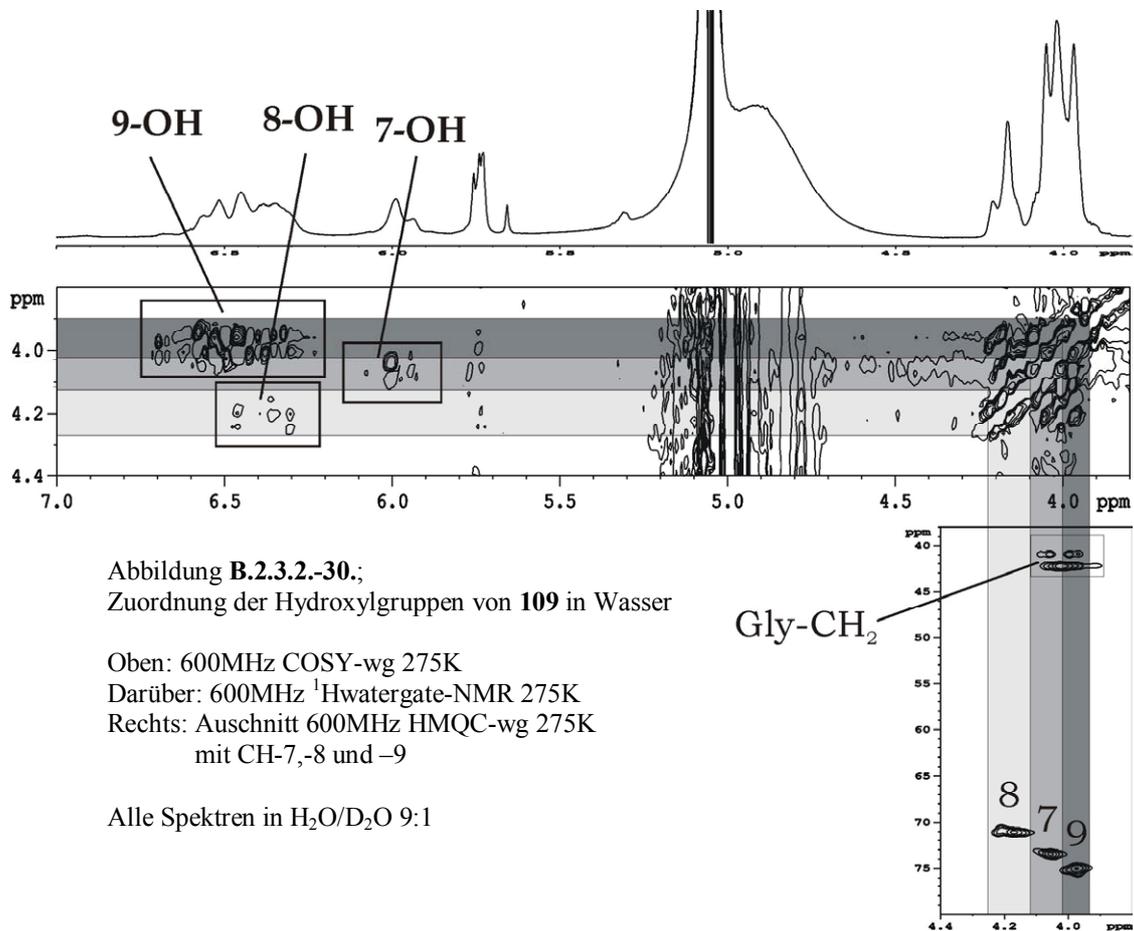


Abbildung B.2.3.2.-30.;
Zuordnung der Hydroxylgruppen von **109** in Wasser

Oben: 600MHz COSY-wg 275K
Darüber: 600MHz ¹H-watergate-NMR 275K
Rechts: Ausschnitt 600MHz HMQC-wg 275K
mit CH-7,-8 und -9

Alle Spektren in H₂O/D₂O 9:1

3. Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Arbeit

- Die Synthese des 7,5-Bizyklus, ein Dipeptidisoester, wurde signifikant verbessert
- Ein neuer 6,5- und 5,5-Bizyklus wurden synthetisiert
- Ein mit einer Seitenkette modifizierter 6,5-Bizyklus konnte dargestellt werden
- Es wurde ein Konzept zur selektiven Modifikation des 7,5-Bizyklus entwickelt
- Alternativ zur Position 6 konnte am 7,5-Bizyklus eine Stickstofffunktion an Position 8 und 9 eingeführt werden
- Es wurde ein Dipeptidbausteine synthetisiert, welcher Ionenbindungseigenschaften zeigt
- Für all diese hier erhaltenen Bausteine wurden Strukturanalysen über NMR und teilweise über Kristallstrukturen durchgeführt.
- Verschiedene Reaktionen wurden auf ihre Mechanismen hin untersucht (NMR-Kinetik).
- Es wurde ein 6,5-bizyklischer Aromat synthetisiert, welcher fluoreszierende Eigenschaften besitzt, dieser konnte in mehrere Modellpeptide eingebaut werden.
- Der aromatische Baustein wurde in der AG Beck-Sickinger an unterschiedlichen Positionen in ein NPY Peptid eingebaut, diese zeigten weiterhin Rezeptoraffinität
- Es wurde ein PP II –Helix Mimetikum synthetisiert (Strukturermittlung über NMR)
- Es wurden sechs zyklische Hexapeptide des Typs zyκλο(7,5Bic-AS-7,5-Bic-AS) synthetisiert. Über NMR konnten ihre Konformationen bestimmt werden, hiermit gelang es dann ein Modell zu entwickeln, welches das konformationelle Verhalten dieser Peptide zu beschreiben in der Lage ist.
- Die hierbei erhaltene linearen Peptide wurde ebenfalls auf ihre Konformation hin untersucht.
- Es wurden zwei zyklische Peptide mit dem Aromaten als Fluoreszenzmarker synthetisiert, und ihre Konformation über NMR aufgeklärt.
- Es wurde versucht ein Collagenmimetikum zu synthetisieren, das hier erhaltene Oktadekapeptid zeigte aber noch keine diesbezüglichen Eigenschaften.

C. Experimenteller Teil

1. Allgemeines:

Lösungsmittel:

- technische LM wurden durch Destillation gereinigt
- abs. LM wurden über Molsieb gelagert
- DCM wurde über Calciumhydrid getrocknet
- zur Peptidsynthese wurde „DMF für die Peptidsynthese“ verwendet.

Analytische Dünnschichtchromatographie

- Plastikfolien Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck)
- DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck)
-

Detektion:

- Ninhydrin 1g in 100ml EtOH
- Mostain (190ml H₂O, 10ml H₂SO₄ konz., 0.2g Cer-IV-Sulfat, 10g Ammonium-Molybdat Tetrahydrat)
- UV-Absorbtion/Fluoreszenzauslöschung

Präparative Säulenchromatographie

- Kieselgel Merck Geduran Kieselgel 60
- Kieselgel Fluka Silikagel 60 „für die Flash-Chromatographie“ Korngröße 0.040-0.063mm

CD-Spektren

Jasco CD 710

Fluoreszenzmessungen

Hitachi F 4500

HPLC

analytisch:

Agilent 1100: G1312A BinPump

Säule: Phenomenex Luna C18 (2) 150mm/4,6/3 μ m

präparativ:

Agilent 1100: Preparative Pump G1361A

Säule: Phenomenex Luna C18 (2) 250x21.2mm, 10 μ m

Knauer HPLC-System präparativ: 2x Well Chrom HPLC Pump K-1001 (50ml Pumpenkopf)

Säule: Phenomenex Luna C18 (2) 250x21.2mm, 10 μ m

Massenspektren:

- modifiziertes Finnigan MAT 312/AMD 5000 (FAB-Spektren, Matrix: NBA oder Glycerin)
- Finnigan MAT 95
- Finnigan MAT SSQ 710A
- ThermoQuest Finnigan TSQ 7000

Elementaranalysen

- elementar vario EL III

Röntgenstrukturanalyse:

Stoe-Imaging Plate Diffraction System (IPDS)

- SPELLMAN Röntgengenerator, Leistung max. 4kW
- horizontale Röhrenhaube
- Langfeinfokus-Röntgenröhre, Mo-Anode, 3000W
- Graphit-Flachmonochromator, verwendete Wellenlänge = 0.71073 Å
DEC-Workstation zur Systemsteuerung Datensammlung und Auswertung

Enraf-Nonius CAD-4 Diffractometer

Kernresonanzexperimente

Routinespektren

- Bruker AC 250 (^1H : 250.1MHz, ^{13}C : 62.9MHz)
- Bruker Avance 300 (^1H : 300.1MHz, ^{13}C : 75.5MHz)

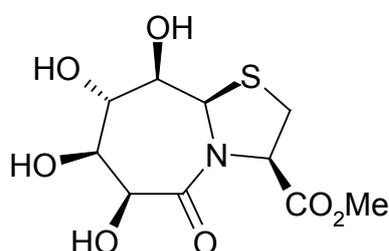
Für die Analyse

- Bruker DRX 600 (^1H : 600.1MHz, ^{13}C : 150.9MHz)
- Bruker ARX 400 (^1H : 400.1MHz, ^{13}C : 100.6MHz)
- Bruker Avance 400 (^1H : 400.1MHz, ^{13}C : 100.6MHz)
- Bruker Avance 600 (^1H : 600.1MHz, ^{13}C : 150.1MHz)

- chemische Verschiebung in parts per million (ppm, δ -Skala) aus der Mitte des Kopplungsmusters
- Kopplungskonstanten in Hertz (Hz)
- Temperatur 300K
- Temperaturreihen i.a. 300-340K in DMSO- d_6
- Lösungsmittel, wenn nicht explizit anders angegeben DMSO- d_6 (Eichung erfolgte auf LM-Signal, δ ^1H = 2.49ppm, δ ^{13}C = 39.5ppm)
- Bei Messungen in Wasser (D_2O bzw. $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ 10:1) diente TSP als Eichsubstanz (Resonanzsignal = 0.0ppm)
- Die Zuordnung der Signale im ^1H bzw. ^{13}C erfolgte grundsätzlich durch Zuhilfenahme zweidimensionaler Spektren (HMQC, HMBC, DQF-COSY, TOCSY, ROESY, NOESY)
- Die Angaben über die Signalform sind phänomenologisch, d.h. sie entsprechen dem Erscheinungsbild des jeweiligen Signals und nicht der theoretisch zu erwartenden Multiplizität (abgelesen wurde dies, ebenso wie die Kopplungskonstanten, aus den Lorentz-zu-Gauß transformierten ^1H -Spektren)
- Eindeutig zugeordnete diastereotope Protonen wurden mit $^{\text{proS}}$ bzw. $^{\text{proR}}$ bezeichnet. Protonen, bei welchen dies nicht möglich war, erhielten die Indizes $^{\text{t}}$ für das tieffeldige und $^{\text{h}}$ für das hochfeldige der beiden Protonen. Die Zuordnung erfolgte für jede Verbindung neu, war diese nicht möglich wurde grundsätzlich die $^{\text{h/t}}$ -Nomenklatur verwendet, d.h. es wurde auch bei rel. ähnlichen Verbindungen keine Zuordnung über Analogien, z.B. in ihre chemischen Verschiebung, unternommen. Dieser Punkt gilt im Prinzip für alle Spektren, so wurden jedesmal praktisch alle Signale von neuem, über die entsprechenden 2D-Spektren zugeordnet.
- Abkürzungen: s Singulett, d Dublett, dd Dublett von Dublett, ddd Dublett von Dublett von Dublett, t Triplett, q Quartett, m Multiplett, pt Pseudotriplett, bs breites Signal,

2. Synthesevorschriften und analytische Daten der Verbindungen dieser Arbeit

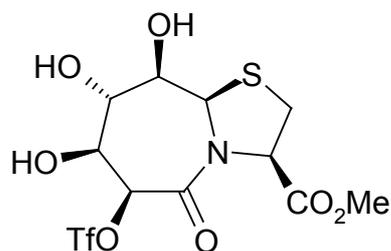
9a(R)H-5-oxo-(6S,7S,8S,9R)-tetrahydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-methylester (1)



C₁₀H₁₅NO₇S [293.30]

1 wurde nach der Vorschrift von [125] synthetisiert.
Die physikalischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

9a(R)H-5oxo-(6S)-trifluoromethansulfonyloxy-(7S,8S,9R)-trihydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (2)



C₁₁H₁₄F₃NO₉S₂ [425.36]

8.2g (28mmol) der Verbindung **1** wurden in 50ml Pyridin gelöst, nach Zugabe von 250ml DCM abs. wurde die Lösung mittels Eisbad gekühlt. Nun wurden 6ml Tf₂O (36.4mmol, 1.3eq.) in 7ml DCM abs. zugegeben, nach 20min wurde das Eisbad entfernt und weitere 10min bei RT gerührt. Nun wurden 100cm³ Eis zugegeben, die beiden Phasen wurden dann getrennt und die Wasserphase noch 3mal mit je 150ml EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden noch über MgSO₄ getrocknet. Das LM wurde am Rotationsverdampfer entfernt, und der Rückstand chromatographisch aufgereinigt (EE/Tol 5:1, R_f = 0.55). So ergaben sich, nach Trocknen im HV, 10.6g (24.9mmol), dies entspricht einer Ausbeute von 89%.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 6.06 (d, ³J_{7-OH, 7} = 6.5Hz, 1H, 7-OH), 5.98 (s, 1H, 6-H), 5.97 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.1Hz, 1H, 8-OH), 5.62 (s, 1H, 9a-H), 4.79 (dd, ³J_{3, 2} = 7.0Hz ³J_{3, 2'} = 8.5Hz, 1H, 3-H), 4.46 (d, ³J_{9-OH, 9} = 10.6Hz, 1H, 9-OH), 4.05 (pt, ³J_{7, 8/7-OH} = 5.9Hz, 1H, 7-H) 3.91 (m, ³J_{8, 7} = 5.3Hz ³J_{8, 8-OH/9} = 4Hz, 1H, 8-H), 3.65 (s, 3H, OCH₃) 3.62 (dd, ³J_{9, 9-OH} = 10.6Hz ³J_{9, 8} = 3.8Hz, 1H, 9-H), 3.3 (m, 2-H)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 170.00 162.91 (CO-5, C3CO), 86.13 (C-6), 76.66 (C-9), 74.03 (C-7), 70.30 (C-8), 64.30 (C-3), 61.06 (C-9a), 52.40 (OCH₃) 31.88 (C-2),

Masse:

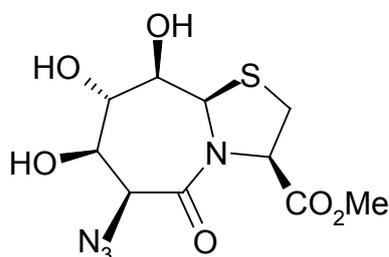
(+ p ESI ms, CH₂Cl₂/MeOH + NH₄Ac): 425.9 [MH]⁺, 443.0 [M+NH₄]⁺, 868.2 [2M+NH₄]⁺, 873.2 [2M+Na]⁺,

C,H,N-Analyse:

ber.: C 31.06, H 3.32, N 3.29

gef.: C 32.86, H 3.53, N 3.24

9a(R)H-(6S)-azido-5-oxo-(7R,8S,9R)-trihydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (3)

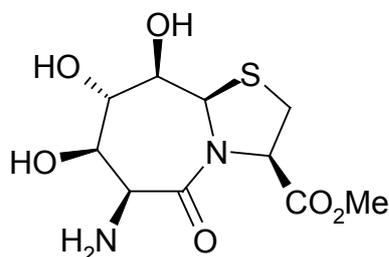


C₁₀H₁₄N₄O₆S [318.31]

10.6g (24.9mmol) des Triflats **2** wurden in 130ml DMF gelöst. Die Lösung wurde dann über Nacht bei RT gerührt. Nun wurde ca. 8h auf 50-60°C erwärmt, nach nochmaligem Rühren bei RT für 18h wurde das LM entfernt. Der Rückstand wurde in 400ml EE und 100ml H₂O aufgenommen, die organische Phase separiert, die Wasserphase noch 4 mal mit je 200ml EE extrahiert. Die organischen Phasen wurden gesammelt und noch mit MgSO₄ getrocknet. Die Fraktionen der anschließende chromatographischen Aufreinigung (EE/Tol 9:1, R_f = 0.35) wurden eingengt und somit schließlich 6,5g (20.4mmol, 82%) der Verbindung **3** durch Kristallisation erhalten.

Die physikalischen Daten stimmen mit [141] überein.

9a(R)H-(6S)-amino-5-oxo-(7R,8S,9R)-trihydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (4)



C₁₀H₁₆N₂O₆S [292.31]

Synthese siehe 5

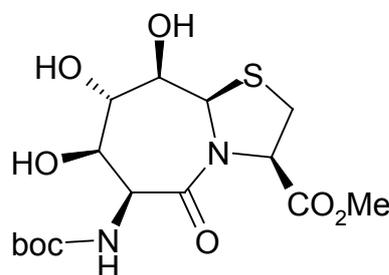
¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.61 (bs, 1H, 8-OH), 5.48 (s, 1H, 9a-H), 5.36 (bs, 1H, 7-OH), 4.70 (pt, ³J_{3,2} = 7.7Hz, 1H, 3-H), 4.33 (d, ³J_{9-OH,9} = 10.7Hz, 1H, 9-OH), 4.21 (s, 1H, 6-H), 3.82 (pt, ³J_{8,7/9} = 4.1Hz, 1H, 8-H) 3.78 (d, ³J_{7,8} = 4.9Hz, 1H, 8-H), 3.63 (s, 3H, OCH₃) 3.55 (dd, ³J_{9,8} = 3.8Hz ³J_{9,9-OH} = 10.4Hz, 1H, 9H), 3.31 (dd, ³J_{2t,3} = 8.2Hz ²J_{2gem.} = 11.0Hz, 1H, 2-H^t), 3.28 (dd, ³J_{2h,3} = 6.9Hz ²J_{2gem.} = 11.0Hz, 1H, 2-H^h),

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO_{d6}):δ = 170.76 170.64 (CO-5, C3-CO), 77.22 (C-9), 76.21 (C-7), 71.04 (C-8), 63.98 (C-3), 60.90 (C-9a), 53.24 (C-6), 52.12 (OCH₃) 31.45 (C-2),

Masse:

(+ p ESI ms, H₂O/MeOH + 1% AcOH): 292.9 [MH]⁺, 314.9 [MNa]⁺

9a(R)H-(6S)-tert-butyloxycarbonylamino-5-oxo-(7R,8S,9R)-trihydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (5)



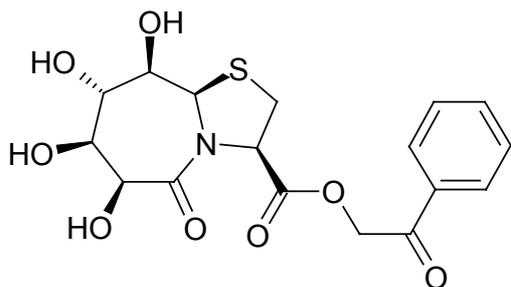
C₁₅H₂₄N₂O₈S [392.43]

6g (18.9mmol) des Azids **3** wurden in 300ml Pyridin/H₂O 2:1 gelöst. Nachdem für 10min H₂S durch die Lösung geleitet worden war, wurde die gesättigte Lösung bei RT über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt, und der Rückstand (Verbindung **4**) in 250ml DCM aufgenommen. Nach Zugabe von 5g Boc₂O (22.9mmol) und 3ml (17mmol) DIPEA, wurde die

Lsg. über Nacht bei RT gerührt. Der nun folgende flashchromatographische Reinigungsschritt (EE/MeOH 20:1, $R_f = 0.7$) führte zu 6.9g (17.6mmol, 93%) der Verbindung **5**.

Die physikalischen Daten stimmen mit Lit. [122] überein.

9a(R)H-5-oxo-(6S,7S,8S,9R)-tetrahydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-(3R)-carbon-säure-phenacylester (6)



$C_{17}H_{19}NO_8S$ [397.41]

1.4g D/L-Cys (11.6mmol) und 2.1g γ -Glucuronolacton (11.9mmol) wurden in 55ml H_2O /Pyridin 10:1 gelöst und **6d** bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt, der Rückstand in MeOH gelöst über Na_2SO_4 getrocknet und auf Kieselgel absorbiert. Grob aufgereinigt über eine Säule ($CHCl_3$ /MeOH), wurde der Rückstand in EE aufgenommen. Hierzu wurden 3g Phenacylbromid (15mmol) und 1,6ml NEt_3 (11.5mmol) gegeben. Nun wurde 3 Tage bei RT gerührt. Nachdem das LM entfernt wurde erfolgte eine flashchromatographische Auftrennung des Rohprodukts ($CHCl_3$ /MeOH 10:1 $R_f = 0.4$). Die entsprechenden Fraktionen wurden gesammelt, das LM entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet, dies führte zu 211mg (0.53mmol, 5%) der Verbindung **6**.

1H -NMR (600MHz, $DMSO_{d6}$): $\delta = 7.96$ (m, 2H, Pac- CH_{ortho}), 7.68 (m, 1H, Pac- CH_{para}), 7.55 (m, 2H, Pac- CH_{meta}), 5.58 (d, $^2J_{Pac-CH2gem.} = 16.7Hz$, 1H, Pac- CH^t), 5.55 (d, $^3J_{8-OH, 8} = 3.8Hz$, 1H, 8-OH), 5.50 (d, $^2J_{Pac-CH2gem.} = 16.9Hz$, 1H, Pac- CH^h), 5.45 (s, 1H, 9a-H), 5.22 (d, $^3J_{7-OH, 7} = 5.6Hz$, 1H, 7-OH), 4.87 (dd, $^3J_{3, 2t} = 8.8Hz$ $^3J_{3, 2h} = 7.0Hz$, 1H, 3-H), 4.70 (d, $^3J_{6, 6-OH} = 6.5Hz$, 1H, 6-H), 4.43 (d, $^3J_{6-OH, 6} = 6.5Hz$, 1H, 6-OH), 4.25 (d, $^3J_{9-OH, 9} = 10.9Hz$, 1H, 9-OH), 3.81 (m, 1H, 8-H), 3.77 (pt, $^3J_{7, 8/7-OH} = 5.6Hz$, 1H, 7-H), 3.55 (dd, $^3J_{9, 8} = 3.8Hz$ $^3J_{9, 9-OH} = 10.9Hz$, 1H, 9-H), 3.50 (dd, $^3J_{2t, 3} = 8.5Hz$ $^2J_{2gem.} = 10.9Hz$, 1H, 2- H^t), 3.42 (dd, $^3J_{2h, 3} = 7.0Hz$ $^2J_{2gem.} = 10.9Hz$, 1H, 2- H^h),

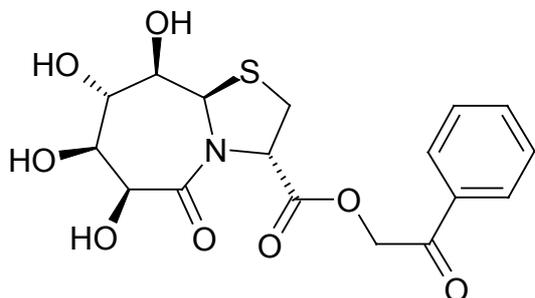
^{13}C -NMR (150MHz, $DMSO_{d6}$): $\delta = 192.20$ (Pac- $\underline{C}O$), 170.70 169.57 (CO-5, C3 $\underline{C}O$), 134.01 133.66 128.89(2C) 127.79(2C) (Pac- C_{arom}), 77.23 (C-9), 76.07 (C-7), 71.03 (C-8), 69.25 (C-6), 66.97 (Pac- $\underline{C}H_2$), 63.85 (C-3), 61.19 (C-9a), 31.68 (C-2)

Masse:

(FAB-MS, positive mode, NBA, EE): 398 [MH]⁺

(FAB-MS, positive mode, NBA + NaI, EE): 420 [MNa]⁺, 570 [M+NaI+Na]⁺

9a(R)H-5-oxo-(6S,7S,8S,9R)-tetrahydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-(3S)-carbon-säure-phenacylester (7)



C₁₇H₁₉NO₈S [397.41]

Synthese siehe 6. Nach der erfolgten flashchromatographischer Aufreinigung (CHCl₃/MeOH 10:1 R_f = 0.35) wurden das LM der entsprechenden Fraktionen entfernt. Eine Kristallisation aus EE führte zu 144mg (0.36mmol, 3%) der Verbindung 7 als sehr feine Nadeln.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.96 (m, 2H, Pac-CH_{ortho}), 7.69 (m, 1H, Pac-CH_{para}), 7.56 (m, 2H, Pac-CH_{meta}), 5.63 (d, ²J_{Pac-CH2gem.} = 17.0Hz, 1H, Pac-CH^t), 5.60 (d, ³J_{8-OH, 8} = 3.5Hz, 1H, 8-OH), 5.58 (d, ³J_{7-OH, 7} = 5.0Hz, 1H, 7-OH), 5.47 (d, ²J_{Pac-CH2gem.} = 17.0Hz, 1H, Pac-CH^h), 5.47 (s, 1H, 9a-H), 5.14 (d, ³J_{3, 2t} = 7.3Hz, 1H, 3-H), 4.68 (d, ³J_{9-OH, 9} = 8.8Hz, 1H, 9-OH), 4.64 (d, ³J_{6, 6-OH} = 5.9Hz, 1H, 6-H), 4.55 (d, ³J_{6-OH, 6} = 5.9Hz, 1H, 6-OH), 3.79 (m, 2H, 7-H/8-H), 3.50 (dd, ³J_{2t, 3} = 7.9Hz ²J_{2gem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^t), 3.64 (m, 1H, 9-H), 3.42 (d, ²J_{2gem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^h),

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 192.60 (Pac-C=O), 170.05 169.07 (CO-5, C3C=O), 134.06 133.71 128.93(2C) 127.83(2C) (Pac-C_{arom}), 78.91 (C-9), 75.66 (C-7), 70.47 (C-8), 69.25 (C-6), 66.77 (Pac-CH₂), 63.89 (C-3), 60.60 (C-9a), 31.73 (C-2)

Masse:

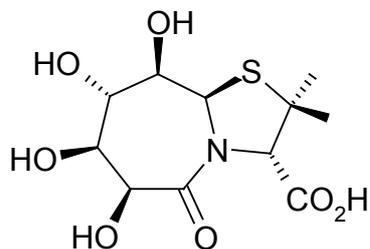
(+ p ESI ms, MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 397.9 [MH]⁺, 415.0 [M+NH₄]⁺, 420 [M+Na]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 51.38, H 4.82, N 3.52

gef.: C 51.23, H 4.84, N 3.73

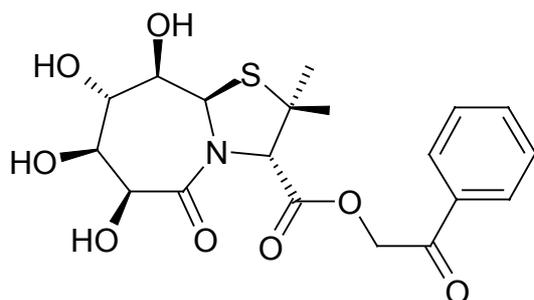
**a(R)H-(2,2)-dimethyl-(6S,7S,8S,9R)-tetrahydroxy -5-oxo-octahydro-thiazolo[3,2-a] aze-
pin-(3S)-carbonsäure-phenacylester (8)**



C₁₁H₁₇NO₇S [307.32]

Verbindung **8** wurde nach [128] synthetisiert.
Die physikalischen Daten stimmen mit der Lit. überein.

**9a(R)H-(2,2)-dimethyl-(6S,7S,8S,9R)-tetrahydroxy-5-oxo-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-(3S)-
carbonsäure-phenacylester (9)**



C₁₉H₂₃NO₈S [425.46]

850mg (2.7mmol) der Verbindung **8** wurden in 150ml EE suspensiert. Hierzu wurden 800mg (4.0mmol) PacBr und 0.4ml NEt₃ gegeben und 3 Tage bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt, und das Rohprodukt flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 5:1, R_f = 0.65). Hieraus resultierten nach Trocknung im HV 810mg (1,9mmol, 70%) der Verbindung **9** als gelborangbrauner amorpher Feststoff.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.97 7.68 7.55 (2H 1H 2H, Pac-CH_{arom.}), 5.76 (d, ³J_{7-OH, 7} = 5.9Hz, 1H, 7-OH), 5.66 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.1Hz, 1H, 8-OH), 5.58 (d, ²J_{Pac-CH₂gem.} = 17.0Hz, 1H, Pac-CH^t), 5.48 (d, ²J_{Pac-CH₂gem.} = 17.0Hz, 1H, Pac-CH^h), 5.46 (s, 1H, 9a-H), 5.01 (d, ³J_{9-OH, 9} = 8.5Hz, 1H, 9-OH), 4.71 (s, 1H, 3-H), 5.53 (d, ³J_{6-OH, 6} = 5.3Hz, 1H, 6-OH), 5.51 (d, ³J_{6, 6-OH} = 5.5Hz, 1H, 6-H), 3.91 (m, 1H, 8-H), 3.85 (pt, ³J_{7, 8/7-OH} = 5.3Hz, 1H, 7-H) 3.58 (ddd, ³J_{9, 8} = 4.4Hz ³J_{9, 9a} = 1.5Hz ³J_{9, 9-OH} = 8.5Hz, 1H, 9-H), 1.80 (2-CH₃^t), 1.50 (2-CH₃^h)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 192.40 (Pac-CO), 172.36 168.46 (CO-5, C3CO), 133.91 133.88 128.86(2C) 127.84(2C) (Pac-C_{arom.}), 75.78 (C-9), 75.54 (C-7), 74.82 (C-3), 69.79 (C-6), 69.71 (C-8), 67.00 (Pac-C_{H2}), 61.10 (C-9a), 49.60 (C-2), 32.37 25.95 (2-C_{H3})

Masse:

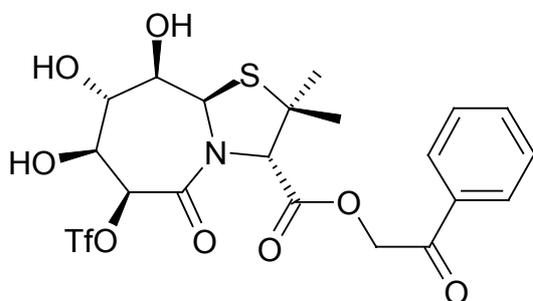
(+ p ESI MS, H₂O/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 426.0 [MH]⁺, 443.0 [M+NH₄]⁺,
851.3 [2M+H]⁺,

(- p ESI MS, H₂O/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 424.0 [M-H]⁻, 484.1 [M+Ac]⁻, 849.2 [2M-H]⁻

C,H,N-Analyse:

ber.: C 53.64, H 5.45, N 3.21

gef.: C 53.14, H 5.68, N 3.21

9a(R)H-(2,2)-dimethyl-(6S)-trifluoromethansulfonyloxy-(7S,8S,9R)-trihydroxy-5-oxo-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-(3S)-carbonsäure-phenacylester (10)

C₂₀H₂₂F₃NO₁₀S₂ [557.52]

850mg (2.0mmol) der Verbindung **9** wurden in 55ml DCM abs./Pyridin 10:1 gelöst. Hierzu wurden 8mg DMAP gegeben und die Lösung auf -10° C gekühlt. Nach Zugabe von 0.45 Tf₂O wurde 30min bei -10° C gerührt. Jetzt wurden 100ml Toluol zugegeben und das Lösungsmittelgemisch abgezogen. Der pechschwarze Rückstand wurde in 100ml H₂O und 200ml EE aufgenommen. Die Wasserphase wurde abgetrennt und noch zwei mal mit je 100ml EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden noch über MgSO₄ getrocknet. Hiernach erfolgte eine flashchromatographische Aufreinigung (EE/Tol 5:1, R_f = 0.6). Nach Trocknung im HV wurden 870mg (1,6mmol, 80%) eines gelbbraunen amorphen Feststoffs erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.96 7.68 7.54 (2H 1H 2H, Pac-CH_{arom.}) 5.67 (s, 1H, 6-H), 5.53 (d, ²J_{Pac-CH₂gem.} = 16.9Hz, 1H, Pac-CH^t), 5.49 (s, 1H, 9a-H), 5.40 (d, ²J_{Pac-CH₂gem.} = 16.9Hz, 1H, Pac-CH^h), 4.72 (s, 1H, 3-H), 4.10 (d, ³J_{7,8} = 5.1Hz, 1H, 7-H) 3.99 (pt, ³J_{8,7/9} = 4.8Hz, 1H, 8-H), 3.62 (d, ³J_{9,8} = 4Hz, 1H, 9-H), 1.80 (2-CH₃^t), 1.51 (2-CH₃^h)

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO_{d6}): δ = 192.23 (Pac-C_O), 167.86 164.64 (CO-5, C3CO), 133.86 128.81 127.80 (Pac-C_{arom.}), 86.26 (C-6), 75.24 (C-3), 74.90 (C-9), 73.54 (C-7), 69.45 (C-8), 67.09 (Pac-CH₂), 61.18 (C-9a), 49.64 (C-2), 32.51, 25.58 (2-CH₃)

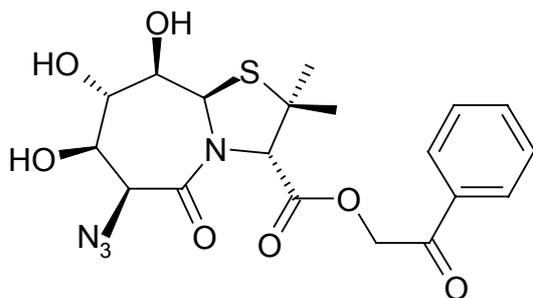
Masse:

(FAB-MS, positive mode, NBA, EE): 558 [MH]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 43.09, H 3.98, N 2.51

gef.: C 45.70, H 4.50, N 2.41

9a(R)H-(6S)-azido-(2,2)-dimethyl-(7R,8S,9R)-trihydroxy-5oxo-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-(3S)-carbonsäure-phenacylester (11)C₁₉H₂₂N₄O₇S [450.47]

1,2g (2.1mmol) des Triflats **10** wurden in 50ml DCM gelöst. Hierzu wurden 300mg NaN₃ (4.6mmol) und 0.9ml 15-C-5 gegeben. Die Lösung wurde bei RT über Nacht gerührt. Hier-nach wurde die Lösung eingengt. Der Rückstand wurde in 75ml EE und 15ml H₂O aufgenom-men, die Wasserphase abgetrennt und noch zwei mal mit je 50ml EE extrahiert. Die ver-einigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet. Das Rohprodukt wurde dann noch flashchromatographisch aufgereinigt (EE/Tol 3:1, R_f = 0.4) hieraus resultierten 395mg (0.9mmol, 43%) der Verbindung **11**.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.98 (m, 2H, Pac-CH_{ortho}), 7.68 (m, 1H, Pac-CH_{para}), 7.55(m, 2H, Pac-CH_{meta}), 5.74 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.1Hz, 1H, 8-OH), 5.69 (d, ³J_{7-OH, 7} = 6.8Hz, 1H, 7-OH), 5.37 (d, ³J_{9, 9-OH} = 7.3Hz, 1H, 9-OH), 5.63 (d, ²J_{Pac-CH₂gem.} = 17.0Hz, 1H, Pac-CH^l), 5.51 (s, 1H, 9a-H), 5.49 (d, ²J_{Pac-CH₂gem.} = 17.0Hz, 1H, Pac-CH^h), 4.65 (s, 1H, 3-H), 4.29 (s, 1H, 6-H), 3.99 (dd, ³J_{7, 7-OH} = 6.5Hz ³J_{7, 8} = 4.7Hz, 1H, 7-H), 3.88 (m, 1H, 8-H), 3.59 (ddd, ³J_{9, 8} = 4.4Hz ³J_{9, 9a} = 1.4Hz ³J_{9, 9-OH} = 7.3Hz, 1H, 9-H), 1.78 (2-CH₃^{proS}), 1.50 (2-CH₃^{proR})

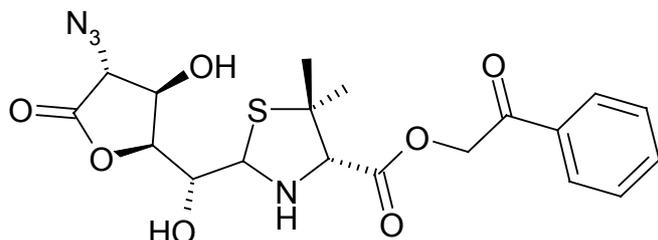
¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}):δ = 192.53 (Pac-C=O), 168.21 167.73 (CO-5, C3C=O), 133.93 133.83 128.85(2C) 127.85(2C) (Pac-C_{arom}), 75.14 (C-7), 74.95 (C-9), 74.71 (C-3), 69.96 (C-8), 66.97 (Pac-CH₂), 61.39 (C-6), 60.62 (C-9a), 49.76 (C-2), 31.08 (2-CH₃^{proS}), 25.95 (2-CH₃^{proR})

C,H,N-Analyse:

ber.: C 50.66, H 4.92, N 12.44

gef.: C 50.94, H 5.37, N 11.83

2-(((4R)-Azido-(3R)-hydroxy-5-oxo-tetrahydro-furan-2-yl)-hydroxy-methyl]-5,5-dimethyl-thiazolidin-4(S)-carbonsäure-phenacylester (12)



C₁₉H₂₂N₄O₇S [450.47]

Wurde als zweites Produkt bei der Synthese von 11 erhalten (EE/Tol 3:1 R_f = 0.7) . 334mg (0.7mmol, 35%).

¹H-NMR (600MHz, DMSO-d₆):

δ = 7.98 (m, 2H, Pac-CH_{ortho}), 7.70 (m, 1H, Pac-CH_{para}), 7.56 (m, 2H, Pac-CH_{meta}), 6.20 (d, ³J_{4-OH,4} = 5.3Hz, 1H, 4-OH), 5.69 (d, ²J_{Pac-CH₂gem.} = 17.0Hz, 1H, Pac-CH^t), 5.55 (d, ²J_{Pac-CH₂gem.} = 17.0Hz, 1H, Pac-CH^h), 5.54 (m, 1H, 2-OH), 4.69 (d, ³J_{5,4} = 8.8Hz, 1H, 5-H), 4.54 (dd, ³J_{1,2} = 9.7Hz ³J_{1,NH} = 7.6Hz, 1H, 1-H), 4.43 (dd, ³J_{3,4} = 8.5Hz, 1H, 3-H), 4.38 (m, ³J_{4,3/5} = 8.5Hz ³J_{4,4-OH} = 5.3Hz, 1H, 4-H), 4.34 (dd, ³J_{NH,α-H} = 13.2Hz ³J_{NH,1} = 7.9Hz, 1H, NH), 3.76 (dd, ³J_{2,3} = 4.4Hz ³J_{2,1} = 9.7Hz, 1H, 2-H), 3.73 (d, ³J_{α-H,NH} = 13.2Hz, 1H, α-H), 1.65 (s, 3H, β-CH₃^{proS}), 1.33 (s, β-CH₃^{proR})

¹³C-NMR (HMQC, DMSO-d₆):

79.0 (C-3), 71.1 (C-4), 70.8 (Cα), 69.5 (C-2), 67.3 (C-1), 66.7 (Pac-CH₂), 62.4 (C-5), 26.6 (β-CH₃^{proR}/β-CH₃^{proS})

Anmerkung: die Benennung für die NMR Daten erfolgte nach „Zuckernomenklatur“^{cc*}

Masse:

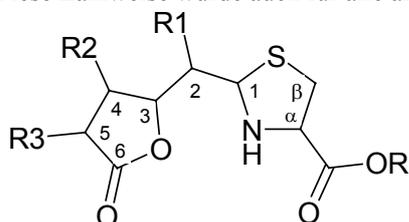
(FAB-MS, positive mode, NBA + NaI, EE): 451 [MH]⁺, 473 [MNa]⁺, 623 [M+NaI+Na]⁺

C,H,N-Analyse:

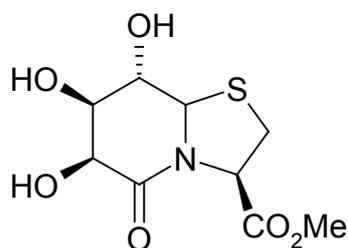
ber.: C 50.66, H 4.92, N 12.00

gef.: C 50.77, H 4.92, N 12.44

*Die hier Dargestellte Nomenklatur entspricht jener, wie sie für die NMR Daten von Verbindung **12** erfolgte. Diese Zählweise wurde auch für alle anderen hier gebrachten Thiazolidine **30**, **31**, **55** und **83** verwendet



8a(S)H-5oxo-(6S,7S,8S)-trihydroxy-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-methylester (13)



C₉H₁₃NO₈S [263.27]

13g (73.8mmol) γ -Glucuronolacton wurden in 100ml 0.05M Na₂HPO₄ Puffer gelöst, und dann mittels Eisbad gekühlt. Zu der Lösung wurden nun 16g NaIO₄ (74.8mmol) gegeben, nach 5 min wurde das Eisbad entfernt, und noch weiter 15 min bei RT gerührt. Nun wurden 300ml MeOH zugegeben, wo-rauf sich ein farbloser Nd. bildete. Dieser Nd wurde abgetrennt und das Filtrat eingengt, der Rückstand wurde dann in 150ml H₂O und 100ml Pyridin gelöst. Nach Zugabe von 14g CysOMe x HCl, wurde die Lösung 3Tage bei RT gerührt. Das LM wurde dann wieder entfernt, der Rückstand in 300ml MeOH gelöst über Na₂SO₄ getrocknet. Die Lösung wurde nun auf Kieselgel adsorbiert, mit EE/MeOH 5:1 gesäult (R_f = 0.5), woraufhin 14.8g (56.3mmol) der Verbindung **13** erhalten wurden, was einer Ausbeute von 76% entspricht.

¹H-NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ = 5.60 (d, ³J_{8-OH, 8} = 5.0Hz, 1H, 8-OH), 5.40 (d, ³J_{7-OH, 7} = 3.5Hz, 1H, 7-OH), 5.30 (d, ³J_{6-OH, 6} = 6.2Hz, 1H, 6-OH), 5.17 (d, ³J_{8a, 8} = 2.6Hz, 1H, 8a-H), 4.88 (dd, ³J_{3, 2-HproS} = 5.3Hz ³J_{3, 2-HproR} = 7.6Hz, 1H, 3-H), 4.07 (dd, ³J_{6, 6-OH} = 6.2Hz ³J_{6, 7} = 3.2Hz, 1H, 6-H), 4.02 (m, 1H, 7-H), 3.94 (m, 1H, 8-H), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.30 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.6Hz ²J_{2gem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.03 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 5.6Hz ²J_{2gem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proS}).

¹³C-NMR (150MHz, DMSO-d₆): δ = 170.51 169.02 (CO-5, C3-CO), 71.03 (C-7), 66.93 (C-6), 66.77 (C-8), 64.64 (C-8a), 60.35 (C-3), 52.22 (OCH₃), 31.23 (C-2).

Masse:

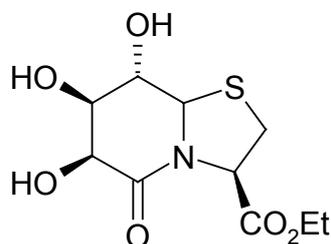
(FAB, positive mode, NBA, EE/MeOH): 264 [MH]⁺, 527 [2M+H]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 41.06, H 4.98, N 5.32

gef.: C 40.23, H 5.05, N 5.18

8a(S)H-5oxo-(6S,7S,8S)-trihydroxy-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (14)



C₁₀H₁₅NO₆S [277.30]

5g (28.4mmol) γ -Glucuronolacton wurden in 50ml 0.05M Na₂HPO₄-Puffer gelöst. Die Lösung wurde nun mit einem Eisbad gekühlt. Dann wurden 7,5g (35mmol) zur Lösung gegeben, nach 30min wurde das Eisbad entfernt und noch 15min bei RT gerührt. Jetzt wurden 100ml MeOH zugegeben, worauf sich ein Nd. bildete, welcher abgetrennt wurde. Das LM wurde nun entfernt und der Rückstand in 150ml H₂O gelöst. Nun wurden 6g (32mmol) CysOEt x HCl und 15ml Pyridin zugegeben. Die Lösung wurde nun 5 Tage bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und nach flashchromatographischer Reinigung (CHCl₃/MeOH, R_f = 0.65) konnten HV-getrocknet 5.1g (18.4mmol, 65%) eines amorphen gelbbraunen Feststoffs erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.59 (d, ³J_{8-OH, 8} = 5.0Hz, 1H, 8-OH), 5.38 (d, ³J_{7-OH, 7} = 3.5Hz, 1H, 7-OH), 5.28 (d, ³J_{6-OH, 6} = 5.9Hz, 1H, 6-OH), 5.17 (d, ³J_{8a, 8} = 2.9Hz, 1H, 8a-H), 4.86 (dd, ³J_{3, 2-HproS} = 5.0Hz ³J_{3, 2-HproR} = 7.6Hz, 1H, 3-H), 4.11 (m, 2H, OCH₂CH₃), 4.07 (dd, ³J_{6, 6-OH} = 6.5Hz ³J_{6, 7} = 3.6Hz, 1H, 6-H), 4.01 (m, 1H, 7-H), 3.93 (m, 1H, 8-H), 3.30 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.6Hz ²J_{2gem} = 11.2Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.01 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 5.0Hz ²J_{2gem} = 11.2Hz, 1H, 2-H^{proS}), 1.19 (t, ³J_{CH₂CH₃, CH₂CH₃} = 7.3Hz, 3H, CH₂CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 170.0 169.0 (CO-5, C3-CO), 70.1 (C-7), 66.6 (C-6), 66.5 (C-8), 64.3 (C-8a), 60.6 (OCH₂CH₃), 60.1 (C-3), 30.9 (C-2), 13.6 (OCH₂CH₃),

Masse:

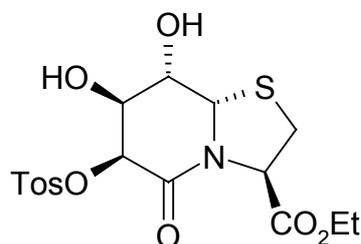
(FAB, positive mode, NBA, EE): 278 [MH]⁺, 300 [M+Na]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 43.31, H 5.45, N 5.05

gef.: C 44.42, H 5.88, N 5.03

8a(S)H-(7S,8S)-dihydroxy-5oxo-(6S)-paratoluolsulfonyloxy-hexahydro-thiazolo[3,2-a]-pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (15)



C₁₇H₂₁NO₈S₂ [431.49]

250mg (0.9mmol) der Verbindung **14** wurde in 5 ml Pyridin gelöst. Bei 0°C (Eisbad) wurden 190mg TsCl (1mmol) und kat. Mengen DMAP zugegeben. Nachdem 3 Tage bei 4°C gerührt worden war, wurde die Reaktionslösung auf 20ml Eis gegeben. Es wurde nun 3 mal mit je 30ml EE extrahiert, wo-rauf die vereinigten organischen Phasen noch über MgSO₄ getrocknet wurden. Das LM wurde abgezogen, wobei mit Tol koevaporiert wurde. Nach Kristallisation aus EE konnten 242mg (0.56mmol, 63 %) der Verbindung **15** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.82 (d, ³J = 8.2Hz, 1H, Ts-H_{arom.}), 7.46 (d, ³J = 8.2Hz, 1H, Ts-H_{arom.}), 6.10 (d, ³J_{7-OH, 7} = 4.1Hz, 1H, 7-OH), 5.96 (d, ³J_{8-OH, 8} = 5.0Hz, 1H, 8-OH), 5.14 (d, ³J_{8a, 8} = 2.6Hz, 1H, 8a-H), 4.96 (d, ³J_{6, 7} = 3.5Hz, 1H, 6-H), 4.81 (dd, ³J_{3, 2-H_{proR}} = 7.6Hz ³J_{3, 2-H_{proS}} = 5.3Hz, 1H, 3-H), 4.10 (m, 3H, 7-H/OCH₂CH₃), 3.96 (m, 1H, 8-H), 3.31 (dd, ³J_{2-H_{proR}, 3} = 7.6Hz ²J_{Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.02 (dd, ³J_{2-H_{proS}, 3} = 5.3Hz ²J_{Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proS}), 2.41 (s, 3H, Ts-CH₃), 1.17 (t, ³J_{CH₂CH₃}, CH₂CH₃ = 7.0Hz, 3H, OCH₂CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): 169.39 161.97 (CO-5, C3CO), 144.88 132.97 129.90(2C) 127.83(2C) (Ts-C_{arom.}), 75.57 (C-6), 60.11 (C-7), 66.64 (C-8), 64.34 (C-8a), 61.08 (OCH₂CH₃), 60.52 (C-3), 31.14 (C-2), 21.08 (Tos-CH₃), 13.90 (OCH₂CH₃)

Masse:

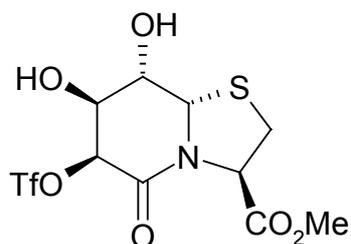
(FAB, positive mode, NBA, EE): 432 [MH]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 47.32, H 4.91, N 3.25

gef.: C 47.38, H 4.92, N 2.82

8a(S)H-(7S,8S)-dihydroxy-5oxo-(6S)-trifluoromethansulfonyloxy-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (16)



C₁₀H₁₂F₃NO₈S₂ [395.33]

950mg (3.6mmol) **13** wurden in 55ml DCM(abs.)/Pyridin 10:1 gelöst und mit einem Eisbad gekühlt, hierzu wurden 0.9ml (5.5mmol) Tf₂O in 1.5ml DCM zugegeben. Nach 20 min wurde das Kältebad entfernt, und noch weiter 30min bei RT gerührt. Nun wurden 50cm³ Eis zugegeben. Nach abtrennen der organischen Phase, wurde die Wasserphase noch mit 50ml EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und eingengt. Die anschließend erfolgte flashchromatographische Reinigung EE/Tol 5:1 (R_f = 0.7) erbrachte 1.14g (2.9mmol) der Verbindung **16**, was einer Ausbeute von 81% entsprach. Verbindung **16** konnte noch aus EE kristallisiert werden.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 6.47 (d, ³J = 3.7Hz, 1H, OH), 6.18 (bs, 1H, OH), 5.32 (d, ³J_{6,7} = 3.5Hz, 1H, 6-H), 5.20 (d, ³J_{8a,8} = 2.8Hz, 1H, 8a-H), 4.95 (dd, ³J_{3,2-HproS} = 5.5Hz, ³J_{3,2-HproR} = 7.7Hz, 1H, 3-H), 4.36 (m, 1H, 7-H), 4.11 (m, 1H, 8-H), 3.69(s, 3H, OCH₃), 3.40 (dd, ³J_{2-HproR,3} = 7.7Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.11 (dd, ³J_{2-HproS,3} = 5.5Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proS})

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.70 160.66 (CO-5, C3CO), 82.37 (C-6), 69.73 (C-7), 66.84 (C-8), 64.54 (C-8a), 60.62 (C-3), 52.49 (OMe), 31.30 (C-2)

Masse:

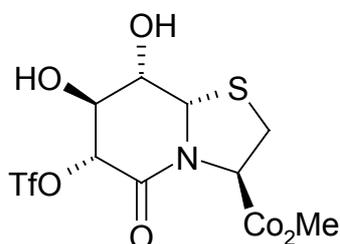
(PI-DCIMS, NH₃): 413.1 [M+NH₄]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 30.38, H 3.06, N 3.54

gef.: C 30.00, H 3.08, N 2.95

8a(S)H-(7S,8S)-dihydroxy-5oxo-(6R)-trifluoromethansulfonyloxy-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (17)



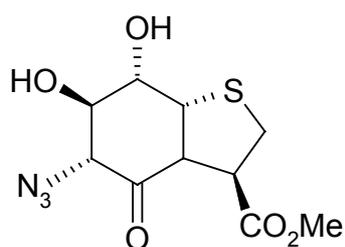
C₁₀H₁₂F₃NO₈S₂ [395.33]

Verbindung **17** ist während der NMR-Messung (~16h) in DMSO_{d6} aus **16** entstanden.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.31 (dd, ³J_{3,2-HproR} = 6.8Hz ³J_{3,2-HproS} = 2.6Hz, 1H, 3-H), 5.15 (d, ³J_{6,7} = 4.8Hz, 1H, 6-H), 5.02 (d, ³J_{8a,8} = 1.8Hz, 1H, 8a-H), 3.78 (pt, ³J_{8,8a/7} = 2.4Hz, 1H, 8-H), 3.73 (dd, ³J_{7,8} = 2.6Hz ³J_{7,6} = 4.8Hz, 1H, 7-H), 3.69(s, 3H, OCH₃), 3.25 (dd, ³J_{2-HproR,3} = 6.8Hz ²J_{2-gem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.17 (dd, ³J_{2-HproS,3} = 2.8Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proS})

¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 82.1 (C-6), 74.2 (C-7), 71.8 (C-8), 62.4 (C-8a), 61.2 (C-3), 52.4 (OMe), 31.2 (C-2)

8a(S)H-6(S)-azido-(7R,8S)-dihydroxy-5oxo-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (18)



C₉H₁₂N₄O₅S [288.28]

2.0g (5.1mmol) des Triflats **16** wurden in 200ml DCM gelöst, nun wurden 700mg NaN₃ (10.8mmol) und 2ml 15-C-5 zugegeben und die Lösung über Nacht gerührt. Danach wurden die Lösung mit 20 ml H₂O ausgeschüttelt, die wäßrige Phase separiert und noch 2x mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden noch über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Der Rückstand wurde noch flash-chromatographisch aufgereinigt (EE:Tol 3:1, R_f = 0.45), was zu 1.34g (4.7mmol, 92%) der Verbindung **18** führte.

Im allgemeinen wurde eine alternative Synthese mit DMF als LM, gewählt. Somit konnte auf den Kronenether verzichtet werden. Die hierbei erzielten Ausbeuten waren nur geringfügig

schlechter (auch bis zu 90 %), wobei aber häufig Epimerisierung an Position 6 beobachtet werden mußte.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.90 (d, ³J_{7-OH, 7} = 4.7Hz, 1H, 7-OH), 5.73 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.7Hz, 1H, 8-OH), 5.22 (dd, ³J_{3, 2-HproR} = 7.0Hz ³J_{3, 2-HproS} = 3.2Hz, 1H, 3-H), 5.05 (d, ³J_{8a, 8} = 2.1Hz, 1H, 8a-H), 4.13 (d, ³J_{6, 7} = 5.3Hz, 1H, 6-H), 3.75 (m, ³J_{8, 7/8a} = 2.6Hz ³J_{8, 8-OH} = 4.7Hz, 1H, 8-H), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.60 (m, 1H, 7-H), 3.24 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.0Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.10 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 3.2Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proS}).

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.82 165,12 (CO-5, C3-CO), 73.76 (C-7), 71.55 (C-8), 64.15 (C-6), 62.86 (C-8a), 61.38 (C-3), 52.52 (OCH₃), 31.18 (C-2)

Masse:

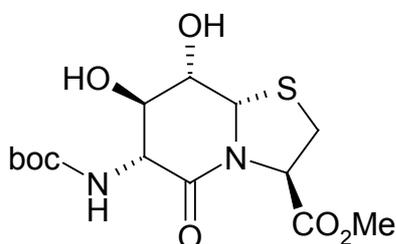
(FAB, positive mode, NBA, DMSO_{d6}): 289 [MH]⁺, 577 [2M+H]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 37.50, H 4.20, N 19.43

gef.: C 37.24, H 4.40, N 18.18

8a(S)H-6(R)-tert-butyloxycarbonylamino-(7R,8S)-dihydroxy-5oxo-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (19)



C₁₄H₂₂N₂O₇S [362.40]

1.15g (4.0mmol) des Azids **18** wurden in 150ml Pyridin H₂O 2:1 gelöst. Nun wurde für 10min H₂S in die Lösung eingeleitet, und anschließend über Nacht bei RT gerührt. Hernach würde das LM entfernt, und der Rückstand in DCM gelöst. Nach Zugabe von 1.2g Boc₂O (5.5mmol) und 0.7ml DIPEA (4.0mmol), wurde nochmals über nacht gerührt. Das LM entfernt und über Flashchromatographie aufgetrennt (EE/Tol 10: 1, R_f = 0.6) konnten 950mg (2.6mmol, 66%) der Verbindung **19** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}) δ = 6.84 (d, ³J_{BocNH, 6} = 9.1Hz, 1H, Boc-NH), 5.61 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.7Hz, 1H, 8-OH), 5.44 (d, ³J_{7-OH, 7} = 5.6Hz, 1H, 7-OH), 5.15 (dd, ³J_{3, 2-HproR} = 7.0Hz ³J_{3, 2-HproS} = 2.9Hz, 1H, 3-H), 5.06 (d, ³J_{8a, 8} = 1.7Hz, 1H, 8a-H), 3.96 (dd, ³J_{6, Boc-NH} = 9.1Hz ³J_{6, 7} = 6.5Hz, 1H, 6-H), 3.75 (m, 1H, 8-H), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 3.61 (ddd, ³J_{7, 7-OH} = 5.6Hz ³J_{7, 6} = 6.5Hz ³J_{7, 8} = 2.7Hz, 1H, 7-H), 3.24 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.3Hz ³J_{2-Hgem.} = 11.1Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.06 (dd ³J_{2-HproS, 3} = 2.9Hz ³J_{2-Hgem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proS}), 1.39 (s, 9H, Boc-CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, DMSO-d_6): $\delta = 170.20$ (C3-CO), 166.93 (CO-5), 155.73 (Boc-CO), 77.96 (Boc-C_{quart.}), 73.56 (7-C), 73.27 (8-C), 63.04 (8a-C), 61.23 (3-C), 56.83 (6-C), 52.43 (OCH₃), 31.27 (2-C), 28.20 (Boc-CH₃)

Masse:

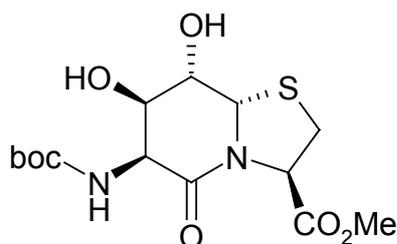
(FAB, positive mode, NBA, EE): 363 [MH]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 46.40, H 6.12, N 7.73

gef.: C 46.38, H 6.14, N 7.71

8a(S)H-6(S)-tert-butyloxycarbonylamino-(7R,8S)-dihydroxy-5oxo-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (20)



$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ [362.40]

Verbindung **20** wurde bei der Synthese von **19** erhalten. EE/Tol 10:1 $R_f = 0.55$

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 6.34$ (d, $^3J_{\text{Boc-NH}, 6} = 9.7\text{Hz}$, 1H, Boc-NH). 5.74 (d, $^3J_{8\text{-OH}, 8} = 4.7\text{Hz}$, 1H, 8-OH), 5.62 (d, $^3J_{7\text{-OH}, 7} = 3.8\text{Hz}$, 1H, 7-OH), 5.15 (d, $^3J_{8, 8a} = 2.6\text{Hz}$, 1H, 8a-H), 4.84 (dd, $^3J_{3, 2\text{-HproS}} = 5.6\text{Hz}$ $^3J_{3, 2\text{-HproR}} = 7.3\text{Hz}$, 1H, 3-H), 4.44 (dd, $^3J_{6, \text{Boc-NH}} = 9.7\text{Hz}$ $^3J_{6, 7} = 2.9\text{Hz}$, 1H, 6-H), 3.96 (m, 1H, 7-H), 3.93 (m, 1H, 8-H), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 3.31 (dd, $^3J_{2\text{-HproR}, 3} = 7.6\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.4\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proR}), 3.02 (dd, $^3J_{2\text{-HproS}, 3} = 5.6\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.4\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proS}), 1.39 (s, 9H, Boc-CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, DMSO-d_6): $\delta = 170.41$ 166,54 (CO-5, C3-CO), 155,67 (Boc-CO), 78.11 (Boc-C_{quart.}), 70.94 (7-C) 66.16 (8-C), 64.51 (8a-C), 60.64 (3-C), 52.16 (OCH₃), 50.97 (6-C), 31.12 (2-C), 28.10 (Boc-CH₃),

Masse:

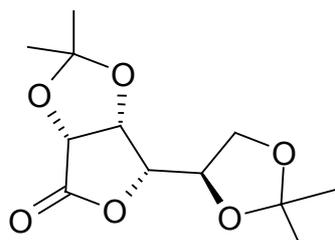
(FAB, positive mode, NBA, EE): 363 [MH]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 46.40, H 6.12, N 7.73

gef.: C 46.38, H 6.10, N 7.65

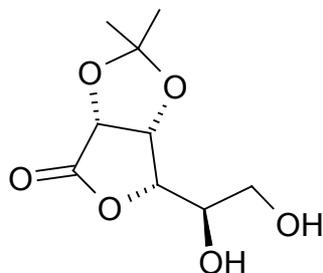
2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulonolacton (21)



$C_{12}H_{18}O_6$ [258.27]

Verbindung **21** wurde nach einer Vorschrift von [129] synthetisiert.

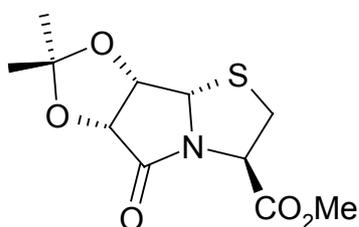
2,3-O-isopropyliden-D-gulonolacton (22)



$C_9H_{14}O_6$ [218.21]

Verbindung (**22**) wurde nach einer Vorschrift von [129] synthetisiert.

7a(S)H-(6R,7S)-O-isopropyliden-5-oxo-hexahydro-pyrrolo[2,1-b]thiazol-(3R)-carbonsäure-methylester (23)



$C_{11}H_{15}NO_5S$ [273.31]

3.8g (17.4mmol) des Monoacetonids **22** wurden 50ml H_2O gelöst, nach Zugabe von 1.5g K_2CO_3 wurde die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Nun wurde mit 1N HCl den PH auf 7-8 eingestellt, und die Lösung mittels Eisbad heruntergekühlt. Jetzt wurden 7,5g $NaIO_4$

(35mmol) zugegeben und nach 1-2 min das Eisbad entfernt. Nachdem 30min bei RT gerührt worden war, wurden 80ml MeOH zugegeben. Der hieraus resultierende Nd wurde abgetrennt und noch mit 30ml MeOH gewaschen. Im Filtrat wurden jetzt 4g (23.4mmol) Cysteinmethyl-ester gelöst, und das ganze nach Zusatz von noch 50ml Pyridin 7 Tage bei RT gerührt. Danach wurde das Lösungsmittelgemisch am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in 100ml MeOH aufgenommen, über Na₂SO₄ getrocknet, und anschließend auf Kieselgel absorbiert. Die flashchromatographische Trennung (EE/Tol 3:1) ergab 2,75g (10.1mmol, 58%) der Verbindung **23**.

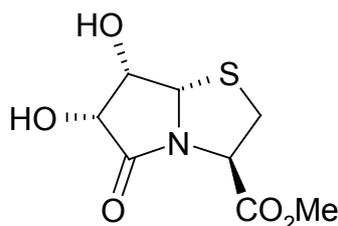
¹H-NMR (600 MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.18 (d, ³J_{7a,7} = 3.8Hz, 1H, 7a-H), 5.11 (dd, ³J_{3,2-HproS} = 3.3Hz ³J_{3,2-HproR} = 6.9Hz, 1H, 3-H), 5.06 (d, ³J_{6,7} = 4.9Hz, 1H, 6-H), 4.79 (pt, ³J_{7,6/7a} = 4.4Hz, 1H, 7-H), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.29 (dd, ³J_{2-HproS,3} = 3.0Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.5Hz, 1H, 2-H^{proS}), 3.06 (dd, ³J_{2-HproR,3} = 6.9Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2-H^{proR}), 1.30 (s, 3H, Isopr-CH₃^{proR}), 1.26 (s, 3H, Isopr-CH₃^{proS})

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 170.48 (CO-5), 169.31 (C3-CO), 111.89 (Isopr-C_{quart}), 79.34 (C-6), 75.16 (C-7), 64.97 (C-7a), 58.05 (C-3), 52.63 (OCH₃), 34.34 (C-2), 27.03 (Isopr-CH₃^{proS}), 25.99 (Isopr-CH₃^{proR})

Masse:

(PI-DCI-MS, NH₃): 291.3 [M+NH₄]⁺

7a(S)H-(6R,7S)-dihydroxy-5-oxo-hexahydro-pyrrolo[2,1-b]thiazol-(3R)-carbonsäure-methylester (**24**)



C₈H₁₁NO₅S [233.24]

1.8g des Acetonids **23** wurde in 20ml EE gelöst. Nach Zugabe von 10ml TFA wurde 24h bei RT gerührt, nun wurden weitere 15ml TFA und 0.1ml H₂O zugegeben weiter 7h gerührt nochmals 0.2ml H₂O zugesetzt, und nach noch einer Stunde des Rührens bei RT wurde das LM entfernt. Der Rückstand wurde in 20ml EE/MeOH 1:1 unter Erhitzen gelöst, beim Abkühlen bildeten sich Kristalle, diese wurden durch Filtration abgetrennt (680mg), eine Nachfällung brachte weitere 330mg, somit wurden insgesamt 1.21g (5.2mmol, 79%) der Verbindung **24** erhalten

¹H-NMR (600 MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.45 (bs, 1H, 6-OH), 5.32 (bs, 1H, 7-OH), 5.09 (dd, ³J_{3,2-HproS} = 2.1Hz ³J_{3,2-HproR} = 6.4Hz, 1H, 3-H), 5.01 (d, ³J_{7a,7} = 3.1Hz, 1H, 7a-H), 4.47 (d, ³J_{6,7} =

3.8Hz, 1H, 6-H), 4.18 (pt, $^3J_{7,6/7a} = 3.6\text{Hz}$, 1H, 7-H), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 3.20 (dd, $^3J_{2\text{-HproS},3} = 2.1\text{Hz}$, $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.3\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proS}), 2.86 (dd, $^3J_{2\text{-HproR},3} = 6.4\text{Hz}$, $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.0\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proR})

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 173.38$ 169.74 (CO-5, C3-CO), 72.83 (C-6), 71.89 (C-7), 66.90 (C-7a), 58.25 (C-3), 52.50 (OCH₃), 33.67 (C-2)

Masse:

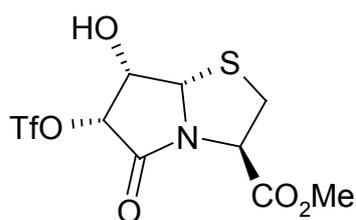
(PI-DCI-MS, NH₃): 251.2 [M+NH₄]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 41.20, H 4.75, N 6.01

gef.: C 41.21, H 4.81, N 6.17

7a(S)H-(7S)-hydroxy-5-oxo-(6R)-trifluormethansulfonyloxy-hexahydro-pyrrolo[2,1-b]thiazole-(3R)-carbonsäure-methylester (25)



C₉H₁₀F₃NO₇S₂ [365.31]

600mg (2.58mmol) des Bicyklus **24** wurden in 36ml DCM abs. und 8ml Pyridin gelöst, zur eis-gekühlten Lösung wurden jetzt 500ml Tf₂O (3.03mmol) gegeben, nach 20min wurden noch 20cm³ Eis zugegeben. Die organische Phase wurde abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet und flashchromato-graphisch aufgereinigt (EE/Tol 1:2, R_{f(EE/Tol 1:1)} = 0.55). Dies ergab 694mg (1.9mmol, 74%) der Verbindung **25**.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 6.30$ (d, $^3J_{7\text{-OH},7} = 5.8\text{Hz}$, 1H, 7-OH), 6.14 (d, $^3J_{6,7} = 4.3\text{Hz}$, 1H, 6-H), 5.24 (dd, $^3J_{3,2\text{-HproS}} = 1.8\text{Hz}$, $^3J_{3,2\text{-HproR}} = 6.6\text{Hz}$, 1H, 3-H), 5.14 (d, $^3J_{7a,7} = 3.0\text{Hz}$, 1H, 7a-H), 4.52 (m, 1H, 7-H), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.27 (dd, $^3J_{2\text{-HproS},3} = 1.8\text{Hz}$, $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.2\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proS}), 2.96 (dd, $^3J_{2\text{-HproR},3} = 6.6\text{Hz}$, $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.2\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proR})

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 168.99$ 165.47 (CO-5, C3-CO), 84.90 (C-6), 70.95 (C-7), 67.08 (C-7a), 58.76 (C-3), 52.71 (OCH₃), 33.72 (C-2)

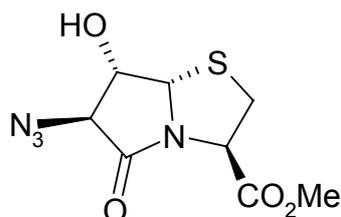
Masse:

(PI-DCI-MS, NH₃): 383.3 [M+NH₄]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 29.59, H 2.76, N 3.83

gef.: C 29.68, H 2.69, N 4.08

7a(S)H-(6S)-azido-(7S)-hydroxy-5-oxo-hexahydro-pyrrolo[2,1-b]thiazol-(3R)-carbon-säure-methylester (26)C₈H₁₀N₄O₄S [258.26]

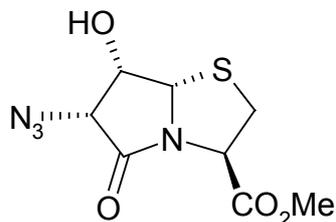
110mg (0.3mmol) des Triflats **25**, wurde in 20ml DMF gelöst, nach Zugabe von 40mg NaN₃ (0.6mmol) wurde die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Daraufhin wurde das LM entfernt, der Rückstand in 60ml EE/H₂O 5:1 aufgenommen, die EE-Phase abgetrennt und über Na₂SO₄ getrocknet. Es erfolgte dann eine flashchromatographische Trennung (EE/Tol 1:2, R_f = 0.4). der Rückstand wurde in EE gelöst, dann soviel Hexan zugegeben bis sich einen leichte Trübung einstellt, erwärmt bis die Lösung wieder klar war. hierauf bildeten sich über Nacht Kristalle 5mg (0.02mmol, 6%) des Nebenproduktes **27** welche abgetrennt wurden, dem Filtrat wurde dann wiederum das LM entzogen und der Rückstand im HV getrocknet. Somit gelangte man zu 63mg (0.24mmol, 80%) eines klaren Sirups welcher als einziges die Verbindung **26** enthielt.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO_{d6}): δ = 6.28 (bs, 1H, 7-OH), 5.18 (d, ³J_{7a,7} = 5.6Hz, 1H, 7a-H), 5.01 (dd, ³J_{3,2-HproS} = 4.8Hz ³J_{3,2-HproR} = 8.1Hz, 1H, 3-H), 4.41 (d, ³J_{6,7} = 5.6Hz, 1H, 6-H), 4.36 (pt, ³J_{7,7a/6} = 5.6Hz, 1H, 7-H), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.39 (dd, ³J_{2-HproR,3} = 8.1Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.26 (dd, ³J_{2-HproS,3} = 4.8Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.5Hz, 1H, 2-H^{proS})

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}):δ = 171.38 (CO-5), 169.58 (C3-CO), 70.24 (C-7a), 68.79 (C-7), 65.43 (C-6), 58.89 (C-3), 52.67 (OCH₃), 34.42 (C-2)

Masse:(CI-MS, NH₃): 276.2 [M+NH₄]⁺

7a(S)H-(6R)-azido-(7S)-hydroxy-5-oxo-hexahydro-pyrrolo[2,1-b]thiazol-(3R)-carbonsäure-methylester (27)



C₈H₁₀N₄O₄S [258.26]

27 wurde bei der Synthese von 26 isoliert.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO_{d6}): δ = 6.17 (m, 1H, 7-OH), 5.22 (dd, ³J_{3,2-HproR} = 6.5Hz ³J_{3,2-HproS} = 1.6Hz, 1H, 3-H), 5.08 (d, ³J_{7a,7} = 2.4Hz, 1H, 7a-H), 4.4 (m, 2H, HMQC: 4.40 7-H/4.39 6H), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.25 (dd, ³J_{2-HproS,3} = 2.0Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2-H^{proS}), 2.94 (dd, ³J_{2-HproR,3} = 6.7Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2-H^{proR})

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.37 169.17 (CO-5, C3-CO), 73.28 (C-7), 67.97 (C-7a), 63.55 (C-6), 58.44 (C-3), 52.62 (OCH₃), 34.03 (C-2)

Masse:

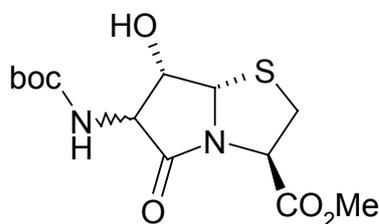
(CI-MS, NH₃): 259.2 [MH]⁺, 276.2 [M+NH₄]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 37.21, H 3.90, N 21.69

gef.: C 37.10, H 4.00, N 21.18

7a(S)H-(6-tert-butyloxycarbonylamino-(7S)-hydroxy-5-oxo-hexahydro-pyrrolo[2,1-b]thiazol-(3R)-carbonsäure-methylester (28)



C₁₃H₂₀N₂O₆S [332.38]

258mg (1mmol) des Azids (S/R 4:1) wurden in 10ml MeOH gelöst. Nach Zugabe einer Spatelspitze Pd/C wurde unter H₂-Atmosphäre 2h bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt, und der Rückstand in 15ml DCM gelöst, 250mg (1.1mmol) Boc₂O und 170µL DIPEA zugegeben. Nachdem bei RT über Nacht gerührt worden war, wurde das LM entfernt. Eine flashchroma-

tographische Aufreinigung (EE/Tol 2:3, $R_f = 0.3$) ergab 245mg (0.74mmol, 74%) der beiden epimeren Verbindungen **28** (S/R 2:1)

6S:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 7.42$ (d, $^3J_{\text{Boc-NH}, 6} = 8.7\text{Hz}$, 1H, Boc-NH), 6.06 (d, $^3J_{7\text{-OH}, 7} = 5.1\text{Hz}$, 1H, 7-OH), 5.148 (m, 1H, 7a-H), 4.97 (dd, $^3J_{3, 2\text{-HproS}} = 5.4\text{Hz}$ $^3J_{3, 2\text{-HproR}} = 8.7\text{Hz}$, 1H, 3-H), 4.54 (m, 1H, 7H), 3.88 (pt, $^3J_{6, 7/\text{Boc-NH}} = 8.2\text{Hz}$, 1H, 6-H), 3.69 (s, 3H, OCH_3), 3.42 (dd, $^3J_{2\text{-HproR}, 3} = 8.7\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.5\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proR}), 3.19 (dd, $^3J_{2\text{-HproS}, 3} = 5.1\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.5\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proS}), 1.38 (s, 9H, Boc- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, DMSO-d_6): $\delta = 78.45$ ($\text{C}_{\text{quart-Boc}}$), 70.34 (C-7a), 67.42 (C-7), 59.59 (C-3), 57.41 (C-6), 52.5 (OCH_3), 34.09 (C-2), 28.12 (3C, $\text{CH}_3\text{-Boc}$)

6R:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 6.34$ (d, $^3J_{\text{Boc-NH}, 6} = 9.2\text{Hz}$, 1H, Boc-NH), 5.66 (d, $^3J_{7\text{-OH}, 7} = 4.9\text{Hz}$, 1H, 7-OH), 5.153 (m, 1H, 7a-H), 5.08 (dd, $^3J_{3, 2\text{-HproR}} = 6.7\text{Hz}$ $^3J_{3, 2\text{-HproS}} = 2.1\text{Hz}$, 1H, 3-H), 4.69 (dd, $^3J_{6, 7} = 4.1\text{Hz}$ $^3J_{6, \text{Boc-NH}} = 9.5\text{Hz}$, 1H, 6-H) 4.22 (m, 1H, 7H), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 3.23 (dd, $^3J_{2\text{-HproS}, 3} = 2.1\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.0\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proS}), 2.89 (dd, $^3J_{2\text{-HproR}, 3} = 6.4\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.0\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proR}), 1.40 (s, 9H, Boc- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, DMSO-d_6): $\delta = 78.56$ (Boc- C_{quart}), 70.74 (C-7), 68.03 (C-7a), 58.28 (C-3), 57.09 (C-6), 52.5 (OCH_3), 33.93 (C-2), 28.08 (3C, Boc- CH_3)

Masse;

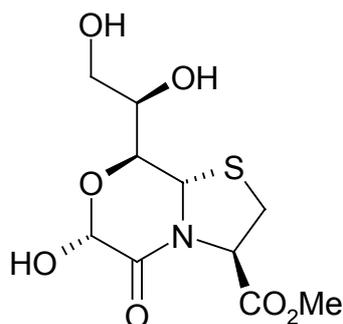
(CI-MS, NH_3): 333.3 $[\text{MH}]^+$, 350.3 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$

C,H,N-Analyse:

ber.: C 46.98, H 6.07, N 8.43

gef.: C 46.52, H 6.19, N 8.38

8-(1R,2-Dihydroxy-ethyl)-6R-Hydroxy-5-oxo-hexahydro-thiazolo[2,3-c][1,4]-oxazin-3R-carboxylsäure-methylester (29)



$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}_7\text{S}$ [293.30]

2g Gulonsäurelacton (11.2mmol) wurden in 15ml H₂O gelöst. Die Lösung wurde mit einem Eisbad gekühlt. Hierzu wurden 2.5g NaIO₄ (11.7mmol) gegeben. Nach 5 min wurde das Eisbad entfernt und noch weiter 5min bei RT gerührt. Nach Zugabe von 40ml MeOH bildete sich ein Nd. Dieser wurde abgetrennt. Zum Filtrat wurden 2g (11.7mmol) CysOMe x HCl und 20 ml Pyridin gegeben. Jetzt wurde die Lösung 2 Wochen bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch aufgereinigt (EE/MeOH 4:1, R_f = 0.55). Hierdurch wurden 517mg (1.8mmol, 16%) der Verbindung **29** erhalten. Das Produkt konnte noch aus EtOH kristallisiert werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ = 7.29 (d, ³J_{6-OH,6} = 6.7Hz, 1H, 6-OH), 5.15 (m, 2H, 3-H/6-H), 5.05 (d, ³J_{8a,8} = 9.7Hz, 1H, 8a-H), 5.03 (d, ³J_{CHOHCH₂OH, CHOHCH₂OH} = 6.4Hz, 1H, CHOHC_HCH₂OH), 4.50 (pt, ³J_{CH₂-OH, CH₂-OH} = 5.6Hz, 1H, CH₂-OH), 4.11 (dd, ³J_{8,8a} = 9.7Hz ³J_{8,CHOHCH₂OH} = 1.8Hz, 1H, 8-H), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.5-3.4 (m, 4H, DQF-COSY: 3.47 CHOHC_HCH₂OH, 3.43 2-H^t, 3.42 CH₂OH), 3.15 (dd ³J_{2-Hh,3} = 5.4Hz ³J_{2-Hgem} = 11.8Hz, 1H, 2-H^h),

¹³C-NMR (150MHz, DMSO-d₆): δ = 169.76 164.13 (CO-5, C3-CO), 88.98 (C-6), 70.92 (CHOHC_HCH₂OH), 70.76 (C-8), 61.66 (CH₂OH), 60.92 (C-8a), 60.14 (C-3), 52.60 (OCH₃), 31.33 (C-2),

Masse:

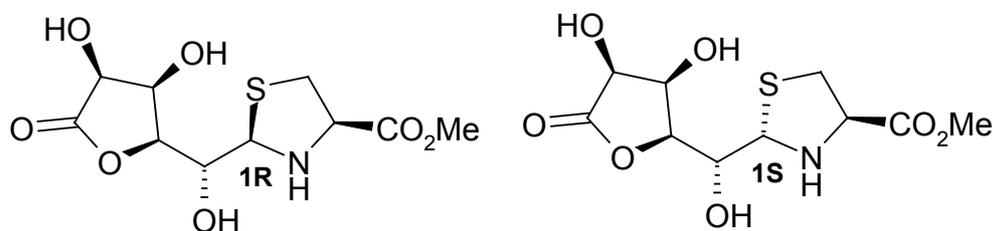
(PI-DCI-MS, NH₃): 311.5 [M+NH₄]⁺, 604.3[2M+NH₄]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 40.95, H 5.16, N 4.78

gef.: C 40.84, H 5.12, N 4.77

2-(((3S,4S)-dihydroxy-5-oxo-tetrahydr-furan-2-yl)-hydroxy-methyl]-thiazolidin-(4R)-carbonsäure-methylester (30)



C₁₀H₁₅NO₇S [293.30]

1.5g (8.5mmol) γ-Glucuronolacton und 1.5g (8.8mmol) L-Cysteinmethylester Hydrochlorid wurden in 11ml H₂O/Pyridin 10:1 gelöst. Nach 10min bildete sich ein farbloser Nd.. Dieser wurde durch Filtration abgetrennt und anschließend im HV getrocknet. So konnten 0.9g (3.1mmol, 36%) der Verbindung **30** erhalten werden.

1R:

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 4.71 (d, ³J_{1,2} = 1.4Hz, 1H, 1-H), 4.48 (d, ³J_{5,4} = 4.4Hz, 1H, 5-H), 4.31 (dd, ³J_{3,2} = 8.8Hz ³J_{3,4} = 2.7Hz, 1H, 3-H), 4.20 (dd, ³J_{4,3} = 3.0Hz ³J_{4,5} = 4.7Hz, 1H, 4-H), 3.97 (dd, ³J_{2,3} = 8.8Hz ³J_{2,1} = 1.4Hz, 1H, 2-H), 3.88 (dd, ³J_{α,β-HproR} = 6.9Hz ³J_{α,β-HproS} = 9.3Hz, 1H, α-H), 3.70 (OCH₃), 3.22 (dd, ³J_{β-HproR,α} = 6.9Hz ²J_{β-Hgem.} = 10.2Hz, 1H, β-H^{proR}), 2.72 (pt, ³J_{β-HproS,α} = 9.6Hz ²J_{β-Hgem.} = 9.6Hz, 1H, β-H^{proS})

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 176 171 (CO-6, COOMe), 81.29 (C-3), 70.68 (C-5), 69.08 69.07 (C-4, C-1), 67.77 (C-2), 64.85 (Cα), 52.36 (OCH₃), 36.50 (Cβ)

1S:

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 4.79 (d, ³J_{1,2} = 4.1Hz, 1H, 1-H), 4.50 (d, ³J_{5,4} = 4.4Hz, 1H, 5-H), 4.45 (dd, ³J_{α,β-Ht} = 6.9Hz ³J_{α,β-Hh} = 4.9Hz, 1H, α-H), 4.17 (dd, ³J_{3,2} = 8.0Hz ³J_{3,4} = 2.7Hz, 1H, 3-H), 4.12 (dd, ³J_{4,3} = 2.7Hz ³J_{4,5} = 4.4Hz, 1H, 4-H), 4.04 (dd, ³J_{2,3} = 8.0Hz ³J_{2,1} = 3.8Hz, 1H, 2-H), 3.66 (OCH₃), 3.11 (dd, ³J_{β-Ht,α} = 6.9Hz ²J_{β-Hgem.} = 10.4Hz, 1H, β-H^t), 3.02 (dd, ³J_{β-Hh,α} = 5.2Hz ²J_{β-Hgem.} = 10.4Hz, 1H, β-H^h)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 176 171 (CO-6, COOMe), 81.73 (C-3), 70.63 (C-5), 69.78 (C-2), 69.41 (C-4), 68.82 (C-1), 63.78 (Cα), 52.25 (OCH₃), 36.84 (Cβ)

Nomenklatur siehe * Seite 230

Masse:

(+ p ESI MS, H₂O/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 293.8 [MH]⁺, 587.1 [2M+H]⁺

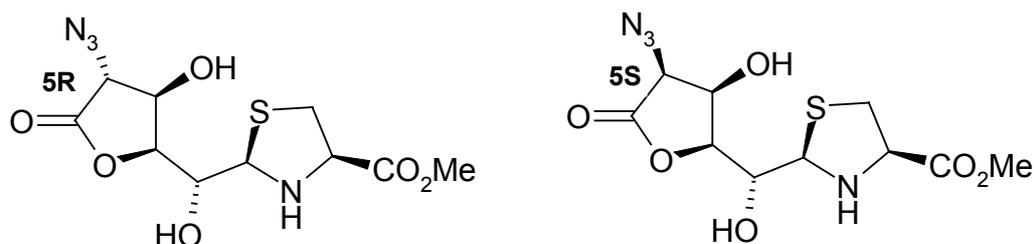
(- p ESI MS, H₂O/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 291.9 [M-H]⁻, 327.9 [M+Cl]⁻, 585.0 [2M-H]⁻, 621.0 [2M+Cl]⁻

C,H,N-Analyse:

ber.: C 40.95, H 5.16, N 4.78

gef.: C 40.40, H 5.06, N 5.42

(2R)-[[(4)-azido-(3R)-hydroxy-5-oxo-tetrahydr-furan-2-yl)-hydroxy-methyl]-thiazolidin-(4R)-carbonsäure-methylester (31)



C₁₀H₁₄N₄O₆S [318.31]

1,5g (3.5mmol) des Triflats **2** wurden in 50ml DMF gelöst. Dann wurden 400mg NaN₃ (6.3mmol) zugegeben und 16h bei RT gerührt. Das LM wurde nun entfernt (mit Toluol koe-vaporisiert). Der Rückstand wurde in 150ml EE und 30ml H₂O aufgenommen, die organische Phase wurde separiert, und die Wasserphase noch 2 mal mit je 100ml EE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet. Nach einem flashchromatographischen Reinigungsschritt (EE/Tol 10:1, R_f = 0.55), wurden die entsprechenden Fraktionen eingengt. Nach Zugabe von Hexan bildete sich ein Nd., dieser wurde abgetrennt und im Hochvakuum getrocknet. Somit wurden 481mg (1.5mmol, 43%) der Verbindung **31** (5R/S-Gemisch) erhalten.

5S:

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 6.32 (d, ³J_{4-OH, 4} = 5.3Hz, 1H, 4-OH), 5.95 (d, ³J_{2-OH, 2} = 5.9Hz, 1H, 2-OH), 4.66 (d, ³J_{1, NH} = 11.4Hz, 1H, 1-H), 4.52 (d, ³J_{5, 4} = 4.4Hz, 1H, 5-H), 4.45 (m, 1H, 4-H), 4.42 (dd, ³J_{3, 2} = 9.1Hz ³J_{3, 4} = 2.9Hz, 1H, 3-H), 4.00 (dd, ³J_{2, 3} = 9.1Hz ³J_{2, 2-OH} = 5.6Hz, 1H, 2-H), 3.81 (m, 1H, α-H), 3.70 (OCH₃), 3.22 (dd, ³J_{β-Ht, α} = 7.0Hz ²J_{β-Hgem.} = 10.3Hz, 1H, β-H^t), 2.91 (pt, ³J_{NH, α-H/l} = 12.6Hz, 1H, NH), 2.71 (pt, ³J_{β-Hh, α} = 9.7Hz ²J_{β-Hgem.} = 9.7Hz, 1H, β-H^h)

¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 83.2 (C-3), 69.7 (C-4), 69.0 (C-1), 67.3 (C-2), 64.8 (Cα), 61.8 (C-5), 52.0 (OCH₃), 36.7 (Cβ)

5R:

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 6.26 (d, ³J_{4-OH, 4} = 5.3Hz, 1H, 4-OH), 5.56 (d, ³J_{2-OH, 2} = 5.0Hz, 1H, 2-OH), 4.68 (d, ³J_{5, 4} = 8.5Hz, 1H, 5-H), 4.53 (m, 1H, 1-H), 4.45 (m, 1H, 3-H), 4.36 (m, 1H, 4-H), 3.96 (m, 2H, 2-H/α-H), 3.81 (m, 1H, α-H), 3.68 (OCH₃), 3.18 (dd, ³J_{β-Ht, α-H} = 6.8Hz ²J_{β-Hgem.} = 10.0Hz, 1H, β-H^t), 2.84 (dd, ³J_{β-Hh, α-H} = 8.2Hz ²J_{β-Hgem.} = 10.3Hz, 1H, β-H^h)

¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 80.8 (C-3), 71.1 (C-1), 71.0 (C-4), 68.5 (C-2), 64.7 (Cα), 62.4 (C-5), 51.9 (OCH₃), 36.5 (Cβ)

Nomenklatur siehe * Seite 230

Masse:

(+ p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 318.9 [MH]⁺, 340.8 [M+Na]⁺,
637.2 [2M+H]⁺, 659.2 [2M+Na]

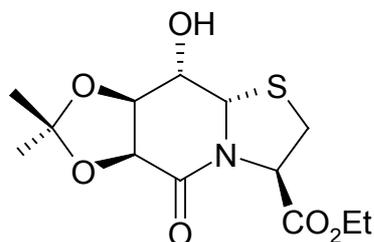
(- p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 316.9 [M-H]⁻, 376.9 [M+Ac]⁻,
635.1 [2M-H]⁻, 621.0 [2M+Cl]⁻

C,H,N-Analyse:

ber.: C 37.73, H 4.43, N 17.60

gef.: C 37.55, H 4.46, N 16.75

8a(S)H-8(S)-hydroxy-(6S,7R)-O-isopropyliden-5oxo-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (32)



C₁₃H₁₉NO₆S [317.36]

1.6g (5.7mmol) der Verbindung **14** wurden 50ml Aceton gelöst. Bei 0°C wurden 0.5ml H₂SO₄ konz. zugegeben. Nach 15min wurde das Eisbad entfernt, und noch 45min bei RT gerührt. Danach wurde mit Na₂CO₃ neutralisiert, die Lösung gefiltert, das Filtrat eingeeengt, mit EE/Tol 9:1 (R_f = 0.55) gesäult, der Rückstand im HV getrocknet, was schlußendlich zu 1.63g (5.1mmol, 89%) der Verbindung **32** führte.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.79 (d, ³J_{8-OH, 8} = 5.0Hz, 1H, 8-OH), 5.21 (dd, ³J_{3, 2-HproS} = 2.6Hz ³J_{3, 2-HproR} = 6.5Hz, 1H, 3-H), 4.99 (s, 1H, 8a-H), 4.44 (d, ³J_{6, 7} = 6.5Hz, 1H, 6-H), 4.41 (dd, ³J_{7, 6} = 6.5Hz ³J_{7, 8} = 2.9Hz, 1H, 7-H), 4.11 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.93 (m, 1H, 8-H), 3.13 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 6.8Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4 Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.06 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 2.6Hz ²J_{2-Hgem} = 11.2Hz, 1H, 2-H^{proS}), 1.39 1.31 (je s, je 3H, 2x Isopr-CH₃), 1.18 (t, ³J_{OCH₂CH₃, OCH₂CH₃ = 7.0Hz, 3H, OCH₂CH₃)}

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.21 164.73 (C3-CO, CO-5), 109.67 (Isopr-C_{quart}), 75.89 (C-7), 73.24 (C-6), 67.51 (C-8), 61.40 (C-3), 61.24 (C-8a), 61.16 (OCH₂CH₃), 30.46 (C-2), 26.20 24.34 (Isopr-CH₃), 13,88 (OCH₂CH₃)

Masse:

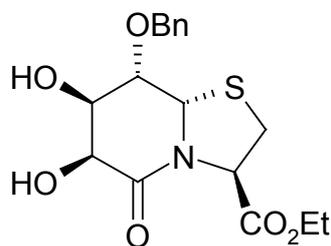
(FAB, positive mode, NBA, DMSO_{d6}): 318 [MH]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 49.20, H 6.03, N 4.41

gef.: C 49.21, H 5.82, N 4.23

8a(S)H-8(S)-benzyloxy-7(6S,7R)-dihydroxy-5oxo-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (33)



C₁₇H₂₁NO₆S [367.42]

1.2g (3.8mmol) der Verbindung **32** wurden in 50ml DMF gelöst, und mittels Eisbad gekühlt. Dann wurden in über einen Zeitraum von 1h 150mg (in 3 Schritten 70, 40, 40mg) NaH (6.25mmol, 1.6eq) zugegeben. danach wurde das LM abgezogen (koevaporiert mit Toluol), und der Rückstand in 200ml EE/ 50ml H₂O aufgenommen, die organische Phase abgetrennt, die wäßrige Phase mit 100ml EE ausgeschüttelt, und danach die EE-Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach entfernen des LM erfolgte eine flashchromatographische Aufreinigung EE/Tol 4:5 (R_f = 0.6).

Das hierbei erhaltene Gemisch der beiden geschützten Verbindungen wurde in 10ml EtOH, 15ml TFA und 0.7ml H₂O gelöst und bei RT 15h gerührt. Danach wurde das LM abgezogen und 2 mal mit EE/Tol 10: 1 (R_f = 0.4) gesäult (Flash). Das LM der gesammelten Fraktionen abgezogen, und den Rückstand im HV getrocknet ergaben 470mg eines klaren zähflüssigen Sirups. Diese somit erhaltenen 1.28mmol entsprechen einer Ausbeute von 34%.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}) δ = 7.25-7.4 (m, 5H, Bn-H_{arom}), 5.57 (d, ³J_{7-OH, 7} = 3.8Hz, 1H, 7-OH), 5.45 (d, ³J_{6-OH, 6} = 5.9Hz, 1H, 6-OH), 5.24 (d, ³J_{8a, 8} = 2.6Hz, 1H, 8a-H), 4.91 (dd, ³J_{3, 2-HproS} = 5.0Hz ³J_{3, 2-HproR} = 7.6Hz, 1H, 3-H), 4.69 (m, 2H, Bn-CH₂), 4.17 (m, 1H, 7-H), 4.11 (m, 2H, OCH₂CH₃), 4.05 (dd, ³J_{6, 6-OH} = 5.9Hz ³J_{6, 7} = 3.5 Hz, 1H, 6-H), 3.99 (dd, ³J_{8, 8a} = 2.6Hz ³J_{8, 7} = 4.7Hz, 1H, 8-H), 3.31 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.6Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.05 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 5.0Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.4Hz 1H, 2-H^{proS}), 1.19 (t, ³J_{CH₂CH₃, CH₂CH₃} = 7.3Hz, 3H, OCH₂CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.85 168.92 (C3-CO, CO-5), 138.09 128.27(2C) 127.66 127.63(2C) (Bn-C_{arom.}), 74.61 (C-8), 72.71 (Bn-CH₂), 68.75 (C-7), 67.37 (C-6), 63.32 (C-8a), 60.99 (OCH₂CH₃), 60.06 (C-3), 31.39 (C-2), 13.97 (OCH₂CH₃)

Masse:

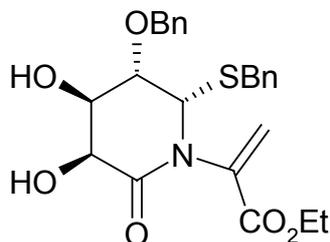
(FAB, positive mode, NBA + NaI, CHCl₃): 368 [MH]⁺, 390 [M+Na]⁺, 540 [M + NaI + Na]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 55.57, H 5.76, N 3.81

gef.: C 56.44, H 5.96, N 3.71

2-(3S-benzoyloxy-2S-benzylsulfanyl-4R,5S-dihydroxy-6-oxo-piperidin-1-yl)-acrylsäure-ethylester (34)



C₂₄H₂₇NO₆S [457.55]

34 wurde bei der Synthese der Verbindung **33** als Nebenprodukt erhalten, 115mg (0.25mmol) entspricht 7% der Ausbeute.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}) δ = 7,4-7.2 (m, 10H, Bn-H_{arom.}), 6.24 (s, 1H, H_{olef.}^l), 5.74 (s, 1H, H_{olef.}^h), 5.48 (d, ³J_{4-OH, 4} = 3.8Hz, 1H, 4-OH), 5.25 (d, ³J_{5-OH, 5} = 5.3Hz, 1H, 5-OH), 5.09 (d, ³J_{2, 3} = 4.4Hz, 1H, 2-H), 4.65 (m, 2H, Bn-OCH₂), 4.37 (pt, ³J_{5, 5-OH/4} = 4.4Hz, 1H, 5-H), 4.1 (m, 3H, 4H/OCH₂CH₃), 3.89 (pt, ³J_{3, 2/4} = 4.4Hz, 3-H), 3.85 (d, ²J_{CH₂gem.} = 12.9Hz, 1H, Bn-SCH^l), 3.76 (d, ²J_{CH₂gem.} = 12.6Hz, 1H, Bn-SCH^h), 1.17 (t, ³J_{CH₂CH₃, CH₂CH₃ = 7.3Hz, 3H, CH₂CH₃)}

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}) δ = 171.27 163.14 (CO-6, CO-OEt), 138.16 137.94 137.76 (2x Bn-C_{quart.}, C_{quart.}^{olef.}), 128.85(2C) 128.44(2C) 128.25(2C) 127.72(2C) 127.66 127.06 (Bn-CH_{arom.}), 123.26 (CH₂^{olef.}), 79.63 (C-3), 72.22 (Bn-OCH₂), 69.62 (C-4), 67.62 (C-5), 65.80 (C-2), 60.83 (OCH₂CH₃), 36.03 (Bn-SCH₂), 13.90 (OCH₂CH₃)

Masse:

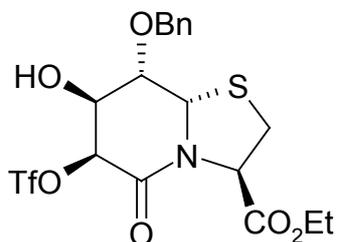
(FAB, positive mode, NBA + NaI, CHCl₃): 480 [M+Na]⁺, 502 [M + 2Na -H]⁺,
630 [M + NaI + Na]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 63.00, H 5.95, N 3.06

gef.: C 57.29, H 5.90, N 2.68

8a(S)H-8(S)-benzyloxy-7(S)-hydroxy-5oxo-6(S)-trifluorometansulfonyloxy-hexahydrothiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (35)



C₁₈H₂₀F₃NO₈S₂ [499.49]

450mg (1,22mmol) der Verbindung **33** wurden in 50ml DCM zugegeben und mit 9mg DMAP versetzt, auf -30°C gekühlt, 300µL Tf₂O in 700µL DCM abs. zugegeben. Nach 45min wurde das Kältebad entfernt und bei RT weiter gerührt. Nach 1h wurden noch 3ml Pyridin zugegeben eine weiter 1/2h gerührt, und anschließend das LM am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in 100ml EE und 20ml H₂O aufgenommen, nach Ausschütteln, die org. Phase separiert, die wäßrige nochmals mit 100ml EE extrahiert. Nach Trocknung der vereinigten organischen Phasen über MgSO₄, erfolgte eine flashchromatographische Aufreinigung (Tol/EE 5:1, R_f = 0.25), aus welcher 228mg (0.46mmol) der Verbindung **35** resultierten, dies entsprach einer Ausbeute von 38%.

¹H-NMR (600MHz, DMSO-d₆) δ = 7,35 (m, 5H, Bn-H_{arom.}), 6.61 (d, ³J_{7-OH, 7} = 3.8Hz, 1H, 7-OH), 5.27 (d, ³J_{8a, 8} = 2.1Hz, 1H, 8a-H), 5.24 (d, ³J_{6, 7} = 3.2Hz, 1H, 6-H), 5.00 (dd, ³J_{3, 2-HproS} = 5.3Hz ³J_{3, 2-HproR} = 7.6Hz, 1H, 3-H), 4.77 (d, ²J_{Bn-CH₂gem} = 12.0Hz, 1H, Bn-CH^l), 4.70 (d, ²J_{Bn-CH₂gem} = 11.7Hz, 1H, Bn-CH^h), 4.42 (m, 1H, 7-H), 4.1 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.40 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.6Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.14 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 5.3Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proS}), 1.19 (t, ³J_{CH₂CH₃, CH₂CH₃ = 7.0Hz, 3H, CH₂CH₃)}

¹³C-NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ = 169.05 160.62 (CO-5, C3-CO), 137.58 128.41(2C) 127,99 127.82(2C) (Bn-C_{arom.}), 82.23 (C-6), 74.37 (C-8), 73.36 (Bn-CH₂), 67,77 (C-7), 63.12 (C-8a), 61.35 (OCH₂CH₃), 60.34 (C-3), 31.44 (C-2), 13.92 (CH₂CH₃)

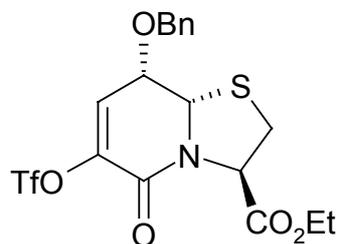
Masse (FAB, positive mode, NBA + NaI, EE): 500 [MH]⁺, 522 [MNa]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 43.28, H 4.04, N 2.80

gef.: C 43.53, H 4.30, N 2.75

8a(S)H-(8S)-benzyloxy-5oxo-6-trifluormethansulfonyloxy-2,3,8,8a-tetrahydro-5H-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (36)



C₁₈H₁₈F₃NO₇S₂ [481.47]

Verbindung **36** wurde als Nebenprodukt der Reaktion zu **35** erhalten. Diese 217mg (0.45mmol) entsprachen einer Ausbeute von 37%.

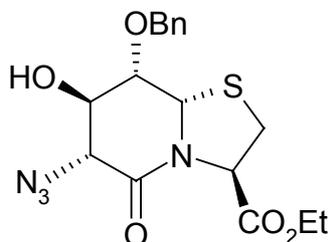
¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ = 7.3 (m, 6H, Bn-H_{arom}/7-H), 5.29 (d, ³J_{8a, 8} = 2.9Hz, 1H, 8a-H), 5.26 (dd, ³J_{3, 2-Ht} = 6.5Hz ³J_{3, 2-Hh} = 2.4Hz, 1H, 3-H), 4.72 (d, ²J_{CH2gem.} = 11.4Hz, 1H, Bn-CH^l), 4.69 (d, ²J_{CH2gem.} = 11.4Hz, 1H, Bn-CH^h), 4.39 (dd, ³J_{8, 8a} = 3.2Hz ³J_{8, 7} = 6.5Hz, 1H, 8-H), 4.15 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.34 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 6.8Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^l), 3.22 (dd, ²J_{2-Hgem.} = 11.4Hz ³J_{2-Hh, 3} = 2.1Hz, 1H, 2-H^h), 1.19 (t, ³J_{CH2CH3, CH2CH3} = 7.0Hz, 3H, CH₂CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO-d₆): δ = 168.69 154.78 (CO-5, C3-CO), 141.31 (C-6), 137.76 (Bn-C_{quart.}), 128.47 (C-7), 128.32(2C) 127.80 127.65(2C) (Bn-CH_{arom}), 72.15 (Bn-CH₂), 69.06 (C-8), 63.79 (C-8a), 61.60 (OCH₂CH₃), 61.24 (C-3), 32.87 (C-2), 13.83 (OCH₂CH₃)

Masse:

(CI-MS, NH₃) 382.1 [MH]⁺, 499.1 [MNH₄]⁺

8a(S)H-6(R)-azido-8(S)-benzyloxy-7(R)-hydroxy-5oxo-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (37)



C₁₇H₂₀N₄O₅S [392.44]

200mg (0.4mmol) der Verbindung **35** wurden in 30ml DCM gelöst, hierzu wurden 50mg NaN₃ (0.77mmol) und 100μL 15-C-5 gegeben und bei RT über Nacht gerührt. Dann wurden 10ml H₂O zur Reaktionslösung gegeben, ausgeschüttelt, die Wasserphase abgetrennt und mit

30ml DCM extrahiert, die organischen Phasen gesammelt, über Na₂SO₄ getrocknet, am Rotationsverdampfer eingengt, der Rückstand mit Tol/EE 2:1 flashchromatographisch aufgereinigt (R_f = 0.4), das LM der erhaltenen Fraktionen am Rotationsverdampfer und danach am HV entfernt, bis schlußendlich 130mg (0.33mmol) der Verbindung **37** als Reinsubstanz erhalten werden konnten. Dies entsprach einer Ausbeute von 83%.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.35 (m, 5H, Bn-H_{arom.}), 6.06 (d, ³J_{7-OH, 7} = 5.0Hz, 1H, 7-OH), 5.22 (dd, ³J_{3, 2-HproR} = 7.0Hz ³J_{3, 2-HproS} = 2.9Hz, 1H, 3H), 5.17 (d, ³J_{8a, 8} = 2.4Hz, 1H, 8a-H), 4.71 (d, ²J_{Bn-CH₂gem.} = 11.7Hz, 1H, Bn-CH^h), 4.62 (d, ²J_{Bn-CH₂gem.} = 12.0Hz, 1H, Bn-CH^h), 4.31 (d, ³J_{6, 7} = 5.9Hz, 1H, 6-H), 4.13 (m, 2H, CH₂CH₃), 3.80 (m, 1H, 7-H), 3.75 (pt, ³J_{8, 8a/7} = 2.6 Hz, 1H, 8-H), 3.23 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.0Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.13 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 2.9Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proS}), 1.19 (t, ³J_{CH₂CH₃, CH₂CH₃ = 7.0Hz, 3H, CH₂CH₃)}

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.11 164.70 (CO-5, C3-CO), 137.85 128.26(2C) 127.62 127.53(2C) (Bn-C_{arom.}), 79.39 (8-C), 71.69 (Bn-CH₂), 71.06 (C-7), 64.06 (C-6), 61.82 (C-8a), 61.37 (CH₂CH₃) 61.20 (C-3), 31.55 (C-2), 13.97 (CH₂CH₃)

Masse:

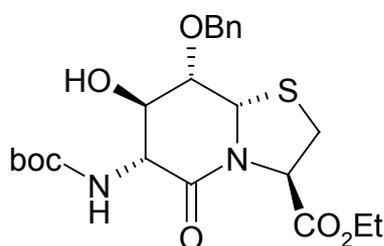
(FAB, positive mode, NBA + NaI, DMSO-d₆): 393 [MH]⁺, 415 [MNa]⁺, 565 [M+NaI+Na]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 52.03, H 5.14, N 14.28

gef.: C 50.80, H 5.66, N 13.04

8a(S)H-8(S)-benzyloxy-6(R)-tert-butyloxycarbonylamino-7(R)-hydroxy-5oxo-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (**38**)



C₂₂H₃₀N₂O₇S [466.56]

90mg (0.23mmol) des Azids **37** wurde in 20ml Pyridin und 10ml H₂O gelöst. Hiernach wurde für 10min H₂S in die Lösung eingeleitet. Nachdem diese dann bei RT über Nacht gerührt worden war, wurde das LM zuerst am Rotationsverdampfer und dann am HV entfernt. Der somit erhaltene Rückstand wurde in 30ml DCM gelöst. Nach Zusatz von 100mg (0.46mmol) Boc₂O und 40μL DIPEA (0.23mmol) wurde nochmals über Nacht gerührt. Anschließend wurde die Lösung eingengt, und der Rückstand flashchromatographisch aufgetrennt (EE/Tol

1:2, $R_f = 0.6$), woraufhin 93mg (0.2mmol, 87%) der Verbindung **38** als klarer fester Sirup erhalten werden konnten. Aus EE/Hexan konnten dann auch noch Kristalle gezüchtet werden.

$^1\text{H-NMR}$ (600MHz, DMSO-d_6) $\delta = 7.3$ (m, 5H, $\text{Bn-H}_{\text{arom.}}$), 7.03 (d, $^3J_{\text{Boc-NH}, 6} = 9.1\text{Hz}$, 1H, Boc-NH), 5.61 (d, $^3J_{7\text{-OH}, 7} = 5.9\text{Hz}$, 7-OH), 5.1 (m, 2H, 3/8a), 4.69 (d, $^2J_{\text{Bn-CH}_2\text{gem}} = 11.7\text{Hz}$, 1H, Bn-CH^t), 4.56 (d, $^2J_{\text{Bn-CH}_2\text{gem}} = 12.0\text{Hz}$, 1H, Bn-CH^h), 4.1 (m, 2H, OCH_2CH_3), 4.05 (pt, $^3J_{6, 7/\text{NH-Boc}} = 8.2\text{ Hz}$, 1H, 6-H), 3.84 (m, 1H, 7-H), 3.69 (m, 1H, 8-H), 3.20 (dd, $^3J_{2\text{-HproR}, 3} = 7.3\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem}} = 11.4\text{Hz}$, 1H, 2- H^{proR}), 3.10 (dd, $^3J_{2\text{-HproS}, 3} = 2.1\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem}} = 11.2\text{Hz}$, 1H, 2- H^{proS}), 1.36 (s, 9H, Boc- CH_3), 1.19 (t, $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3} = 7.3\text{Hz}$, 3H, OCH_2CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, DMSO-d_6): $\delta = 169.47$ 166.64 (C3- CO , CO-5), 155.80 (Boc-CO), 138.01 128.20(2C) 127.52 127.48(2C) ($\text{Bn-C}_{\text{arom.}}$), 82.24 (C-8), 77.88 (Boc-C $_{\text{quart}}$), 71.32 (Bn-CH_2), 70.68 (C-7), 61.65 (C-8a), 61.24 (OCH_2CH_3), 61.11 (C-3), 57.26 (C-6), 31.74 (C-2), 28.23 (Boc- CH_3), 13.98 (OCH_2CH_3)

Masse:

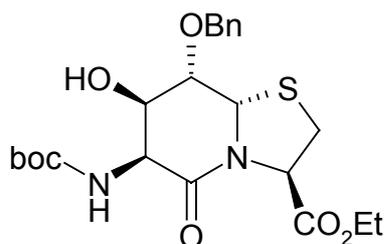
(FAB, positive mode, NBA, NaI/EE): 467 $[\text{MH}]^+$, 489 $[\text{MNa}]^+$

C,H,N-Analyse:

ber.: C 56.64, H 6.48, N 6.00

gef.: C 56.64, H 6.77, N 6.15

8a(S)H-8(S)-benzyloxy-6(S)-tert-butyloxycarbonylamino-7(R)-hydroxy-5oxo-hexahydrothiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (**39**)



$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ [466.56]

Verbindung **39**, wurde bei der Synthese von **38** erhalten (EE/Tol 1:2, $R_f = 0.55$, 8mg, 0.02mmol, 9%)

$^1\text{H-NMR}$ (600MHz, DMSO-d_6) $\delta = 7.38$ -7.28 (m, 5H, $\text{Bn-H}_{\text{arom.}}$), 6.46 (d, $^3J_{\text{Boc-NH}, 6} = 9.7\text{Hz}$, 1H, Boc-NH), 5.77 (d, $^3J_{7\text{-OH}, 7} = 3.8\text{Hz}$, 7-OH), 5.24 (d, $^3J_{8a, 8} = 2.6\text{Hz}$, 1H, 8a-H), 4.89 (dd, $^3J_{3, 2\text{-HproR}} = 7.9\text{Hz}$ $^3J_{3, 2\text{-HproS}} = 5.3\text{Hz}$, 1H, 3-H), 4.73 (d, $^2J_{\text{Bn-CH}_2\text{gem.}} = 11.7\text{Hz}$, 1H, Bn-CH^t), 4.70 (d, $^2J_{\text{Bn-CH}_2\text{gem.}} = 11.7\text{Hz}$, 1H, Bn-CH^h), 4.40 (dd, $^3J_{6, 7} = 2.9\text{Hz}$ $^3J_{6, \text{Boc-NH}} = 9.7\text{Hz}$, 1H, 6-H), 4.15 (m, 1H, 7-H), 4.10 (m, 2H, OCH_2CH_3), 3.94 (dd, $^3J_{8, 7} = 4.7\text{Hz}$ $^3J_{8, 8a} = 2.9\text{Hz}$, 1H, 8-H), 3.35 (dd, $^3J_{2\text{-HproR}, 3} = 7.9\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem}} = 11.4\text{Hz}$, 1H, 2- H^{proR}), 3.05 (dd, $^3J_{2\text{-HproS}, 3} = 5.3\text{Hz}$

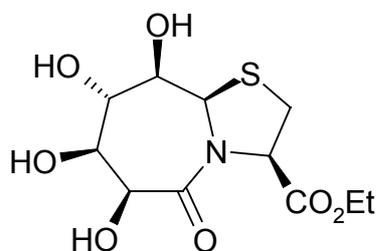
$^2J_{2\text{-Hgem}} = 11.4\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proS}), 1.38 (s, 9H, Boc-CH₃), 1.18 (t, $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}_2\text{CH}_3} = 7.3\text{Hz}$, 3H, OCH₂CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 169.79$ 166.44 (C3-CO, CO-5), 155.74 (Boc-CO), 137.93 128.29(2C) 127.70 127.59(2C) (Bn-C_{arom.}), 78.25 (Boc-C_{quart}), 73.83 (C-8), 72.21 (Bn-CH₂), 68.57 (C-7), 63.20 (C-8a), 60.99 (OCH₂CH₃), 60.38 (C-3), 51.47 (C-6), 31.33 (C-2), 28.15 (Boc-CH₃), 13.96 (OCH₂CH₃)

Masse:

(FAB, positive mode, NBA, NaI, DMSO_{d6}): 467 [MH]⁺, 489 [MNa]⁺

9a(R)H--5-oxo-(6S,7S,8S,9R)-tetrahydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (40)

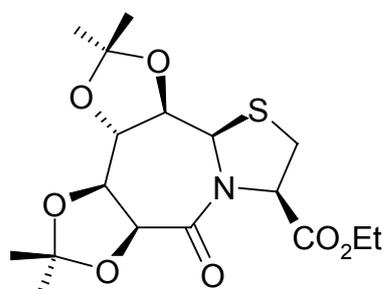


C₁₁H₁₇NO₇S [307.32]

40 wurde nach der Vorschrift von [128] synthetisiert.

Die physikalischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

9a(R)H-Bis-(6S,7S)-,(8S,9R)-O-isopropyliden-5-oxo-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (41)



C₁₇H₂₅NO₇S [387.46]

18g (58.6mmol) **40** wurden in 40ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 40ml Dimethoxypropan und einer Spatelspitze TsOH wurde die Lsg. zuerst über Nacht bei RT, und danach insgesamt 24h (2x12h auf den darauffolgenden beiden Tagen) bei 60°C gerührt. Nun wurden 1ml

NEt₃ zur Reaktionslösung gegeben, um danach das LM abzuziehen. Durch anschließende chromatographische Reinigung (EE/Tol 9:1, R_f = 0.65) konnten 18.3g (47.2mmol) des Bisacetonids **41** erhalten werden, was einer Ausbeute von 81% entsprach.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.45 (d, ³J_{9a,9} = 7.0Hz, 1H, 9a-H), 4.83 (d, ³J_{6,7} = 5.9Hz 1H, 6-H), 4.74 (dd, ³J_{3,2-HproR} = 7.3Hz ³J_{3,2-HproS} = 1.5Hz, 1H, 3-H), 4.53 (pt, ³J_{8,7/9} = 8.8Hz, 1H, 8-H), 4.35 (dd, ³J_{7,8} = 8.2Hz ³J_{7,6} = 5.9Hz 1H, 7-H), 4.29 (dd, ³J_{9,9a} = 7.0Hz ³J_{9,8} = 9.4Hz, 1H, 9-H), 4.09 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.25 (dd, ³J_{2-HproR,3} = 7,3Hz ²J_{2-Hgem} = 12.3Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.06 (dd, ³J_{2-HproS,3} = 1.8Hz ²J_{2-Hgem} = 12.3Hz, 1H, 2-H^{proS}), 1.44 (s, 3H, CH₃-Isopr.), 1.37 (s, 6H, 2x CH₃-Isopr.), 1.33 (s, 3H, CH₃-Isopr.), 1.18 (t, 3H, OCH₂CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.60 166.35 (CO-5, C3-CO), 111.89 111.68 (je Isopr-C_{quart}), 77.01 (C-7), 75.12 (C-8), 75.05 (C-6), 73.41 (C-9), 63.79 (C-3), 62.11 (C-9a), 60.91 (OCH₂-CH₃), 30.50 (C-2), 26.98 26.78 26.17 26.13 (je Isopr-CH₃), 13.87 (OCH₂CH₃)

Masse:

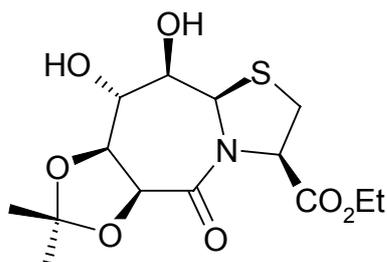
(FAB-MS, positive mode, NBA, EE) 388 [MH]⁺,

C,H,N-Analyse:

ber.: C 52.70, H 6.50, N 3.62

gef.: C 52.52, H 6.17, N 3.41

9a(R)H-(8S,9R)-dihydroxy-(6S,7S)-O-isopropyliden-5-oxo-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (**42**)



C₁₄H₂₁NO₇S [347.39]

Nachdem 3.9g (10.1mmol) des Bisacetonids **41** in EtOH gelöst waren, wurde eine Spatelspitze TsOH zugegeben und die Lsg. 22h bei RT gerührt. Durch Zugabe von 1-2ml Et₃N wurde die Reaktion abgebrochen und anschließend das LM am Rotationsverdampfer abgezogen. Durch die daraufhin folgende chromatographische Reinigung (EE:Tol 9:1 R_f = 0.15) konnten 3.1g (8.9mmol) des Monoacetonides **42** in einer Ausbeute von 88% erhalten werden.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.31 (d, ³J_{8-OH,8} = 5.4 Hz, 1H, 8-OH), 5.29 (d, ³J_{9-OH,9} = 5.3Hz, 1H, 9-OH), 5.22 (d, ³J_{9a,9} = 3.3Hz, 1H, 9a-H), 5.00 (d, ³J_{6,7} = 8.0Hz, 1H, 6-H), 4.45 (dd, ³J_{3,2} = 7.3Hz ³J_{3,2} = 9.2Hz, 1H, 3-H), 4.22 (dd, ³J_{7,8} = 9.9Hz ³J_{7,6} = 8.0Hz 1H, 7-H),

4.07 (m, 2H, $\underline{\text{CH}}_2\text{CH}_3$), 3.57 (ddd, $^3J_{8, 8\text{-OH}} = 5.4\text{Hz}$ $^3J_{8, 7} = 9.9\text{Hz}$ $^3J_{8, 9} = 7.3\text{Hz}$, 1H, 8-H), 3.36 (m, 1H, 9-H), 3.21 (m, 2H, 2-H), 1.37 (s, 3H, Isopr- $\underline{\text{CH}}_3$), 1.30 (s, 3H, Isopr- $\underline{\text{CH}}_3$), 1.16 (t, 3H, $\underline{\text{CH}}_2\text{CH}_3$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 169.09$ 165.84 (CO-5, C3-CO), 108.61 (Isopr- $\text{C}_{\text{quart.}}$), 76.91 (C-7), 75.04 (C-6), 74.83 (C-9), 74.61 (C-8), 62.53 (C-3), 62.46 (C-9a), 60.71 ($\underline{\text{OCH}}_2\text{CH}_3$), 32.46 (C-2), 26.76 24.89 (je Isopr- $\underline{\text{CH}}_3$), 13.99 ($\underline{\text{OCH}}_2\text{CH}_3$)

Masse:

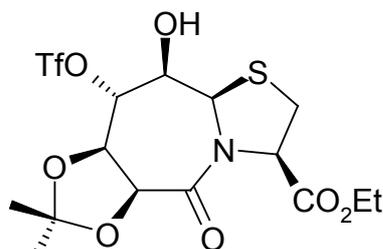
(PI-DCIMS, NH_3) 348.3 $[\text{MH}]^+$, 365.4 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$

C,H,N-Analyse:

ber.: C 48.41, H 6.09, N 4.03

gef.: C 48.38, H 6.05, N 4.09

9a(R)H-(9R)-hydroxy-(6S,7R)-O-isopropyliden-5-oxo-(8S)-trifluoromethansulfonyloxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (43)



$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{NO}_9\text{S}_2$ [479.45]

6g (17.3mmol) des Monoacetonids **42** wurden in 100ml DCM (abs.) und 20ml Pyridin gelöst. Zu der gekühlten Lösung (Eisbad) wurden nun 3.5ml Tf_2O in 6.5ml DCM (21.2mmol, 1.2äqu.) gegeben. Nach 20 min wurde das Eisbad entfernt und bei RT gerührt nach 1h 40min wurden nochmals 1,5ml Tf_2O in 3.5ml DCM zugegeben, um dann nach 2h die Reaktion durch Zugabe von 40 cm^3 Eis abzu-brechen. Die org. Phase wurde separiert und über Na_2SO_4 getrocknet. Abziehen des LM mit anschließender chromatographischer Reinigung des resultierenden Rohprodukts ergaben nach Trocknung am Hochvakuum 7.44g (15.5mmol) eines gelblichen Pulvers, das Triflat **43** konnte somit in einer Ausbeute von 90 % als Reinsubstanz isoliert werden.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 6.33$ (d, $^3J_{9\text{-OH}, 9} = 6.0\text{Hz}$, 1H, 9-OH), 5.28 (d, $^3J_{9a, 9} = 3.0\text{Hz}$, 1H, 9a-H), 5.27 (d, $^3J_{6, 7} = 7.8\text{Hz}$, 1H, 6-H), 4.93 (dd, $^3J_{8, 7} = 10.5\text{Hz}$ $^3J_{8, 9} = 7.8\text{Hz}$, 1H, 8-H), 4.72 (dd, $^3J_{7, 8} = 10.5\text{Hz}$ $^3J_{7, 6} = 8.1\text{Hz}$, 1H, 7-H), 4.54 (dd, $^3J_{3, 2\text{-Ht}} = 7.2\text{Hz}$ $^3J_{3, 2\text{-Hh}} = 9.5\text{Hz}$, 1H, 3-H), 4.08 (m, 2H, $\underline{\text{CH}}_2\text{CH}_3$), 3.86 (m, 1H, 9-H, D_2O -Zugabe: dd, $^3J_{9, 9a} = 3.2\text{Hz}$ $^3J_{9, 8} = 8.0\text{Hz}$), 3.37 (dd, $^3J_{2\text{-Ht}, 3} = 7.3\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem}} = 10.8\text{Hz}$, 1H, 2-H^t), 3.27 (dd, $^3J_{2\text{-Hh}, 3} =$

9.5Hz $^2J_{2\text{-Hgem}} = 11.0\text{Hz}$, 1H, 2-H^h), 1.35 (s, 3H, Isopr-CH₃), 1.34 (s, 3H, Isopr-CH₃), 1.15 (t, 3H, CH₂CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 168.73$ 164.80 (CO-5, C3-CO), 110.26 (Isopr-C_{quart.}), 92.50 (C-8), 75.33 (C-6), 72.86 (C-7), 71.63 (C-9), 62.76 (C-3), 61.96 (C-9a), 60.91 (OCH₂CH₃), 32.28 (C-2), 26.19 25.09 (je Isopr-CH₃), 13.78 (OCH₂CH₃)

Masse:

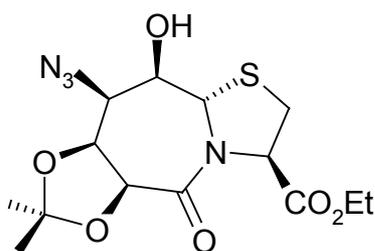
(PI-DCIMS, CH₄): 480.1 [MH]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 37.58, H 4.20, N 2.94

gef.: C 37.12, H 4.26, N 2.99

9a(R)H-(8R)-azido-(9R)-hydroxy-(6S,7S)-O-isopropyliden-5-oxo-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (44)



C₁₄H₂₀N₄O₆S [372.40]

3g des Triflats **43** (6.25 mmol) wurden in 60ml DMF gelöst. Dieser Lösung wurden dann 3g NaN₃ (46mmol) zugegeben, und für 10h auf 50°C erhitzt. Es wurde anschließend noch bei RT über Nacht gerührt, um anschließend dann das LM abzuziehen. Der Rückstand wurde in 150ml EE und 50ml H₂O aufgenommen, ausgeschüttelt und die organische Phase separiert. Nachdem die wäßrige Phase noch 2 mal mit je 100ml EE extrahiert worden war, wurden die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet. Durch die folgende flashchromatographische Reinigung (EE/Tol 9:1 R_f = 0.35) gelang es 1.8g (.83mmol. 77%) des Azids **44** zu erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 5.25$ (d, $^3J_{9\text{-OH}, 9} = 8.0\text{Hz}$, 1H, 9-OH), 5.10 (d, $^3J_{9a, 9} = 2.7\text{Hz}$, 1H, 9a-H), 4.94 (d, $^3J_{6, 7} = 8.6\text{Hz}$, 1H, 6-H), 4.67 (dd, $^3J_{7, 8} = 2.2\text{Hz}$ $^3J_{7, 6} = 8.6\text{Hz}$ 1H, 7-H), 4.49 (pt, $^3J_{3, 2} = 7.4\text{Hz}$, 3-H), 4.34 (dd, $^3J_{8, 7} = 2.2\text{Hz}$ $^3J_{8, 9} = 6.3\text{Hz}$, 1H, 8-H), 4.13 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.95 (ddd, $^3J_{9, 9a} = 2.7\text{Hz}$ $^3J_{9, 8} = 6.3\text{Hz}$ $^3J_{9, 9\text{-OH}} = 8.2\text{Hz}$, 1H, 9-H), 3.25 (m, 2H, 2-H), 1.43 (s, 3H, Isopr-CH₃), 1.29 (s, 3H, Isopr-CH₃), 1.20 (t, 3H, OCH₂CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 169.87$ 165.76 (CO-5, C3-CO), 107.82 (Isopr-C_{quart.}), 74.69 (C-6), 73.04 (C-7), 70.34 (C-9), 63.17 (C-8), 62.99 (C-3), 62.86 (C-9a), 60.95 (OCH_2CH_3), 32.37 (C-2), 25.53 23.16 (je Isopr- CH_3), 13.85 (OCH_2CH_3)

Masse:

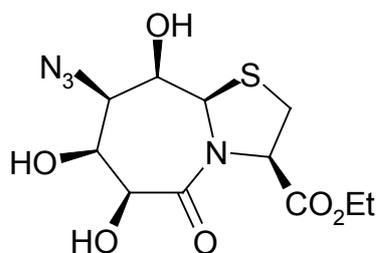
(PI-DCIMS, NH_3): 373.1 $[\text{MH}]^+$, 390.1 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$

C,H,N-Analyse:

ber.: C 45.15, H 5.41, N 15.04

gef.: C 45.81, H 5.52, N 13.19

9a(R)H-(8R)-azido-5-oxo-(6S,7S,9R)-trihydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (45)



$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ [332.34]

1.65g (4.4mmol) der geschützten Verbindung **44** wurden in 25ml EE gelöst, anschließend wurden zuerst 15ml TFA und nach 7h nochmals 15ml zugegeben. Nach 9h rühren wurde mehrmals die Reaktionslösung am Rotationsverdampfer eingengt hierbei wurde jedesmal Toluol zugegeben. Zum Rest wurde soviel Et_2O gegeben, bis sich ein Nd. zu bilden begann. Nach einer Nacht im Kühlschrank bei 4°C , wurde der angefallene Feststoff abfiltriert und im Hochvakuum getrocknet. Hierbei wurden 870mg (2.6mmol) eines farblosen Pulvers erhalten, was einer Ausbeute von 59% entsprach.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 5.81$ (d, $^3J_{7\text{-OH},7} = 6.1\text{Hz}$, 1H, 7-OH), 5.28 (s, 1H, 9a-H), 4.77 (pt, $^3J_{3,2} = 7.5\text{Hz}$, 1H, 3H), 4.71 (d, $^3J_{6\text{-OH},6} = 5.9\text{Hz}$, 1H, 6-OH), 4.51 (d, $^3J_{6,6\text{-OH}} = 6.1\text{Hz}$, 1H, 6-H) 4.33 (d, $^3J_{9\text{-OH},9} = 11.6\text{Hz}$, 1H, 9-OH), 4.1 (m, 3H, 7/ OCH_2CH_3 DQF-COSY: 4.10 OCH_2CH_3 , 4.07 7-H), 4.02 (ddd, $^3J_{9,9\text{-OH}} = 11.6\text{Hz}$ $^3J_{9,9a} = 1.7\text{Hz}$ $^3J_{9,8} = 3.5\text{Hz}$, 1H, 9-H), 3.34 (pt, $^3J_{8,7/9} = 2.8\text{Hz}$, 1H, 8-H), 3.29 (m, 2H, 2-H), 1.18 (t, 3H, OCH_2CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 169.82$ 169.65 (CO-5, C3-CO), 76.61 (C-9), 76.33 (C-7), 72.05 , 64.46 (C-3), 62.66 (C-9a), 61.43 (C-8), 61.13 (OCH_2CH_3), 31.21 (C-2), 13.74 (OCH_2CH_3)

Masse:

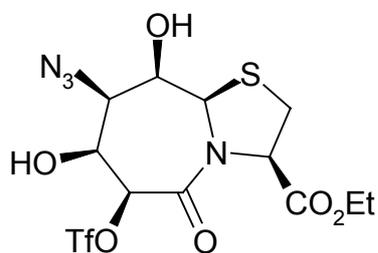
(+p ESI MS, H₂O/MeOH, +10mmol/l NH₄Ac): 332.9 [MH]⁺, 350 [M+NH₄]⁺, 354.9 [M+Na]⁺,
370.9 [M+K]⁺,

(-p ESI MS, H₂O/MeOH, +10mmol/l NH₄Ac): 330.9 [M-H]⁻

C,H,N-Analyse:

ber.: C 39.76, H 4.85, N 16.86

gef.: C 39.85, H 4.84, N 16.31

9a(R)H-(8R)-azido-(7S,9R)-dihydroxy-5-oxo-(6S)-trifluoromethansulfonyloxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (46)

C₁₂H₁₅F₃N₄O₈S₂ [464.40]

150mg (0.45mmol) **45** wurden in 55ml DCM abs. /Pyridin 10:1 gelöst. Zu der mit einem Eisbad gekühlten Lösung wurden zunächst 100µL Tf₂O (0.16mmol, 1.3eq) in 0.5ml DCM zugegeben nach 30min dieselbe Menge, und da immer noch keine Umsetzung zu beobachten war nach nochmals 30min weitere 200µL, somit also insgesamt 5.2eq*. Nach 1 1/2h wurde dann das Eisbad entfernt, und nachdem noch 15min bei RT gerührt wurde, durch Zugabe von 40cm³ Eis die Reaktion abgebrochen. Die wäßrige Phase wurde abgetrennt, die organische über Na₂SO₄ getrocknet, das LM abgezogen um dann einen flashchromatographischen Reinigungsschritt (EE/Tol 1:2 R_f = 0.55) anzuschließen. Nachdem die entsprechenden Fraktionen gesammelt, das LM zuerst am Rotationsverdampfer, und dann im HV entfernt wurde, blieben 192mg eines gelblichen Feststoffes übrig, diese 0.41mmol entsprachen einer Ausbeute von 92%.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 6.61 (d, ³J_{7-OH, 7} = 6.8Hz, 1H, 7-OH), 6.13 (s, 1H, 6-H), 5.53 (s, 1H, 9a-H), 4.84 (dd, ³J_{3, 2-Hh} = 8.4Hz ³J_{3, 2-Ht} = 7.0Hz, 1H, 3H), 4.44 (d, ³J_{9-OH, 9} = 11.6Hz, 1H, 9-OH), 4.39 (m, 1H, 7-H), 4.13 (m, 3H, 9/OCH₂CH₃), 3.47 (m, 1H, 8-H), 3.38 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 7.2Hz ²J_{2-Hgem} = 11.2Hz, 1H, 2-H^t), 3.31 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 8.4Hz ²J_{2-Hgem} = 11.2Hz, 1H, 2-H^h), 1.19 (t, 3H, OCH₂CH₃)

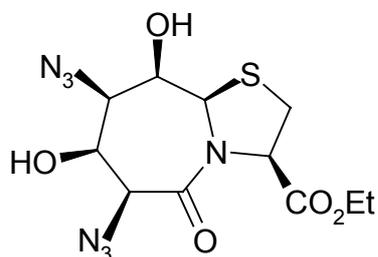
* Es ist davon auszugehen, daß entweder das Triflatanhydrid welches zu diesem Zeitpunkt schon etwas älter war schon teilweise hydrolysiert war, und hätte man frisches genommen es sicher keine 5eq bis zur kompletten Umsetzung gebraucht hätte, oder aber daß die Reaktionslösung sonst irgendwie noch Spuren von Wasser enthielt.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 169.47$ 162.42 (CO-5, C3-CO), 87.13 (C-6), 76.45 (C-9), 73.36 (C-7), 64.73 (C-3), 62.30 (C-9a), 61.41 (OCH₂-CH₃), 60.49 (C-8), 31.17 (C-2), 13.73 (OCH₂CH₃)

Masse:

(PI-CIMS, NH₃): 464.9 [MH]⁺, 482.0 [M+NH₄]⁺

9a(R)H-(6S,8R)-diazido-(7S,9R)-dihydroxy-5-oxo-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (47)



$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_7\text{O}_5\text{S}$ [357.35]

170mg (0.39mmol) des Triflates **46** wurden in 20ml DMF gelöst, nach Zugabe von 50mg (0.77mol) NaN₃, wurde die Lösung auf 50°C erwärmt. Nach 7h des Rührens wurde das LM mittels eines Rota-tionsverdampfers dem Reaktionsgemisch entzogen. Der verbleibenden Rückstand wurde in 100ml EE und 25ml H₂O aufgenommen, die Wasserphase abgetrennt und verworfen. Anschließend wurde die organischen Phase mit 50ml H₂O ausgeschüttelt, separiert über Na₂SO₄ getrocknet und schlußendlich das LM entfernt. Die nun folgende flashchromatographische Aufreinigung erbrachte 109mg (0.31mmol) der Verbindung **47** als Reinsubstanz. Für diese so erhaltene Menge konnte eine Ausbeute von 80% ermittelt werden.

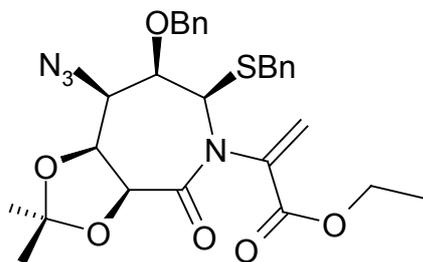
$^1\text{H-NMR}$ (600MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 6.08$ (d, $^3J_{7\text{-OH}, 7} = 6.9\text{Hz}$, 1H, 7-OH), 5.28 (s, 1H, 9a-H), 4.78 (pt, $^3J_{3, 2} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 3H), 4.66 (s, 1H, 6-H), 4.51 (d, $^3J_{9\text{-OH}, 9} = 11.1\text{Hz}$, 1H, 9-OH), 4.14 (m, 1H, 7-H), 4.12 (m, 2H, OCH₂CH₃), 4.06 (dd, $^3J_{9, 8} = 3.2\text{Hz}$ $^3J_{9, 9\text{-OH}} = 10.4\text{Hz}$, 1H, 9-H), 3.3 (m, 3H, 2-H/8-H, DQF-COSY: 3.34 8-H, 3.32 2-H), 1.19 (t, 3H, OCH₂CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 169.75$ 165.82 (CO-5, C3-CO), 76.26 (C-9), 74.49 (C-7), 64.69 (C-3), 64.36 (C-6), 62.88 (C-9a), 62.01 (C-8), 61.23 (OCH₂CH₃), 31.26 (C-2), 13.76 (OCH₂CH₃)

Masse:

(+p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH, +10mmol/l NH₄Ac): 357.9 [MH]⁺, 374.9 [M+NH₄]⁺,
 732.3 [2M+NH₄]⁺, 337.3 [2M+Na]⁺,
(-p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH, +10mmol/l NH₄Ac): 355.8 [M-H]⁻, 713.2 [2M-H]⁻

2-((4R)-azido-(3R)-benzyloxy-2(R)-benzylsulfanyl-(5S,6S)-O-isopropyliden-7-oxo-azepan-1-yl)-acrylsäure-ethylester (48)



C₂₈H₃₂N₄O₆S [552.65]

100mg (0.27mmol) **44** wurden in 3ml DMF gelöst. Zur Lösung wurden jetzt 0.1ml (0.84mmol) BnBr und dann 20mg (0.83mmol) NaH gegeben. Nun wurde die Lösung bei RT gerührt, und nach-dem nach 3h immer noch Edukt zu detektieren war, wurden nochmals 20mg NaH zugegeben. Nach insgesamt 5h wurden dann 100ml EE und 20ml H₂O zugegeben, die Wasserphase wurde abgetrennt, und die org. Phase über Na₂SO₄ getrocknet. Nach flashchromatographischer Aufreinigung (EE/Tol 4:5, R_f = 0.4) wurden 108mg (0.20mmol, 74%) der Verbindung **48** erhalten.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}) δ = 7,4-7.2 (m, 10H, Bn-H_{arom.}), 6.21 (s, 1H, CH_{olef.}^t), 5.94 (s, 1H, CH_{olef.}^h), 5.04 (d, ³J_{2,3} = 3.3Hz, 1H, 2-H), 4.96 (d, ³J_{6,5} = 8.6Hz, 1H, 6-H), 4.77 (m, 1H, 4-H), 4.75 (d, ²J_{CH2gem.} = 11.6Hz, 1H, Bn-OCH^t), 4.65 (dd, ³J_{5,6} = 8.6Hz ³J_{5,4} = 2.2Hz, 1H, 5-H), 4.50 (d, ²J_{CH2gem.} = 11.6Hz, 1H, Bn-OCH^h), 4.16 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.94 (dd, ³J_{3,2} = 3.3Hz ³J_{3,4} = 5.3Hz, 1H, 3-H), 3.84 (m, 2H, Bn-SCH₂), 1.46 (s, 3H, Isopr-CH₃^t), 1.33 (s, 3H, Isopr-CH₃^h), 1.21 (t, ³J_{CH2CH3, CH2CH3} = 7Hz, 3H, CH₂CH₃)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}) δ = 167.67 164.09 (CO-6, CO-OEt), 137.31 136.82 135.16 (2x Bn-C_{quart.}, C_{quart.}^{olef.}), 128.83 128.61 128.25 127.69 127.48 127.29 (Bn-CH_{arom.}), 124.03 (CH₂^{olef.}), 108.80 (Isopr-C_{quart.}), 76.81 (C-3), 74.10 (C-6), 74.00 (C-5), 71.51 (Bn-OCH₂), 62.64 (C-2), 60.68 (OCH₂CH₃), 59.25 (C-4), 34.98 (Bn-SCH₂), 26.27 23.56 (Isopr-CH₃), 13.90 (OCH₂CH₃)

Masse:

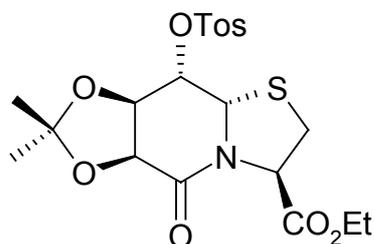
(+p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH, +1%AcOH): 553.2 [MH]⁺, 575.2 [M+Na]⁺, 591.1 [M+K]⁺,

C,H,N-Analyse:

ber.: C 60.85, H 5.84, N 10.14

gef.: C 59.17, H 5.68, N 9.62

8a(S)H-(6S,7R)-O-isopropyliden-5-oxo-(8S)-paratoluolsulfonyloxy-hexahydrothiazolo[3,2a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester (49)



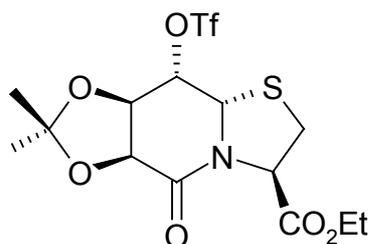
C₂₀H₂₅NO₈S₂ [471.55]

110mg (0.35mmol) des Acetonids **32** wurden 10ml Pyridin gelöst. Zur gekühlten Lösung (Eisbad) wurden 80mg (0.42mmol) TosCl und eine kat. Menge DMAP gegeben. Jetzt wurde 3 Tage bei 4°C gerührt. Darauf wurden nochmals 100mg TosCl (0.52mmol) und 40mg (0.33mmol) DMAP zugegeben, und die Lösung eine Woche bei RT stehen gelassen. Zur Lösung wurden nun 70ml EE und 30ml H₂O gegeben. Die Wasserphase wurde abgetrennt, und noch mit 100ml EE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden noch über MgSO₄ getrocknet. Hierauf erfolgte eine Aufreinigung des Rohproduktes durch Flashchromatographie (EE/Tol 4:5, R_f = 0.65), hierdurch wurden 150mg (0.32mmol, 91%) der Verbindung **49** erhalten.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.85 (d, ³J_{TosH, TosH'} = 8.2Hz, 2H, Tos-H_{arom}), 7.47 (d, ³J_{TosH', TosH} = 8.2Hz, 2H, Tos-H_{arom}), 5.27 (dd, ³J_{3, 2-HproS} = 1.8Hz ³J_{3, 2-HproR} = 6.5Hz, 1H, 3-H), 5.08 (d, ³J_{8a, 8} = 1.2Hz, 1H, 8a-H), 4.86 (pt, ³J_{8, 8a/7} = 2.1Hz, 1H, 8-H), 4.64 (d, ³J_{6, 7} = 6.5Hz, 1H, 6-H), 4.53 (dd, ³J_{7, 6} = 6.5Hz ³J_{7, 8} = 2.6Hz, 1H, 7-H), 4.08 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.00 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 1.8Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proS}), 2.87 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 6.5Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 2.42 (s, 3H, Tos-CH₃), 1.41 (s, 3H, Isopr-CH₃^{proS}), 1.30 (s, 3H, Isopr-CH₃^{proR}), 1.15 (t, ³J_{OCH₂CH₃, OCH₂CH₃ = 7.0Hz, 3H, OCH₂CH₃)}

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.71 163.51 (C3-CO, CO-5), 145.57 132.04 130.12(2C) 127.97(2C) (Tos-C_{arom}), 110.60 (Isopr-C_{quart}), 77.53 (C-8), 74.28 (C-7), 72.86 (C-6), 61.42 (OCH₂CH₃), 61.12 (C-3), 58.51 (C-8a), 30.41 (C-2), 25.80 (Isopr-CH₃^{proS}), 24.03 (Isopr-CH₃^{proR}), 21.16 (Tos-CH₃), 13.88 (OCH₂CH₃)

8a(S)H-(6S,7R)-O-isopropyliden-5-oxo-(8S)-trifluoromethansulfonyloxy-hexahydrothiazolo[3,2a]pyridin-3(R)-carbonsäure-ethylester(50)



C₁₄H₁₈F₃NO₈S₂ [449.42]

250mg (0.32mmol) der Verbindung **32** wurden in 10ml DCM abs. und 3ml Pyridin gelöst. Jetzt wurden 100mg (0.82mmol) DMAP zugegeben, und die Lösung mit einem Eisbad gekühlt. Zur gekühlten Lösung wurden 0.15ml (0.91mmol) Tf₂O in 0.85ml DCM zugegeben. Nach 30min wurde das Eisbad entfernt und noch 1h bei RT gerührt. Die Lösung wurden jetzt nach Zugabe von 50ml Toluol eingengt. Der Rückstand wurde in 50ml EE und 20ml H₂O aufgenommen, die Wasserphase abgetrennt und noch ein mal mit 50 ml EE extrahiert. Die org. Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet, woraufhin sich eine flashchromatographische Aufreinigung anschloß (EE/Tol 3:2, R_f = 0.65), hierdurch wurden 295mg (0.66mmol, 83%) der Verbindung **50** erhalten.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.43 (d, ³J_{3, 2-Hh} = 6.2Hz, 1H, 3-H), 5.41 (s, 1H, 8-H), 5.27 (s, 1H, 8a-H), 4.75 (m, 2H, 6-H/7-H), 4.14 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.20 (dd, ²J_{2-Hgem} = 11.7Hz, 1H, 2-Hⁱ), 3.00 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 6.5Hz ²J_{2-Hgem} = 11.7Hz, 1H, 2-H^h), 1.46 (s, 3H, Isopr-CH₃), 1.36 (s, 3H, Isopr-CH₃), 1.19 (t, ³J_{OCH₂CH₃, OCH₂CH₃ = 7.0Hz, 3H, OCH₂CH₃)}

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 168.59 162.89 (C3-CO, CO-5), 110.93 (Isopr-C_{quart.}), 84.90 (C-8), 73.84 72.76 (C-6, C-7), 61.57 (C-3), 61.01 (OCH₂CH₃), 58.45 (C-8a), 30.32 (C-2), 25.71 (Isopr-CH₃), 23.98 (Isopr-CH₃), 13,86 (OCH₂CH₃)

Masse:

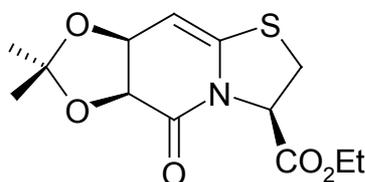
(FAB-MS, positive mode, NBA, EE): 450 [MH]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 37.42, H 4.04, N 3.12

gef.: C 37.46, H 4.02, N 3.06

(6S,7S)-dihydroxy-5-oxo-2,3,6,7-tetrahydro-5H-thiazolo[3,2-a]pyridine-(3R)-carbonsäure-ethylester (51)



C₁₃H₁₇NO₅S [299.35]

250mg (0.55mmol) der Verbindung **50** wurden in 15ml DMF gelöst. Hierzu wurden 100mg (1.5mmol) NaN₃ gegeben. Die Lsg. wurde über Nacht bei RT gerührt, woraufhin das LM entfernt wurde. Der Rückstand wurde über Flashchromatographie (EE/Tol 5:4, R_f = 0.55) aufgereinigt. Somit wurden nach Trocknen im HV 112mg (0.38mmol, 69%) der Verbindung **51** erhalten.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.20 (d, ³J_{8,7} = 5.6Hz, 1H, 8-H), 5.16 (dd, ³J_{3,2-HproS} = 1.5Hz ³J_{3,2-HproR} = 7.6Hz, 1H, 3-H), 4.68 (pt, ³J_{7,6/8} = 6.5Hz, 1H, 7-H), 4.64 (d, ³J_{6,7} = 6.8Hz, 1H, 6-H), 4.13 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.53 (dd, ³J_{2-HproR,3} = 7.6Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.37 (dd, ³J_{2-HproS,3} = 1.5Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^h), 1.32 (s, 3H, Isopr-CH₃^{proR}), 1.28 (s, 3H, Isopr-CH₃^{proS}), 1.18 (t, ³J_{OCH₂CH₃, OCH₂CH₃} = 7.0Hz, 3H, OCH₂CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 168.36 (C3-CO), 166.08 (CO-5), 140.41 (C-8a), 108.38 (Isopr-C_{quart.}), 90.77 (C-8), 72.14 (C-6), 71.36 (C-7), 61.51 (OCH₂CH₃), 59.97 (C-3), 30.52 (C-2), 27.28 (Isopr-CH₃^{proS}), 25.89 (Isopr-CH₃^{proR}), 13.89 (OCH₂CH₃)

Masse:

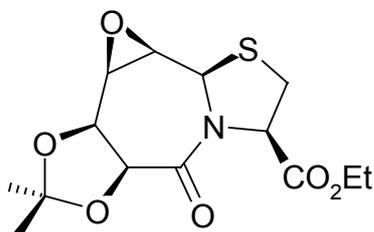
(FAB, positive mode, NBA/EE): 300 [MH]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 52.16, H 5.72, N 4.68

gef.: C 52.36, H 5.78, N 4.42

9a(R)H-(8R,9R)-epoxy-(6S,7S)-O-isopropyliden-5-oxo-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (52)



C₁₄H₁₉NO₆S [329.37]

800mg (1.67mmol) des Triflats **43** wurden in 30ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 2ml NEt₃ wurde die Lösung 8h bei 60°C gerührt. Nachdem anschließend das LM mittel Rotationsverdampfer entfernt worden war, erfolgte eine flashchromatographische Aufreinigung (EE/T 9:1, R_f = 0.4) woraus 533mg (1.62mmol, 97%) des Epoxids **52** resultierten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.52 (s, 1H, 9a-H), 4.77 (dd, ³J_{3,2-Ht} = 6.5Hz ³J_{3,2-Hh} = 3.5Hz, 1H, 3-H), 4.73 (d, ³J_{6,7} = 6.4Hz, 1H, 6-H), 4.59 (dd, ³J_{7,8} = 2.9Hz ³J_{7,6} = 6.4Hz, 1H, 7-H), 4.06 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.45 (dd, ³J_{8,7} = 2.9Hz ³J_{8,9} = 4.5Hz, 1H, 8-H), 3.36 (d, ³J_{9,8} = 4.5Hz, 1H, 9-H), 3.25 (dd, ³J_{2-Ht,3} = 6.5Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.6Hz, 1H, 2-H^t), 3.14 (dd, ³J_{2-Hh,3} = 3.7Hz ³J_{2-Hgem.} = 11.8Hz, 2H, 2-H^h), 1.41 (s, 3H, Isopr-CH₃), 1.32 (s, 3H, Isopr-CH₃), 1.18 (t, 3H, OCH₂CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 168.55$ 166.65 (CO-5, C3-CO), 108.33 (Isopr-C_{quart.}), 73.71, 73.67 (C-6, C-7), 63.40 (C-3), 60.46 (OCH₂CH₃), 56.17 (C-9a), 54.77 (C-9), 51.41 (C-8), 31.25 (C-2), 26.83 25.88 (je Isopr-CH₃), 13.84 (OCH₂CH₃)

Masse:

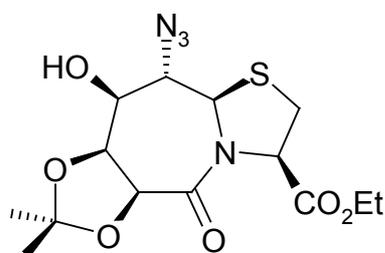
(PI-DCIMS, NH₃): 330.1 [MH]⁺, 347.1 [M+NH₄]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 51.05, H 5.81, N 4.25

gef.: C 50.89, H 5.70, N 4.23

9a(R)H-(9S)-azido-(8S)-hydroxy-(6S,7S)-O-isopropyliden-5-oxo-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (53)



$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ [372.40]

1.4g (4.26mmol) des Epoxids **52** wurden in 20ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 500mg NaN₃ und 0.15ml AcOH wurde 11h bei 40-50°C, 5h bei 50-60°C und 11h bei 60°C gerührt (insgesamt über 3 Tage, über Nacht bei RT). Das LM wurde entfernt, der Rückstand in 100ml EE und 30ml H₂O aufgenommen, die Wasserphase abgetrennt und die org. Phase über Na₂SO₄ getrocknet. Nach flashchromatographischer Reinigung (Start EE/Tol 2:1 → EE/Tol 9:1, R_{f(EE/Tol 9:1)} = 0.4) wurden 670mg (1.8mmol, 42%) des Azids **53** erhalten.

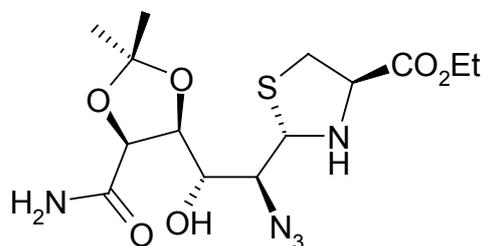
$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 5.00$ (d, $^3J_{8-OH, 8} = 4.7\text{Hz}$, 1H, 8-OH), 4.98 (d, $^3J_{9a, 9} = 9.9\text{Hz}$, 1H, 9a-H), 4.95 (d, $^3J_{6, 7} = 8.8\text{Hz}$, 1H, 6-H), 4.83 (d, $^3J_{3, 2-HproR} = 7.1\text{Hz}$ $^3J_{3, 2-HproS} = 5.2\text{Hz}$, 1H, 3-H), 4.46 (dd, $^3J_{7, 8} = 1.7\text{Hz}$, $^3J_{7, 6} = 8.8\text{Hz}$, 1H, 7-H), 4.13 (m, 2H, OCH₂CH₃), 4.06 (m, 1H, 8-H), 4.01 (dd, $^3J_{9, 8} = 1.7\text{Hz}$ $^3J_{9, 9a} = 10.4\text{Hz}$, 1H, 9-H), 3.37 (dd, $^3J_{2proR, 3} = 6.9\text{Hz}$ $^2J_{2-Hgem.} = 11.8\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proR}), 3.20 (dd, $^3J_{2-HproS, 3} = 5.2\text{Hz}$ $^2J_{2-Hgem.} = 11.8\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proS}), 1.40 1.30 (s, je 3H, Isopr-CH₃), 1.21 (t, 3H, OCH₂CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 170.14$ 166.60 (CO-5, C3-CO), 107.88 (Isopr-C_{quart.}), 74.65 (C-7), 74.23 (C-6), 71.29 (C-8) 67.31 (C-9), 62.19 (C-3), 61.81 (C-9a), 61.27 (OCH₂CH₃), 31.04 (C-2), 25.62 23.62 (je Isopr-CH₃), 13.93 (OCH₂CH₃)

Masse:

(CI-MS, NH₃): 373.4 [MH]⁺

2-((1S)-Azido-4-carbamoyl-(2S)-(3S,4S)-O-isopropyliden-butyl)-thiazolidin-(4R)-carbonsäure-ethylester (54)



C₁₄H₂₃N₅O₆S₂ [389.43]

1.85g (5.6mmol) des Epoxids **52** wurden in 25ml DMF gelöst. Nach Zusatz von 2g NaN₃ und 1g NH₄Cl wurde an 2 Tagen für je 12h bei 50°C gerührt. Das LM wurde entfernt, der Rückstand in 60ml EE und 20ml H₂O aufgenommen, die Wasserphase abgetrennt und noch 3 mal mit je 60ml EE extra-tiert. Anschließend Trocknen der vereinigten org. Phasen über Na₂SO₄ und flashchromatographische Aufreinigung (EE/Tol 2:1 → EE pur, R_f(EE/Tol 9:1) = 0.6). So konnten dann nach Trocknen im HV 936mg (2.4mmol, 43%) des Thiazolidins **54** erhalten werden.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.82 (s, 1H, CONH^h), 7.36 (s, 1H, CONH^h), 5.23 (bs, 1H, 3-OH), 4.96 (d, ³J_{1,2} = 10.2Hz 1H, 1-H), 4.59 (d, ³J_{5,4} = 7.2Hz, 1H, 5-H), 4.38 (dd, ³J_{4,5} = 7.2Hz ³J_{4,3} = 9.2Hz, 1H, 4-H), 4.14 (m, 2H, OCH₂CH₃), 4.08 (m, 1H, α-H), 3.81 (bs, 1H, CαNH), 3.72 (dd, ³J_{3,2} = 1.8Hz ³J_{3,4} = 9.2Hz, 1H, 3-H), 3.34 (dd, ³J_{2,3} = 1.8Hz ³J_{2,1} = 10.2Hz, 1H, 2-H), 3.16 (dd, ³J_{β-HproR, α-H} = 6.7Hz ²J_{β-Hgem.} = 10.2Hz, 1H, β-H^{proR}), 2.83 (dd, ³J_{β-HproS, α-H} = 7.2Hz ²J_{β-Hgem.} = 10.2 Hz, 1H, β-H^{proS}), 1.46 (s, 3H, Isopr-CH₃^{proS}), 1.3 (s, 3H, Isopr-CH₃^{proR}), 1.20 (t, 3H, OCH₂CH₃)

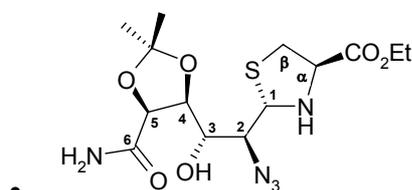
¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 173.06 (CONH₂), 170.70 (α-CO), 109.43 (Isopr-C_{quart}), 77.08 (C-4), 76.11 (C-5), 69.98 (C-3), 68.99 (C-1), 65.41 (C-2), 63.71 (Cα), 60.76 (OCH₂CH₃), 37.03 (Cβ), 26.79 (Isopr-CH₃^{proS}), 24.82 (Isopr-CH₃^{proR}), 13.94 (OCH₂CH₃)

Nomenklatur*

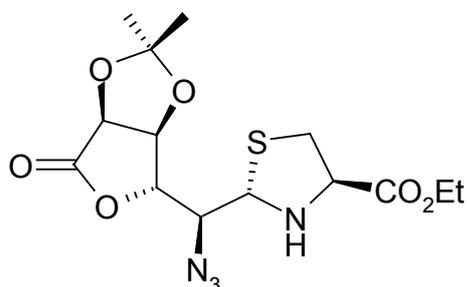
Masse:

(PI-DCIMS, NH₃): 390.4 [MH]⁺

- Zählweise **54**



(2S)-[azido-(3S,4S)-O-isopropyliden-5-oxo-tetrahydro-furan-2-yl]-methyl]-thiazolidin-(4R)-carbonsäure-ethylester (55)



C₁₄H₂₀N₄O₆S [372.40]

Verbindung **55** (716mg, 1.9mmol, 44%) wurde bei der Synthese von **53** ($R_{f(EE/Tol\ 9:1)} = 0.85$) erhalten. Aus EE/PE konnten noch Kristalle gezüchtet werden.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 5.01$ (d, $^3J_{5,4} = 5.6$ Hz, 1H, 5-H), 4.86 (d, $^3J_{4,5} = 5.6$ Hz, 1H, 4-H), 4.78 (dd, $^3J_{1,2} = 10$ Hz $^3J_{1,NH} = 7.7$ Hz, 1H, 1-H), 4.57 (d, $^3J_{3,2} = 2.0$ Hz, 1H, 3-H), 4.17 (m, 2H, OCH₂CH₃), 4.14 (dd, $^3J_{2,3} = 2.0$ Hz $^3J_{2,1} = 10$ Hz, 1H, 2-H), 4.04 (ddd, $^3J_{\alpha-H,NH} = 11.8$ Hz $^3J_{\alpha-H,\beta-HproS} = 8.7$ Hz $^3J_{\alpha-H,\beta-HproR} = 6.4$ Hz, 1H, α -H), 3.96 (dd, $^3J_{NH,\alpha-H} = 11.8$ Hz $^3J_{NH,1} = 7.7$ Hz, 1H, NH), 3.32 (dd, $^3J_{\beta-HproR,\alpha-H} = 6.1$ Hz $^2J_{\beta-Hgem.} = 10.0$ Hz, 1H, β -H^{proR}), 2.78 (dd, $^3J_{\beta-HproS,\alpha-H} = 8.7$ Hz $^2J_{\beta-Hgem.} = 10.2$ Hz, 1H, β -H^{proS}), 1.34 1.32 (je s, 3H, Isopr-CH₃), 1.22 (t, 3H, OCH₂CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 173.52$ (CO-6), 170.33 (α -CO), 112.28 (Isopr-C_{quart}), 81.11 (C-3), 78.25 (C-4), 74.13 (C-5), 66.95 (C-1), 64.09 (C-2), 63.06 (C α), 61.05 (OCH₂CH₃), 37.87 (C β), 26.32 25.05 (Isopr-CH₃), 13.94 (OCH₂CH₃)

Nomenklatur siehe * Seite 230

Masse:

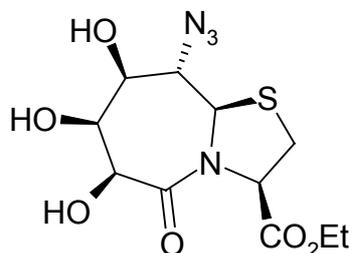
(CI-MS, NH₃): 373.3 [MH]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 45.15, H 5.41, N 15.04

gef.: C 45.04, H 5.20, N 14.39

9a(R)H-(9S)-azido-5-oxo-(6S,7S,8S)-trihydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (56)



C₁₁H₁₆N₄O₆S [332.34]

375mg (1mmol) der Verbindung **53** wurden 20ml EE/TFA 1:1 gelöst. Die Lösung wurde dann 2h bei RT gerührt. Nach Zugabe von 40ml EE und 20ml Toluol wurde das LM abgezogen. Der Rückstand wurde noch flashchromatographisch aufgereinigt (EE/Tol 4:1 → EE, R_f(EE/Tol 9:1) = 0.2). Somit konnten 298mg (0.9mmol, 90%) des Azids **56** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.55 (d, ³J_{8-OH, 8} = 6.7Hz, 1H, 8-OH), 5.29 (dd, ³J_{3, 2-Ht} = 6.9Hz, ³J_{3, 2-Hh} = 1.5Hz, 1H, 3-H), 5.15 (d, ³J_{7-OH, 7} = 4.6Hz, 1H, 7-OH), 5.09 (d, ³J_{9a, 9} = 9.5Hz, 1H, 9a-H), 4.50 (d, ³J_{6-OH, 6} = 6.1Hz, 1H, 6-OH), 4.44 (d, ³J_{6, 6-OH} = 6.1Hz, 1H, 6-H), 4.12 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.86 (dd, ³J_{7, 8} = 2.6Hz ³J_{7, 7-OH} = 4.9Hz, 1H, 7-H), 3.81 (pt, ³J_{9, 8/9a} = 9.7Hz, 1H, 9-H), 3.71 (ddd, ³J_{8, 7} = 2.6Hz ³J_{8, 9} = 9.7Hz ³J_{8, 8-OH} = 6.9Hz, 1H, 8-H), 3.15 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 6.9Hz ²J_{2-Hgem.} = 12.0Hz, 1H, 2-H^t), 3.09 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 1.5Hz ²J_{2-Hgem.} = 12.0Hz, 1H, 2-H^h), 1.21 (t, 3H, OCH₂CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.60 169.44 (CO-5, C3-CO), 75.52 (C-7), 74.74 (C-8), 70.47 (C-6), 66.62 (C-9), 63.40 (C-3), 61.46 (C-9a), 61.13 (OCH₂-CH₃), 30.88 (C-2), 13.93 (OCH₂CH₃)

Masse:

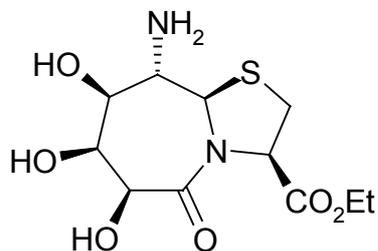
(+p ESI ms, MeOH, +10mmol/l NH₄Ac): 332.9[MH]⁺, 349.9 [M+NH₄]⁺, 354.8 [M+Na]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 39.76, H 4.85, N 16.86

gef.: C 39.33, H 4.82, N 16.41

9a(R)H-(9S)-amino-5-oxo-(6S,7S,8S)-trihydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (57)



C₁₁H₁₈N₂O₆S [306.34]

30mg der Verbindung **56** wurden in 6ml MeOH gelöst. Nach Zugabe einer Spatelspitze Pd/C wurde 2h bei RT unter H₂-Atmosphäre gerührt. Der Katalysator wurde abfiltriert, und das LM entfernt. Nach Trocknen im HV konnte so quantitativ das Amin **57** erhalten werden.

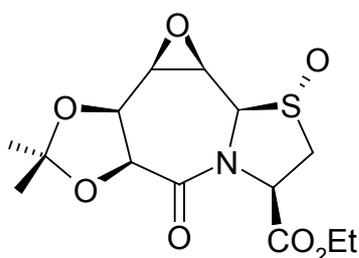
¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.19 (dd, ³J_{3,2-Ht} = 6.9Hz ³J_{3,2-Hh} = 2.3Hz, 1H, 3-H), 4.92 (d, ³J_{9a,9} = 9.2Hz, 1H, 9a-H), 4.85 (d, ³J_{8-OH,8} = 6.4Hz, 1H, 8-OH), 4.70 (d, ³J_{7-OH,7} = 4.6Hz, 1H, 7-OH), 4.42 (d, ³J_{6-OH,6} = 5.9Hz, 1H, 6-OH), 4.38 (d, ³J_{6,6-OH} = 5.9Hz, 1H, 6-H), 4.08 (m, 2H, OCH₂CH₃), 3.85 (m, 1H, 7-H), 3.3 (m, 1H, 8-H), 3.07 (dd, ³J_{2-Ht,3} = 6.9Hz ²J_{2-Hgem.} = 12.0Hz, 1H, 2-H^t), 2.99 (dd, ³J_{2-Hh,3} = 2.6Hz ²J_{2-Hgem.} = 12.0Hz, 1H, 2-H^h), 2.96 (pt, ³J_{9,8/9a} = 9.5Hz, 1H, 9-H), 1.7 (bs, 2H, 9-NH₂), 1.18 (t, 3H, OCH₂CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.72 169.60 (CO-5, C3-CO), 76.30 (C-8), 75.45 (C-7), 70.82 (C-6), 65.70 (C-9a), 63.69 (C-3), 60.94 (OCH₂CH₃), 54.36 (C-9), 30.12 (C-2), 13.92 (OCH₂CH₃)

Masse:

(+ p ESI MS, H₂O/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 306.9 [MH]⁺, 613.2 [2M+H]⁺

9a(R)H-(8R,9R)-epoxy-(6S,7S)-O-isopropyliden-1,5-dioxo-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure-ethylester (58)



C₁₄H₁₉NO₇S [345.37]

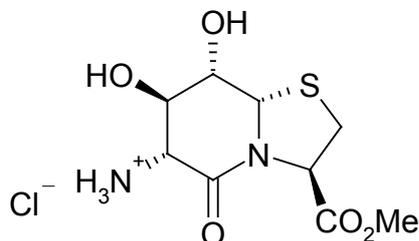
150mg (0.45mmol) des Epoxids **52** wurden in 10ml DMF gelöst. Nach Zusatz von 0.05ml H₂O und 100mg TosOH x H₂O wurde die Lösung 3 Tage bei RT gerührt. Dann wurden wei-

ter 150mg Toluol-sulfonsäure zugegeben und einen weiteren Tag bei RT gerührt. Daraufhin wurden noch 10h bei 50°C und eine weitere Nacht bei RT gerührt. Hierauf hin wurde das LM entfernt und das Rohprodukt flash-chromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 9:1, R_f(CHCl₃/MeOH 4:1) = 0.7). Somit konnten 91mg (0.26mmol, 59%) der Verbindung **58** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): 5.37 (s, 1H, 9a-H), 4.85 (d, ³J_{6,7} = 6.3Hz, 1H, 6-H), 4.81 (dd, ³J_{3,2-HproR} = 6.0Hz ³J_{3,2-HproS} = 8.0Hz, 1H, 3-H), 4.58 (d, ³J_{7,8} = 3.0Hz ³J_{7,6} = 6.3Hz, 1H, 7-H), 4.07 (m, 2H, OCH₂CH₃) 3.71 (d, ³J_{9,8} = 4.8Hz, 1H, 9-H), 3.59 (dd, ³J_{8,7} = 3.0Hz ³J_{8,9} = 4.7Hz, 1H, 8-H), 3.42 (dd, ³J_{2-HproR,3} = 6.0Hz ²J_{2-Hgem.} = 13.5Hz, 1H 2-H^{proR}), 3.28 (dd, ³J_{2-HproS,3} = 8.0Hz ³J_{2-Hgem.} = 13.5Hz, 1H, 2-H^{proS}), 1.39 (s, 3H, Isopr-CH₃), 1.32 (s, 3H, Isopr-CH₃), 1.18 (t, 3H, OCH₂CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 168.02 167.31 (CO-5, C3-CO), 108.37 (Isopr-C_{quart.}), 77.01 (C-9a), 73.47 (C-7), 73.28 (C-6), 61.24 (C-3), 60.89 (OCH₂CH₃), 51.49 (C-8), 50.97 (C-2), 49.64 (C-9), 26.78 25.84 (je Isopr-CH₃), 13.70 (OCH₂CH₃)

8a(S)H-6(S)-amino-(7R,8S)-dihydroxy-5oxo-hexahydro-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-methylester hydrochlorid (59)



C₉H₁₅N₂O₅SCl [298.74]

130mg der Verbindung **19** wurden in 10ml Et₂O x HCl suspensiert, und bei RT über Nacht gerührt, dann wurde der Nd. durch Filtration abgetrennt mit Et₂O gewaschen und im HV getrocknet, somit konnte sauber und epimerenrein das Hydrochlorid der Verbindung **59** erhalten werden.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.54 (bs, 3H, 6-NH₃⁺), 6.28 (d, ³J_{7-OH,7} = 4.9Hz, 1H, 7-OH), 6.04 (bs, 1H, 8-OH), 5.24 (dd, ³J_{3,2-HproR} = 7.0Hz ³J_{3,2-HproS} = 2.7Hz, 1H, 3-H), 5.19 (d, ³J_{8a,8} = 2.4Hz, 1H, 8a-H), 3.93 (d, ³J_{6,7} = 7.0Hz, 1H, 6-H), 4.10 (m, 1H, 8-H), 3.78 (ddd, ³J_{7,6} = 7.0Hz ³J_{7,7-OH} = 4.9Hz ³J_{7,8} = 3.0Hz, 1H, 7-H), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 3.28 (dd, ³J_{2-HproR,3} = 7.2Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.12 (dd, ³J_{2-HproS,3} = 2.7Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proS})

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.58 164.06 (CO-5, C3-CO), 72.81 (C-8), 72.43 (C-7), 63.49 (C-8a), 61.14 (C-3), 55.15 (C-6), 52.62 (OCH₃), 31.66 (C-2)

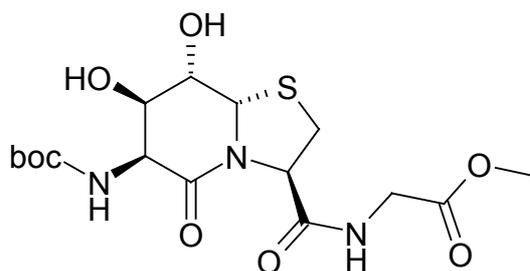
Masse:

(+p ESI ms, H₂O/CH₃CN): 262.8[MH]⁺, 303.9 [M+H+ CH₃CN]⁺,

C,H,N-Analyse:

ber.: C 36.18, H 5.06, N 9.38

gef.: C 39.81, H 4.81, N 10.19

Boc-6,5(6S)Bic-Gly-OMe (60)

C₁₆H₂₅N₃O₈S [419.46]

400mg (1.1mmol) der Verbindung **20** wurden in 10ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 2ml 1N LiOH, wurde so lange bei RT gerührt, bis alles Edukt umgesetzt war. Nun wurde mit 1N HCl neutralisiert, das LM abgezogen und der Rückstand im HV getrocknet.

Der Rückstand wurde in DMF gelöst, dann wurden 250µL EDCI (1.4mmol), 200mg (1.6mmol) GlyOMe x HCl und 200mg HOBT (1.5mmol) zugegeben mit DIPEA den PH auf 7-8 eingestellt und über Nacht bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgearbeitet (EE/Tol 5:1, R_f = 0.2), dies ergab, 215mg (0.51mmol, 46%) der Verbindung **60**.

¹H NMR (600MHz, DMSO_{d6}) δ = 8.30 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH2} = 6.2Hz, 1H, Gly-NH), 6.31 (d, ³J_{Boc-NH, 6} = 9.1Hz, 1H, Boc-NH), 5.71 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.7Hz, 1H, 8-OH), 5.57 (d, ³J_{7-OH, 7} = 3.5Hz, 1H, 7-OH), 5.17 (d, ³J_{8a, 8} = 1.8Hz, 1H, 8a-H), 4.88 (dd, ³J_{3, 2-HproR} = 7.6Hz ³J_{3, 2-HproS} = 5.3Hz, 1H, 3-H), 4.38 (dd, ³J_{6, NH-Boc} = 9.7Hz ³J_{6, 7} = 3.5Hz, 1H, 6-H), 3.93 (m, 1H, 7-H), 3.90 (m, 1H, 8-H), 3.88 (dd, ³J_{Gly-CH2, Gly-NH} = 5.9Hz ²J_{Gly-CH2gem.} = 17.6Hz, 1H, Gly-CH^l), 3.82 (dd, ³J_{Gly-CH2, Gly-NH} = 5.9Hz ²J_{Gly-CH2gem.} = 17.6Hz, 1H, Gly-CH^h), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.21 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.6Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 1H, 2-H^{proR}), 2.99 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 5.3Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.2Hz, 1H, 2-H^{proS}), 1.38 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 170.08 169.98 166.21 (CO-5, C3-CO, Gly-CO), 155.66 (Boc-CO), 78.14 (Boc-C_{quart}), 70.47 (C-7), 66.32 (C-8), 64.79 (C-8a), 61.17 (C-3), 51.70 (OCH₃), 50.96 (C-6), 40.57 (Gly-CH₂), 31.28 (C-2), 28.14 (Boc-CH₃)

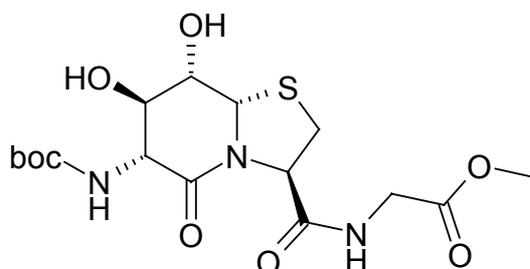
Masse:

(PI-DCIMS, NH₃) 420.4 [MH]⁺, 437.4 [M+NH₄]⁺, 856.7 [2M+NH₄]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 45.82, H 6.01, N 10.02

gef.: C 46.12, H 6.02, N 9.68

Boc-6,5(6R)Bic-Gly-OMe (61)C₁₆H₂₅N₃O₈S [419.46]

400mg (1.1mmol) der Verbindung **20** wurden in 10ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 2ml 1N LiOH, wurde so lange bei RT gerührt, bis alles Edukt umgesetzt war. Nun wurde mit 1N HCl neutralisiert, anschließend das LM abgezogen und im HV getrocknet.

Der Rückstand wurde in DMF gelöst, dann wurden 250µL EDCI (1.4mmol), 200mg (1.6mmol) GlyOMe x HCl und 200mg HOBT (1.5mmol) zugegeben mit DIPEA den PH auf 7-8 eingestellt und über Nacht bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgearbeitet (EE/Tol 5:1, R_f = 0.25), dies ergab, 167mg (0.40mmol, 36%) der Verbindung **61**.

¹H NMR (400MHz, DMSO_{d6}) δ = 8.44 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH₂} = 5.9Hz, 1H, Gly-NH), 6.83 (d, ³J_{Boc-NH, 6} = 8.9Hz, 1H, Boc-NH), 5.62 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.8Hz, 1H, 8-OH), 5.41 (d, ³J_{7-OH, 7} = 5.9Hz, 1H, 7-OH), 5.08 (d, ³J_{8a, 8} = 2.7Hz, 1H, 8a-H), 5.07 (m, 1H, 3-H), 4.11 (dd, ³J_{6, NH-Boc} = 9.1Hz ³J_{6, 7} = 7.0Hz, 1H, 6-H), 3.82 (m, 1H, Gly-CH₂), 3.78 (m, 1H, 8-H), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.61 (m, 1H, 7-H), 3.15 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.6Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.0Hz, 1H, 2-H^{proR}), 2.99 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 2.7Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.0Hz, 1H, 2-H^{proS}), 1.39 (s, 9H, Boc-CH₃)

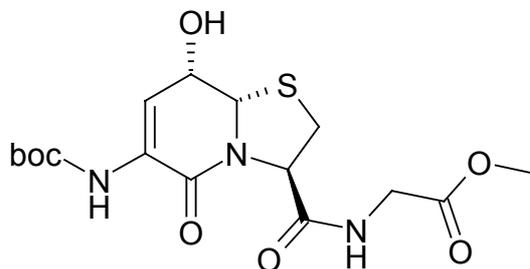
¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 170.17 169.91 168.00 (CO-5, C3-CO, Gly-CO), 155.79 (Boc-CO), 77.84 (Boc-C_{quart}), 73.01 (C-7/C-8), 63.96 (C-8a), 62.18 (C-3), 56.93 (C-6), 51.65 (OCH₃), 40.72 (Gly-CH₂), 31.33 (C-2), 28.23 (Boc-CH₃)

Masse:(PI-DCIMS, NH₃) 420 [MH]⁺, 437.4 [M+NH₄]⁺**C,H,N-Analyse:**

ber.: C 45.82, H 6.01, N 10.02

gef.: C 45.78, H 6.03, N 9.70

[8a(S)H-(6)-tert-butyloxycarbonylamin-(8S)-hydroxy-5-oxo-2,3,8,8a-tetrahydro-5H-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-coarboln)-amino]-essigsäure-methylester (62)



C₁₆H₂₃N₃O₇S [401.44]

850mg (2.35mmol) **20/19** wurden in 30ml MeOH gelöst, sodann wurden 4ml 1N LiOH zugegeben. Nach 20d wurde der pH der Lsg mit 1N HCl auf pH 6 eingestellt, und danach das LM abgezogen. HV-getrocknet wurde der Rückstand dann zusammen mit 400mg GlyOMe x HCl (3.2mmol, ~1.3äqui.) in 10ml DMF gelöst. Der Lösung wurden dann 400mg HOBT (2.96mmol, ~1.2äq), 500µl EDCI (442mg, 2.8mmol, ~1.2äq.) und 550µl DIPEA (3.2mmol) zugegeben, und 14h bei RT gerührt. Hiernach wurde das LM abgezogen und das verbleibende Rohprodukt flashchromatographisch (EE/Tol 4:1, R_f = 0.55) aufgereinigt. So konnten 818mg (2.04mmol) der Verbindung **62** erhalten, was einer Ausbeute von 87% entsprach.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.47 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH2} = 6.0Hz, 1H, Gly-NH), 7.51 (s, 1H, 6-NH), 6.80 (d, ³J_{7, 8} = 6.7 Hz, 1H, 7-H), 5.29 (d, ³J_{8-OH, 8} = 7.5 Hz, 1H, 8-OH), 5.06 (d, ³J_{8a, 8} = 3.2Hz, 1H, 8a-H), 4.97 (dd, ³J_{3, 2-Hh} = 2.7 Hz ³J_{3, 2-Ht} = 6.7 Hz, 1H, 3-H), 4.08 (m, 1H, 8-H), 3.83 (m, 2H, Gly-CH₂) 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.23 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 6.7Hz ²J_{2-Hgem} = 11.0Hz, 1H, 2-H^t), 3.07 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 2.7Hz ²J_{2-Hgem} = 11.1Hz, 1H, 2-H^h), 1.43 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.86 169.33 (C3-CO, Gly-CO), 158.52 151.94 (CO-5, Boc-CO), 129.33 (C-6), 114.14 (C-7), 80.06 (Boc-C_{quart.}), 65.61 (C-8a), 62.69 (C-3), 61.89 (C-8), 51.67 (OCH₃), 40.73 (Gly-CH₂), 32.56 (C-2), 27.80 (Boc-CH₃)

Masse:

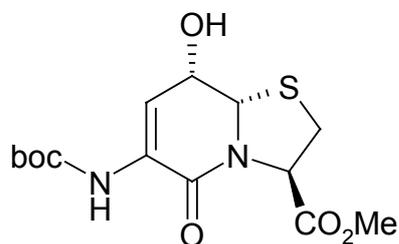
(+ p ESI ms, CH₂Cl₂/MeOH + 1% AcOH): 402.0 [MH]⁺, 424.0 [M+Na]⁺, 825.3 [2M+Na]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 47.87, H 5.78, N 10.47

gef.: C 51.19, H 6.17, N 7.68

8a(S)H-(6)-tert-butyloxycarbonylamino-(8S)-hydroxy-5-oxo-2,3,8,8a-tetrahydro-5H-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-carbonsäure-methylester (63)



C₁₄H₂₀N₂O₆S [344.39]

950mg der Verbindung **19/20** (2.65mmol) wurden in 15ml MeOH abs. gelöst. Bei RT wurden unter Rühren zunächst 300µl 25% NaOMe/MeOH (71mg NaOMe, 1.31mmol, 0.5 äqu.), dann nach 2h nochmals 300µl, und nach insgesamt 4h weiter 150µl der NaOMe Lsgng. zugegeben. Nach 6h wurden 150µl AcOH (→ PH ~ 8) zur Reaktionslösung gegeben, und hernach das LM am abgezogen. Nach flashchromatographischer Reinigung (EE/Tol 5:1, R_f = 0.7) und anschließender Trocknung im Hoch-vakuum, wurden 469mg (1.36mmol, 51%) eines farblosen zähviskosen Öls erhalten.

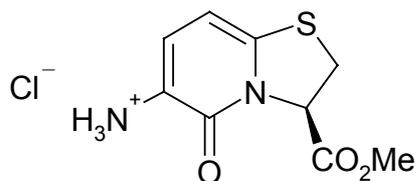
¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.64 (s, 1H, 6-NH), 6.85 (d, ³J_{7,8} = 6.7 Hz, 1H, 7-H), 5.34 (d, ³J_{8-OH,8} = 7.5Hz, 1H, 8-OH), 5.11 (dd, ³J_{3,2-Hh} = 3.0 Hz ³J_{3,2-Ht} = 6.7 Hz, 1H, 3-H), 5.04, (d, ³J_{8a,8} = 3.2Hz, 1H, 8a-H), 4.10 (m, 1H, 8-H), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.32 (dd, ³J_{2-Ht,3} = 6.7Hz ²J_{2-Hgem} = 11.3Hz, 1H, 2-H^t), 3.12 (dd, ³J_{2-Hh,3} = 3.0Hz ²J_{2-Hgem} = 11.3Hz, 1H, 2-H^h), 1.42 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.81 158.10 152.03 (C3-CO, CO-5, Boc-CO), 129.32 (C-6), 115.34 (C-7), 80.04 (Boc-C_{quart}), 65.32 (C-8a), 61.52 (C-8), 61.47 (C-3), 52.55 (OCH₃), 32.07 (C-2) 27.80 (Boc-CH₃)

Masse:

(PI-DCIMS (NH₃)): 345.2 [MH]⁺, 362.2 [M+NH₄]⁺, 706.4 [2M+NH₄]⁺

(6)-Amino-5-oxo-2,3-dihydr-5H-thiazolo[3,2-a]pyridin-(3R)-carbonsäure-methylester hydrochlorid (64)



C₉H₁₁N₂O₃SCl [262.71]

370mg (1.07mmol) **63** wurden in 15ml Et₂O x HCl suspensiert und 16h bei RT gerührt. Der farblose Feststoff wurde anschließend abgetrennt und über KOH im Vakuum getrocknet. Die hierbei erhaltenen 274mg (1.02mmol) der aromatischen Verbindung **64** entsprachen einer Ausbeute von 95%.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.52 (d, ³J_{7,8} = 7.6 Hz, 1H, 7-H), 6.37 (d, ³J_{8,7} = 7.6 Hz, 1H, 8-H), 5.65 (dd, ³J_{3,2-Hh} = 2.2 Hz ³J_{3,2-Ht} = 9.1 Hz, 1H, 3-H), 3.97 (dd, ³J_{2-Ht,3} = 9.1 Hz ²J_{2-Hgem} = 11.9Hz, 1H, 2-H^t), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.66 (dd, ³J_{2-Hh,3} = 2.2Hz ²J_{2-Hgem} = 11.9Hz, 1H, 2-H^h)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 168.26 (C3-CO), 156.89 (CO-5), 146 (bs, C-8a), 130.93 (C-7), 119.87 (C-6), 98.91 (C-8), 62.72 (C-3), 53.06 (OCH₃), 31.84 (C-2)

Masse:

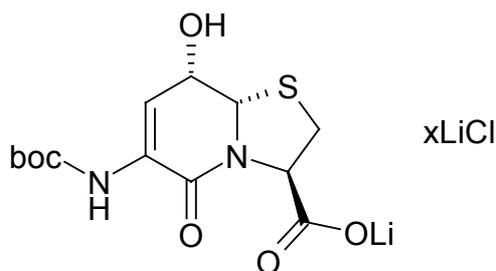
(PI-EIMS): 226 [M]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 41.15, H 4.22, N 10.66

gef.: C 40.06, H 4.50, N 10.21

8a(S)H-(8S)-benzyloxy-5oxo-6-trifluormethansulfonyloxy-2,3,8,8a-tetrahydro-5H-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-coarbonsäure (65)



C₁₃H₁₇N₂O₆SLi x LiCl

700mg **19/20** (1.93mmol) wurden in 15ml MeOH gelöst, um dann 3ml 1N LiOH zuzugeben. Nach-dem 12 Tage bei RT gerührt worden war, wurde mit 1N HCl ein pH von 6 eingestellt. Das LM mittels Rotationsverdampfer abgezogen, und den Rückstand am Hochvakuum getrocknet, ergab sauber und quantitativ die Verbindung **65**.

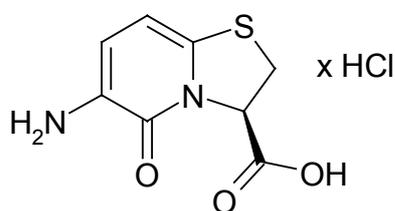
¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.43 (s, 1H, 6-NH), 6.75 (d, ³J_{7,8} = 6.5Hz, 1H, 7-H), 5.10 (d, ³J_{8-OH,8} = 7.0Hz, 1H, 8-OH), 5.01 (d, ³J_{8a,8} = 3.4Hz, 1H, 8a-H), 4.71 (dd, ³J_{3,2-Hh} = 6.7Hz ³J_{3,2-Ht} = 2.0Hz, 1H, 3-H), 4.03 (m, 1H, 8-H), 3.17 (dd, ³J_{2-Ht,3} = 2.0Hz ²J_{2-Hgem} = 9.9Hz, 1H, 2-H^t), 3.10 (dd, ³J_{2-Hh,3} = 6.7Hz ²J_{2-Hgem} = 9.9Hz, 1H, 2-H^h), 1.43 (s, 9H, Boc-CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 171.46$ 157.80 151.95 (C3-CO, CO-5, Boc-CO), 129.12 (C-6), 113.48 (C-7), 80.13 (Boc-C_{quart.}), 65.02 (C-8a), 63.95 (C-3), 61.24 (C-8), 33.23 (C-2), 27.92 (Boc-CH₃)

Masse:

(- p ESI ms, $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH} + 10\text{mmol NH}_4\text{Ac}$): 328.9 [M-H]⁻, 659.2 [2M-H]⁻,
665.3 [2M-2H+Li]⁻

(6)-Amino-5-oxo-2,3-dihydr-5H-thiazolo[3,2-a]pyridin-(3R)-carbonsäure hydrochlorid (66)



$\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ [212.23]

950mg (2.6mmol) der geschützten Dipeptide **19/20** wurden in 20ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 4ml 1N LiOH wurde 14d bei RT gerührt. Anschließend wurde mit 1N HCl den pH auf 5-6 eingestellt, und das LM abgezogen. Der getrocknete Rückstand wurde unter Kühlung (Eisbad) mit 15ml Et₂O x HCl versetzt, und 1h im Ultraschallbad (Eisbad) behandelt. Bei RT wurde nun noch 2d gerührt, um hiernach dann den Nd. abzutrennen, und diesen über KOH im Vakuum zu trocknen.

Hieraus resultierten 790 mg eines schwachviolettschwarzen Pulvers. Abzüglich des Lithiumchlorids würde dies 620mg (2.5mmol, 96%) des Hydrochlorids **66** entsprechen.

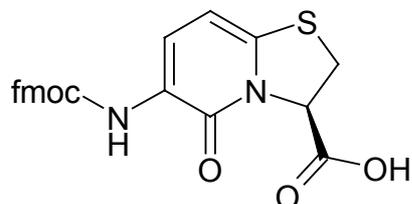
$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 7.11$ (d, $^3J_{7,8} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 7-H), 6.21 (d, $^3J_{8,7} = 7.5\text{Hz}$, 1H, 8-H), 5.49 (dd, $^3J_{3,2-Hh} = 1.6\text{Hz}$ $^3J_{3,2-Hf} = 8.6\text{Hz}$, 1H, 3-H), 3.89 (dd, $^3J_{2-Hf,3} = 8.7\text{Hz}$ $^2J_{2-Hgem} = 11.9\text{Hz}$, 1H, 2-H^f), 3.57 (dd, $^3J_{2-Hh,3} = 1.6\text{Hz}$ $^2J_{2-Hgem} = 11.8\text{Hz}$, 1H, 2-H^h)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 169.12$ (C3-CO), 156.90 (CO-5), 125, 123 (bs, C-6, C-7), 99.18 (C-8), 62.75 (C-3), 32.18 (C-2)

Masse:

(+ p ESI ms, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} + 10\text{mmol/l NH}_4\text{Ac}$): 212.7 [MH]⁺, 218.7 [M+Li]⁺,
250.8 [M+K]⁺
(- p ESI ms, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} + 10\text{mmol/l NH}_4\text{Ac}$): 490.2 [M-H]⁻

(6)-(9H-Fluoren-9ylmethoxycarbonylamino)-5-oxo-2,3-dihydr-5H-thiazolo[3,2-a]pyridin-(3R)-carbonsäure (67)



C₂₃H₁₈N₂O₅S [434.47]

500mg (1.38mmol) **19/20** wurden in 15ml MeOH gelöst, hierzu wurden 2ml 1N LiOH gegeben und 11 Tage bei RT gerührt. Jetzt wurde die Lösung mit 1N HCl neutralisiert das LM abgezogen. Nach Trocknen im HV wurde der Rückstand in 15ml Et₂O x HCl suspensiert. Danach wurde die Suspension 3h mit Ultraschall (Eisbad) behandelt. Anschließend wurde noch über Nacht bei RT gerührt. Der Nd wurde abgetrennt und über KOH im Vakuum getrocknet.

Die entschützte Verbindung wurde jetzt in 4ml Aceton/H₂O 1:1 gelöst. Zur Lösung wurden 250mg (3.1mmol) NaHCO₃ und 500mg (1.5mmol) Fmoc-Succinimid gegeben und 3 Tage bei RT gerührt. Jetzt wurde mit 1N HCl ein pH von ~2 eingestellt, und das Rohprodukt auf Kieselgel absorbiert. Nach flashchromatographischer Reinigung (CHCl₃/MeOH 6:1, R_f = 0.3) wurden 170mg (0.39mmol, 28%) der Verbindung **67** erhalten.

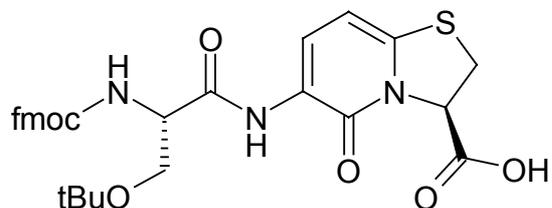
¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): 8.24 (bs, 1H), 7.89 (m, 2H, Fmoc-H_{arom.}), 7.75 (m, 2H, Fmoc-H_{arom.}), 7.6 (bs, 1H), 7.41 (m, 2H, Fmoc-H_{arom.}), 7.33 (m, 2H, Fmoc-H_{arom.}), 6.10 (bs, 1H, 8-H), 5.15 (d, ³J_{3,2-Ht} = 8.2Hz, 1H, 3-H), 4.41 (bs, 2H, Fmoc-CH₂), 4.28 (pt, ³J_{Fmoc-CH, Fmoc-CH2} = 6.9Hz, 2H, Fmoc-CH), 3.71 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 8.2Hz ²J_{2-Hgem} = 11.0Hz, 1H, 2-H^t), 3.63 (d, ²J_{2-Hgem} = 11.0Hz, 1H, 2-H^h)

¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 127.4 126.8 124.9 119.8 (Fmoc-CH_{arom.}), 97.7 (C-8), 66.0 (Fmoc-CH₂), 65.7 (C-3), 46.4 (Fmoc-CH), 33.3 (C-2)

Masse:

(- p ESI ms, DMSO/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 433.0 [M-H]⁻, 867.4 [M-H]⁻,

Fmoc-Ser(tBu)-6,5(Ar)-OH (68)



C₃₀H₃₁N₃O₇S [577.66]

40mg des ungeschützten Bausteins **66**^{*} (0.13mmol) und 75mg (0.14mmol) Fmoc-Ser(tBu)-PFP wurden in 1ml DMF gelöst. Mit DIPEA wurde der pH auf 7-8 eingestellt und 5 Tage bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 7:1 → 2:1, R_f(CHCl₃/MeOH 4:1) = 0.3). Somit konnten 28mg (0.05mmol, 38%) des Tripeptids **68** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): 9.25 (s, 1H, 6-NH), 8.14 (d, ³J_{7,8} = 7.9Hz, 1H, 7-H), 7.88 (d, ³J = 7.5Hz, 2H, Fmoc-H_{arom}), 7.73 (m, 2H, Fmoc-H_{arom}), 7.67 (d, ³J_{Ser-NH, Serα-H} = 8.6Hz, 1H, Serα-H), 7.40 (m, 2H, Fmoc-H_{arom}), 7.32 (m, 2H, Fmoc-H_{arom}), 6.15 (d, ³J_{8,7} = 7.7Hz, 1H, 8-H), 5.18 (d, ³J_{3,2-Ht} = 7.9Hz, 1H, 3-H), 4.3-4.2 (m, 4H, Fmoc-CH/Fmoc-CH₂/Serα-H), 3.73 (dd, ³J_{2-Ht,3} = 8.1Hz ²J_{2-Hgem} = 11.0Hz, 1H, 2-H^t), 3.62 (d, ²J_{2-Hgem} = 11.7Hz, 1H, 2-H^h), 3.58 (dd, ³J_{Serβ-Ht, Serα-H} = 6.8Hz ²J_{Serβ-Hgem} = 9.2Hz, 1H, Serβ-H^t), 3.53 (dd, ³J_{Serβ-Hh, Serα-H} = 5.9Hz ²J_{Serβ-Hgem} = 9.2Hz, 1H, Serβ-H^h), 1.15 (s, 9H, tBu-CH₃)

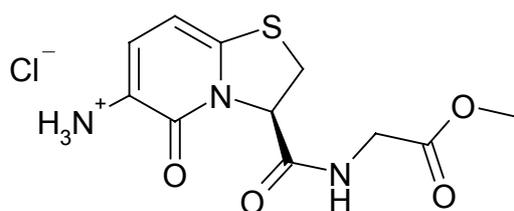
¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 127.4 126.9 125.1 (Fmoc-CH_{arom}), 122.5 (C-7), 119.9 (Fmoc-CH_{arom}), 97.8 (C-8), 65.6 (C-3/Fmoc-CH₂), 61.3 (Ser-Cβ), 55.5 (Ser-Cα), 46 (Fmoc-CH), 33.2 (C-2), 26.7 (tBu-CH₃)

Masse:

(+ p ESI MS, DCM/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 578.2 [MH]⁺,

(- p ESI MS, AcCN/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 576.1 [M-H]⁻, 1153.6 [2M-H]⁻

NH₂-6,5(Ar)-Gly-OMe x HCl (69)



C₁₁H₁₄N₃O₄SCl [319.77]

* mit 1,5eq. LiCl

Zu 550mg (1.37mmol) **62** wurden 25ml Et₂O x HCl gegeben. Nachdem die resultierende Suspension bei RT über Nacht gerührt worden war, wurde der farblose flockige Nd. abgetrennt und im Vakuum über KOH getrocknet. Auf diese Weise konnten 405mg (1.27mmol) des Tripeptids **69** in einer Aus-beute von 93% isoliert werden.

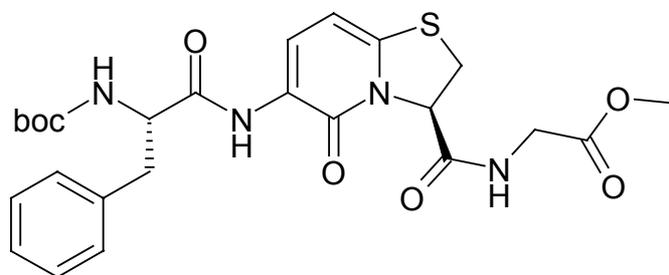
¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): 9.00 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH2} = 5.9Hz, 1H, Gly-NH), 7.52 (d, ³J_{7,8} = 7.6Hz, 1H, 7-H), 6.30 (d, ³J_{8,7} = 7.6Hz, 1H, 8-H), 5.58 (dd, ³J_{3,2-Hh} = 1.8Hz ³J_{3,2-Ht} = 9.1Hz, 1H, 3-H), 3.96 (dd, ³J_{2-Ht,3} = 9.1Hz ²J_{2-Hgem} = 11.7Hz, 1H, 2-H^t), 3.93 (dd, ³J_{Gly-CHt, Gly-NH} = 6.2Hz ²J_{Gly-CH2gem.} = 17.3Hz, 1H, Gly-CH^t), 3.87 (dd, ³J_{Gly-CHh, Gly-NH} = 5.6Hz ²J_{Gly-CH2gem.} = 17.3Hz, 1H, Gly-CH^h), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.49 (dd, ³J_{2-Hh,3} = 2.0Hz ²J_{2-Hgem} = 11.7Hz, 1H, 2-H^h)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.89 167.57 (Gly-CO, C3-CO), 156.87 (CO-5), 147 (bs, C-8a), 130 (bs, C-7), 119 (bs, C-6), 98.27 (C-8), 63.44 (C-3), 51.79 (OMe), 40.66 (Gly-CH₂), 32.82 (C-2)

Masse:

(+p ESI, H₂O/MeOH + 1%AcOH): 283.8[MH]⁺

Boc-LPhe-6,5(Ar)-Gly-OMe (**70**)



C₂₅H₃₀N₄O₇S [530.60]

320mg (1.0mmol) des Hydrochlorids **69** und 400mg (1.5mmol) BocPheOH wurden in 8ml DMF gelöst. Diese Lösung wurde dann, nach Zugabe von 1g (1.9mmol) PyBop und 1ml NMM, über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nachdem anschließend das LM entfernt worden war, erfolgte eine flash-chromatographische Aufreinigung des Rohproduktes, wobei dann die entsprechenden Fraktionen ein-geengt, und anschließend soviel Hexan zugegeben wurde, bis sich ein weißer Nd. bildete. Die Suspension wurde noch über Nacht bei 4°C gekühlt, um dann am darauffolgenden Tag den Niederschlag ab-zusaugen. Noch mit Et₂O gewaschen und im Hochvakuum getrocknet ergaben sich schlußendlich 469mg (0.88mmol) des Tetrapeptids **70**, was einer Ausbeute von 88% entsprach.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 9.18 (s, 1H, 6-NH), 8.76 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH2} = 5.9 Hz, 1H, Gly-NH), 8.18 (d, ³J_{7,8} = 7.8 Hz, 1H, 7-H), 7.3 (m, 6H, PheH/Boc-NH 7.35ppm DQF-COSY),

6.26 (d, $^3J_{8,7} = 7.8\text{Hz}$, 1H, 8-H), 5.54 (dd, $^3J_{3,2\text{-HproS}} = 2.1\text{ Hz}$ $^3J_{3,2\text{-HproR}} = 8.6\text{ Hz}$, 1H, 3-H), 4.35 (ddd, $^3J_{\text{Phe}\alpha\text{-H}, \text{Phe}\beta\text{-HproR}} = 11.0\text{Hz}$ $^3J_{\text{Phe}\alpha\text{-H}, \text{Phe}\beta\text{-HproS}} = 4.1\text{Hz}$ $^3J_{\text{Phe}\alpha\text{-H}, \text{Boc-NH}} = 8.4\text{Hz}$, 1H, Phe α -H), 3.9 (m, 3H, GlyCH₂/ 2-H^{proR}), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 3.46 (dd, $^3J_{2\text{-HproS},3} = 2.1\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem}} = 11.8\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proS}), 3.10 (dd, $^3J_{\text{Phe}\beta\text{-HproS}, \text{Phe}\alpha\text{-H}} = 4.1\text{Hz}$ $^2J_{\text{Phe}\beta\text{-Hgem}} = 13.8$, 1H, Phe β -H^{proS}), 2.77 (dd, $^3J_{\text{Phe}\beta\text{-HproR}, \text{Phe}\alpha\text{-H}} = 11.0\text{ Hz}$ $^2J_{\text{Phe}\beta\text{-Hgem}} = 13.8$, 1H, Phe β -H^{proR}), 1.28 (s, 9H, Boc-CH₃),

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 170.78$ 169.93 167.70 (C3-CO, Phe-CO, Gly-CO), 156.18 155.39 , (CO-5, Boc-CO) 140.92 (C-8a), 138.04 (Phe-C_{quart}), 129.13(2C) $128.02(2C)$ 126.20 (Phe-CH_{arom.}), 124.03 123.88 (C-7/C-6), 98.75 (C-8), 78.42 (Boc-C_{quart}), 63.56 (C-3), 56.68 (Phe-C α), 51.78 (OCH₃), 40.68 (Gly-CH₂), 36.83 (Phe-C β), 32.41 (C-2), 28.05 (3C, Boc-CH₃)

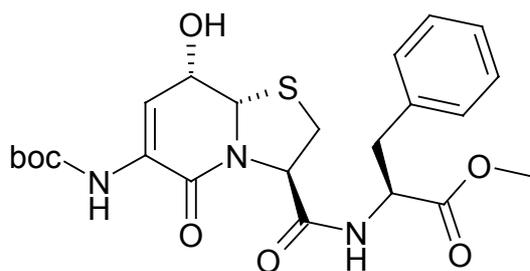
Masse:

(+ pESI, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol NH₄Ac): 531.2 [MH]⁺, 548.2[M + NH₄]⁺,
553.2 [M + Na]⁺, 1078.5 [2M + NH₄]⁺
(- pESI CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol NH₄Ac): 529.1 [M - H]⁻

C,H,N-Analyse:

ber.: C 56.59, H 5.70, N 10.56
gef.: C 55.84, H 5.62, N 10.37

2-[8a(S)H-(6)-tert-butyloxycarbonylamino-(8S)-hydroxy-5-oxo-2,3,8,8a-tetrahydro-5H-thiazolo[3,2-a]pyridin-3(R)-coarboln)-amino]-3-phenyl-propionsäure-methylester (71)



C₂₃H₂₉N₃O₇S [491.57]

620mg (1.7mmol) **19/20**, wurden in 15ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 2,5ml 1N LiOH wurde 17 Tage bei RT gerührt. Nach Neutralisation mit 1N HCl wurde das LM entfernt, und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Dieser wurde zusammen mit 500mg (2.3mmol) NH₂-LPhe-OMe, 400mg (2.1mmol) EDCI x HCl und 300mg HOBT in 10ml DMF gelöst. Die Lösung wurde mit DIPEA auf pH ~ 7 eingestellt, und über Nacht bei RT gerührt. Hiernach wurde das LM entfernt, und der Rückstand mittels Flashchromatographie (EE/Tol 9:1, R_f = 0.7) aufgereinigt. Dies erbrachte nach Trocknen im HV 780mg (1.6mmol, 94%) der Verbindung **71**.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.38 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 7.7Hz, 1H, Phe-NH), 7.50 (s, 1H, 6-NH), 7.17-7.3 (m, 5H, Phe-H_{arom.}), 6.81 (d, ³J_{7,8} = 6.8Hz, 1H, 7-H), 5.26 (d, ³J_{8-OH, 8} = 7.3Hz, 1H, 8-OH), 5.00, (d, ³J_{8a, 8} = 3.3Hz, 1H, 8a-H), 4.94 (dd, ³J_{3, 2-Hh} = 3.1Hz ³J_{3, 2-Ht} = 6.8Hz, 1H, 3-H), 4.5 (m, 1H, Pheα-H), 4.09 (m, 1H, 8-H), 3.59 (s, 3H, OCH₃), 3.21 (dd, 1H, ³J_{2-Ht,3} = 6.8Hz ²J_{2-Hgem} = 11.0Hz, 1H, 2-H^t), 3.04 (dd, 1H, ³J_{Pheβ-Ht, Pheα-H} = 5.9Hz ²J_{Pheβ-Hgem} = 13.9Hz, 1H, Pheβ-H^t), 2.96 (m, 2H, 2-H^h, Pheβ-H^h), 1.44 (s, 9H, Boc-CH₃),

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 171.45 168.92 (C3-CO, Phe-CO), 158.40 151.89 (CO-5, Boc-CO) 136.93 (Phe-C_{quart}), 129.08 (C-6), 129.05(2C) 128.18(2C) 126.49 (Phe-CH_{arom.}), 114.35 (C-7), 80.06 (Boc-C_{quart}), 65.91 (C-8a), 62.49 (C-3), 61.64 (C-8), 53,67 (Phe-Cα), 51.83 (OCH₃), 36.40 (Phe-Cβ), 32.43 (C-2), 27.79 (3C, Boc-CH₃)

Masse:

(+ p ESI ms, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 492.2 [MH]⁺, 509.2 [M+NH₄]⁺,
1000.5 [2M+NH₄]⁺

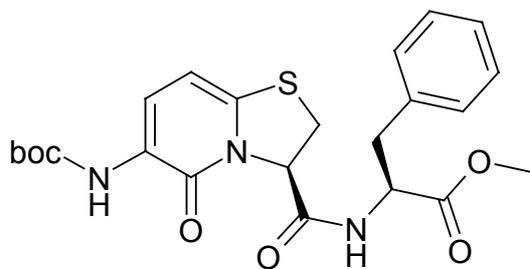
(- p ESI ms, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 490.2 [M-H]⁻

C,H,N-Analyse:

ber.: C 56.20, H 5.95, N 8.55

gef.: C 56.05, H 5.77, N 8.40

Boc-6,5(Ar)-LPhe-OMe (72)



C₂₃H₂₇N₃O₆S [473.55]

720mg (1.37mmol) **71** wurden in 12ml Et₂O x HCl aufgenommen und kurz mit Ultraschall behandelt. Die Suspension wurde dann über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde der Nd. abgetrennt, und über KOH getrocknet.

Eine Analyse des Produktes zeigte, daß der Nd. etwa je zur Hälfte Verbindung **72** sowie Verbindung **73** enthielt. **72** konnte dann sauber nach Kupplung von 400mg des Nd. zu **74** erhalten werden. Nach der hier erfolgten flashchromatographischen Aufreinigung (EE/Tol 4:1 → EE, R_f(EE:Tol, 9:1) = 0.85), wurden, nach Entfernung der flüchtigen Bestandteile im HV, 153mg (0.32mmol) des geschützten Tri-peptids **72** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.74 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 7.4Hz, 1H, Phe-NH), 7.71 (d, ³J_{7, 8} = 8.0Hz, 1H, 7-H), 7.61 (s, 1H, Boc-NH), 7.3-7.2 (m, 5H, Phe-H_{arom.}), 6.22 (d, ³J_{8, 7} = 7.7Hz, 1H, 8-H), 5.51 (dd, ³J_{3, 2-Hh} = 1.9Hz ³J_{3, 2-Ht} = 8.8Hz, 1H, 3-H), 4.50 (ddd, ³J_{Pheα-H, Pheβ-Ht} = 5.8Hz ³J_{Pheα-H, Pheβ-Hh} = 8.2Hz ³J_{Pheα-H, Phe-NH} = 7.7Hz, 1H, Pheα-H), 3.86 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 8.8Hz ²J_{2-Hgem} = 11.8Hz, 1H, 2-H^t), 3.60 (s, 3H, OCH₃), 3.39 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 1.9Hz ²J_{2-Hgem} = 11.8Hz, 1H, 2-H^h), 3.02 (dd, ³J_{Pheβ-Ht, Pheα-H} = 6.0Hz ³J_{Pheβ-Hgem.} = 14.0Hz, 1H, Pheβ-H^t), 2.97 (dd, ³J_{Pheβ-Hh, Pheα-H} = 8.0Hz ³J_{Pheβ-Hgem.} = 14.0Hz, 1H, Pheβ-H^h), 1.44 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 171.38 (Phe-CO), 167.20 (C3-CO), 156.26 152.31 (CO-5, Boc-CO), 139.82 (C-8a), 136.61 (Phe-C_{quart.}), 129.05(2C) 128.26(2C) 126.63 (Phe-CH_{arom.}), 124.31 (C-6), 122.88 (C-7), 98.78 (C-8), 79.78 (Boc-C_{quart.}), 63.39 (C-3), 53.87 (Phe-Cα), 51.91 (OCH₃), 36.48 (Phe-Cβ), 32.23 (C-2), 27.88 (Boc-CH₃)

Masse:

(+p ESI DCM/MeOH 10mmol/l NH₄Ac): 474.1 [MH]⁺, 491.2 [M+NH₄]⁺, 947.4 [2M+H]⁺,
964.5 [2M+NH₄]⁺, 969.4 [2M+Na]⁺

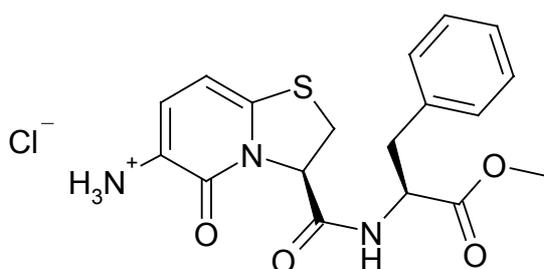
(-p ESI DCM/MeOH 10mmol/l NH₄Ac): 472.1 [M-H]⁺, 508.1 [M+Cl]⁻, 532.2 [M+Ac]⁻

C,H,N-Analyse:

ber.: C 58.34, H 5.75, N 8.87

gef.: C 58.20, H 6.07, N 8.50

NH₂-6,5(Ar)-LPhe-OMe x HCl (73)



C₁₈H₂₀N₃O₄SCl [409.89]

1.5g (3.1mmol) der Verbindung **71** wurden in 3ml MeOH gelöst. Unter Kühlung (Eisbad) wurden 20ml Et₂O x HCl zugegeben, nach ~ 1min begann sich ein farbloser Nd. zu bilden. Die Suspension wurde nun 2h mit Ultraschall behandelt (weiterhin Eisbad), und anschließend bei RT über Nacht gerührt. Der Nd. wurde danach durch Filtration abgetrennt und im Vakuum über KOH getrocknet. Dies ergab schlußendlich 1.1g (2.7mmol), womit eine Ausbeute von 87% erzielt werden konnte.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.94 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 7.7Hz, 1H, Phe-NH), 7.5 (m, 1H, 7-H), 7.3-7.2 (m, 5H, Phe-H_{arom.}), 6.30 (d, ³J_{8, 7} = 7.7Hz, 1H, 8-H), 5.56 (dd, ³J_{3, 2-Hh} = 2.2Hz ³J_{3, 2-Ht} = 9.2Hz, 1H, 3-H), 4.49 (m, 1H, Pheα-H), 3.93 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 9.2Hz ²J_{2-Hgem} = 11.9Hz,

1H, 2-H^h), 3.60 (s, 3H, OCH₃), 3.42 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 2.0Hz ²J_{2-Hgem} = 11.9Hz, 1H, 2-H^h), 3.01 (m, 2H, Pheβ-H),

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 171.36 (Phe-CO), 167.09 (C3-CO), 156.85 (CO-5), 148 (bs, C-8a), 136.65 (Phe-C_{quart.}), 131 (bs, C-7), 129.07(2C) 128.27(2C) 126.63 (Phe-CH_{arom.}), 119 (bs, C-6), 98.18 (C-8), 63.42 (C-3), 53.94 (Phe-Cα), 51.94 (OCH₃), 36.43 (Phe-Cβ), 32.63 (C-2)

Masse:

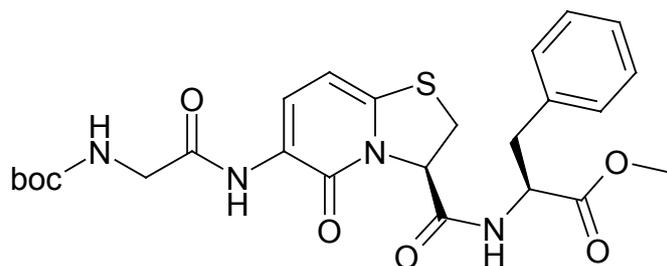
(CI-MS, NH₃) 374.1 [MH]⁺, 391.2 [M+NH₄]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 52.77, H 4.92, N 10.25

gef.: C 52.44, H 5.14, N 9.94

Boc-Gly-6,5(Ar)-LPhe-OMe (74)



C₂₅H₃₀N₄O₇S [530.60]

850mg (2.07mmol) des Hydrochlorids **73** und 500mg (2.85mmol) BocNH-Gly-OH wurden in 20ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 1.25g (2.54 mmol) PyBop und 2ml NMM wurde die Lösung bei RT über Nacht gerührt. Das LM am Rotationsverdampfer abgezogen, wurde der Rückstand mittels Flash-chromatographie aufgereinigt (EE/Tol 5:1→ 9:1, R_{f(EE/Tol, 9:1)} = 0.55), hierdurch gelang es 1.05g (1.98mmol, 96%) des Tetrapeptids **74** zu erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 9.00 (s, 1H, 6-NH), 8.75 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 7.5 Hz, 1H, Phe-NH), 8.15 (d, ³J_{7, 8} = 7.8 Hz, 1H, 7-H), 7.2 (m, 6H, Phe-H_{arom.}/Boc-NH 7.27ppm DQF-COSY), 6.23 (d, ³J_{8, 7} = 7.8 Hz, 1H, 8-H), 5.53 (dd, ³J_{3, 2-HproS} = 2.0 Hz ³J_{3, 2-HproR} = 9.0 Hz, 1H, 3-H), 4.51 (m, 1H, Pheα-H), 3.87 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 9.0Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.9Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.71 (m, 2H, Gly-CH₂), 3.60 (s, 3H, OCH₃), 3.38 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 2.0Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.7Hz, 1H, 2-H^{proS}), 3.03 (dd, ³J_{Pheβ-Ht, Pheα-H} = 5.9Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 13.9Hz, 1H, Pheβ-H^t), 2.96 (dd, ³J_{Pheβ-Hh, Pheα-H} = 7.9 Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 13.9, 1H, Pheβ-H^h), 1.38 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 171.37 (Phe-CO), 168.51 (Gly-CO), 167.21 (C3-CO), 156.12 (CO-5), 155.86 (Boc-CO), 140.72 (C-8a), 136.61 (Phe-C_{quart.}), 129.05(2C)

128.25(2C) 126.59 (Phe-CH_{arom.}), 124.02 (C-6), 123.69 (C-7), 98.67 (C-8), 78.38 (Boc-C_{quart.}), 63.45 (C-3), 53.83 (Phe-C α), 51.90 (OCH₃), 44.23 (Gly-CH₂), 36.50 (Phe-C β), 32.17 (C-2), 28.08 (Boc-CH₃)

Masse:

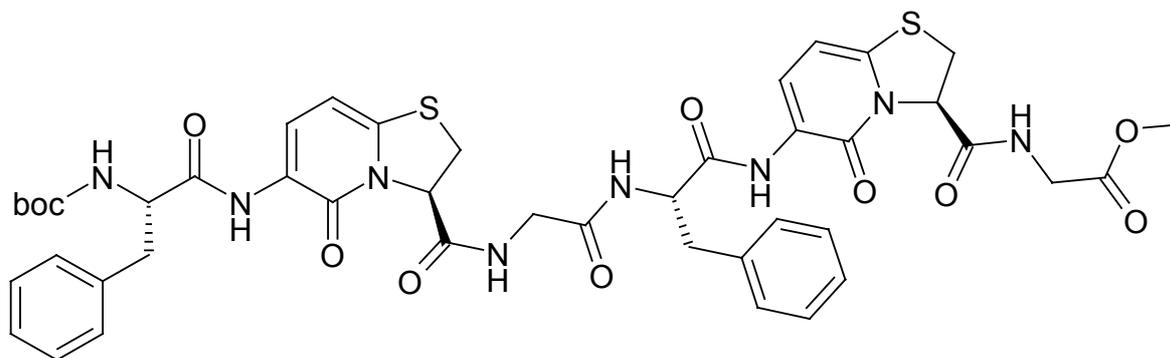
(+p ESI H₂O/MeOH 10mmol/l NH₄Ac) 531.3 [MH]⁺, 548.3 [M+NH₄]⁺, 553.3 [M+Na]⁺
(-p ESI H₂O/MeOH 10mmol/l NH₄Ac): 529.2 [M-H]⁺, 1059.5 [2M-H]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 56.59, H 5.70, N 10.56

gef.: C 55.96, H 5.59, N 10.43

Boc-LPheA-6,5(Ar)A-GlyA-LPheB-6,5(Ar)B-GlyB-OMe (75)



C₄₄H₄₈N₈O₁₁S₂ [929.05]

a.) Verseifung

Zu einer Suspension von 100mg (0.19mmol) des Tetrapeptids **70** in 5ml MeOH wurden über 5min 400 μ l 1N LiOH zugetropft, da das Peptid nicht in Lösung ging, wurden danach weitere 5ml MeOH zugegeben, worauf sich eine klare Lösung bildete. Nach 2h 40min wurden noch 1ml 0.1N LiOH zugegeben. Nach insges. 3h 15min wurde die Reaktionslösung mit 1N HCl auf pH 6-7 gebracht, um dann anschließend das LM abzuziehen. Die noch im Hochvakuum getrocknete freie Säure wurde dann so zur Kupplung eingesetzt.

b.) Boc-Entschützung

100 mg **70** wurden in 6ml Et₂O x HCl suspensiert, und über Nacht bei RT gerührt. Nachdem das LM abgezogen worden war, wurde der Rückstand über KOH im Vakuum getrocknet.

c.) Kupplung

Nachdem die beiden entschützten Tetrapeptide in 3ml DMF gelöst worden waren, wurden 150mg (0.29mmol) PyBop zugegeben, anschließend mit NMM ein pH von 8 eingestellt und dann die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Hiernach wurde dann das LM abgezogen und der resultierend Rückstand flashchromatographisch (EE/MeOH 7:1 R_f = 0.4) gereinigt. Dies ergab dann HV getrocknet 164mg (0.18mmol) des Oktapeptids **75**, was einer Ausbeute von 95% entsprach.

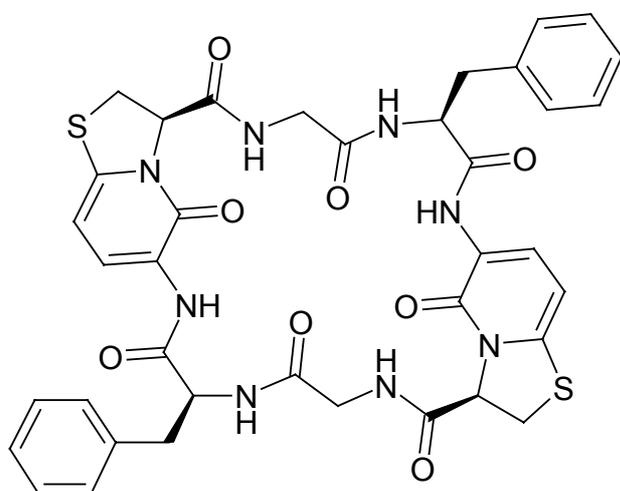
¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 9.32 (s, 1H, 6B-NH), 9.17 (s, 1H, 6A-NH), 8.78 (pt, ³J_{GlyB-NH, GlyB-CH2} = 5.9Hz, 1H, GlyB-NH), 8.54 (pt, ³J_{GlyA-NH, GlyA-CH2} = 5.7Hz, 1H, GlyA-NH), 8.43 (d, ³J_{PheB-NH, PheB-αH} = 8.0Hz, 1H, PheB-NH), 8.17 (d, ³J_{7A, 8A} = 7.8 Hz, 1H, 7A-H), 8.11 (d, ³J_{7B, 8B} = 7.8Hz, 1H, 7B-H), 7.33 (d, ³J_{Boc-NH, PheA-αH} = 8.6Hz, 1H, Boc-NH), 7.25(m, 10H, PheA/B-H_{arom}), 6.25 (d, ³J_{8A, 7A} = 7.8Hz, 1H, 8A-H), 6.23 (d, ³J_{8B, 7B} = 7.8Hz, 1H, 8B-H), 5.52 (m, 2H, DQF-COSY: 5.53ppm 3B, 5.51ppm 3A) 4.80 (ddd, ³J_{PheB-αH, PheB-βHh} = 9.4Hz ³J_{PheB-αH, PheB-βHt} = 4.9Hz ³J_{PheB-αH, PheB-NH} = 8.0Hz, 1H, PheB-αH), 4.33 (ddd, ³J_{PheA-αH, PheA-βHh} = 11.0Hz ³J_{PheA-αH, PheA-βHt} = 4.1Hz ³J_{PheA-αH, Boc-NH} = 8.4Hz, 1H, PheA-αH), 4.0-3.8 (m, 4H, DQF-COSY: 3.91 GlyB-CH₂, 3.91 2B-H^t, 3.85 2A-H^t), 3.75 (m, 2H, GlyA-CH₂), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.4 (m, 2H, DQF-COSY: 3.45 2B-H^h, 3.44 2A-H^h), 3.1 (m, 2H DQF-COSY: 3.09 PheA-βH^t, 3.08 PheB-βH^t), 2.83 (dd, ³J_{PheB-βHh, PheB-αH} = 9.7 Hz ²J_{PheB-βHgem} =13.8Hz, 1H, PheB-βH^h), 2.76 (dd, ³J_{PheA-βHh, PheA-αH} = 11.1Hz ²J_{PheA-βHgem} =14.0Hz, 1H, PheA-βH^h), 1.27 (s, 9H, Boc-CH₃),

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ= 170.76 170.14 169.93 168.39 167.76 167.34 (PheA/B-CO, GlyA/B-CO, C3A/B-CO), 156.21 156.18 (CO-5A/B), 155.38 (Boc-CO), 141.27 141.09 (C-8aA/B), 138.01 137.46 (PheA/B-C_{quart.}), 129.20(2C) 129.11(2C) 128.05(2C) 128.01(2C) 126.33 126.19 (PheA/B-CH_{arom.}), 124.88 (C-7B), 123.95 (C-7A) 123.89 (bs C-6), 98.69 98.63 (C-8A/B), 78.42 (Boc-C_{quart.}), 63.72 63.53 (C-3A/B), 56.70 (PheA-Cα), 54.75 (PheB-Cα), 51.79 (OCH₃), 41.69 (GlyA-CH₂),40.67 (GlyB-CH₂), 37.15 (PheB-Cβ), 36.86(PheA-Cβ), 32.44 32.37 (C-2A/B), 28.04 (3C, Boc-CH₃)

Masse

(+ p ESI, CH₂Cl₂/MeOH +10mmol/l NH₄Ac): 929.4 [MH]⁺, 946.5 [M+NH₄]⁺, 951.3 [MNa]⁺,
 (- p ESI, CH₂Cl₂/MeOH +10mmol/l NH₄Ac): 927.4[M-H]⁻

zyklo(LPhe-6,5(Ar)-Gly-LPhe-6,5(Ar)-Gly) (76)



C₃₈H₃₆N₈O₈S₂ [796.89]

50mg (0.054mmol) des lineare Oktapeptids **75** wurden in 15ml MeOH und 5ml DCM gelöst. Über 5h wurden der Lsng. insgesamt 4eq. 1N LiOH zugesetzt. Dann wurden mit 1N HCl neutralisiert, und anschließend das LM abgezogen. Der getrocknete Rückstand wurde in 8ml Et₂O x HCl aufgenommen und 30min mit Ultraschall behandelt. Nun wurde die Suspension über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand über KOH im Vakuum getrocknet.

Das entschützte Peptid wurde jetzt in 500ml DMF gelöst. Zur Lösung wurden dann 25mg (0.066mmol) HATU, 10mg (0.073mmol) HOAT und 75ml sym-Collidin (0.69mmol) gegeben und über Nacht bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt, und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 5:1, R_f(CHCl₃/MeOH 7:1) = 0.15). Somit konnten 33mg (0.041mmol, 76%) des zyklischen Peptids **76** erhalten werden.

¹H-NMR (400MHz, 315K, DMSO_{d6}): δ = 9.18 (s, 2H, 6-NH), 8.59 (bs, 2H, Gly-NH), 8.36 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 9.5Hz, 2H, Phe-NH), 8.10 (d, ³J_{7, 8} = 7.9Hz, 2H, 7-H), 7.1-7.2 (m, 10H, Phe-H_{arom.}), 6.28 (d, ³J_{8, 7} = 7.9Hz, 2H, 8-H), 5.49 (dd, ³J_{3, 2-Ht} = 8.4Hz ³J_{3, 2-Hh} = 2.2Hz, 2H, 3-H), 4.86 (m, 2H, Pheα-H), 3.85-3.75 (m, 4H, Gly-CH^t, 2-H^t), 3.54-3.44 (m, 4H, GlyCH^h, 2-H^h), 2.99 (dd, ³J_{Pheβ-Ht, Pheα-H} = 5.5Hz ²J_{Pheβ-Hgem} = 13.8Hz, 2H, Pheβ-H^t), 2.81 (dd, ³J_{Pheβ-Hh, Pheα-H} = 9.5Hz ²J_{Pheβ-Hgem} = 13.6Hz, 2H, Pheβ-H^h)

¹³C-NMR (aus HMQC, DMSO_{d6}): δ = 128.2 127.6 125.9 (Phe-CH_{arom.}), 125.4 (C-7), 99.3 (C-8), 63.9 (C-3), 54.5 (Phe-Cα), 41.4 (Gly-CH₂), 37.1 (Phe-Cβ), 32.3 (C-2)

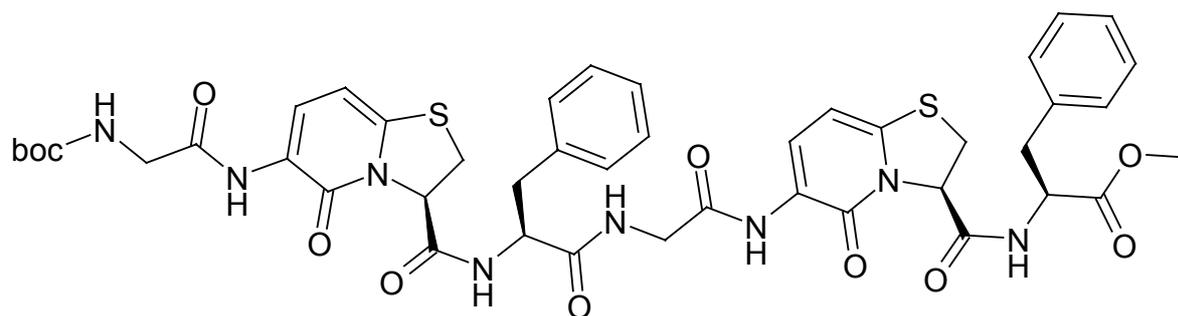
¹H-NMR (400MHz, Pyridin-d₅): δ = 10.38 (bs, 2H, Gly-NH), 10.26 (bs, 2H, Phe-NH), 10.01 (s, 2H, 6-NH), 8.23 (d, ³J_{7, 8} = 8.1Hz, 4H, 7-H), 7.46 (d, 4H, Phe-H_{orto.}), 7.18 (pt, 4H, Phe-H_{meta}), 7.10 (pt, 2H, Phe-H_{para}), 6.22 (dd, ³J_{3, 2-Hat} = 8.8Hz ³J_{3, 2-Hh} = 3.3Hz, 2H, 3-H), 6.06 (d, ³J_{8, 7} = 8.1Hz, 2H, 8-H), 5.96 (bs, 2H, Pheα-H), 4.57 (dd, ³J_{Gly-CHt, Gly-NH} = 6.8Hz, 2H, Gly-CH^t), 4.19 (dd, ³J_{Gly-CHh, Gly-NH} = 5.0Hz ²J_{Gly-CH2gem} = 16.7Hz, 2H, Gly-CH^h), 3.92 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 8.8Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 2H, 2-H^t), 3.77 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 4.0Hz ²J_{2-Hgem} = 11.4Hz, 2H, 2-H^h), 3.47 (dd, ³J_{Pheβ-Ht, Pheα-H} = 6.6Hz ²J_{Pheβ-Hgem} = 13.4Hz, 2H, Pheβ-H^t), 3.22 (dd, ³J_{Pheβ-Hh, Pheα-H} = 8.8Hz ²J_{Pheβ-Hgem} = 13.5Hz, 2H, Pheβ-H^h),

Masse

(+ p ESI, CH₂Cl₂/MeOH +10mmol/l NH₄Ac): 797.4 [MH]⁺, 803.4 [M+Li]⁺,

(- p ESI, CH₂Cl₂/MeOH +10mmol/l NH₄Ac): 795.4 [M-H]⁻

Boc-GlyA-6,5(Ar)A-LPheA-GlyB-6,5(Ar)B-LPheB-OMe (77)



C₄₄H₄₈N₈O₁₁S₂ [929.05]

60mg (0.11mmol) des Tetrapeptids **74** wurden in 2ml MeOH gelöst, hierzu wurden zuerst 250 μ L, nach 1h 50 μ L und nach 1h 30min nochmals 50 μ L 1N LiOH gegeben. Nach 2h wurde die Reaktions-lösung mit 1N HCl auf pH 6-7 eingestellt, um dann anschließend das LM abzu-ziehen. Der Rückstand wurde noch im HV getrocknet.

60mg (0.11mmol) **74** wurden in 3ml MeOH gelöst. Nun wurde zuerst 1ml und nach 15min nochmals 3ml TFA zugegeben. Nachdem die Lösung 3h bei RT gerührt worden war, wurde noch 2h bei 45°C gerührt. Das LM wurde entfernt (koevap. mit Tol) und der Rückstand im HV getrocknet.

Die beiden entschützten Tetrapeptide wurden jetzt in 4ml DMF gelöst. Dann wurden 100mg (0.19mmol) PyBop zugegeben, mit NMM pH von 7-8 eingestellt und bei RT über Nacht ge-rührt. Das LM wurde abgezogen und das Rohprodukt flashchromatographisch (CHCl₃/MeOH 10:1, R_f = 0.25) aufgereinigt. Dies ergab dann HV-getrocknet 70mg (0.075mmol, 68%) des Oktapeptids **77**.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 9.13 (s, 1H, 6B-NH), 9.03 (s, 1H, 6A-NH), 8.78 (d, ³J_{PheB-NH, PheB- α H} = 7.1Hz, 1H, PheB-NH), 8.56 (m, 2H, DQF-COSY: 8.56 PheA-NH, 8.57 GlyB-NH), 8.16 (d, ³J_{7A, 8A} = 7.9Hz, 1H, 7A-H), 8.15 (d, ³J_{7B, 8B} = 7.9Hz, 1H, 7B-H), 7.29 (pt, ³J_{Boc-NH, GlyA-CH₂} = 6.0Hz, 1H, Boc-NH), 7.3-7.1 (m, 10H, PheA/B-H_{arom.}), 6.24 (d, ³J_{8B, 7B} = 7.9Hz, 1H, 8B-H), 6.22 (d, ³J_{8A, 7A} = 7.9Hz, 1H, 8A-H), 5.52 (dd, ³J_{3B, 2B-H_{proR}} = 8.5Hz ³J_{3B, 2B-H_{proS}} = 1.9Hz, 1H, 3B-H), 5.51 (dd, ³J_{3A, 2A-H_{proR}} = 8.5Hz ³J_{3A, 2A-H_{proS}} = 1.9Hz, 1H, 3A-H), 4.55 (m, 1H, PheA- α H), 4.49 (m, 1H, PheB- α H), 3.9-3.85 (m, 3H, DQF-COSY: 3.92 GlyB-CH₂, 3.88 2B-H^{proR}), 3.75 (dd, ³J_{2A-H_{proR}, 3A} = 8.8Hz ²J_{2A-Hgem.} = 11.8Hz, 1H, 2A-H^{proR}), 3.71 (m, 2H, GlyA-CH₂), 3.59 (s, 3H, OCH₃), 3.53 (dd, ³J_{2A-H_{proS}, 3A} = 1.9Hz ²J_{2A-Hgem.} = 11.8Hz, 1H, 2A-H^{proS}), 3.40 (dd, ³J_{2B-H_{proS}, 3B} = 1.9Hz ²J_{2B-Hgem.} = 11.8Hz, 1H, 2B-H^{proS}), 3.07 (dd, ³J_{PheA- β Ht, PheA- α H} = 5.2Hz ²J_{PheA- β Hgem.} = 14.0Hz, 1H, PheA- β H^t), 3.02 (dd, ³J_{PheB- β Ht, PheB- α H} = 5.8Hz ²J_{PheB- β Hgem.} = 14.0Hz, 1H, PheB- β H^t), 2.95 (dd, ³J_{PheB- β Hh, PheB- α H} = 8.2Hz ²J_{PheB- β Hgem.} = 14Hz, 1H, PheB- β H^h), 2.83 (dd, ³J_{PheA- β Hh, PheA- α H} = 8.5Hz ²J_{PheA- β Hgem.} = 14.0Hz, 1H, PheA- β H^h), 1.38 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 171.44 (PheB-CO), 171.20 (PheA-CO), 168.53 (GlyA-CO) 167.81 (GlyB-CO), 167.29 (C3B-CO), 167.00 (C3A-CO), 156.19 156.16 (CO-5A, CO-5B), 155.88 (Boc-CO), 140.92 140.84 (C-8aA, C-8aB), 137.28 (PheA-C_{quart.}), 136.61 (PheB-

C_{quart.}), 129.15(2C) 129.01(2C) 128.25(2C) 128.05(2C) 126.60 126.23 (PheA/B-CH_{arom.}), 124.26 (C-7B), 124.06(2C) (6A/B-C), 123.70 (C-7A), 98.75 98.68 (C-8A, C-8B), 78.39 (Boc-C_{quart.}), 63.64 (C-3B), 63.43 (C-3A), 54.15 (PheA-C α), 53.97 (PheB-C α), 51.92 (OCH₃), 44.25 (GlyB-CH₂), 43.01 (GlyA-CH₂), 37.59(PheA-C β), 36.51 (PheB-C β), 32.27 (C-2B), 32.22 (C-2A), 28.11 (Boc-CH₃)

Masse

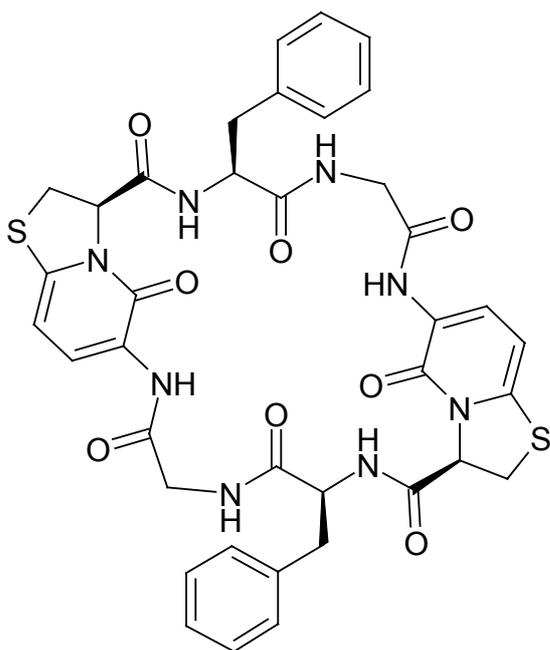
(+ p ESI, DMSO/MeOH +10mmol/l NH₄Ac): 929.5 [MH]⁺, 946.5 [M+NH₄]⁺,
(- p ESI, DMSO/MeOH +10mmol/l NH₄Ac): 927.5 [M-H]⁻

C,H,N-Analyse:

ber.: C 56.89, H 5.21, N 12.06

gef.: C 56.06, H 5.29, N 11.73

zyklo(Gly-6,5(Ar)-LPhe-Gly-6,5(Ar)-LPhe) (78)



C₃₈H₃₆N₈O₈S₂ [796.89]

100mg (0.11mmol) **78** wurden in 3ml DCM/MeOH 1:1 gelöst. Hierzu wurden zunächst 0.22ml und dann noch 2 mal 0.1ml 1N LiOH gegeben und bei RT insgesamt 5h gerührt. Die Lösung wurde neutralisiert und das LM entfernt. Der getrocknete Rückstand wurde in 10ml Et₂O x HCl aufgenommen, 3h mit Ultraschall (Eisbad) behandelt und anschließend die Suspension über Nacht bei RT gerührt. Der Nd. wurde abgetrennt und im Vakuum über KOH getrocknet.

Das entschützte Peptid wurde in 600ml DMF gelöst. Hierzu wurden 50mg (0.13mmol) HATU und 15mg (0.11mmol) HOAT gegeben. Nachdem Zugabe von 0.2ml (1.5mmol) sym-

Collidin, wurde die Lösung 3 Tage gerührt. Das LM wurde entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 7:1 → 4:1, R_f(CHCl₃/MeOH 4:1) = 0.7). So wurden 31mg (0.39mmol, 35%) des zyklischen Peptids **78** erhalten.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 9.12 (s, 2H, 6-NH), 8.58 (bs, 2H, Gly-NH), 8.55 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 9.1Hz, 2H, Phe-NH), 8.10 (d, ³J_{7, 8} = 7.9Hz, 2H, 7-H), 7.1-6.9 (m, 10H, Phe-H_{arom.}), 6.34 (d, ³J_{8, 7} = 7.9Hz, 1H, 8-H), 5.47 (dd, ³J_{3, 2-Hat} = 8.2Hz ³J_{3, 2-Hh} = 3.6Hz, 2H, 3-H), 4.54 (m, 2H, Pheα-H), 3.98 (m, 4H, Gly-CH₂), 3.68 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 8.5Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.3Hz, 2H, 2-H^t), 3.46 (m, 2H, 2-H^h), 3.26 (dd, ³J_{Pheβ-Ht, Pheα-H} = 3.8Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 13.7Hz, 2H, Pheβ-H^t), 2.67 (pt, ³J_{Pheβ-Hh, Pheα-H/Pheβ-Ht} = 12.6Hz, 2H, Pheβ-H^h)

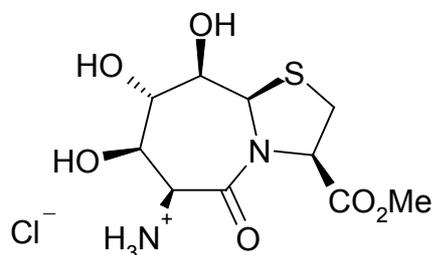
¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 128.1 127.6 125.9 (Phe-CH_{arom.}), 125.0 (C-7), 100.2 (C-8), 64.8 (C-3), 53.8 (Phe-Cα), 43.4 (Gly-CH₂), 36.9 (Phe-Cβ), 29.9 (C-2)

Masse

(+ p ESI, CH₂Cl₂/MeOH +10mmol/l NH₄Ac): 797.3 [MH]⁺, 814.2 [M+NH₄]⁺,

(- p ESI, CH₂Cl₂/MeOH +10mmol/l NH₄Ac): 795.1 [M-H]⁻, 855.1 [M+Ac]⁻

7,5NH₃ClBocBicOMe (79)



C₁₀H₁₇N₂O₆SCl [328.77]

1.3g (3.3mmol) des geschützten Dipeptidisosters **5** wurde in 50ml Et₂O x HCl aufgenommen. Die Suspension wurde bei RT über Nacht gerührt. Der farblose Nd. wurde über Filtration abgetrennt und im Vakuum über KOH getrocknet. Dies ergab 980mg (3.0mmol, 91%) des Hydrochlorids **79**.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.35 (bs, 3H, 6-NH₃⁺) 5.92 (bs, 1H, 8-OH), 5.69 (d, ³J_{7-OH, 7} = 5.7Hz, 1H, 7-OH), 5.61 (s, 1H, 9a-H), 4.76 (pt, ³J_{3, 2} = 7.5Hz, 1H, 3-H), 4.67 (bs, 1H, 6-H), 4.48 (d, ³J_{9-OH, 9} = 10.6Hz, 1H, 9-OH), 3.95 (pt, ³J_{7, 8/7-OH} = 5.1Hz, 1H, 7-H) 3.89 (m, 1H, 8-H), 3.65 (s, 3H, OCH₃) 3.62 (m, 1H, 9H), 3.34 (m, 2-H)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 170.15 165.53 (CO-5, C3-CO), 76.86 (C-9), 71.95 (C-7), 70.23 (C-8), 63.96 (C-3), 61.10 (C-9a), 53.05 (C-6), 52.34 (OCH₃) 31.60 (C-2)

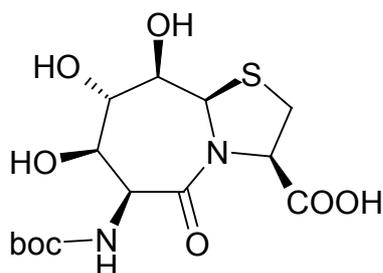
Masse (+ p ESI ms, MeOH + 1% AcOH): 292.9 [MH]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 36.53, H 5.21, N 8.52

gef.: C 36.01, H 5.05, N 8.29

9a(R)H-(6S)-tert-butyloxycarbonylamino-5-oxo-(7R,8S,9R)-trihydroxy-octahydrothiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure (80)



C₁₄H₂₂N₂O₈S [378.40]

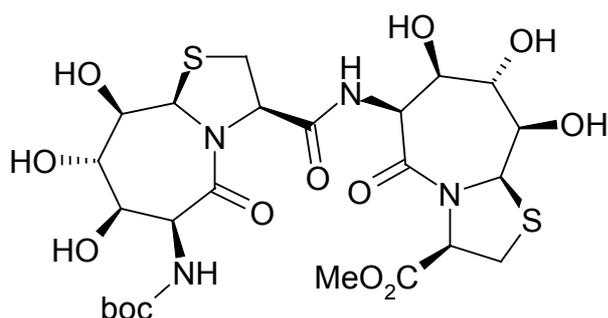
3.15g (8mmol) des geschützten Bicykluses **5** wurden in 30ml MeOH gelöst. Hierzu wurden jetzt 16ml 1N LiOH gegeben und die Lösung bei RT gerührt. Nach 25min wurde diese mit 1N HCl neutralisiert. Das LM wurde abgezogen und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Somit konnte quantitativ die freien Säure **80** erhalten werden.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}) δ = 6.28 (d, ³J_{Boc-NH, 6} = 8.2Hz, 1H, Boc-NH), 5.7 (bs, 1H, OH), 5.42 (s, 1H, 9a-H), 4.74 (d, ³J_{6, Boc-NH} = 8.2Hz, 1H, 6-H), 4.47 (pt, ³J_{3, 2} = 7.1Hz, 1H, 3-H), 3.78 (m, 1H, 8-H), 3.70 (d, ³J_{7, 8} = 4.3Hz, 1H, 7-H), 3.54 (d, ³J_{9, 8} = 3.1Hz, 1H, 9-H), 3.17 (m, 2H, 2-H), 1.36 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}) δ = 172.77 167.15 (CO-5, COOLi), 154.82 (Boc-CO), 78.13 (Boc-C_{quart.}), 75.89 (C-9), 71.61 (C-7), 71.61 (C-8), 66.87 (C-3), 61.18 (C-9a), 53.78 (C-6), 32.93 (C-2), 28.13 (Boc-CH₃)

Masse (PI-LSIMS, MeOH/Glycerin): 385.3 [MLi]⁺, 391 [M – H + 2Li]⁺,
769 [2M + 2Li – H]⁺, 775 [2M + 3Li – 2H]⁺

Boc-7,5BicA-7,5BicB-OMe (81)



$C_{24}H_{36}N_4O_{13}S_2$ [652.70]

330mg (1mmol) **79** und 430mg (1mmol) **80** wurden in 10ml DMF gelöst. Nun wurden 750mg (1.4mmol) PyBop zur Lösung gegeben. Mit NMM wurde ein pH von 7-8 eingestellt. Die Lösung wurde über Nacht bei RT gerührt. Dann wurde das LM abgezogen und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt ($CHCl_3/MeOH$ 7:1 \rightarrow 3:1, $R_f(CHCl_3/MeOH$ 4:1) = 0.55). Noch getrocknet im HV ergaben sich so 599mg (0.92mmol, 92%) eines amorphen gelblich-braunorangenen Feststoffs.

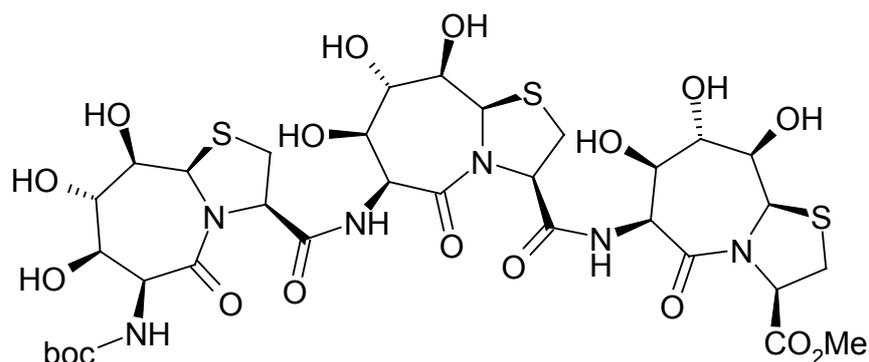
1H -NMR (400MHz, $DMSO_{d6}$) δ = 8.63 (d, $^3J_{6B-NH, 6B}$ = 8.5Hz, 1H, 6B-NH), 6.49 (d, $^3J_{Boc-NH, 6A}$ = 9.1Hz, 1H, Boc-NH), 5.70 (d, $^3J_{8B-OH, 8B}$ = 4.1Hz, 1H, 8B-OH), 5.54 (d, $^3J_{8A-OH, 8A}$ = 3.8Hz, 1H, 8A-OH), 5.46 (s, 1H, 9aB-H), 5.45 (s, 1H, 9aA-H), 5.32 (d, $^3J_{9A-OH, 9A}$ = 10.8Hz, 1H, 9A-OH), 5.30 (d, $^3J_{7B-OH, 7B}$ = 6.0Hz, 1H, 7B-OH), 5.07 (d, $^3J_{6B, 6B-NH}$ = 8.5Hz, 1H, 6B-H), 4.96 (d, $^3J_{7A-OH, 7A}$ = 4.6Hz, 1H, 7A-OH), 4.85 (pt, $^3J_{3A, 2A}$ = 7.6Hz, 1H, 3A-H), 4.71 (m, 2H, 6A-H/3B-H), 4.51 (d, $^3J_{9B-OH, 9B}$ = 10.4Hz, 1H, 9B-OH), 3.83 (m, 1H, 8B-H), 3.78-3.74 (m, 2H, DQF-COSY: 3.77 8A-H, 3.76 7B-H), 3.71 (pt, $^3J_{7A, 8A/7A-OH}$ = 4.7Hz, 1H, 7A-H), 3.62 (s, 3H, OCH_3), 3.59 (dd, $^3J_{9B, 9B-OH}$ = 10.6Hz $^3J_{9B, 8B}$ = 4.0Hz, 1H, 9B-H), 3.51 (dd, $^3J_{9A, 9A-OH}$ = 11.0Hz $^3J_{9A, 8A}$ = 3.7Hz, 1H, 9A-H), 3.2 (m, 4H, DQF-COSY 3.30 2B-H, 3.24 2A-H), 1.34 (s, 9H, Boc- CH_3)

^{13}C -NMR (100MHz, $DMSO_{d6}$) δ = 170.61 170.39 167.71 167.35 (CO-5A, CO-5B, C3B-CO, C3A-CO), 155.13 (Boc-CO), 78.22 (Boc-C_{quart.}), 77.23 (C-9B), 77.02 (C-9A), 74.72 (2C, C-7A/C-7B), 71.32 (C-8A), 70.80 (C-8B), 64.31 (C-3A), 64.08 (C-3B), 61.13 (C-9aA), 60.97 (C-9aB), 54.01 (C-6A), 52.22 (OCH_3), 52.15 (C-6B), 32.56 (C-2A), 31.40 (C-2B), 28.14 (Boc- CH_3)

Masse:

(- p ESI ms, $H_2O/MeOH$ + 10mmol/l NH_4Ac): 651.2 [M-H]⁻, 1303.6 [2M-H]⁻,
1325.6 [2(M-H)+Na]⁻

Boc-7,5BicA-7,5BicB-7,5BicC-OMe (82)



$C_{33}H_{48}N_6O_{18}S_3$ [912.97]

90mg (0.14mmol) des Dimers **81** wurden in 10ml Et₂O x HCl aufgenommen und 1h bei RT gerührt. Das LM wurde dann entfernt und der Rückstand im Vakuum über KOH getrocknet. Das freie Amin wurde dann zusammen mit 60mg (0.14mmol) **80** in 5ml DMF gelöst. Anschließend wurden 150mg (0.29mmol) PyBop zugegeben und der pH der Lösung mit NMM auf 7-8 eingestellt. Nachdem nun über Nacht gerührt worden war, wurde das LM entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 3:1, R_f = 0.25). Dies führte dann schließlich zu 104mg (0.11mmol, 79%) des Trimers **82**.

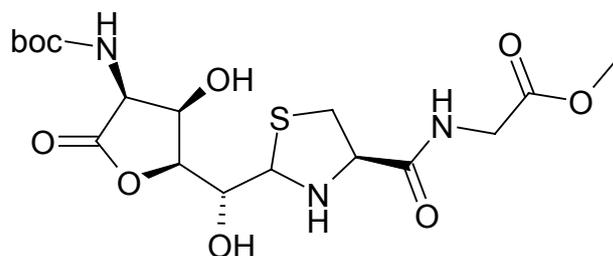
¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 8.70 (d, ³J_{6C-NH, 6C} = 8.6Hz, 1H, 6C-NH), 8.56 (d, ³J_{6B-NH, 6B} = 8.4Hz, 1H, 6B-NH), 6.47 (d, ³J_{Boc-NH, 6A} = 9.1Hz, 1H, Boc-NH), 5.70 (d, ³J_{8C-OH, 8C} = 4.1Hz, 1H, 8C-OH), 5.66 (d, ³J_{9B-OH, 9B} = 9.5Hz, 1H, 9B-OH), 5.59 (d, ³J_{8B-OH, 8B} = 4.3Hz, 1H, 8B-OH), 5.53 (d, ³J_{8A-OH, 8A} = 4.0Hz, 1H, 8A-OH), 5.47 (s, 1H, 9aB-H), 5.46 (s, 1H, 9aC-H), 5.45 (s, 1H, 9aA-H), 5.38 (d, ³J_{9A-OH, 9A} = 10.7Hz, 1H, 9A-OH), 5.31 (d, ³J_{7C-OH, 7C} = 5.9Hz, 1H, 7C-OH), 5.08 (d, ³J_{6C, 6C-NH} = 8.4Hz, 1H, 6C-H), 5.0 (m, 3H, DQF-COSY: 5.01 6B, 4.98 7A/B-OH), 4.87 (pt, ³J_{3B, 2B} = 7.3Hz, 1H, 3B-H), 4.85 (pt, ³J_{3A, 2A} = 7.8Hz, 1H, 3A-H), 4.72 (d, ³J_{6A, Boc-NH} = 9.1Hz, 1H, 6A-H), 4.71 (pt, ³J_{3C, 2C} = 7.8Hz, 1H, 3C-H), 4.51 (d, ³J_{9C-OH, 9C} = 10.5Hz, 1H, 9C-OH), 3.85-3.7 (m, 6H, DQF-COSY: 3.83 8C-H, 3.81 8B-H, 3.78 8A-H, 3.75 7C-H, 3.72 7A/B-H), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.58 (dd, ³J_{9C, 9C-OH} = 10.2Hz ³J_{9C, 8C} = 3.8Hz, 1H, 9C-H), 3.56 (dd, ³J_{9B, 9B-OH} = 9.2Hz ³J_{9B, 8B} = 3.7Hz, 1H, 9B-H), 3.51 (dd, ³J_{9A, 9A-OH} = 10.7Hz ³J_{9A, 8A} = 3.5Hz, 1H, 9A-H), 3.3-3.2 (m, 6H, DQF-COSY 3.30 2C-H, Noesy 3.24 2A-H, DQF-COSY/Noesy 3.31 2B-H^{proR}, 3.21 2B-H^{proS}), 1.36(s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ = 170.57 170.48 170.28 167.71 167.33 166.99 (C3A/B/C-CO, CO-5A/B/C), 155.10 (Boc-CO), 78.20 (Boc-C_{quart.}), 77.20 (C-9C), 76.94 (C-9A/B), 74.75(2C) 74.47 (C-7A/B/C), 71.40 (C-8B), 71.29 (C-8A), 70.78 (C-8C), 64.42 64.33 (C-3A/B), 64.06 (C-3C), 61.12 60.98(2C) (C-9aA/B/C), 54.01 (C-6A), 52.36 (C-6B), 52.21 (OCH₃), 52.11 (C-6C), 32.52 (C-2A/B), 31.40 (C-2C), 28.13 (Boc-CH₃)

Masse:

(- p ESI ms, DMSO/MeOH + 1%AcOH): 911.3 [M-H]⁻,

Boc-Tz-Gly-OMe (83)



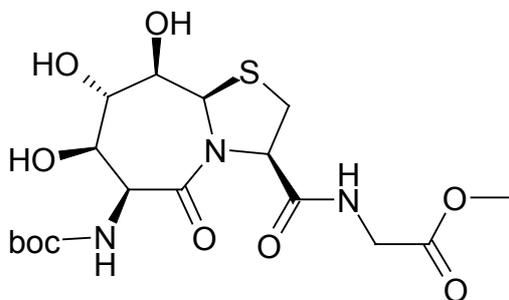
C₁₇H₂₇N₃O₉S [449.48]

Das Thiazolidin wurde als Nebenprodukt bei einer Synthese zu **84** (25mg, 0.06mmol, 3%, R_f(EE/MeOH 10:1) = 0.65) erhalten. Im Unterschied zur späteren Standardsynthese dieser Verbindungen erfolgte hier die Verseifung von **5** mit nur 1eq. LiOH aber über 24h.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.37 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH₂} = 5.9Hz, 1H Gly-NH), 6.85 (d, ³J_{Boc-NH, 5} = 8.9Hz, 1H, Boc-NH), 5.70 (d, ³J_{4-OH, 4} = 4.9Hz, 1H, 4-OH), 5.64 (d, ³J_{2-OH, 2} = 6.2Hz, 1H, 2-OH), 4.75 (dd, ³J_{5, 4} = 4.6Hz ³J_{5, Boc-NH} = 8.9Hz, 1H, 5-H), 4.63 (dd, ³J_{1, NH} = 10.5Hz ³J_{1, 2} = 5.0Hz, 1H, 1-H), 4.42 (dd, ³J_{3, 2} = 8.0Hz ³J_{3, 4} = 2.8Hz, 1H, 3-H), 4.24 (dpt, ³J_{4, 3} = 2.8Hz ³J_{4, 4-OH/5} = 4.9Hz, 1H, 4-H), 4.19 (ddd, ³J_{α-H, β-Ht} = 4.7Hz ³J_{α-H, β-Hh} = 6.8Hz ³J_{α-H, NH} = 8.7Hz, 1H, α-H), 3.93 (m, 1H, 2-H), 3.89 (dd, ³J_{Gly-CHt, Gly-NH} = 5.9Hz ²J_{Gly-CH2gem.} = 17.3, 1H, Gly-CH^t), 3.82 (dd, ³J_{Gly-CHh, Gly-NH} = 6.1Hz ²J_{Gly-CH2gem.} = 17.3, 1H, Gly-CH^h), 3.62 (OCH₃), 3.38 (dd, ³J_{NH, 1} = 10.8Hz ³J_{NH, α-H} = 8.7Hz, 1H, NH), 3.03 (dd, ³J_{β-Ht, α-H} = 4.9Hz ²J_{β-Hgem.} = 10.1Hz, 1H, β-H^t), 2.71 (dd, ³J_{β-Hh, α-H} = 6.8Hz ²J_{β-Hgem.} = 10.0Hz, 1H, β-H^h)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 174.05 171.00 170.11 (CO-6, Gly-CO, Cα-CO), 155.33 (Boc-CO), 83.60 (C-3), 78.65 (Boc-C_{quart.}), 70.09 (C-2), 69.95 (C-1), 68.43 (C-4), 65.10 (Cα), 55.36 (C-5), 51.71 (OCH₃), 40.70 (Gly-CH₂), 35.66 (Cβ), 28.10 (Boc-CH₃)
Nomenklatur siehe * Seite 230

Boc-7,5Bic-Gly-OMe (84)



C₁₇H₂₇N₃O₉S [449.48]

300mg **80** (0.7mmol, M 426g/mol als Li Salz x LiCl, nach Verseifung mit 2eq LiCl und Neutralisation mit HCl) wurden in 5ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 100mg NH₂-Gly-OMe x HCl (0.8mmol) und 500mg PyBop (0.9mmol) wurde der pH mit NMM auf ~8 eingestellt und die Lösung dann bei RT über Nacht gerührt. Nach entfernen des LM wurde das Rohprodukt flashchromatographisch aufgereinigt (EE/MeOH 10:1, R_f = 0.45). Somit konnten nach Trocknen im HV 305mg (0.68mmol, 97%) der Verbindung **84** als gelbbrauner amorpher Feststoff erhalten werden.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.56 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH2} = 6.0Hz, 1H, Gly-NH), 6.50 (d, ³J_{Boc-NH, 6} = 8.8Hz, 1H, Boc-NH), 5.541 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.4Hz, 1H, 8-OH), 5.538 (d, ³J_{9-OH, 9} = 8.2Hz, 1H, 9-OH), 5.44 (s, 1H, 9a-H), 5.09 (d, ³J_{7-OH, 7} = 4.4Hz, 1H, 7-OH), 4.74 (d, ³J_{6, Boc-NH} = 8.8Hz, 1H, 6-H), 4.60 (pt, ³J_{3, 2} = 8.2Hz, 1H, 3-H), 3.86 (dd, ³J_{Gly-CHt, Gly-NH} = 6.3Hz ²J_{Gly-CHgem.} = 17.6Hz, 1H, Gly-CH^t), 3.79 (m, 1H, 8-H), 3.75 (m, 2H, DQF-COSY: 3.75 7-H/ 3.74 Gly-CH^h), 3.61 (s, 3H, OCH₃), 3.59 (dd, ³J_{9, 8} = 3.6Hz ³J_{9, 9-OH} = 8.5Hz, 1H, 9-H), 3.28 (m, 2H, 2-H), 1.37 (s, 9H, Boc-CH₃.)

¹³C-NMR (75MHz, DMSO_{d6}): δ = 170.77 (C3-CO), 169.89 (Gly-CO), 168.03 (CO-5) 155.14 (Boc-CO), 78.24 (Boc-C_{quart}), 77.05 (C-9), 74.86 (C-7), 71.49 (C-8), 65.32 (C-3), 61.34 (C-9a), 54.03 (C-6), 51.75 (OCH₃), 40.48 (Gly-CH₂) 32.48 (C-2) 28.13 (Boc-CH₃)

Masse:

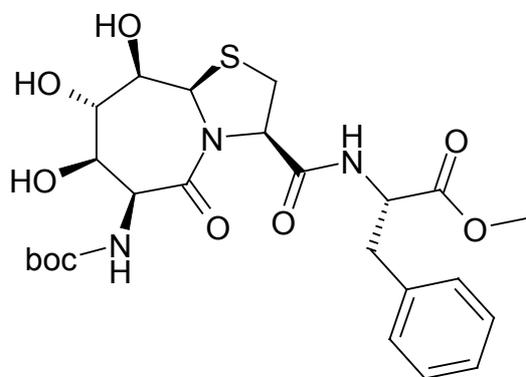
(PI-DCIMS, NH₃): 467.3 [M+NH₄]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 45.43, H 6.05, N 9.35

gef.: C 45.25, H 5.83, N 9.17

Boc-7,5Bic-LPhe-OMe (**85**)



C₁₄H₃₃N₃O₉S [539.61]

1.5g Boc-7,5Bic-OLi x LiCl **80** (3.5mmol), 1g NH₂-LPhe-OMe x HCl (4.6mmol) und 2.5g PyBop (4.8mmol) wurden in 10 ml DMF gelöst. Der pH wurde mit NMM auf ~7 eingestellt

und die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch aufgereinigt (EE/Tol 4:1 → EE, $R_f(\text{EE/Tol } 9:1) = 0.3$). Nach trocknen im HV wurden so 1.4g (2.6mmol, 74%) des Tripeptids **85** erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 8.61$ (d, $^3J_{\text{Phe-NH, Phe}\alpha\text{-H}} = 7.3\text{Hz}$, 1H, Phe-NH), 7.2 (m, 5-H, Phe- $\text{H}_{\text{arom.}}$), 6.49 (d, $^3J_{\text{Boc-NH, 6}} = 8.8\text{Hz}$, 1H, Boc-NH), 5.55 (d, $^3J_{8\text{-OH, 8}} = 4.0\text{Hz}$, 1H, 8-OH), 5.45 (s, 1H, 9a-H), 5.42 (d, $^3J_{9\text{-OH, 9}} = 9.2\text{Hz}$, 1H, 9-OH), 5.04 (d, $^3J_{7\text{-OH, 7}} = 4.6\text{Hz}$, 1H, 7-OH), 4.74 (d, $^3J_{6, \text{Boc-NH}} = 8.8\text{Hz}$, 1H, 6-H), 4.54 (pt, $^3J_{3, 2} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 3-H), 4.43 (m, 1H, Phe α -H), 3.82 (m, 1H, 8-H), 3.75 (m, 1H, 7-H), 3.58 (dd, $^3J_{9, 8} = 4.0\text{Hz}$ $^3J_{9, 9\text{-OH}} = 9.5\text{Hz}$, 1H, 9-H), 3.53 (s, 3H, OCH_3), 3.21 (dd, $^3J_{2\text{-HproR, 3}} = 7.3\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem}} = 11.2\text{Hz}$, 1H, 2- H^{proR}), 3.14 (dd, $^3J_{2\text{-HproS, 3}} = 7.9\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem}} = 11.2\text{Hz}$, 1H, 2- H^{proS}), 2.9 (m, 2H, Phe β -H), 1.38 (s, 9H, Boc- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, DMSO-d_6): $\delta = 171.14$ 170.19 167.87 (CO-5, C3-CO, Phe-CO), 155.01 (Boc-CO) 136.65 (Phe- $\text{C}_{\text{quart.}}$), 129.09(2C) 128.19(2C) 126.55 (Phe- $\text{CH}_{\text{arom.}}$) 78.19 (Boc- $\text{C}_{\text{quart.}}$), 76.61 (C-9), 74.76 (C-7), 71.24 (C-8), 64.92 (C-3), 61.22 (C-9a), 54.00 (C-6), 53.79 (Phe- $\text{C}\alpha$), 51.67 (OCH_3), 37.02 (Phe- $\text{C}\beta$), 32.25 (C-2) 28.10 (Boc- CH_3)

Masse:

(+ p ESI MS, $\text{H}_2\text{O/MeOH} + 10\text{mmol/l NH}_4\text{Ac}$): 540.3 $[\text{MH}]^+$, 557.4 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$,
562.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

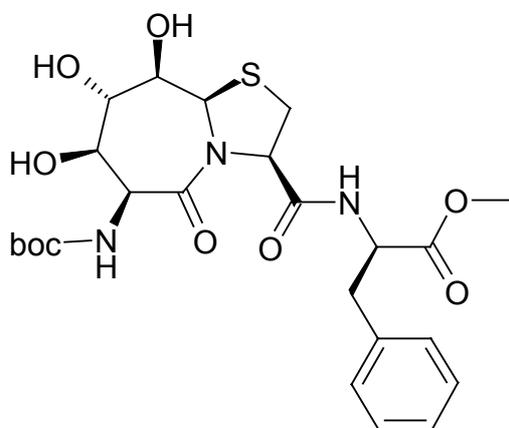
(- p ESI MS, $\text{H}_2\text{O/MeOH} + 10\text{mmol/l NH}_4\text{Ac}$): 538.3 $[\text{M-H}]^-$

C,H,N-Analyse:

ber.: C 53.42, H 6.16, N 7.79

gef.: C 52.17, H 6.03, N 7.40

Boc-7,5Bic-DPhe-OMe (**86**)



$\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_9\text{S}$ [539.61]

1g (2.6mmol) **5** wurden in 10ml MeOH gelöst. Hierzu wurden 5ml 1N LiOH gegeben. Nach 15min wurde die Lösung mit 1N HCl neutralisiert. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im HV getrocknet.

Die verseifte Verbindung wurde nun mit 800mg NH₂-DPhe-OMe x HCl (3.7mmol) und 2g PyBop (3.9mmol) in 8ml DMF gelöst. Nach Einstellung des pHs mit NMM auf ~7 wurde über Nacht bei RT gerührt. Das LM entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (EE/Tol 9:1, R_f = 0.3), so wurden 900mg (1.7mmol, 65%) des Tripeptids **86** erhalten.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.64 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 8.0Hz, 1H, Phe-NH), 7.3-7.15 (m, 5H, Phe-H_{arom.}), 6.46(d, ³J_{Boc-NH, 6} = 9.1Hz, 1H, Boc-NH), 5.53 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.1Hz, 1H, 8-OH), 5.50 (d, ³J_{9-OH, 9} = 8.8Hz, 1H, 9-OH), 5.42 (s, 1H, 9a-H), 5.14 (d, ³J_{7-OH, 7} = 4.1Hz, 1H, 7-OH), 4.74 (d, ³J_{6, Boc-NH} = 8.8Hz, 1H, 6-H), 4.54 (dd, ³J_{3, 2-HproR} = 7.4Hz ³J_{3, 2HproS} = 8.8Hz, 1H 3-H), 4.39 (m, 1H, Pheα-H), 3.79 (m, 1H, 8-H), 3.75 (m, 1H, 7-H), 3.58, (dd, ³J_{9, 8} = 3Hz ³J_{9, 9-OH} = 8.2Hz, 1H, 9-H), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.1 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.1Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.0Hz, 1H, 2-H^{proR}), 3.01 (dd, ³J_{2-HproS, 3} = 8.8Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.2Hz, 1H, 2-H^{proS}) 2.91 (dd, ³J_{Pheβ-Ht, Pheα-H} = 6.9Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 13.7Hz, 1H, Pheβ-H^t), 2.82 (dd, ³J_{Pheβ-Hh, Pheα-H} = 8.0Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 13.7Hz, 1H, Pheβ-H^h), 1.37 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (150MHz, DMSO_{d6}): δ = 171.47 169.58 167.90 (CO-5, C3-CO, Phe-CO) 154.00 (Boc-CO) 136.70 (Phe-C_{quart.}), 129.11(2C) 128.20(2C) 126.56 (Phe-CH_{arom.}), 78.22 (Boc-C_{quart.}), 76.99 (C-9), 74.85 (C-7), 71.51 (C-8), 65.38 (C-3), 61.27 (C-9a), 53.94 (C-6), 53.64 (Phe-Cα), 51.70 (OCH₃), 37.35 (Phe-Cβ), 32.35 (C-2), 28.10 (Boc-CH₃)

Masse:

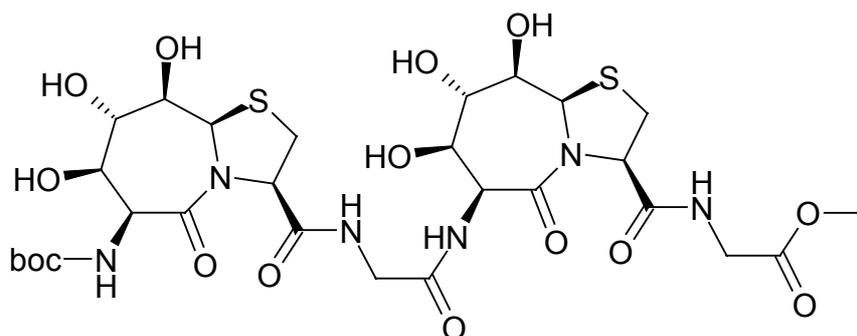
(PI-DCIMS, NH₃): 557.4 [M+NH₄]⁺

C,H,N-Analyse:

ber.: C 53.42, H 6.16, N 7.79

gef.: C 53,31, H 5.89, N 7.64

Boc-7,5BicA-GlyA-7,5BicB-GlyB-OMe (**87**)



C₂₈H₄₂N₆O₁₅S₂ [766.81]

400mg (0.9mmol) Boc-7,5Bic-Gly-OMe **84** wurden in 5ml MeOH gelöst. Hierzu wurden 2ml 1N LiOH gegeben und 20min bei RT gerührt. Dann wurde mit 1N HCl neutralisiert, das LM entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

400mg (0.9mmol) Boc-7,5Bic-Gly-OMe **84** wurden in 4ml MeOH und 7ml DCM gelöst. Hierzu wurden 7ml Et₂O x HCl gegeben und die Lösung 1h 15min bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im HV getrocknet.

Die beiden entschützten Tripeptide wurden nun in 10ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 700mg (1.3mmol) PyBop wurde mit NMM ein pH von 7-8 eingestellt, und die Lösung bei RT über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt, und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 3:1 → 1:1, R_f(CHCl₃/MeOH 2:1) = 0.4). So konnte nach Trocknen im HV 470mg (0.6mmol, 66%) des Hexapeptids **87** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.58 (pt, ³J_{GlyB-NH, GlyB-CH2} = 5.8Hz, 1H, GlyB-NH), 8.49 (pt, ³J_{GlyA-NH, GlyA-CH2} = 5.8Hz, 1H, GlyA-NH), 7.91 (d, ³J_{6B-NH, 6B} = 8.2Hz, 1H, 6B-NH), 6.52 (d, ³J_{Boc-NH, 6A} = 8.8Hz, 1H, Boc-NH), 5.72 (d, ³J_{9B-OH, 9B} = 8.2Hz, 1H, 9B-OH), 5.55 (d, ³J_{8B-OH, 8B} = 4.1Hz, 1H, 8B-OH), 5.53 (d, ³J_{8A-OH, 8a} = 4.1Hz, 1H, 8A-OH), 5.52 (d, ³J_{9A-OH, 9A} = 8.8Hz, 1H, 9A-OH), 5.47 (s, 1H, 9aB-H), 5.45 (s, 1H, 9aA-H), 5.14 (d, ³J_{7B-OH, 7B} = 5.2Hz, 1H, 7B-OH), 5.12 (d, ³J_{7A-OH, 7A} = 4.4Hz, 1H, 7A-OH), 5.08 (d, ³J_{6B, 6B-NH} = 8.2Hz, 1H, 6B-H), 4.75 (d, ³J_{6A, Boc-NH} = 8.8Hz, 1H, 6A-H), 4.64 (m, 2H, Roesy: 4.64 3A-H, 4.63 3B-H), 3.88 (dd, ³J_{GlyB-CHt, GlyB-NH} = 6.0Hz ²J_{GlyB-CH2gem} = 17.6Hz, 1H, GlyB-CH^t), 3.81 (m, 1H, 8B-H), 3.79 (m, 1H, 8A), 3.7-3.75 (m, 5H, DQF-COSY: 3.74 7A/B, 3.73 GlyB-CH^h, 3.72 GlyA-CH₂), 3.62 (m, 1H, 9B-H), 3.61 (s, 3H, OCH₃), 3.59 (dd, ³J_{9A, 9A-OH} = 9.1Hz ³J_{9A, 8A} = 3.6Hz, 1H, 9A-H), 3.35-3.2 (m, 4H, 2A/B), 1.37 (s, 9H, Boc-CH₃)

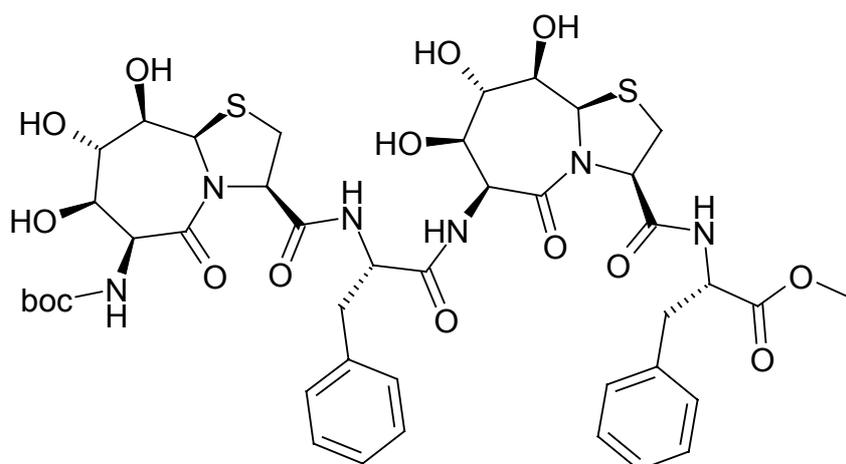
¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 170.78 170.52 169.85 168.30 167.73 167.55 (CO-5A/B, C3A/B-CO, GlyA/B-CO), 155.09 (Boc-CO), 78.24 (Boc-C_{quart.}), 77.06 (C-9A), 76.75 (C-9B), 74.82 74.56 (C-7A/B), 71.68 (C-8B), 71.45 (C-8A), 65.38 65.31 (C-3A/B), 61.33 (C-9aA/B), 53.97 (C-6A), 52.23 (C-6B), 51.74 (OCH₃), 41.91 (GlyA-CH₂), 40.51 (GlyB-CH₂), 32.49 32.40 (C-2A/B), 28.10 (Boc-CH₃)

Masse:

(+ p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 767.4 [MH]⁺, 777.3 [M+Li]⁺,
784.4 [M+NH₄]⁺, 789.4 [M+Na]⁺,
805.4 [M+K]⁺

(- p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 765.4 [M-H]⁻

Boc-7,5BicA-LPheA-7,5BicB-LPheB-OMe (88)



C₄₂H₅₄N₆O₁₅S₂ [947.06]

500mg (0.93mmol) **85** wurden in 6ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 2ml 1N LiOH wurde 30min bei RT gerührt, anschließend wurde mit 1N HCl neutralisiert und danach das LM entfernt. Der Rückstand wurde noch im HV getrocknet.

500mg (0.93mmol) **85** wurden in 12ml MeOH und 10ml DCM gelöst. Hierzu wurden 10ml Et₂O x HCl gegeben. Nach 25min wurde das LM entfernt und der Rückstand im Vakuum über KOH getrocknet.

Die beiden entschützten Verbindungen wurden nun in 10ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 700mg (1.3mmol) PyBop wurde noch mit NMM ein pH von 7-8 eingestellt und die Lösung bei RT über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt, und der hierbei erhaltene Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 7:1 → 3:1, R_f(CHCl₃/MeOH 5:1) = 0.35). Somit wurden nach Trocknen im HV 807mg (0.85mmol, 92%) des Hexapeptids **88** erhalten.

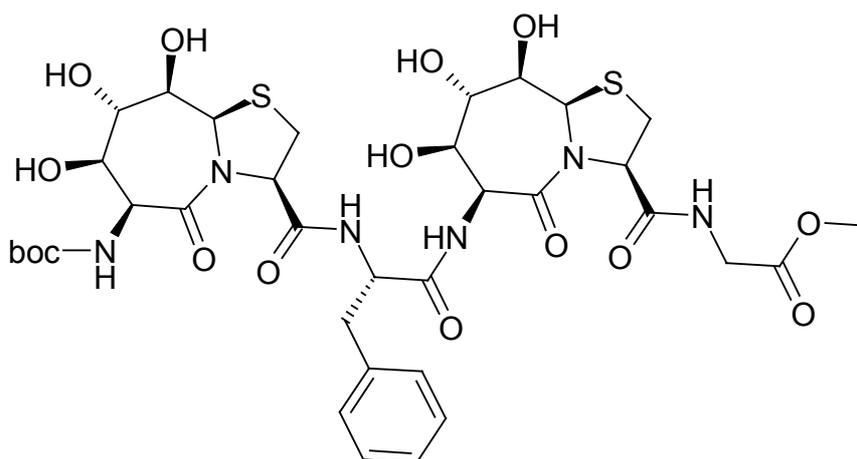
¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.67 (d, ³J_{PheB-NH, PheB-αH} = 7.4Hz, 1H, PheB-NH), 8.37 (d, ³J_{PheA-NH, PheA-αH} = 8.5Hz, 1H, PheA-NH), 8.00 (d, ³J_{6B-NH, 6B} = 8.5Hz, 1H, 6B-NH), 7.3-7.15 (m, 10H, Phe-H_{arom.}), 6.56 (d, ³J_{Boc-NH, 6A} = 9.0Hz, 1H, Boc-NH), 5.67 (d, ³J_{9A-OH, 9A} = 8.5Hz, 1H, 9A-OH), 5.65 (d, ³J_{9B-OH, 9B} = 9.0Hz, 1H, 9B-OH), 5.56 (d, ³J_{8A-OH, 8A} = 4.8Hz, 1H, 8A-OH), 5.55 (d, ³J_{8B-OH, 8B} = 4.8Hz, 1H, 8B-OH), 5.49 (s, 1H, 9aB-H), 5.46 (s, 1H, 9aA-H), 5.09 (d, ³J_{7A-OH, 7A} = 4.8Hz, 1H, 7A-OH), 5.02 (m, 2H, DQF-COSY: 5.02 6B-H, 5.03 7B-OH), 4.75 (d, ³J_{6A, Boc-NH} = 8.5Hz, 1H, 6A-H), 4.66 (pt, ³J_{3B, 2B} = 7.4Hz, 1H, 3B-H), 4.56 (pt, ³J_{3A, 2A} = 7.9Hz, 1H, 3A-H), 4.53 (ddd, ³J_{PheA-αH, PheA-NH} = 8.5Hz ³J_{PheA-αH, PheA-βHt} = 4.2Hz ³J_{PheA-αH, PheA-βHh} = 9.5Hz, 1H, PheA-αH), 4.45 (m, ³J_{PheB-αH, PheB-NH/PheB-βH} = 7Hz, 1H, PheB-αH), 3.88 (m, 1H, 8B-H), 3.80-3.84 (m, 2H, DQF-COSY: 3.81 7B-H, 3.83 8A-H), 3.76 (m, 1H, 7A-H), 3.62 (dd, ³J_{9B, 9B-OH} = 9.0Hz ³J_{9B, 8B} = 3.7Hz, 1H, 9B-H), 3.61 (dd, ³J_{9A, 9A-OH} = 9.0Hz ³J_{9A, 8A} = 3.7Hz, 1H, 9A-H), 3.53 (s, 3H, OCH₃), 3.24 (dd, ³J_{2B-H^{proR}, 3B} = 7.4Hz ²J_{2B-H^{gem}} = 11.1Hz, 1H, 2B-H^{proR}), 3.1-3.2 (m, 3H, DQF-COSY: 3.17 2A-H^{proR}, 3.16 PheA-βH^{proS}, 3.14 2B-H^{proS}), 3.05 (dd, ³J_{2A-H^{proS}, 3A} = 8.5Hz ²J_{2A-H^{gem}} = 11.1Hz, 1H, 2A-H^{proS}), 2.95 (dd, ³J_{PheB-βHt, PheB-αH} = 6.9Hz ²J_{PheB-βH^{gem}} = 13.8Hz, 1H, PheB-βH^t), 2.92 (dd, ³J_{PheB-βHh, PheB-αH} = 7.4Hz ²J_{PheB-βH^{gem}} = 13.8Hz, 1H, PheB-βH^h), 2.69 (dd, ³J_{PheA-βH^{proR}, PheA-αH} = 9.5Hz ²J_{PheA-βH^{gem}} = 14.3Hz, 1H, PheA-βH^{proR}), 1.37 (s, 9H, Boc-CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, DMSO-d_6): $\delta = 171.22$ 170.41 170.09 169.83 168.38 167.29 (PheA/B-CO, 5A/B-CO, C3A/B-CO), 154.98 (Boc-CO), 132.92 136.62 (PheA/B- C_{quart}), 129.22(2C) 129.12(2C) 128.19(2C) 127.92(2C) 126.53 126.10 (PheA/B- CH_{arom}), 78.16 (Boc- C_{quart}), 76.74 (C-9A), 76.29 (C-9B), 74.78 (C-7A), 74.26 (C-7B), 71.3 (C-8A), 71.28 (C-8B), 65.54 (C-3A), 64.81 (C-3B), 61.24 (C-9aA) 61.13 (C-9aB), 53.91 (C-6A), 53.77(2C) (PheA/B-C α), 52.43 (C-6B), 51.74 (OCH_3), 37.45 (PheA-C β), 36.93 (PheB-C β), 32.31 (C-2A), 32.20 (C-2B), 28.08 (Boc- CH_3)

Masse:

(+ p ESI MS, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} + 10\text{mmol/l NH}_4\text{Ac}$): 947.5 $[\text{MH}]^+$, 964.5 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$,
969.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Boc-7,5BicA-LPhe-7,5BicB-Gly-OMe (89)



$\text{C}_{35}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_{15}\text{S}_2$ [856.93]

660mg (1.2mmol) Boc-7,5Bic-LPhe-OMe **85** wurden in 8ml MeOH gelöst. Hierzu wurden 2.5ml 1N LiOH gegeben und die Lösung 2h bei RT gerührt. Dann wurde mit 1N HCl ein pH von 6-7 eingestellt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

550mg (1.2mmol) Boc-7,5Bic-Gly-OMe **84** wurden in 4ml MeOH und 8ml DCM gelöst. Hierzu wurden 10ml $\text{Et}_2\text{O} \times \text{HCl}$ gegeben und die Lösung 1h bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im HV getrocknet.

Die beiden entschützten Tripeptide wurden nun in 10ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 750mg (1.4mmol) PyBop wurde mit NMM ein pH von 7-8 eingestellt, und die Lösung wurde bei RT über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt, und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1 \rightarrow 2:1, $R_f(\text{CHCl}_3/\text{MeOH } 5:1) = 0.3$). So konnte nach Trocknen im HV 412mg (0.48mmol, 40%) des Hexapeptids **89** erhalten werden.

$^1\text{H-NMR}$ (600MHz, DMSO-d_6): $\delta = 8.61$ (pt, $^3\text{J}_{\text{Gly-NH, Gly-CH}_2} = 5.9\text{Hz}$, 1H, Gly-NH), 8.36 (d, $^3\text{J}_{\text{Phe-NH, Phe}\alpha\text{-H}} = 8.5\text{Hz}$, 1H, Phe-NH), 7.98 (d, $^3\text{J}_{6\text{B-NH, } 6\text{B}} = 8.2\text{Hz}$, 1H, 6B-NH), 7.3-7.15 (m,

5H, Phe-H_{arom.}), 6.56 (d, $^3J_{\text{Boc-NH}, 6A} = 8.7\text{Hz}$, 1H, Boc-NH), 5.72 (d, $^3J_{9B\text{-OH}, 9B} = 8.2\text{Hz}$, 1H, 9B-OH), 5.68 (d, $^3J_{9A\text{-OH}, 9A} = 8.2\text{Hz}$, 1H, 9A-OH), 5.56 (d, $^3J_{8A\text{-OH}, 8A} = 4.1\text{Hz}$, 1H, 8A-OH), 5.53 (d, $^3J_{8B\text{-OH}, 8B} = 4.1\text{Hz}$, 1H, 8B-OH), 5.48 (s, 1H, 9aB-H), 5.45 (s, 1H, 9aA-H), 5.12 (d, $^3J_{7B\text{-OH}, 7B} = 5.1\text{Hz}$, 1H, 7B-OH), 5.10 (d, $^3J_{7A\text{-OH}, 7A} = 4.9\text{Hz}$, 1H, 7A-OH), 5.04 (d, $^3J_{6B, 6B\text{-NH}} = 8.2\text{Hz}$, 1H, 6B-H), 4.74 (d, $^3J_{6A, \text{Boc-NH}} = 8.7\text{Hz}$, 1H, 6A-H), 4.66 (pt, $^3J_{3B, 2B} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 3B-H), 4.56 (pt, $^3J_{3A, 2A} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 3A-H), 4.53 (m, 1H, Phe α -H), 3.88 (dd, $^3J_{\text{Gly-CHt}, \text{Gly-NH}} = 6.1\text{Hz}$ $^2J_{\text{Gly-CH}_2\text{gem.}} = 17.4\text{Hz}$, 1H, Gly-CH^t), 3.73-3.88 (m, 5H, DQF-COSY: 3.85 8B, 3.92 7B, 3.81 8A, 3.77 Gly-CH^h, 3.76 7A), 3.62 (m, 5H, HMQC: 3.61 OCH₃, DQF-COSY: 3.63 9B, 3.60 9A), 3.3 (m, 2H, 2B-H), 3.17 (dd, $^3J_{2A\text{-HproR}, 3A} = 7.2\text{Hz}$ $^2J_{2A\text{-Hgem.}} = 11.0\text{Hz}$, 1H, 2A-H^{proR}), 3.15 (dd, $^3J_{\text{Phe}\beta\text{-HproS}, \text{Phe}\alpha\text{-H}} = 3.8\text{Hz}$ $^2J_{\text{Phe}\beta\text{-Hgem.}} = 14.1\text{Hz}$, 1H, Phe β -H^{proS}), 3.04 (dd, $^3J_{2A\text{-HproS}, 3A} = 8.5\text{Hz}$ $^2J_{2A\text{-Hgem.}} = 11.0\text{Hz}$, 1H, 2A-H^{proS}), 2.68 (dd, $^3J_{\text{Phe}\beta\text{-HproR}, \text{Phe}\alpha\text{-H}} = 9.7\text{Hz}$ $^2J_{\text{Phe}\beta\text{-Hgem.}} = 14.3\text{Hz}$, 1H, Phe β -H^{proR}), 1.37 (s, 9H, Boc-CH₃)

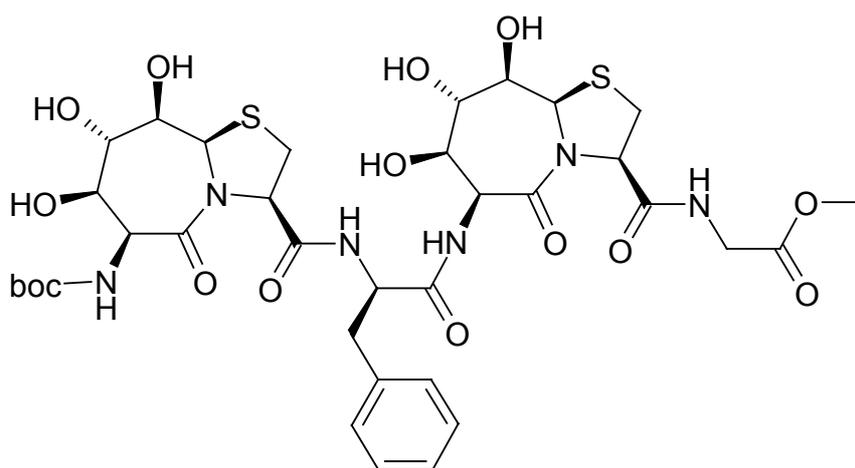
¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): $\delta = 76.5$ (C-9A/B), 74.5 (C-7A), 74.1 (C-7B), 71.3 (C-8B), 71.1 (C-8A), 65.3 (C-3A), 64.9 (C-3B), 61.0 (C-9aA/B), 53.7 (C-6A), 53.5 (Phe-C α), 52.1 (C-6B), 51.4 (OCH₃), 40.4 (Gly-CH₂), 37.4 (Phe-C β), 32.2 (C-2B), 32.1 (C-2A), 27.8 (Boc-CH₃)

Masse:

(+ p ESI MS, MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 857.4 [MH]⁺, 874.3 [M+NH₄]⁺

(- p ESI MS, MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 855.4 [M-H]⁻, 1713.1 [2M-H]⁻

Boc-7,5BicA-DPhe-7,5BicB-Gly-OMe (90)



C₃₅H₄₈N₆O₁₅S₂ [856.93]

150mg (0.28mmol) Boc-7,5Bic-DPhe-OMe **86** wurden in 4ml MeOH gelöst. Hierzu wurden 0.5ml 1N LiOH gegeben und 20min bei RT gerührt. Dann wurde mit 1N HCl ein pH von 7 eingestellt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

125mg (0.28mmol) Boc-7,5Bic-Gly-OMe **84** wurden in 4ml MeOH/DCM 1:1 gelöst, und nach Zugabe von 4ml Et₂O x HCl wurde 20min bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im HV getrocknet.

Die beiden entschützten Tripeptide wurden nun in 10ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 200mg (0.38mmol) PyBop wurde mit NMM ein pH von 8 eingestellt, und die Lösung bei RT über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt, und der hierbei erhaltene Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 10:1 → 2:1, R_f(CHCl₃/MeOH 4:1) = 0.5). So konnte nach Trocknen im HV 175mg (0.20mmol, 73%) der Hexapeptide **90/89** erhalten werden.

ca. 30mg wurden noch über HPLC getrennt, so konnten 18 mg **90** epimerenrein erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.59 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH₂} = 5.8Hz, 1H, Gly-NH), 8.53 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 8.8Hz, 1H, Phe-NH), 8.21 (d, ³J_{6B-NH, 6B} = 8.5Hz, 1H, 6B-NH), 7.25-7.15 (m, 5H, Phe-H_{arom.}), 6.52 (d, ³J_{Boc-NH, 6A} = 9.1Hz, 1H, Boc-NH), 5.71 (d, ³J_{9B-OH, 9B} = 8.2Hz, 1H, 9B-OH), 5.55 (d, ³J_{8B-OH, 8B} = 4.1Hz, 1H, 8B-OH), 5.51 (d, ³J_{8A-OH, 8A} = 4.1Hz, 1H, 8A-OH), 5.50 (s, 1H, 9aB-H), 5.38 (s, 1H, 9aA-H), 5.23 (d, ³J_{9A-OH, 9A} = 10.4Hz, 1H, 9A-OH), 5.14 (d, ³J_{7B-OH, 7B} = 5.2Hz, 1H, 7B-OH), 5.13 (d, ³J_{6B, 6B-NH} = 9.1Hz, 1H, 6B-H), 5.06 (d, ³J_{7A-OH, 7A} = 4.1Hz, 1H, 7A-OH), 4.71 (d, ³J_{6A, Boc-NH} = 9.3Hz, 1H, 6A-H), 4.63 (pt, ³J_{3B, 2B} = 7.7Hz, 1H, 3B-H), 4.61 (m, 2H, 3A-H/Pheα-H), 3.88 (dd, ³J_{Gly-CH_t, Gly-NH} = 6.3Hz ²J_{Gly-CH₂gem.} = 17.6Hz, 1H, Gly-CH^t), 3.82 (m, 1H, 8B-H), 3.76-3.69 (m, 4H, DQF-COSY: 3.74 8A/Gly-CH^h, 3.71 7A, 3.70 7B), 3.64 (dd, ³J_{9B, 8B} = 3.8Hz ³J_{9B, 9B-OH} = 8.5Hz, 9B-H), 3.47 (dd, ³J_{9A, 8A} = 3.3Hz ³J_{9A, 9A-OH} = 10.4Hz, 9A-H), 3.3 (m, 2H, 2B-H), 3.03 (dd, ³J_{Pheβ-HproR, Pheα-H} = 4.4Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 13.7Hz, 1H, Pheβ-H^{proR}), 2.92 (dd, ³J_{2A-HproR, 3A} = 7.4Hz ²J_{2A-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2A-H^{proR}), 2.74 (dd, ³J_{2A-HproS, 3A} = 8.5Hz ²J_{2A-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2A-H^{proS}), 2.62 (dd, ³J_{Pheβ-HproS, Pheα-H} = 10.2Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 13.5Hz, 1H, Pheβ-H^{proS}), 1.36 (s, 9H, Boc-CH₃)

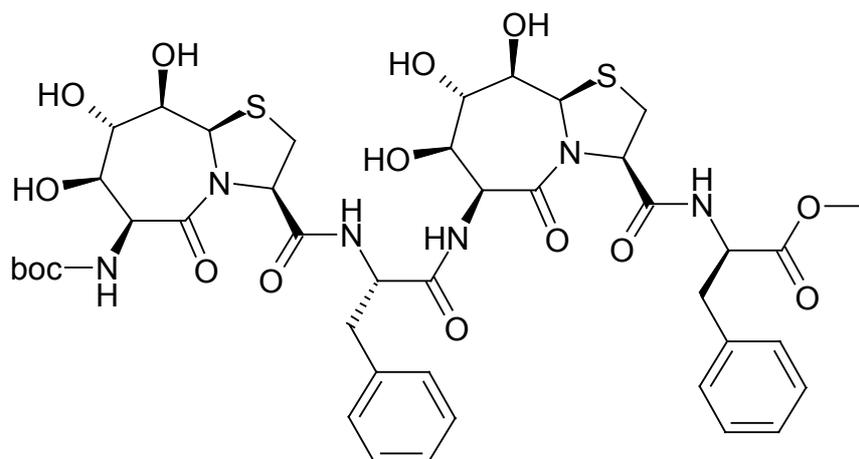
¹³C-NMR (aus HMQC, DMSO_{d6}): δ = 128.8 127.3 126.0 (Phe-CH_{arom.}), 76.9 (C-9A), 76.6 (C-9B), 74 (C-7A/B), 71.5 (C-8B), 71.1 (C-8A), 65.2 (C-3B), 64.7 (C-3B), 61.1 (C-9aB), 61.0 (C-9aA), 53.8 (C-6A), 53.6 (Phe-Cα), 52.0 (C-6B), 51.6 (OCH₃), 40.3 (Gly-CH₂), 38.3 (Phe-Cβ), 32.2 (C-2B), 32.1 (C-2A), 27.9 (Boc-CH₃)

Masse

(+ p ESI MS, MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 857.4 [MH]⁺, 874.5 [M+NH₄]⁺, 879.4 [M+Na]⁺,
895.4 [M+K]⁺

(- p ESI MS, MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 855.3 [M-H]⁻

Boc-7,5BicA-LPhe-7,5BicB-DPhe-OMe (91)



C₄₂H₅₄N₆O₁₅S₂ [947.06]

91 wurde bei der Synthese von 92 erhalten.

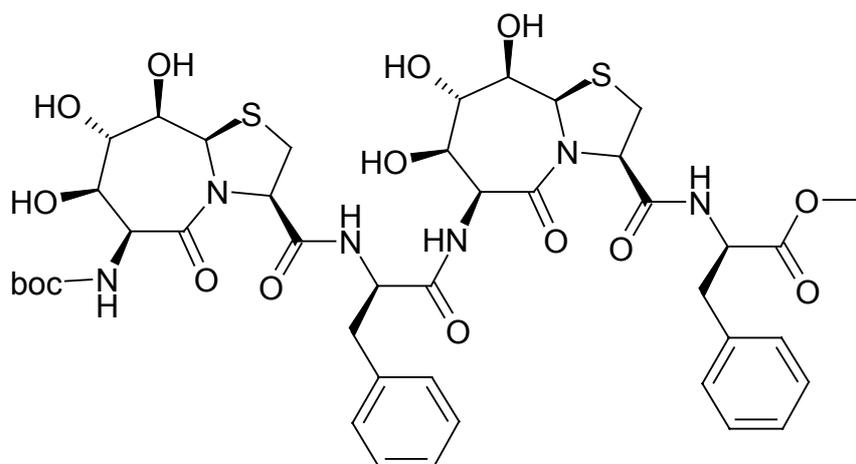
¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.69 (d, ³J_{DPhe-NH, DPheα-H} = 8.0Hz, 1H, DPhe-NH), 8.37 (d, ³J_{LPhe-NH, Pheα-H} = 8.2Hz, 1H, LPhe-NH), 7.99 (d, ³J_{6B-NH, 6B} = 8.2Hz, 1H, 6B-NH), 7.3-7.15 (m, 10H, Phe-H_{arom.}), 6.56 (d, ³J_{Boc-NH, 6A} = 8.5Hz, 1H, Boc-NH), 5.67 (d, ³J_{9B-OH, 9B} = 8.2Hz, 1H, 9B-OH), 5.64 (d, ³J_{9A-OH, 9A} = 8.5Hz, 1H, 9A-OH), 5.56 (d, ³J_{8A-OH, 8A} = 4.1Hz, 1H, 8A-OH), 5.52 (d, ³J_{8B-OH, 8B} = 3.8Hz, 1H, 8B-OH), 5.46 (s, 1H, 9aB-H), 5.45 (s, 1H, 9aA-H), 5.17 (d, ³J_{7B-OH, 7B} = 4.9Hz, 1H, 7B-OH), 5.09 (d, ³J_{7A-OH, 7A} = 4.9Hz, 1H, 7A-OH), 5.03 (d, ³J_{6B, 6B-NH} = 8.2Hz, 1H 6B-H), 4.74 (d, ³J_{6A, Boc-NH} = 8.5Hz, 1H, 6A-H), 4.60 (pt, ³J_{3B, 2B} = 7.7Hz, 1H, 3B-H), 4.57 (pt, ³J_{3A, 2A} = 7.7Hz, 1H, 3A-H), 4.54 (m, ³J_{LPheα-H, LPhe-NH/LPheβ-HproR} = 9Hz ³J_{LPheα-H, LPheβ-HproS} = 4Hz, LPheα-H), 4.41 (m, ³J_{DPheα-H, DPhe-NH/DPheβ-H} = 7-8Hz, 1H, DPheα-H), 3.85 (m, 1H, 8B-H), 3.8 (m, 2H, DQF-COSY: 3.82 7B-H, 3.81 8A-H), 3.75 (pt, ³J_{7A, 7A-OH/8A} = 4.7Hz, 1H, 7A-H), 3.6 (m, 2H, DQF-COSY: 3.61 9B-H, 3.60 9A-H), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.17 (dd, ³J_{2A-HproR, 3A} = 7.4Hz ²J_{2A-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2A-H^{proR}), 3.15 (dd, ³J_{LPheβ-HproS, LPheα-H} = 4.1Hz ²J_{LPheβ-Hgem.} = 14Hz, 1H, LPheβ-H^{proS}), 3.12 (dd, ³J_{2B-HproR, 3B} = 7.4Hz ²J_{2B-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2B-H^{proR}), 3.06 (dd, ³J_{2A-HproS, 3B} = 8.2Hz ²J_{2B-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2A-H^{proS}), 2.98 (dd, ³J_{2B-HproS, 3B} = 8.2Hz ²J_{2B-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2B-H^{proS}), 2.94 (dd, ³J_{DPheβ-Ht, DPheα-H} = 6.6Hz ²J_{DPheβ-Hgem.} = 13.5Hz, 1H, DPheβ-H^t), 2.84 (dd, ³J_{DPheβ-Hh, DPheα-H} = 8.2Hz ²J_{DPheβ-Hgem.} = 13.7Hz, 1H, DPheβ-H^h), 2.70 (dd, ³J_{LPheβ-HproR, LPheα-H} = 9.6Hz ²J_{LPheβ-Hgem.} = 14.0Hz, 1H, LPheβ-H^{proR}), 1.36 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 76.5 (C-9A/B), 74.6 (C-7A), 74.1 (C-7B), 71.4 (C-8B), 71.1 (C-8A), 65.2 (C-3A), 65.0 (C-3B), 61.0 (C-9aA/B) 53.6 (C-6A), 53.5 (LPhe-Cα), 53.4 (DPhe-Cα), 52.1 (C-6B), 51.5 (OCH₃), 37.2 (LPhe-Cβ), 37.1 (DPhe-Cβ), 32.1 (C-2A/B), 27.8 (Boc-CH₃)

Masse:

(+ p ESI MS, MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 947.3 [MH]⁺, 964.4 [M+NH₄]⁺, 969.4 [M+Na]⁺
(- p ESI MS, MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 945.3 [M-H]⁻, 981.2 [M+Cl]⁻

Boc-7,5BicA-DPheA-7,5BicB-DPheB-OMe (92)



C₄₂H₅₄N₆O₁₅S₂ [947.06]

225mg (0.42mmol) Boc-7,5Bic-DPhe-OMe **86** wurden in 3ml MeOH suspensiert. Nach Zugabe von 1ml 1N LiOH bildete sich nach 1-2min eine klare Lösung. Diese wurde 40min bei RT gerührt, anschließend wurde mit 1N HCl ein pH von 6-7 eingestellt, und dann das LM entfernt. Der Rückstand wurde noch im HV getrocknet.

225mg (0.42mmol) Boc-7,5Bic-DPhe-OMe **86** wurden in 2ml MeOH und 5ml DCM gelöst. Hierzu wurden 10ml Et₂O x HCl gegeben. Nach 30min wurde das LM entfernt und der Rückstand im Vakuum über KOH getrocknet.

Die beiden entschützten Verbindungen wurden nun in 5ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 300mg (0.58mmol) PyBop wurde mit NMM ein pH von 7 eingestellt und die Lösung bei RT über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt, und der Rückstand anschließend flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 11:1 → 4:1, R_f(CHCl₃/MeOH 4:1) = 0.25). Somit wurden nach Trocknen im HV 364mg (0.38mmol, 91%) der beiden Hexapeptids **92** und **91** erhalten (Verh. **92/91** ~4:1)

ca. 30mg des Epimerengemischs wurden noch über HPLC aufgetrennt. Hierdurch konnten 17mg **92** und 5mg **91** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.68 (d, ³J_{PheB-NH, PheB-αH} = 7.7Hz, 1H, PheB-NH), 8.51 (d, ³J_{PheA-NH, PheA-αH} = 9.1Hz, 1H, PheA-NH), 8.24 (d, ³J_{6B-NH, 6B} = 8.5Hz, 1H, 6B-NH), 7.3-7.15 (m, 10H, Phe-H_{arom.}), 6.52 (d, ³J_{Boc-NH, 6A} = 9.1Hz, 1H, Boc-NH), 5.66 (d, ³J_{9B-OH, 9B} = 8.2Hz, 1H, 9B-OH), 5.54 (d, ³J_{8B-OH, 8B} = 4.1Hz, 1H, 8B-OH), 5.51 (d, ³J_{8A-OH, 8A} = 3.8Hz, 1H, 8A-OH), 5.48 (s, 1H, 9aB-H), 5.38 (s, 1H, 9aA-H), 5.28 (d, ³J_{9A-OH, 9A} = 10.2Hz, 1H, 9A-OH), 5.18 (d, ³J_{7B-OH, 7B} = 4.9Hz, 1H, 7B-OH), 5.13 (d, ³J_{6B, 6B-NH} = 8.5Hz, 1H 6B-H), 5.06 (d, ³J_{7A-OH, 7A} = 4.1Hz, 1H, 7A-OH), 4.71 (d, ³J_{6A, Boc-NH} = 9.3Hz, 1H, 6A-H), 4.64 (ddd, ³J_{PheA-αH, PheA-NH} = 9.3Hz ³J_{PheA-αH, PheA-βHproS} = 10.4Hz ³J_{PheA-αH, PheA-βHproR} = 4.4Hz, 1H, PheA-αH), 4.61 (pt, ³J_{3A, 2A} = 8.1Hz, 1H, 3A-H), 4.59 (pt, ³J_{3B, 2B} = 7.7Hz, 1H, 3B-H), 4.41 (m, ³J_{PheB-αH, PheB-NH/PheB-βH} = 7-8Hz, 1H, PheB-αH), 3.81 (m, 1H, 8B-H), 3.75 (m, 1H, 8A-H), 3.71 (pt, ³J_{7A, 7A-OH/8A} = 4.4Hz, 1H, 7A-H), 3.69 (pt, ³J_{7B, 7B-OH/8B} = 4.7Hz, 1H, 7B-H), 3.61 (dd, ³J_{9B, 9B-OH} = 8.5Hz ³J_{9B, 8B} = 3.8Hz, 1H, 9B-H), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.49 (dd, ³J_{9A, 9A-OH} = 10.4Hz ³J_{9A, 8A} = 3.6Hz, 1H, 9A-H), 3.13 (dd, ³J_{2B-HproR, 3B} = 7.4Hz ²J_{2B-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2B-H^{proR}), 3.02

(dd, $^3J_{\text{PheA-}\beta\text{H}^{\text{proR}}, \text{PheA-}\alpha\text{H}} = 4.4\text{Hz}$ $^2J_{\text{PheA-}\beta\text{Hgem.}} = 13.5\text{Hz}$, 1H, PheA- $\beta\text{H}^{\text{proR}}$), 3.00 (dd, $^3J_{2\text{B-HproS}, 3\text{B}} = 8.5\text{Hz}$ $^2J_{2\text{B-Hgem.}} = 11.3\text{Hz}$, 1H, 2B- H^{proS}), 2.93 (m, 2H, 2A- H^{proR} /PheB- βH^{t}), 2.85 (dd, $^3J_{\text{PheB-}\beta\text{Hh}, \text{PheB-}\alpha\text{H}} = 7.7\text{Hz}$ $^2J_{\text{PheB-}\beta\text{Hgem.}} = 13.5\text{Hz}$, 1H, PheB- βH^{h}), 2.74 (dd, $^3J_{2\text{A-HproS}, 3\text{A}} = 8.2\text{Hz}$ $^2J_{2\text{A-Hgem.}} = 11.3\text{Hz}$, 1H, 2A- H^{proS}), 2.62 (dd, $^3J_{\text{PheA-}\beta\text{HproS}, \text{PheA-}\alpha\text{H}} = 10.2\text{Hz}$ $^2J_{\text{PheA-}\beta\text{Hgem.}} = 13.5\text{Hz}$, 1H, PheA- $\beta\text{H}^{\text{proS}}$), 1.37 (s, 9H, Boc- CH_3)

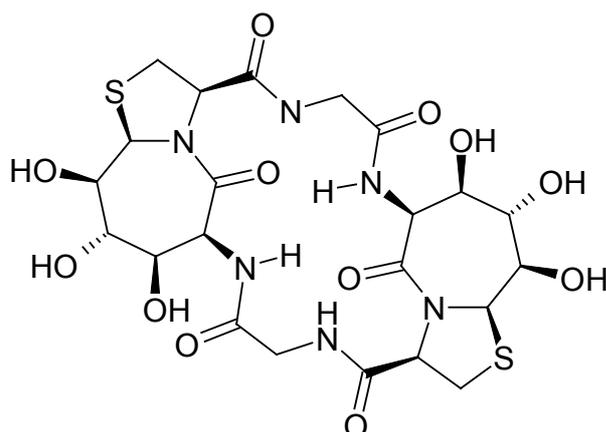
$^{13}\text{C-NMR}$ (HMQC, DMSO-d_6): $\delta = 76.8$ (C-9A), 76.7 (C-9B), 74.8 (C-7A/B), 71.5 (C-8B), 71.2 (C-8A), 65 (C-3A/B), 61.1 (C-9aB) 61.0 (C-9aA), 53.8 (C-6A), 53.5 (PheA/B-C α), 51.9 (C-6B), 51.5 (OCH $_3$), 38.4 (PheA-C β), 37.2 (PheB-C β), 32.1 (C-2A/B), 27.8 (Boc- CH_3)

Masse:

(+ p ESI MS, MeOH + 10mmol/l NH_4Ac): 947.4 $[\text{MH}]^+$, 969.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

(- p ESI MS, MeOH + 10mmol/l NH_4Ac): 945.4 $[\text{M-H}]^-$, 967.2 $[\text{M}-2\text{H}+\text{Na}]^-$

zyklo(7,5Bic-Gly-7,5Bic-Gly) (93)



$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_{12}\text{S}_2$ [634.65]

50mg (0.065mmol) des Hexapeptids **87** wurde in 1ml MeOH gelöst. Zu dieser Lösung wurden 0.15ml 1N LiOH gegeben und diese dann 20min bei RT gerührt. Anschließend wurden 2ml 1N HCl zugegeben und 1h bei RT gerührt. Danach wurde das LM entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Das entschützte Peptid wurde jetzt in 500ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 30mg (0.08mmol) HATU, 10mg (0.07mmol) HOAT und 0.1ml (0.75mmol) sym-Collidin wurde die Lösung über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 5:1 \rightarrow 1:2, $R_f(\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 2:1) = 0.2). So konnten 32mg (0.05mmol, 77%) des zyklischen Peptids **93** erhalten werden. Aus Wasser konnten anschließend noch Kristalle gezüchtet werden.

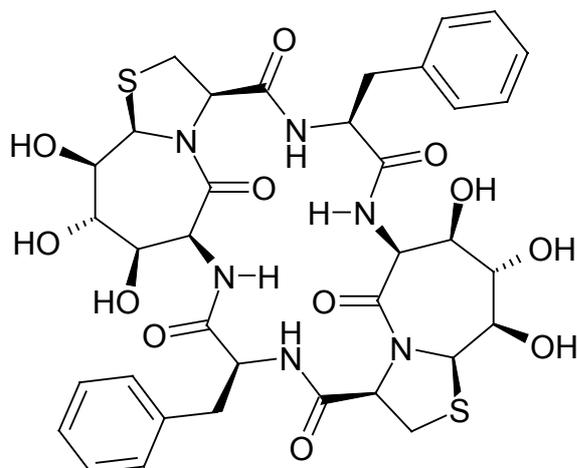
$^1\text{H-NMR}$ (600MHz, DMSO-d_6): $\delta = 8.66$ (dd, $^3J_{\text{Gly-NH}, \text{Gly-CHt}} = 8.5\text{Hz}$ $^3J_{\text{Gly-NH}, \text{Gly-CHh}} = 4.2\text{Hz}$, 1H, Gly-NH), 7.90 (d, $^3J_{6\text{-NH}, 6} = 7.4\text{Hz}$, 1H, 6-NH), 5.82 (d, $^3J_{9\text{-OH}, 9} = 7.4\text{Hz}$, 1H, 9-OH), 5.65 (d, $^3J_{7\text{-OH}, 7} = 4.2\text{Hz}$, 1H, 7-OH), 5.61 (d, $^3J_{8\text{-OH}, 8} = 4.8\text{Hz}$, 1H, 8-OH), 5.53 (s, 1H, 9a-H), 5.25

(d, ${}^3J_{6,6\text{-NH}} = 7.4\text{Hz}$, 1H, 6-H), 4.53 (dd, ${}^3J_{3,2\text{-HproS}} = 10.6\text{Hz}$ ${}^3J_{3,2\text{-HproR}} = 7.4\text{Hz}$, 1H, 3-H), 4.04 (dd, ${}^3J_{\text{Gly-CHt, Gly-NH}} = 8.5\text{Hz}$ ${}^2J_{\text{Gly-CHgem.}} = 17.6\text{Hz}$, 1H, Gly-CH^t), 3.79 (m, 1H, 8-H), 3.71 (pt, ${}^3J_{7,8/7\text{-OH}} = 4.2\text{Hz}$, 1H, 7-H), 3.67 (dd, ${}^3J_{9,8} = 3.7\text{Hz}$ ${}^3J_{9,9\text{-OH}} = 7.4\text{Hz}$, 1H, 9-H), 3.40 (dd, ${}^3J_{\text{Gly-CHh, Gly-NH}} = 4.2\text{Hz}$ ${}^2J_{\text{Gly-CHgem.}} = 17.5\text{Hz}$, 1H, Gly-CH^h), 3.35 (pt, ${}^3J_{2\text{-HproS},3} = 10.6\text{Hz}$ ${}^2J_{2\text{-Hgem.}} = 10.6\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proS}), 3.27 (dd, ${}^3J_{2\text{-HproR},3} = 7.4\text{Hz}$ ${}^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.1\text{Hz}$, 1H, 2-H^{proR})

${}^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, DMSO_{d6}): $\delta = 170.40$ 167.64 166.78 (C3-CO, Gly-CO, CO-5), 78.04 (C-9), 75.07 (C-7), 71.77 (C-8), 66.52 (C-3), 61.28 (C-9a), 52.43 (C-6), 42.28 (Gly-CH₂) 32.31(C-2)

Masse (+ p ESI MS, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} + 10\text{mmol/l NH}_4\text{Ac}$): 635.1 $[\text{MH}]^+$, 652.2 $[\text{M+Na}]^+$
(- p ESI MS, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} + 10\text{mmol/l NH}_4\text{Ac}$): 633.2 $[\text{M-H}]^-$, 669.1 $[\text{M+Cl}]^-$

zyklo(7,5Bic-LPhe-7,5-Bic-LPhe) (94)



C₃₆H₄₂N₆O₁₂S₂ [814.90]

50mg (0.053mmol) des linearen Hexapeptids **88** wurden in 1ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 0.1ml 1N LiOH wurde 50min bei RT gerührt. Anschließend wurden 3ml 1N HCl zugegeben, worauf sich ein Nd. bildete, deshalb wurden noch 6ml MeOH zugegeben, was wieder zu einer klaren Lösung führte. Nach 1h des Rührens bei RT wurde das LM entfernt (schäumt stark) und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Das entschützte Peptid wurde jetzt in 500ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 25mg (0.066mmol) HATU, 10mg (0.07mmol) HOAT und 0.08ml (0.6mmol) sym-Collidin wurde die Lösung über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 5:1, R_f = 0.25). Die hierbei erhaltenen 45mg wurden noch in EE suspensiert und anschließend mit US behandelt. Der verbleibende Nd wurde abfiltriert mit Et₂O gewaschen und im HV getrocknet, so wurden 15mg (0.018mmol, 35%) des zyklischen Peptids **94** erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}, 300K): δ = 7.83 (bs, 2H, Phe-NH), 7.64 (bs, 2H, 6-NH), 7.3-7.1 (m, 10H, Phe-H_{arom.}), 6.16 (bs, 2H, 9-OH), 6.01 (bs, 2H, 7-OH), 5.63 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.4Hz, 2H, 8-OH), 5.50 (s, 2H, 9a-H), 5.27 (d, ³J_{6, 6-NH} = 6.9Hz, 2H, 6-H), 4.63 (bs, 2H, Pheα-H), 4.35 (bs, 2H, 3-H), 3.88 (m, 2H, 8-H), 3.79 (m, 2H, 7-H), 3.73 (m, 2H, 9-H), 3.49 (bs, 2H, Pheβ-H^{proS}), 2.87 (bs, 4H, 2-H), 2.34 (bs, 2H, Pheβ-H^{proR})

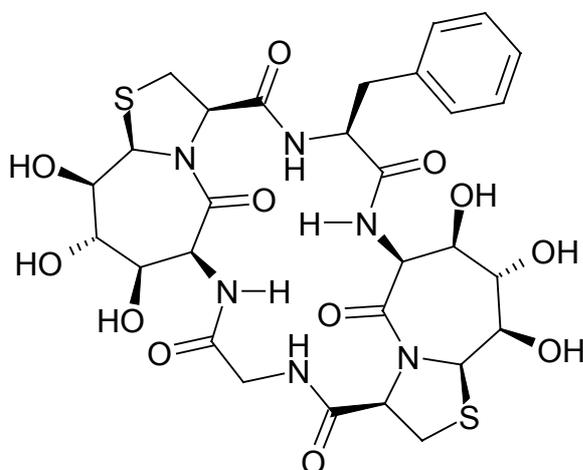
¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}, 350K): δ = 7.93 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 9.4Hz, 2H, Phe-NH), 7.75 (d, ³J_{6-NH, 6} = 6.9Hz, 2H, 6-NH), 7.3-7.1 (m, 10H, Phe-H_{arom.}), 5.79 (d, ³J_{9-OH, 9} = 5.5Hz, 2H, 9-OH), 5.66 (bs, 2H, 7-OH), 5.48 (s, 2H, 9a-H), 5.41 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4.7Hz, 2H, 8-OH), 5.28 (d, ³J_{6, 6-NH} = 7.0Hz, 2H, 6-H), 4.58 (m, 2H, Pheα-H), 4.35 (dd, ³J_{3, 2-HproR} = 7.1Hz ³J_{3, 2-HproS} = 10.9Hz, 2H, 3-H), 3.92 (m, 2H, 8-H), 3.85 (m, 2H, 7-H), 3.77 (dd, ³J_{9, 8} = 3Hz ³J_{9, 9-OH} = 5Hz, 2H, 9-H), 3.48 (dd, ³J_{Pheβ-HproS, Pheα-H} = 3.2Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 14.4Hz, 2H, Pheβ-H^{proS}), 2.99 (pt, ³J_{2-HproS, 3} = 10.9Hz ²J_{2-Hgem.} = 10.9Hz, 2H, 2-H^{proS}), 2.87 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.1Hz ²J_{2-Hgem.} = 10.9Hz, 2H, 2-H^{proR}), 2.53 (dd, ³J_{Pheβ-HproR, Pheα-H} = 11.4Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 14.6Hz, 2H, Pheβ-H^{proR})

$^{13}\text{C-NMR}$ (HMQC, DMSO-d_6 , 350K): $\delta = 77.1$ (C-9), 74.8 (C-7), 71.2 (C-8), 66.9 (C-3), 60.7 (C-9a), 52.9 (Phe-C α), 52.4 (C-6), 37.1 (Phe-C β), 31.1 (C-2)

Masse:

(+ p ESI MS, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} + 10\text{mmol/l NH}_4\text{Ac}$): 815.3 $[\text{MH}]^+$, 832.3 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$,
1629.8 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 1651.4 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$
(- p ESI MS, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} + 10\text{mmol/l NH}_4\text{Ac}$): 813.2 $[\text{M}-\text{H}]^-$

zyklo(7,5BicA-LPhe-7,5BicB-Gly) (95)



$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{12}\text{S}_2$ [724.77]

50mg (0.058mmol) des Hexapeptids **89** wurde in 1,5ml MeOH gelöst, zu dieser Lösung wurden dann 0.15ml 1N LiOH gegeben, und 45min bei RT gerührt. Jetzt wurden 2ml 1N HCl zugegeben und 1h 30min bei RT gerührt. Danach wurde das LM entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Das entschützte Peptid wurde in 500ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 30mg (0.08mmol) HATU, 10mg (0.07mmol) HOAT und 0.1ml (0.75mmol) sym-Collidin wurde die Lösung über drei Tage bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} 4:1 \rightarrow 1,5:1$, $R_f(\text{CHCl}_3/\text{MeOH} 3:1) = 0.6$) und anschließend im HV getrocknet. So konnten 21mg (0.029mmol, 50%) des zyklischen Peptids **95** erhalten werden.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6 , 350K): $\delta = 8.66$ (dd, $^3J_{\text{Gly-NH, Gly-CHt}} = 7.1\text{Hz}$ $^3J_{\text{Gly-NH, Gly-CHh}} = 5.3\text{Hz}$, 1H, Gly-NH), 8.10 (d, $^3J_{6\text{A-NH, 6A}} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 6A-NH), 8.00 (d, $^3J_{\text{Phe-NH, Phe}\alpha\text{-H}} = 9.7\text{Hz}$, 1H, Phe-NH), 7.75 (d, $^3J_{6\text{B-NH, 6B}} = 7.0\text{Hz}$, 1H, 6B-NH), 7.3-7.1 (m, 5H, Phe- $\text{H}_{\text{arom.}}$), 5.87 (d, $^3J_{9\text{A-OH, 9A}} = 4.6\text{Hz}$, 1H, 9A-OH), 5.60 (d, $^3J_{7\text{B-OH, 7B}} = 3.8\text{Hz}$, 1H, 7B-OH), 5.53 (s, 1H, 9aB-H), 5.45 (s, 1H, 9aA-H), 5.41 (d, $^3J_{8\text{B-OH, 8B}} = 4.6\text{Hz}$, 1H, 8B-OH), 5.40 (d, $^3J_{9\text{B-OH, 9B}} = 8.7\text{Hz}$, 1H, 9B-OH), 5.33 (d, $^3J_{8\text{A-OH, 8A}} = 4.6\text{Hz}$, 1H, 8A-OH), 5.31 (d, $^3J_{6\text{A, 6A-NH}} = 7.5\text{Hz}$, 1H, 6A-H), 5.26 (d, $^3J_{6\text{B, 6B-NH}} = 7.0\text{Hz}$, 1H, 6B-H), 5.24 (d, $^3J_{7\text{A-OH, 7A}} = 5.1\text{Hz}$, 1H, 7A-OH), 4.63 (m, 1H, Phe α -H), 4.61 (dd, $^3J_{3\text{B, 2B-HproS}} = 10.4\text{Hz}$ $^3J_{3\text{B, 2B-HproR}} = 7.0\text{Hz}$, 1H, 3B-H), 4.34

(dd, $^3J_{3A, 2A-HproS} = 10.4\text{Hz}$ $^3J_{3A, 2A-HproR} = 7.5\text{Hz}$, 1H, 3A-H), 3.92-3.83 (m, 3H, DQF-COSY: 3.88 8A-H, 3.87 Gly-CH^t, 3.86 8B-H), 3.81 (pt, $^3J_{7B, 8B/7B-OH} = 4\text{Hz}$, 1H, 7B-H), 3.75 (m, 2H, DQF-COSY: 3.76 7A-H, 3.74 9A-H), 3.70 (dd, $^3J_{9B, 9B-OH} = 8.7\text{Hz}$ $^3J_{9B, 8B} = 3.4\text{Hz}$, 1H, 9B-OH), 3.58 (dd, $^3J_{Gly-CHh, Gly-NH} = 5.1\text{Hz}$ $^2J_{Gly-CHgem.} = 17.2\text{Hz}$, 1H, Gly-CH^h), 3.44 (pt, $^3J_{2B-HproS, 3B} = 10.5\text{Hz}$ $^2J_{2B-Hgem.} = 10.5\text{Hz}$, 1H, 2B-H^{proS}), 3.42 (dd, $^3J_{Phe\beta-HproS, Phe\alpha-H} = 3.6\text{Hz}$ $^2J_{Phe\beta-Hgem.} = 14\text{Hz}$, 1H, Phe β -H^{proS}), 3.23 (dd, $^3J_{2B-HproR, 3B} = 7.2\text{Hz}$ $^2J_{2B-Hgem.} = 10.9\text{Hz}$, 1H, 2B-H^{proR}), 2.88 (pt, $^3J_{2A-HproS, 3A} = 10\text{Hz}$ $^2J_{2A-Hgem.} = 10\text{Hz}$, 1H, 2A-H^{proS}), 2.83 (dd, $^3J_{2A-HproR, 3A} = 7.7\text{Hz}$ $^2J_{2A-Hgem.} = 11.1\text{Hz}$, 1H, 2A-H^{proR}), 2.48 (m, 1H, DQF-COSY: $^3J_{Phe\beta-HproR, Phe\alpha-H} \sim 10\text{Hz}$, Phe β -H^{proR})

¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}, 350K): $\delta = 77.8$ (C-9B), 77.3 (C-9A), 75.5 (C-7A), 74.6 (C-7B), 71.7 (C-8A), 71.4 (C-8B), 66.9 (C-3A), 66.1 (C-3B), 60.9 (C-9aA), 60.7 (C-9aB), 53.0 (Phe-C α), 52.2 (C-6A), 51.9 (C-6B), 42.3 (Gly-CH₂), 38.0 (Phe-C β), 31.5 (C-2B), 31.3 (C-2A)

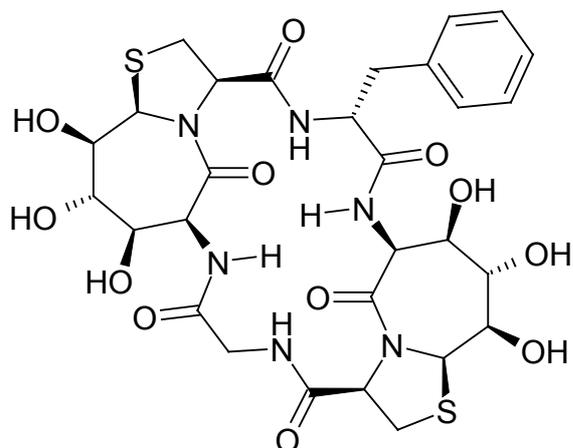
¹Hwg-NMR (600MHz, H₂O/D₂O 10:1, 300K): $\delta = 9.01$ (bs, 1H, Gly-NH), 8.56 (d, $^3J_{6A-NH, 6A} = 7.9\text{Hz}$, 1H, 6A-NH), 8.15 (bs, 1H, Phe-NH), 8.02 (d, $^3J_{6B-NH, 6B} = 6.7\text{Hz}$, 1H, 6B-NH), 7.4-7.2 (m, 5H, Phe-H_{arom.}), 5.66 (s, 1H, 9aB-H), 5.54 (s, 1H, 9aA-H), 5.46 (d, $^3J_{6A, 6A-NH} = 8.1\text{Hz}$, 1H, 6A-H), 5.40 (d, $^3J_{6B, 6B-NH} = 7.1\text{Hz}$, 1H, 6B-H), 5.06 (m, 1H, Phe α -H), (4.82 (DQF-COSY-wg: 3B)), 4.51 (dd, $^3J_{3A, 2A-HproS} = 11.2\text{Hz}$ $^3J_{3A, 2A-HproR} = 7.1\text{Hz}$, 1H, 3A-H), 4.16 (pt, $^3J_{8B, 9B/7B} = 4.1\text{Hz}$, 1H, 8B-H), 4.13 (pt, $^3J_{8A, 9A/7A} = 4.1\text{Hz}$, 1H, 8A-H), 4.05 (d, $^2J_{Gly-CHgem.} = 17.9\text{Hz}$, 1H, Gly-CH^t), 4.01 (d, $^3J_{7B, 8B} = 4.7\text{Hz}$, 1H, 7B-H), 4.0-3.9 (m, 4H, DQF-COSY-pr: 3.95 Gly-CH^h, Roesy-pr: 3.98 9B-H, 3.96 9A-H, 3.95 7A-H), 3.60 (dd, $^3J_{Phe\beta-HproS, Phe\alpha-H} = 4.2\text{Hz}$ $^2J_{Phe\beta-Hgem.} = 14.7\text{Hz}$, 1H, Phe β -H^{proS}), 3.51 (pt, $^3J_{2B-HproS, 3B} = 10.8\text{Hz}$ $^2J_{2B-Hgem.} = 10.8\text{Hz}$, 1H, 2B-H^{proS}), 3.37 (dd, $^3J_{2B-HproR, 3B} = 7.3\text{Hz}$ $^2J_{2B-Hgem.} = 11.6\text{Hz}$, 1H, 2B-H^{proR}), 2.82 (dd, $^3J_{2A-HproR, 3A} = 7.1\text{Hz}$ $^2J_{2A-Hgem.} = 11.6\text{Hz}$, 1H, 2A-H^{proR}), 2.68 (bpt, $J_{Phe\beta-HproR, Phe\alpha-H/PheB-HproS} = 13\text{Hz}$, Phe β -H^{proR}), 2.44 (pt, $^3J_{2A-HproS, 3A} = 11\text{Hz}$ $^2J_{2A-Hgem.} = 11\text{Hz}$, 1H, 2A-H^{proS}),

Masse:

(+ p ESI MS, DCM/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 742.2 [M+NH₄]⁺,

(- p ESI MS, AcCN/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 723.1 [M-H]⁻, 759.1 [M+Cl]⁻

zyklo(7,5BicA-DPhe-7,5BicB-Gly) (96)



C₂₉H₃₆N₆O₁₂S₂ [724.77]

100mg (0.12mmol) des Epimerengemischs von **89/90** wurde in 1ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 0.5ml 1N LiOH wurde 15min bei RT gerührt. Jetzt wurden 3ml 1N HCl zugegeben und 2h bei RT gerührt. Danach wurde das LM entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Das entschützte Peptid wurde jetzt in 700ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 50mg (0.13mmol) HATU, 15mg (0.11mmol) HOAT und 0.1ml (0.75mmol) sym-Collidin wurde die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 20:1 → 1:1, R_f(CHCl₃/MeOH 4:1) = 0.33 **95**/ 0.37 **96**, aber **95** eluierte vor **96**). So konnten 18mg (0.03mmol, 25%) **95** und 42mg (0.06mmol, 50%) **96** erhalten werden. Anschließend war es noch möglich **95** aus Wasser und **96** aus H₂O/D₂O ~20:1 zu kristallisieren.

¹H-NMR (600MHz, DMSO-d₆): δ = 9.38 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 7.7Hz, 1H, Phe-NH), 8.65 (d, ³J_{6B-NH, 6B} = 8.5Hz, 1H, 6B-NH), 8.40 (dd, ³J_{Gly-NH, Gly-CH_{proR}} = 9.9Hz ³J_{Gly-NH, Gly-CH_{proS}} = 3.6Hz, 1H, Gly-NH), 7.64 (d, ³J_{6A-NH, 6A} = 6.6Hz, 1H, 6A-NH), 7.3-7.25 (m, 4H, Phe_{ortho}/Phe_{meta}), 7.19 (m, 1H, Phe_{para}), 6.20 (dd, ³J_{9B-OH, 9B} = 4.7Hz ⁴J_{9B-OH, 9aB} = 1Hz, 1H, 9B-OH), 5.84 (dd, ³J_{7A-OH, 7A} = 3.3Hz ⁴J_{7A-OH, 6A} = 1.4Hz, 1H, 7A-OH), 5.56 (d, ³J_{8A-OH, 8A} = 4.7Hz, 1H, 8A-OH), 5.54 (s, 1H, 9aB-H), 5.53 (s, 1H, 9aA-H), 5.52 (d, ³J_{8B-OH, 8B} = 4.1Hz, 1H, 8B-OH), 5.42 (d, ³J_{6B, 6B-NH} = 8.5Hz, 1H, 6B-H), 5.15 (d, ³J_{6A, 6A-NH} = 6.3Hz, 1H, 6A-H), 4.99 (d, ³J_{9A-OH, 9A} = 12.4Hz, 1H, 9A-OH), 4.89 (d, ³J_{7B-OH, 7B} = 6.3Hz, 1H, 7B-OH), 4.67 (dd, ³J_{3A, 2A-H_{proS}} = 10.2Hz ³J_{3A, 2A-H_{proR}} = 6.9Hz, 1H, 3A-H), 4.51 (dd, ³J_{3B, 2B} = 7.7Hz ³J_{3B, 2B'} = 9.6Hz, 1H, 3B-H), 4.30 (dd, ³J_{Gly-CH_{proR}, Gly-NH} = 9.9Hz ²J_{Gly-CH_{2gem}} = 17.8Hz, 1H, Gly-CH^{proR}), 4.15 (ddd, ³J_{Pheα-H, Phe-NH} = 7.7Hz ³J_{Pheα-H, Pheβ-H_{proR}} = 3.0Hz ³J_{Pheα-H, Pheβ-H_{proS}} = 11.5Hz, 1H, Pheα-H), 3.8-3.75 (m, 2H, DQF-COSY 3.784 8B-H, 3.776 7A-H), 3.73 (m, 1H, 8A-H), 3.72 (m, 1H, 9B-H), 3.62 (pt, ³J_{7B, 7B-OH/8B} = 5.7Hz, 1H, 7B-H), 3.53 (dd, ³J_{9A, 9A-OH} = 12.4Hz ³J_{9A, 8A} = 3.6Hz, 1H, 9A-H), 3.31 (m, 2H, 2B-H), 3.26 (dd, ³J_{Pheβ-H_{proR}, Pheα-H} = 3.0Hz ²J_{Pheβ-H_{gem}} = 14.3Hz, 1H, Pheβ-H^{proR}), 3.23 (m, 1H, 2A-H^{proS}), 3.19 (dd, ³J_{Gly-CH_{proS}, Gly-NH} = 3.3Hz ²J_{Gly-CH_{2gem}} = 17.8Hz, 1H, Gly-CH^{proS}), 2.95 (dd, ³J_{2A-H_{proR}, 3} = 7.1Hz ²J_{2A-H_{gem}} = 11.0Hz, 1H, 2A-H^{proR}), 2.84 (dd, ³J_{Pheβ-H_{proS}, Pheα-H} = 11.5Hz ²J_{Pheβ-H_{gem}} = 14.3Hz, 1H, Pheβ-H^{proS})

$^{13}\text{C-NMR}$ (HMQC, DMSO-d_6): $\delta = 128$ (Phe- CH_{ortho} /Phe- CH_{meta}), 126.0 (Phe- CH_{para}), 78.3 (C-9A), 77.6 (C-9B), 76.3 (C-7B), 73.3 (C-7A), 72.1 (C-8B), 71.4 (C-8A), 66.5 (C-3B), 64.9 (C-3A), 61.5 (C-9aB), 60.6 (C-9aA), 55.7 (Phe-C α), 53.0 (C-6B), 51.5 (C-6A), 41.6 (Gly- CH_2), 35.7 (Phe-C β), 32.5 (C-2B), 31.6 (C-2A)

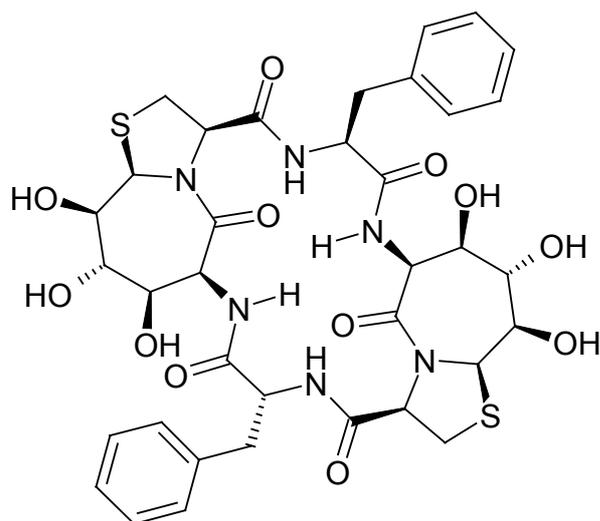
$^1\text{Hwg-NMR}$ (600MHz, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ 10:1): $\delta = 9.02$ (bs, 1H, NH), 8.89 (d, $^3J_{6\text{B-NH}, 6\text{B}} = 7.9\text{Hz}$, 1H, 6B-NH), 8.70 (bs, 1H, NH), 7.90 (d, $^3J_{6\text{A-NH}, 6\text{A}} = 6.7\text{Hz}$, 1H, 6A-NH), 7.45-7.3 (m, 5H, Phe- H_{arom}), 5.63 (s, 1H, 9aB-H), 5.59 (s, 1H, 9aA-H), 5.48 (d, $^3J_{6\text{B}, 6\text{B-NH}} = 8.1\text{Hz}$, 1H, 6B-H), 5.27 (d, $^3J_{6\text{A}, 6\text{A-NH}} = 6.9\text{Hz}$, 1H, 6A-H), 4.42 (Gly- CH^{t}), 4.13 (dd, $^3J_{8\text{B}, 7\text{B}} = 5.5\text{Hz}$ $^3J_{8\text{B}, 9\text{B}} = 3.5\text{Hz}$, 1H, 8B-H), 4.09 (pt, $^3J_{8\text{A}, 9\text{A}/7\text{A}} = 4.3\text{Hz}$, 1H, 8A-H), 4.05 (m, 2H, HMQC: 4.05 9B-H, 4.04 7A-H), 4.00 (d, $^3J_{7\text{B}, 8\text{B}} = 4.9\text{Hz}$, 1H, 7B-H), 3.87 (bs, 1H, 9A-H), 3.64 (d, $^2J_{\text{Gly-CHgem}} = 17.9\text{Hz}$, 1H, Gly- CH^{h}), 3.47 (dd, $^3J_{\text{Phe}\beta\text{-HproR}, \text{Phe}\alpha\text{-H}} = 4.1\text{Hz}$ $^2J_{\text{Phe}\beta\text{-Hgem}} = 14.2\text{Hz}$, 1H, Phe- $\beta\text{H}^{\text{proR}}$), 3.43 (m, 2H, 2B-H), 3.27 (pt, $J_{2\text{A-HproS}, 3\text{A}} = 11.2\text{Hz}$ $^2J_{2\text{A-Hgem}} = 11.2\text{Hz}$, 1H, 2A- H^{proS}), 3.10 (dd, $^3J_{2\text{A-HproR}, 3\text{A}} = 7.1\text{Hz}$ $^2J_{2\text{A-Hgem}} = 11.6\text{Hz}$, 1H, 2A- H^{proR}), 3.02 (dd, $^3J_{\text{Phe}\beta\text{-HproS}, \text{Phe}\alpha\text{-H}} = 11.2\text{Hz}$ $^2J_{\text{Phe}\beta\text{-Hgem}} = 15\text{Hz}$, 1H, Phe- $\beta\text{-H}^{\text{proS}}$)

Masse:

(+ p ESI MS, DCM/MeOH + 10mmol/l NH_4Ac): 725.2 $[\text{MH}]^+$, 742.2 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$,
1449.7 $[2\text{M}+\text{H}]^+$

(- p ESI MS, DCM/MeOH + 10mmol/l NH_4Ac): 723.2 $[\text{M}-\text{H}]^-$,

zyklo(7,5BicA-LPhe-7,5BicB-DPhe) (97)



$\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_{12}\text{S}_2$ [814.9]

97 wurde bei der Synthese von 98 erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (600MHz, DMSO-d_6): $\delta = 9.39$ (d, $^3J_{\text{DPhe-NH}, \text{DPhe}\alpha\text{-H}} = 7.7\text{Hz}$, 1H, DPhe-NH), 8.69 (d, $^3J_{6\text{A-NH}, 6\text{A}} = 8.5\text{Hz}$, 1H, 6A-NH), 8.13 (d, $^3J_{\text{LPhe-NH}, \text{LPhe}\alpha\text{-H}} = 10.0\text{Hz}$, 1H, LPhe-NH), 7.81 (d,

$^3J_{6B-NH, 6B} = 6.9\text{Hz}$, 1H, 6B-NH), 7.3-7.15 (m, 10H, D/LPhe-H_{arom.}), 6.23 (dd, $^3J_{9A-OH, 9A} = 4.1\text{Hz}$ $^4J_{9A-OH, 9aA} = 1\text{Hz}$, 1H, 9A-OH), 5.91 (dd, $^3J_{7B-OH, 7B} = 3.3\text{Hz}$ $^4J_{7B-OH, 6B} = 1.3\text{Hz}$, 1H, 7B-OH), 5.60 (d, $^3J_{8B-OH, 8B} = 4.4\text{Hz}$, 1H, 8B-OH), 5.55 (s, 1H, 9aB-H), 5.51 (d, $^3J_{8A-OH, 8A} = 4.4\text{Hz}$, 1H, 8A-OH), 5.47 (s, 1H, 9aA-H), 5.40 (d, $^3J_{6A, 6A-NH} = 8.5\text{Hz}$, 1H, 6A-H), 5.22 (d, $^3J_{6B, 6B-NH} = 6.9\text{Hz}$, 1H, 6B-H), 5.02 (d, $^3J_{9B-OH, 9B} = 12.3\text{Hz}$, 1H, 9B-OH), 4.98 (d, $^3J_{7A-OH, 7A} = 6.7\text{Hz}$, 1H, 7A-OH) 4.67 (m, 2H, DQF-COSY: 4.67 3B-H, 4.66 LPhe α -H), 4.26 (dd, $^3J_{3A, 2A-HproS} = 10.5\text{Hz}$ $^3J_{3A, 2A-HproR} = 7.2\text{Hz}$, 1H, 3A-H), 4.45 (ddd, $^3J_{DPhe\alpha-H, DPhe-NH} = 7.6\text{Hz}$ $^3J_{DPhe\alpha-H, DPhe\beta-Ht} = 2.8\text{Hz}$ $^3J_{DPhe\alpha-H, Phe\beta-Hh} = 11.3\text{Hz}$, 1H, DPhe α -H), 3.83 (m, 1H, 8A-H), 3.76 (m, 1H, 8B-H), 3.7 (m, 2H, DQF-COSY: 3.73 7B-H, 3.72 9A-H), 3.64 (dd, $^3J_{7A, 7A-OH} = 6.4\text{Hz}$ $^3J_{7A, 8A} = 5.1\text{Hz}$, 1H, 7A-H), 3.54 (dd, $^3J_{9B, 9B-OH} = 12.5\text{Hz}$ $^3J_{9B, 8B} = 3.8\text{Hz}$, 1H, 9B-H), 3.40 (dd, $^3J_{LPhe\beta-HproS, LPhe\alpha-H} = 3.1\text{Hz}$ $^2J_{LPhe\beta-Hgem.} = 14.3\text{Hz}$, 1H, LPhe β -H^{proS}), 3.25 (dd, $^3J_{DPhe\beta-Ht, DPhe\alpha-H} = 2.8\text{Hz}$ $^2J_{DPhe\beta-Hgem.} = 14.3\text{Hz}$, 1H, DPhe β -H^t), 3.24 (pt, $^3J_{2B-HproS, 3B} = 10.5\text{Hz}$ $^2J_{2B-Hgem.} = 10.5\text{Hz}$, 1H, 2B-H^{proS}), 2.95 (dd, $^3J_{2B-HproR, 3B} = 6.9\text{Hz}$ $^2J_{2B-Hgem.} = 11.0\text{Hz}$, 1H, 2B-H^{proR}), 2.83 (dd, $^3J_{DPhe\beta-Hh, DPhe\alpha-H} = 11.5\text{Hz}$ $^2J_{DPhe\beta-Hgem.} = 14.3\text{Hz}$, 1H, DPhe β -H^h), 2.76 (dd, $^3J_{2A-HproR, 3A} = 7.4\text{Hz}$ $^2J_{2A-Hgem.} = 11.0\text{Hz}$, 1H, 2A-H^{proR}), 2.67 (pt, $^3J_{2A-HproS, 3A} = 10.7\text{Hz}$ $^2J_{2A-Hgem.} = 10.7\text{Hz}$, 1H, 2A-H^{proS}), 2.36 (dd, $^3J_{LPhe\beta-HproR, LPhe\alpha-H} = 11.8\text{Hz}$ $^2J_{LPhe\beta-Hgem.} = 14.1\text{Hz}$, 1H, L-Phe β -H^{proR}),

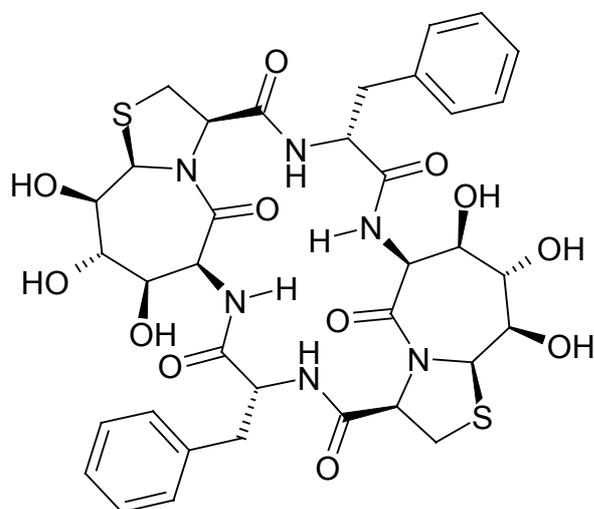
$^{13}\text{C-NMR}$ (HMQC, DMSO_{d6}): $\delta = 78.4$ (C-9B), 77.6 (C-9A), 76.4 (C-7A), 74.3 (C-7B), 72.3 (C-8A), 71.5 (C-8B), 66.9 (C-3A), 65.0 (C-3B), 61.4 (C-9aA), 60.7 (C-9aB), 55.8 (DPhe-C α), 53.4 (LPhe-C α), 53.0 (C-6A), 51.5 (C-6B), 38.8 (LPhe-C β), 35.8 (DPhe-C β), 31.7 (C-2A), 31.6 (C-2B)

Masse:

(+ p ESI MS, AcCN/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 832.2 [M+NH₄]⁺,

(- p ESI MS, AcCN/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 813.2 [M-H]⁻, 873.3 [M+Ac]⁻

zyklo(7,5Bic-DPhe-7,5Bic-DPhe) (98)



C₃₆H₄₂N₆O₁₂S₂ [814.90]

50mg (0.053mmol) des bei der Synthese von **92** erhaltenen Epimerengemischs aus **92** und **91** wurden in 0.75ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 0.1ml 1N LiOH wurde 1h bei RT gerührt. Anschließend wurden 1.5ml 1N HCl zugegeben, worauf sich ein Nd. bildete, es wurden noch 1.5ml 1N HCl zugegeben worauf immer noch nicht alles in Lösung ging. Nach 1h des Rührens bei RT wurde das LM entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Da noch ca. 1/3 nicht entschützt war wurde der Rückstand in 4ml MeOH, 4ml DCM und 10ml Et₂O x HCl gelöst und 5h (es wurde vergessen früher abubrechen) bei RT gerührt. Da nun zwar die Boc-Gruppe entfernt war, die Verbindung jetzt aber wieder als Methylester vorlag, wurde sie jetzt in 1ml MeOH/H₂O 1:1 gelöst und nach Zugabe von 0.1ml 1N LiOH 1h bei RT gerührt. Das LM wurde dann entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Das teilweise entschützte Peptid (noch 10-20% als Methylester) wurde jetzt in 500ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 30mg (0.08mmol) HATU, 10mg (0.07mmol) HOAT und 0.05ml sym-Collidin wurde die Lösung über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 10:1→4:1, R_{f(4:1)} = 0.45). So wurden 22mg (0.27mmol, 51%) der beiden zyklischen Peptide **97** und **98** erhalten.

10mg dieses Gemisches wurden noch über HPLC getrennt, so konnten 5mg **98** sowie 2mg **97** getrennt erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.99 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 7.9Hz, 2H, Phe-NH), 8.14 (d, ³J_{6-NH, 6} = 7.4Hz, 2H, 6-NH), 7.3-7.15 (m, 10H, Phe-H_{arom.}), 5.48 (s, 2H, 9a-H), 5.47 (bs, 2H, 8-OH), 5.25 (d, ³J_{9-OH, 9} = 10.2Hz, 2H, 9-OH), 5.24 (d, ³J_{6, 6-NH} = 7.7Hz, 2H, 6-H), 4.76 (d, ³J_{7-OH, 7} = 4.4Hz, 2H, 7-OH), 4.53 (dd, ³J_{3, 2-HproS} = 10.0Hz ³J_{3, 2-HproR} = 7.2Hz, 2H, 3-H), 4.07 (ddd, ³J_{Pheα-H, Pheβ-HproS} = 11.3Hz ³J_{Pheα-H, Pheβ-HproR} = 3.6Hz ³J_{Pheα-H, Phe-NH} = 7.9Hz, 2H, Pheα-H), 3.72 (m, 2H, 8-H), 3.70 (m, 2H, 7-H), 3.51 (dd, ³J_{9, 8} = 3.3Hz ³J_{9, 9-OH} = 10.2Hz, 2H, 9-H), 3.27 (dd, ³J_{Pheβ-HproR, Pheα-H} = 3.6Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 14.1Hz, 2H, Pheβ-H^{proR}), 3.03 (dd, ³J_{Pheβ-HproS, Pheα-H} = 11.3Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 14.3Hz, 2H, Pheβ-H^{proS}), 2.99 (pt, ³J_{2-HproS, 3} = 10.5Hz ²J_{2-Hgem} = 10.5Hz, 2H, 2-H^{proS}), 2.90 (dd, ³J_{2-HproR, 3} = 7.2Hz ²J_{2-Hgem} = 11.0Hz, 2H, 2-H^{proR}),

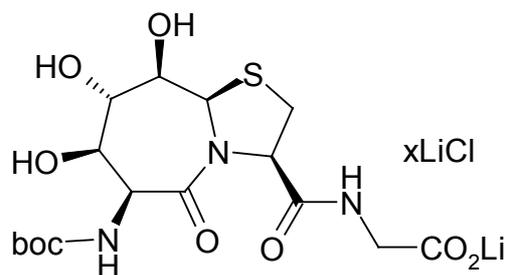
¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 77.9 (C-9), 74.8 (C-7), 71.7 (C-8), 65.6 (C-3), 61.1 (C-9a), 55.6 (Phe-Cα), 52.5 (C-6), 34.5 (Phe-Cβ), 31.8 (C-2)

Masse:

(+ p ESI MS, AcCN/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 815.2 [MH]⁺, 832.2 [M+NH₄]⁺,
1629.4 [2M+H]⁺

(- p ESI MS, AcCN/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 813.2 [M-H]⁻, 1627.7 [2M-H]⁻

Boc-7,5Bic-Gly-OLi x LiCl (**99**)



C₁₆H₂₅N₃O₉S [435.46]

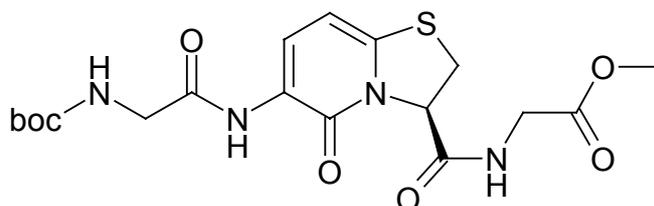
450mg des geschützten Tripeptids **84** wurden in 5ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 2ml 1N LiOH wurde 15 min bei RT gerührt. Dann wurde die Lsg. mit 1N HCl neutralisiert und anschließend das LM entfernt. Nach Trocknen im Vakuum konnte so quantitativ das Lithiumsalz der Verbindung **99** erhalten werden.

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}) δ = 8.02 (bs, 1H, Gly-NH), 6.60 (d, ³J_{Boc-NH, 6} = 8.6Hz, 1H, Boc-NH), 5.7 (bs, 1H, OH), 5.43 (s, 1H, 9a-H), 4.74 (d, ³J_{6, Boc-NH} = 8.9Hz, 1H, 6-H), 4.70 (pt, ³J_{3, 2} = 7.3Hz, 1H, 3H), 3.83 (pt, ³J_{8, 7/9} = 4.6Hz, 1H, 8-H), 3.77 (m, 1H, 7-H), 3.61 (d, ³J_{9, 8} = 3.0Hz, 1H, 9-H), 3.41 (m, 2H, Gly-CH₂), 3.23 (m, 2H, 2-H), 1.36 (s, 9H, Boc-CH₃)

Masse:

(PI-LSIMS, MeOH/Glycerin): 442.4 [M+Li]⁺, 448.4 [M - H + 2Li]⁺,
540.5 [M+Li+Glycerin]⁺

Boc-GlyA-6,5(Ar)-GlyB-OMe (**100**)



C₁₈H₂₄N₄O₇S [440.48]

250mg (0.78mmol) des Hydrochlorids der Verbindung **69** wurden in 6ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 250mg (1.42mmol) BocNH-Gly-OH, 500mg (0.96mmol) PyBop und 0.7ml NMM wurde die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (EE/Tol 9:1, R_f = 0.3). Nachdem die flüchtigen Anteile noch im HV entfernt worden waren, konnten so 298mg (0.68mmol, 87%) des Tetrapeptids **100** als Reinsubstanz erhalten werden.

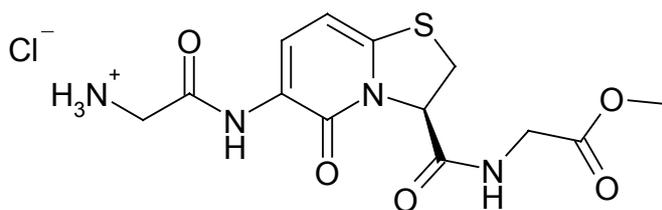
¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 9.01 (s, 1H, 6-NH), 8.74 (pt, ³J_{GlyB-NH, GlyB-CH2} = 5.9Hz, 1H, GlyB-NH), 8.15 (d, ³J_{7, 8} = 7.9Hz, 1H, 7-H), 7.27 (bs, 1H, Boc-NH), 6.24 (d, ³J_{8, 7} = 7.9Hz, 1H, 8-H), 5.53 (dd, ³J_{3, 2-Hh} = 2.0 Hz ³J_{3, 2-Ht} = 8.8Hz, 1H, 3-H), 3.9 (m, 3H, Gly-CH₂/2-H^t), 3.71 (m, 2H, GlyA-CH₂), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.45 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 2.0Hz ²J_{2-Hgem} = 11.7Hz, 1H, 2-H^h), 1.38 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 169.89 168.52 167.66 (GlyA-CO, GlyB-CO, C3-CO), 156.16 155.88 (CO-5, Boc-CO), 140.66 (C-8a), 124.07 (C-6), 123.69 (C-7), 98.73 (C-8), 78.39 (Boc-C_{quart.}), 63.52 (C-3), 51.74 (OCH₃), 44.24 (GlyA-CH₂), 40.68 (GlyB-CH₂), 32.40 (C-2), 28.10 (3C, Boc-CH₃)

Masse:

(+p ESI CH₂Cl₂/MeOH 10mmol/l NH₄Ac) 441.1 [MH]⁺, 463.1 [M+Na]⁺, 903.5 [2M+Na]⁺
 (-p ESI CH₂Cl₂/MeOH 10mmol/l NH₄Ac): 439.1 [M-H]⁺, 879.5 [2M-H]⁺

NH₂-GlyA-6,5(Ar)-GlyB-OMe x HCl (101)



C₁₃H₁₇N₄O₅SCl [376.82]

Synthese siehe **102**

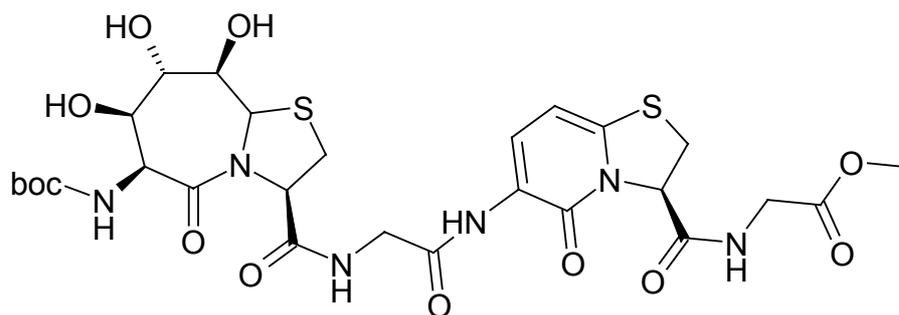
¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 9,82 (s, 1H, 6-NH), 8.86 (pt, ³J_{GlyB-NH, GlyB-CH2} = 5.9Hz, 1H, GlyB-NH), 8.19 (bs, 3H, GlyA-NH₃) 8.14 (d, ³J_{7, 8} = 7.9Hz, 1H, 7-H), 6.27 (d, ³J_{8, 7} = 7.9Hz, 1H, 8-H), 5.56 (dd, ³J_{3, 2-Hh} = 2.0 Hz ³J_{3, 2-Ht} = 8.8Hz, 1H, 3-H), 3.97-3.83 (m, 3H, GlyB-CH₂/2-H^t), 3.83 (m, 2H, GlyA-CH₂), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.47 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 2.2Hz ²J_{2-Hgem} = 11.8Hz, 1H, 2-H^h)

¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 125.5 (C-7), 98.5 (C-8), 63.6 (C-3), 51.7 (OCH₃), 40.9 (GlyA-CH₂), 40.7 (GlyB-CH₂), 32.4 (C-2)

Masse:

(+ p ESI, H₂O/MeOH + 1% AcOH): 340.9 [MH]⁺, 362.9 [M+Na]⁺, 681.2 [2M+H]

Boc-7,5Bic-GlyA-6,5(Ar)-GlyB-OMe (102)



C₂₇H₃₆N₆O₁₂S₂ [700.75]

190mg (0.43mmol) des Tetrapeptids **100** wurden in 10 ml Et₂O x HCl suspensiert und über Nacht bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im Vakuum über KOH getrocknet.

Das entschützte Peptid **101** und 300mg (0.7mmol) BocNH-7,5Bic-OLi xLiCl **80** wurden in 7ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 350mg (0.67mmol) PyBop wurde der pH noch auf 7 eingestellt und die Lösung dann bei RT über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 9:1 → 4:1, R_f(CHCl₃/MeOH 5:1) = 0.6). Nach Trocknen im HV konnten so 182mg (0.26mmol, 60%) des linearen Hexapeptids **102** erhalten werden.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.91 (s, 1H, 6(Ar)-NH), 8.73 (pt, ³J_{GlyB-NH, GlyB-CH2} = 5.9Hz, 1H, GlyB-NH), 8.60 (pt, ³J_{GlyA-NH, GlyA-CH2} = 5.9Hz, 1H, GlyA-NH), 8.09 (d, ³J_{7(Ar), 8(Ar)} = 7.9Hz, 1H, 7(Ar)-H), 6.58 (d, ³J_{Boc-NH, 6} = 9.0Hz, 1H, Boc-NH), 6.28 (d, ³J_{8(Ar), 7(Ar)} = 7.9Hz, 1H, 8(Ar)-H), 5.68 (d, ³J_{9-OH, 9} = 7.5Hz, 1H, 9-OH), 5.55 (d, ³J_{8-OH-8} = 3.9Hz, 1H, 8-OH), 5.54 (dd, ³J_{3(Ar), 2(Ar)-Hh} = 1.8Hz, ³J_{3(Ar), 2(Ar)-Ht} = 8.6Hz, 1H, 3(Ar)-H), 5.46 (s, 1H, 9a-H), 5.28 (d, ³J_{7-OH, 7} = 4.0Hz, 1H, 7-OH), 4.80 (d, ³J_{6, Boc-NH} = 9.0Hz, 1H, 6-H), 4.59 (dd, ³J_{3, 2-Ht} = 9.0Hz, ³J_{3, 2-Hh} = 7.3Hz, 1H, 3-H), 3.75-3.95 (m, 7H, DQF-COSY: 3.95 GlyB-CH^t, 3.91 2(Ar)-H^t, 3.88 GlyB-CH^h, 3.87 GlyA-CH^t, 3.80 GlyA-CH^h, 3.79 8-H, 3.77 7-H), 3.63 (m, 4H, 9-H/OCH₃), 3.49 (dd, ³J_{2(Ar)-Hh, 3(Ar)} = 1.8Hz, ²J_{2(Ar)-Hgem.} = 11.7Hz, 1H, 2(Ar)-H^h), 3.40 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 9.0Hz, ²J_{2-Hgem.} = 11.2Hz, 1H, 2-H^t), 3.30 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 7.7Hz, ²J_{2-Hgem.} = 11.2Hz, 1H, 2-H^h), 1.37 (s, 9H, Boc-CH₃)

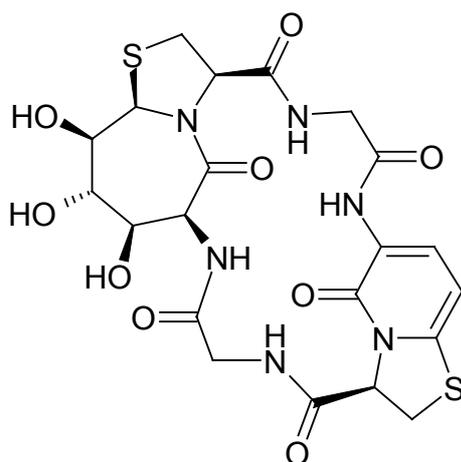
¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 170.66 169.88 168.36 167.59 167.53 (GlyA-CO, GlyB-CO, C3-CO, C3(Ar)-CO, CO-5), 156.38 155.09 (5(Ar)-CO, Boc-CO), 141.28 (C-8a(Ar)), 125.35 (C-7(Ar)), 123.76 (C-6(Ar)), 98.73 (C-8(Ar)), 78.18 (Boc-C_{quart}), 77.10 (C-9), 75.08 (C-7), 71.50 (C-8), 65.71 (C-3), 63.55 (C-3(Ar)), 61.37 (C-9a), 53.87 (C-6), 51.74 (OCH₃), 42.85 (GlyA-CH₂), 40.74 (GlyB-CH₂), 32.50 (C-2/C-2(Ar)), 28.08 (Boc-CH₃)

Masse:

(+p ESI CH₂Cl₂/MeOH 10mmol/l NH₄Ac): 701.3 [MH]⁺, 723.3 [M+Na]⁺, 1401.6 [2M+H]⁺,
1423.8 [2M+Na]⁺

(-p ESI CH₂Cl₂/MeOH 10mmol/l NH₄Ac): 699.4 [M-H]⁻

zyklo(7,5Bic-GlyA-6,5(Ar)-GlyB) (**103**)



C₂₁H₂₄N₆O₉S₂ [568.59]

30mg (0.043mmol) des Hexapeptids **102** wurden in 2ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 0.1ml 1N LiOH wurde 20min bei RT gerührt. Anschließend wurde mit 1N HCl neutralisiert. Danach wurde das LM entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Diese wurde jetzt in 10ml Et₂O x HCl aufgenommen und 1h im Eisbad mit Ultraschall behandelt. Danach wurde bei RT über Nacht gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Das entschützte Peptid wurde jetzt in 400ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 20mg (0.052mmol) HATU, 10mg (0.074mmol) HOAT und 0.035ml (0.75mmol) sym-Collidin wurde die Lösung über zwei Tage bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 7:1→2:1, R_f(CHCl₃/MeOH 5:1) = 0.25) und anschließend im HV getrocknet. So konnten 9mg (0.016mmol, 37%) des zyklischen Peptids **103** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 9.33 (dd, ³J_{GlyB-NH, GlyB-CHt} = 6.9Hz ³J_{GlyB-NH, GlyB-CHh} = 5.5Hz 1H, GlyB-NH), 8.83 (d, ³J_{6-NH, 6} = 8.2Hz, 1H, 6-NH), 8.73 (s, 1H, 6(Ar)-NH), 8.62 (dd, ³J_{GlyA-NH, GlyA-CHproR} = 9.3Hz ³J_{GlyA-NH, GlyA-CHproS} = 3.6Hz 1H, GlyA-NH), 8.16 (d, ³J_{7(Ar), 8(Ar)} = 7.7Hz, 1H, 7(Ar)-H), 6.27 (d, ³J_{8(Ar), 7(Ar)} = 7.9Hz, 1H, 8(Ar)-H), 6.08 (d, ³J_{9-OH, 9} = 4.9Hz, 1H, 9-OH), 5.48 (s, 1H, 9a-H), 5.43 (d, ³J_{8-OH-8} = 4.1Hz, 1H, 8-OH), 5.37 (d, ³J_{6, 6-NH} = 8.8Hz, 1H, 6-H), 5.30 (pt, ³J_{3(Ar), 2(Ar)} = 8.5Hz, 1H, 3(Ar)-H), 5.23 (m, 1H, 7-OH), 4.52 (dd, ³J_{3, 2} = 9.9Hz ³J_{3, 2'} = 7.7Hz, 1H, 3-H), 4.39 (dd, ³J_{GlyA-CHproR, GlyA-NH} = 9.3Hz ²J_{GlyA-CH2gem.} = 17.8Hz, 1H, GlyA-CH^{proR}), 3.89 (dd, ³J_{GlyB-CHt, GlyB-NH} = 6.9Hz ²J_{GlyB-CH2gem.} = 17.3Hz, 1H, GlyB-CH^t), 3.80 (dd, ³J_{2(Ar)-Hh, 3(Ar)} = 8.8Hz ²J_{2(Ar)-Hgem.} = 11.5Hz, 1H, 2(Ar)-H^t), 3.65-3.7 (m, 2H, DQF-COSY: 3.68 8-H, 3.67 9-H), 3.59 (dd, ³J_{GlyB-CHh, GlyB-NH} = 5.5Hz ²J_{GlyB-CH2gem.} = 17.3Hz, 1H, GlyB-CH^h), 3.53 (m, 1H, 7-H), 3.48 (dd, ³J_{2(Ar)-Hh, 3(Ar)} = 8.0Hz, ²J_{2(Ar)-Hgem.} = 11.3Hz, 1H, 2(Ar)-H^h), 3.25-3.35 (m, 3H, DQF-COSY: 3.30 2-H, 3.32 GlyA-CH^{proS})

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 170.38 (C3-CO), 168.61 (C3(Ar)-CO), 167.96 (CO-5), 167.37 (GlyA-CO), 167.53 (GlyB-CO), 155.99 (CO-5(Ar)), 140.38 (C-8a(Ar)), 124.19 (C-6(Ar)), 123.58 (C-7(Ar)), 98.83 (C-8(Ar)), 77.73 (C-9), 76.42 (C-7), 72.43 (C-8), 66.58 (C-3),

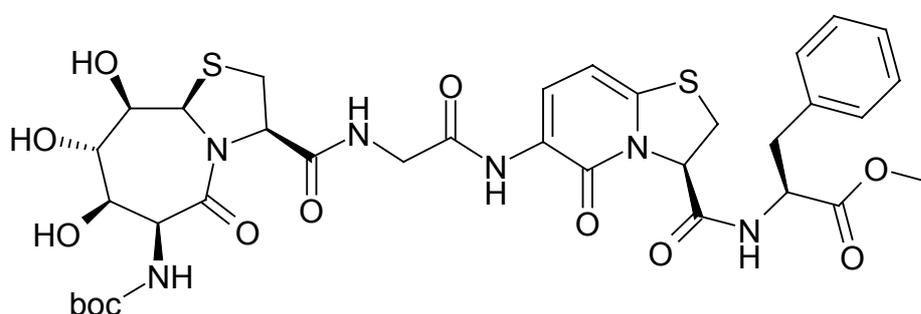
65.55 (C-3(Ar)), 61.78 (C-9a), 52.15 (C-6), 43.39 (GlyB-CH₂), 42.53 (GlyA-CH₂), 32.55 (C-2), 30.30 (C-2(Ar))

Masse:

(+p ESI CH₂Cl₂/MeOH 10mmol/l NH₄Ac) 569.2 [MH]⁺, 591.1 [M+Na]⁺, 1137.5 [2M+H]⁺, 1159.5 [2M+Na]⁺

(-p ESI CH₂Cl₂/MeOH 10mmol/l NH₄Ac): 567.2 [M-H]⁺

Boc-7,5Bic-Gly-6,5(Ar)-LPhe-OMe (104)



C₃₄H₄₂N₆O₁₂S₂ [790.87]

165mg (0.31mmol) Boc-Gly-6,5(Ar)-LPhe-OMe **74** wurden in 3ml MeOH/2ml DCM gelöst. nach Zugabe von 10ml Et₂O x HCl wurde 30min bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand über KOH im Vakuum getrocknet.

150mg (0.38mmol) Boc-7,5Bic-OMe **5** wurden in 2ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 0.8ml 1N LiOH wurde 15min bei RT gerührt. Jetzt wurde mit 1N HCl ein pH von 7-8 eingestellt, und das LM abgezogen. Der Rückstand wurde noch im Vakuum getrocknet.

Die beiden entschützten Verbindungen wurden in 10ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 200mg (0.38mmol) PyBop wurde mit NMM ein pH von 7-8 eingestellt. Die Lösung wurde über Nacht bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt. Eine erster flashchromatographischer Reinigungsschritt (CHCl₃/ MeOH 9:1, R_f = 0.23) führte nicht zur Auftrennung des Substanzgemisches. Da eine Wiederholung mit dem selben Lösungsmittelgemisch wiederum zu einem negativen Ergebnis führte, wurde nun bei der nunmehr dritten Säule mit einem Lösemittelgemisch EE/Tol/MeOH 16:4:1 (R_f(8:1:1) = 0.25) begonnen, während des Chromatographievorganges wurde dann schrittweise EE/MeOH 4:1 zugegeben. So konnten dann schlußendlich 65mg (0.08mmol, 27%) des Hexapeptids **104** als Reinsubstanz erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.92 (s, 1H, 6(Ar)-NH), 8.77 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 7.7Hz, 1H, Phe-NH), 8.61 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH₂} = 6.1Hz, 1H, Gly-NH), 8.09 (d, ³J_{7(Ar), 8(Ar)} = 7.9Hz, 1H, 7(Ar)-H), 6.58 (d, ³J_{Boc-NH, 6} = 9.0Hz, 1H, Boc-NH), 7.3-7.2 (m, 5H, Phe-H_{arom.}), 6.27 (d, ³J_{8(Ar), 7(Ar)} = 7.9Hz, 1H, 8(Ar)-H), 5.68 (d, ³J_{9-OH, 9} = 7.9Hz, 1H, 9-OH), 5.57 (d, ³J_{8-OH-8} = 3.8Hz, 1H, 8-OH), 5.54 (dd, ³J_{3(Ar), 2(Ar)-Hh} = 1.8Hz ³J_{3(Ar), 2(Ar)-Ht} = 8.7Hz, 1H, 3(Ar)-H), 5.46 (s, 1H, 9a-H), 5.26 (d, ³J_{7-OH, 7} = 4.8Hz, 1H, 7-OH), 4.79 (d, ³J_{6, Boc-NH} = 9.2Hz, 1H, 6-H), 4.59

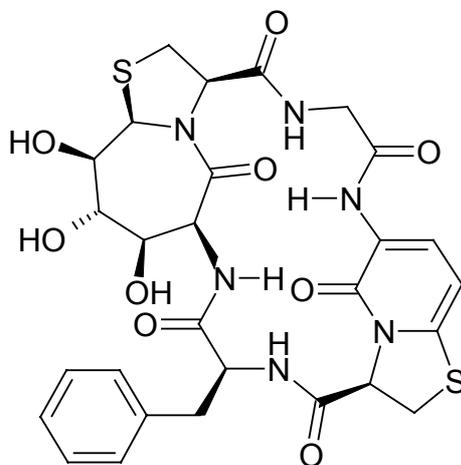
(dd, $^3J_{3,2-Ht} = 8.7\text{Hz}$ $^3J_{3,2-Hh} = 7.2\text{Hz}$, 1H, 3-H), 4.50 (m, $^3J_{\text{Phe}\alpha\text{-H}, \text{Phe-NH/Phe}\beta\text{-Hh}} = 7.9\text{Hz}$ $^3J_{\text{Phe}\alpha\text{-H}, \text{Phe}\beta\text{-Ht}} = 5.6\text{Hz}$, 1H, Phe α -H), 3.87 (m, 2H, Gly-CH t /2(Ar)-H t), 3.83-3.74 (m, 3H, DQF-COSY: 3.80 8-H, 3.79 Gly-CH h , 3.77 7-H), 3.63 (dd, $^3J_{9,8} = 3.6\text{Hz}$ $^3J_{9,9\text{-OH}} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 9-H), 3.60 (OCH $_3$), 3.41 (m, 2H, 2(Ar)-H h /2-H t), 3.28 (dd, $^3J_{2\text{-Hh}, 3} = 7.4\text{Hz}$ $^2J_{2\text{-Hgem.}} = 11.3\text{Hz}$, 1H, 2-H h), 3.03 (dd, $^3J_{\text{Phe}\beta\text{-Ht}, \text{Phe}\alpha\text{-H}} = 5.9\text{Hz}$ $^2J_{\text{Phe}\beta\text{-Hgem.}} = 13.8\text{Hz}$, 1H, Phe β -H t), 2.97 (dd, $^3J_{\text{Phe}\beta\text{-Hh}, \text{Phe}\alpha\text{-H}} = 8.2\text{Hz}$ $^2J_{\text{Phe}\beta\text{-Hgem.}} = 13.8\text{Hz}$, 1H, Phe β -H h), 1.37 (s, 9H, Boc-CH $_3$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (HMBC/HMQC, DMSO $_{d6}$): $\delta = 171.2$ (Phe-CO), 170.3 (C3-CO), 168.2 (CO-5), 167.3 (Gly-CO), 166.8 (C3(Ar)-CO), 156.1 (CO-5(Ar)), 154.9 (Boc-CO), 141.2 (C-8a(Ar)), 136.4 (Phe-C $_{\text{quart}}$), 128.8 128.0 126.4 (Phe-CH $_{\text{arom.}}$), 125.1 (C-7(Ar)), 123.5 (C-6(Ar)), 98.7 (C-8(Ar)), 78.0 (Boc-C $_{\text{quart}}$), 76.9 (C-9), 74.8 (C-7), 71.2 (C-8), 65.5 (C-3), 63.3 (C-3(Ar)), 61.2 (C-9a), 53.7 (C-6), 53.6 (Phe-C α), 51.8 (OCH $_3$), 42.6 (Gly-CH $_2$), 36.3 (Phe-C β), 32.3 (C-2), 32.1 (C-2(Ar)), 27.8 (Boc-CH $_3$)

Masse:

(+p ESI DMSO/MeOH 10mmol/l NH $_4$ Ac): 791.1 [MH] $^+$, 808.2[M+NH $_4$] $^+$, 813 [M+Na] $^+$,
 (-p ESI DMSO/MeOH 10mmol/l NH $_4$ Ac): 789.3 [M-H] $^-$,

zyklo(7,5Bic-Gly-6,5(Ar)-LPhe) (105)



C $_{28}$ H $_{30}$ N $_6$ O $_9$ S $_2$ [658.71]

Zu 42mg (0.053mmol) des geschützten Hexapeptids **104** wurden 1ml MeOH (Suspension) und anschließend 0.15ml 1N LiOH (immer noch Suspension) gegeben. Da auch nach 10min des Rührens bei RT keine merkliche Auflösung des Peptides zu beobachten war wurden 5ml MeOH und 3ml DCM zugegeben (\rightarrow weiterhin Suspension). Jetzt wurden 1ml, 2ml dann 3ml DMF zugegeben worauf sich dann nach kurzem Erwärmen nun auch eine klare Lösung zu bilden begann. Danach wurden noch 2ml H $_2$ O zugegeben und 45min bei RT gerührt. Anschließend wurden 5ml 1N HCl zugegeben und eine weitere Stunde bei RT gerührt. Das Lösungsmittelgemisch wurde nun entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Das entschützte Peptid wurde jetzt in 500ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 25mg (0.066mmol) HATU, 9mg (0.066mmol) HOAT und 0.080ml (0.6mmol) sym-Collidin wurde die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 5:1, R_f = 0.45) und anschließend im HV getrocknet. So konnten 28mg (0.042mmol, 79%) des zyklischen Peptids **105** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.76 (s, 1H, 6(Ar)-NH), 8.75 (m, 1H, Gly-NH), 8.52 (d, ³J_{Phe-NH, Pheα-H} = 8.2Hz, 1H, Phe-NH), 8.19 (d, ³J_{6-NH, 6} = 7.2Hz, 1H, 6-NH), 8.15 (d, ³J_{7(Ar), 8(Ar)} = 7.9Hz, 1H, 7(Ar)-H), 7.3-7.15 (m, 5H, Phe-H_{arom.}), 6.30 (d, ³J_{8(Ar), 7(Ar)} = 7.9Hz, 1H, 8(Ar)-H), 5.85 (d, ³J_{9-OH, 9} = 6.9Hz, 1H, 9-OH), 5.51 (s, 1H, 9a-H), 5.50 (d, ³J_{8-OH-8} = 4.4Hz, 1H, 8-OH), 5.29 (d, ³J_{6, 6-NH} = 7.7Hz, 1H, 6-H), 5.04 (dd, ³J_{3(Ar), 2(Ar)-HproS} = 7.5Hz ³J_{3(Ar), 2(Ar)-HproR} = 9.0Hz, 1H, 3(Ar)-H), 4.80 (d, ³J_{7-OH, 7} = 4.1Hz, 1H, 7-OH), 4.52 (dd, ³J_{3, 2} = 7.4Hz ³J_{3, 2'} = 10.0Hz, 1H, 3-H), 4.29 (m, 1H, Pheα-H), 4.27 (dd, ³J_{Gly-CHt, Gly-NH} = 8.7Hz ²J_{Gly-CH2gem.} = 17.7Hz, 1H, Gly-CH^t), 3.75 (m, 1H, 8-H), 3.68 (m, 2H, 9-H/7-H), 3.58 (dd, ³J_{2(Ar)-HproR, 3(Ar)} = 9.0Hz ²J_{2(Ar)-Hgem} = 11.3Hz, 1H, 2(Ar)-H^{proR}), 3.45 (dd, ³J_{Gly-CHh, Gly-NH} = 4.1Hz ²J_{Gly-CH2gem.} = 17.7Hz, 1H, Gly-CH^h), 3.34 (dd, ³J_{Pheβ-Ht, Pheα-H} = 4.1Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 13.6Hz, 1H, Pheβ-H^t), 3.30 (m, 2H, 2-H), 2.97 (dd, ³J_{2(Ar)-HproS, 3(Ar)} = 7.5Hz ²J_{2(Ar)-Hgem.} = 11Hz, 1H, 2(Ar)-H^{proS}), 2.90 (dd, ³J_{Pheβ-Hh, Pheα-H} = 11.8Hz ²J_{Pheβ-Hgem.} = 13.8Hz, 1H, Pheβ-H^h)

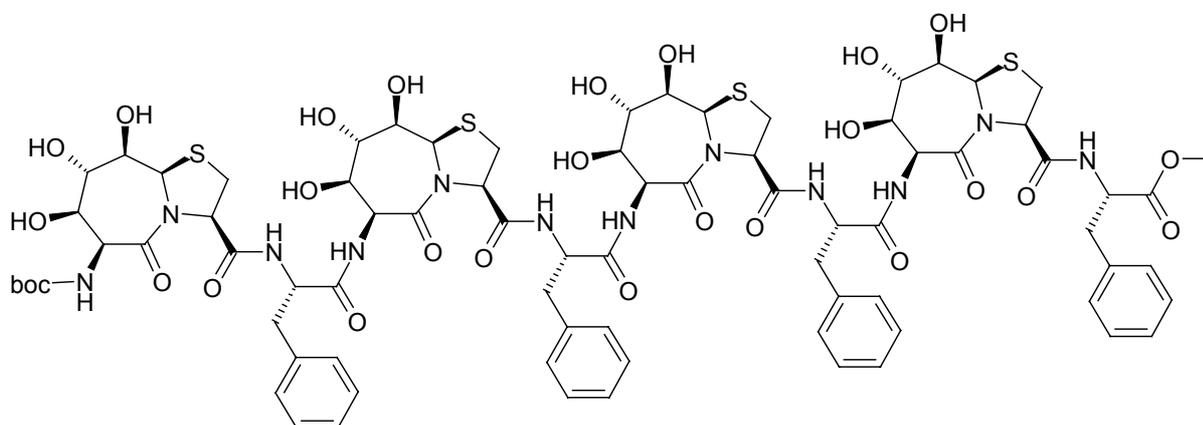
¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): 128.8 127.7 125.7 (Phe-CH_{arom.}), 124.1 (C-7(Ar)), 98.4 (C-8(Ar)), 77.6 (C-9), 74.8 (C-7), 71.9 (C-8), 66.3 (C-3), 65.5 (C-3(Ar)), 61.2 (C-9a), 54.9 (Phe-Cα), 52.5 (C-6), 42.5 (Gly-CH₂), 35.5 (Phe-Cβ), 32.1 (C-2), 30.5 (C-2(Ar))

Masse:

(+p ESI CH₂Cl₂/MeOH 10mmol/l NH₄Ac): 659.2 [MH]⁺, 676.2[M+NH₄]⁺, 1317.3[2M+H]⁺, 1334.5[2M+NH₄]⁺

(-p ESI CH₂Cl₂/MeOH 10mmol/l NH₄Ac): 657.3 [M-H]⁻, 717.3 [M+AcO]⁻, 1315.6 [2M-H]⁻

Boc-7,5BicA-LPheA-7,5BicB-LPheB-7,5BicC-LPheC-7,5BicD-LPheD-OMe (106)



C₇₈H₉₆N₁₂O₂₇S₄ [1761.96]

120mg (0.13mmol) des geschützten Hexapeptids **88** wurden in 2ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 250 μ L 1N LiOH wurde bei RT gerührt. Nach 20min und dann nach 35min wurden nochmals je 50 μ L 1N LiOH zugegeben. Nach 70min wurde die Lsg. mit 1N HCl neutralisiert, und das LM entfernt. Der Rückstand wurde noch im Vakuum getrocknet.

120mg (0.13mmol) **88** wurden in 3ml MeOH und 2ml DCM gelöst. Nach Zugabe von 3ml Et₂O x HCl wurde 1h 30min bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Die beiden entschützten Hexapeptide wurden in 10ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 100mg (0.19mmol) PyBop wurde noch mit NMM der pH auf 7-8 eingestellt und dann die Lösung über Nacht gerührt. Das LM wurde jetzt entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 7:1 \rightarrow 3:1, R_f(CHCl₃/MeOH 4:1) = 0.5). Somit konnten nach anschließender Trocknung im Vakuum 188mg (0.11mmol, 82%) des Dodekapeptids **106** erhalten werden.

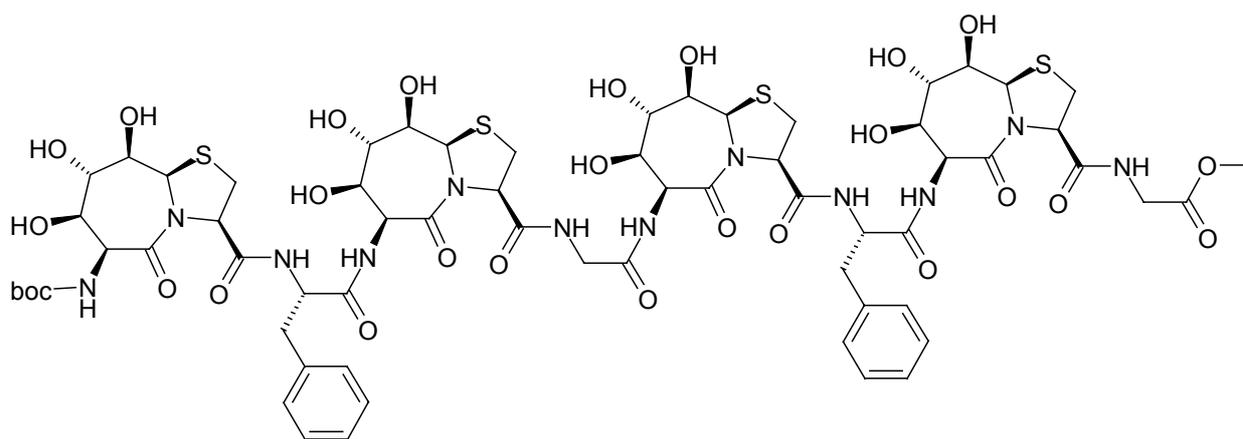
¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.67 (d, ³J_{PheD-NH, PheD- α H} = 7.4Hz, 1H, PheD-NH), 8.57 (d, ³J_{PheC-NH, PheC- α H} = 7.9Hz, 1H, PheC-NH), 8.56 (d, ³J_{PheB-NH, PheB- α H} = 7.4Hz, 1H, PheB-NH), 8.39 (d, ³J_{PheA-NH, PheA- α H} = 8.5Hz, 1H, PheA-NH), 8.25 (d, ³J_{6C-NH, 6C} = 8.2Hz, 1H, 6C-NH), 8.19 (d, ³J_{6D-NH, 6D} = 8.2Hz, 1H, 6D-NH), 8.12 (d, ³J_{6B-NH, 6B} = 8.2Hz, 1H, 6B-NH), 7.35-7.05 (m, 20H, Phe-H_{arom.}), 6.54 (d, ³J_{Boc-NH, 6A} = 8.7Hz, 1H, Boc-NH), 5.90 (d, ³J_{9B-OH, 9B} = 8.7Hz, 1H, 9B-OH), 5.89 (d, ³J_{9C-OH, 9C} = 8.7Hz, 1H, 9C-OH), 5.67 (d, ³J_{9-OH, 9} = 8.7Hz, 2H, 9A/D-OH), 5.61 (d, ³J_{8C-OH, 8C} = 4.6Hz, 1H, 8C-OH), 5.59 (d, ³J_{8D-OH, 8D} = 4.1Hz, 1H, 8D-OH), 5.58 (d, ³J_{8B-OH, 8B} = 4.6Hz, 1H, 8B-OH), 5.55 (d, ³J_{8A-OH, 8A} = 4.1Hz, 1H, 8A-OH), 5.48(2H) 5.47 (je s, 3H, 9aB/C/D-H), 5.45 (s, 1H, 9aA-H), 5.09 (d, ³J_{7D-OH, 7D} = 5.4Hz, 1H, 7D-OH), 5.0 (m, 4H, DQF-COSY: 5.03 6D-H, 5.02 7A-OH/6C-H, 5.00 6B-H), 4.97 (d, ³J_{7C-OH, 7C} = 6.1Hz, 1H, 7C-OH), 4.91 (d, ³J_{7B-OH, 7B} = 6.4Hz, 1H, 7B-OH), 4.73 (d, ³J_{6A, Boc-NH} = 8.7Hz, 1H, 6A-H), 4.72 (pt, ³J_{3D, 2D} = 7.4Hz, 1H, 3D-H), 4.66 (pt, ³J_{3B, 2B} = 7.2Hz, 1H, 3B-H), 4.63 (pt, ³J_{3C, 2C} = 7.4Hz, 1H, 3C-H), 4.59 (pt, ³J_{3A, 2A} = 7.7Hz, 1H, 3A-H), 4.55 (m, 3H, DQF-COSY: 4.57 PheB- α H, 4.56 PheC- α H, 4.55 PheA- α H), 4.44 (m, ³J_{PheD- α H, PheD- β Hh/PheD- β Ht/PheD-NH} = 7Hz, 1H, PheD- α H), 3.89-3.84 (m, 3H, Tocsy: 3.87 8B-H, 3.862 8C-H, 3.857 8D-H), 3.82-3.75 (m, 4H, DQF-COSY: 3.81 8A-H, 3.790 7D-H, 3.787 7B-H, 3.77 7C-H), 3.74 (m, 1H, 7A-H), 3.65-3.56 (m, 4H, Tocsy: 3.63 9C-H, 3.62 9B-H, 3.61 9D-H, 3.59 9A-H), 3.53 (s, 3H, OCH₃), 3.25-3.1 (m, 8H, DQF-COSY: 3.23 2D-H^{proR}, 3.212 2B-H^{proR}, 3.207 2C-H^{proR}, 3.17 2A-H^{proR}, 3.14 2D-H^{proS}, Roesy: 3.15 PheC- β H^{proS}, 3.14 PheA/B- β H^{proS}), 3.07-2.97 (m, 3H, DQF-COSY: 3.04 2A-H^{proS}, 3.01 2C-H^{proS}, 3.00 2B-H^{proS}), 2.95 (dd, ³J_{PheD- β Ht, PheD- α H} = 6.4Hz ²J_{PheD- β Hgem.} = 13.8Hz, 1H, PheD- β H^t), 2.91 (dd, ³J_{PheD- β Hh, PheD- α H} = 7.4Hz ²J_{PheD- β Hgem.} = 13.8Hz, 1H, PheD- β H^h), 2.74 (m, ³J_{Phe β -HproR, Phe- α H} = 10Hz, 2H, PheB/C- β H^{proR}), 2.70 (dd, ³J_{PheA- β HproR, PheA- α H} = 9.7Hz ²J_{PheA- β Hgem.} = 14.3Hz, 1H, PheA- β H^{proR}), 1.37 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 76.4 (C-9A/D), 75.9 (C-9B/C), 74.5 (C-7A), 74.2 (C-7B/C/D), 71.0 (C-8A/B/C/D), 65.1 (C-3A), 65.0 (C-3C), 64.9 (C-3B), 64.6 (C-3D), 61 (C-9aA/B/C/D), 53.7 (C-6A), 53.5 (PheD-C α), 53.4 (PheA/B/C-C α), 52 (C-6B/C/D), 51.5 (OCH₃), 37.6 (PheB/C-C β), 37.4 (PheA-C β), 36.7 (PheD-C β), 32 (C-2A/B/C/D), 27.9 (Boc-CH₃)

Masse:

(+ p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 1762.4 [MH]⁺

(- p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 1760.4 [M-H]⁻

Boc-7,5BicA-LPheA-7,5BicB-GlyB-7,5BicC-LPheC-7,5BicD-GlyD-OMe (107)

C₆₄H₈₄N₁₂O₂₇S₄ [1581.70]

100mg (0.117mmol) **89** wurden in 2ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 300µL 1N LiOH wurde bei RT gerührt. Nach 30min wurde die Lösung mit 1N HCl neutralisiert, und das LM entfernt. Der Rückstand wurde anschließend noch im Vakuum getrocknet.

100mg (0.117mmol) **89** wurden in 3ml MeOH und 6ml DCM gelöst. Nach Zugabe von 10ml Et₂O x HCl wurde 15min bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand anschließend noch im Vakuum getrocknet.

Die beiden entschützten Hexapeptide wurden in 5ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 100mg (0.19mmol) PyBop wurde noch mit NMM ein pH von 7-8 eingestellt und dann die Lösung über Nacht gerührt. Das LM wurde jetzt entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH 3:1 → 1:2, R_f(CHCl₃/MeOH 3:1) = 0.1). Somit konnten nach anschließender Trocknung im Vakuum 137mg (0.086mmol, 74%) des Dodekapeptids **107** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.62 (pt, ³J_{GlyD-NH, GlyD-CH2} = 5.9Hz, 1H, GlyD-NH), 8.49 (pt, ³J_{GlyB-NH, GlyB-CH2} = 5.9Hz, 1H, GlyB-NH), 8.43 (d, ³J_{PheC-NH, PheC-αH} = 8.5Hz, 1H, PheC-NH), 8.36 (d, ³J_{PheA-NH, PheA-αH} = 8.7Hz, 1H, PheA-NH), 8.04 (d, ³J_{6D-NH, 6D} = 8.2Hz, 1H, 6D-NH), 8.03 (d, ³J_{6B-NH, 6B} = 8Hz, 1H, 6B-NH), 8.01 (d, ³J_{6C-NH, 6C} = 8Hz, 1H, 6C-NH), 7.3-7.15 (m, 10H, Phe-H_{arom.}), 6.57 (d, ³J_{Boc-NH, 6A} = 8.5Hz, 1H, Boc-NH), 5.99 (d, ³J_{9C-OH, 9C} = 7.7Hz, 1H, 9C-OH), 5.76 (d, ³J_{9D-OH, 9D} = 8.2Hz, 1H, 9D-OH), 5.75 (d, ³J_{9B-OH, 9B} ~8.5Hz, 1H, 9B-OH), 5.66 (d, ³J_{9A-OH, 9A} = 8.5Hz, 1H, 9A-OH), 5.58 (d, ³J_{8C-OH, 8C} = 4.1Hz, 1H, 8C-OH), 5.56 (d, ³J_{8A, 8A-OH} = 4.1Hz, 1H, 8A-OH), 5.55 (d, ³J_{8D-OH, 8D} = 4.1Hz, 1H, 8D-OH), 5.53 (d, ³J_{8B-OH, 8B} = 4.1Hz, 1H, 8B-OH), 5.48 (s, 2H, 9aB-H/9aC-H), 5.47 (s, 1H, 9aD-H), 5.45 (s, 1H, 9aA-H), 5.18 (d, ³J_{7D-OH, 7D} = 5.1Hz, 1H, 7D-OH), 5.08 (d, ³J_{7A-OH, 7A} = 4.9Hz, 1H, 7A-OH), 5.07-

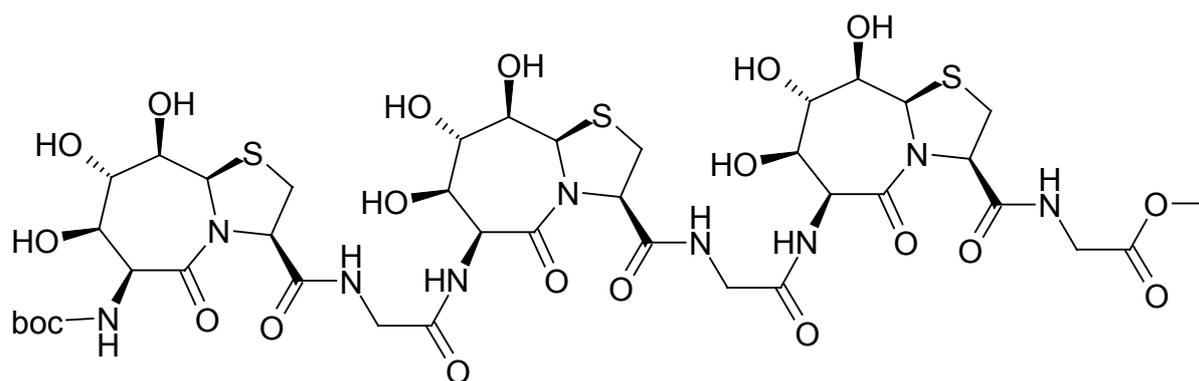
5.02 (m, 5H, DQF-COSY: 5.07 6C-H, 5.06 7B-OH, 5.05 7C-OH, 5.04 6D-H, 5.03 6B-H), 4.74 (d, $^3J_{6A, Boc-NH} = 8.5\text{Hz}$, 1H, 6A-H), 4.69 (pt, $^3J_{3B, 2B} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 3B-H), 4.65 (pt, $^3J_{3D, 2D} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 3D-H), 4.57 (pt, $^3J_{3A, 2A} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 3A-H), 4.55 ($^3J_{3C, 2C} = 7.7\text{Hz}$, 1H, 3C-H), 4.53 (m, 2H, PheA/C- α H), 3.87 (dd, $^3J_{GlyD-CH^t, GlyD-NH} = 6.1\text{Hz}$ $^2J_{GlyD-CH_2gem.} = 17.7\text{Hz}$, 1H, GlyD-CH^t), 3.85-3.7 (m, 11H, DQF-COSY: 3.85 8B-H, 3.844 8D-H, 3.837 8C-H, 3.822 GlyB-CH^t, 3.816 7D-H, 3.80 7B-H, 3.78 GlyD-CH^h, 3.75 7A-H, 3.74 7C-H, 3.72 GlyB-CH^h), 3.65-3.55 (m, 4H, DQF-COSY: 3.64 9C-H, 3.63 9D-H, 3.62 9B-H, 3.60 9A-H), 3.3 (m, 3H, DQF-COSY: 3.30 2B-H^t, 3.29 2D-CH₂, 3.26 (dd, $^3J_{2B-Hh, 3B} = 7.4\text{Hz}$ $^2J_{2B-Hgem.} = 11.3\text{Hz}$, 1H, 2B-H^h), 3.17 (m, 3H, PheC- β H^{proS}/2A-H^{proR}/ 2C-H^{proR}), 3.14 (dd, $^3J_{PheA-\beta HproS, PheA-\alpha H} = 4.1\text{Hz}$ $^2J_{PheA-\beta Hgem.} = 14.3\text{Hz}$, 1H, PheA- β H^{proS}), 3.04 (dd, $^3J_{2A-HproS, 3A} = 8.5\text{Hz}$ $^2J_{2A-Hgem.} = 11.3\text{Hz}$, 1H, 2A-H^{proS}), 2.98 (dd, $^3J_{2C-HproS, 3C} = 7.7\text{Hz}$ $^2J_{2C-Hgem.} = 11.3\text{Hz}$, 1H, 2C-H^{proS}), 2.69 (dd, $^3J_{PheA-\beta HproR, PheA-\alpha H} = 9.5\text{Hz}$ $^2J_{PheA-\beta Hgem.} = 14.3\text{Hz}$, 1H, PheA- β H^{proR}), 2.66 (dd, $^3J_{PheC-\beta HproR} = 9.7\text{Hz}$ $^2J_{PheC-Hgem.} = 14.3\text{Hz}$, 1H, PheC- β H^{proR}), 1.37 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 76.4 (C-9A/B/D) 75.9 (C-9C), 74.4 (C-7A/C), 74.1 (C-7B/D), 71.2 (C-8A/B/C/D), 65.3 (C-3A/C), 64.9 (C-3B/D), 61.0 (C-9aA/B/C/D), 53.7 (C-6A), 53.5 (PheA/C-C α), 52.1 (C-6B/C/D), 51.4 (OCH₃), 41.5 (GlyB-CH₂), 40.3 (GlyD-CH₂), 37.3 (PheA/C-C β), 32.2 (C-2B/D), 32.0 (C-2A), 31.9 (C-2C)

Masse:

(+ p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 1581.7 [MH]⁺, 1603.8 [M+Na]⁺,
 (- p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac): 789.3 [M-2H]²⁻, 1579.9 [M-H]⁻

Boc-7,5BicA-GlyA-7,5BicB-GlyB-7,5BicC-GlyC-OMe (108)



C₃₉H₅₇N₉O₂₁S₃ [1084.13]

310mg (0.40mmol) Boc(7,5BicGly)₂OMe **87** wurden 10 ml DCM/MeOH 1:1 gelöst. Nach Zugabe von 10ml Et₂O x HCl bildete sich ein Nd. welcher nach Zusatz von 10ml MeOH wieder in Lösung ging. Die Lösung wurde nun so lange bei RT gerührt, bis kein Edukt mehr zu detektieren war. Das LM wurde anschließend entfernt, und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

200mg (0.44mmol) Boc7,5BicGlyOMe **84** wurden in 2ml MeOH gelöst. Nach Zugabe von 1ml 1N LiOH wurde 10min bei RT gerührt. Die Lösung wurde nun mit HCl neutralisiert und anschließend das LM entfernt. Der Rückstand wurde noch im HV getrocknet.

Die beiden entschützten Peptide wurden in 10ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 250mg (0.48mmol) PyBop wurde mit NMM der pH auf 7-8 eingestellt, und dann die Lösung über Nacht gerührt. Das LM wurde jetzt entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch aufgereinigt (CHCl₃/MeOH/H₂O 300:100:1 → 200:300:6, R_f(CHCl₃/MeOH/H₂O 200:100:6) = 0.6). Somit konnten nach anschließender Trocknung im Vakuum 141mg (0.13mmol, 33%) des Nonapeptids **108** erhalten werden.

¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.59 (pt, ³J_{GlyC-NH, GlyC-CH2} = 5.9Hz, 1H, GlyC-NH), 8.53 (pt, ³J_{GlyB-NH, GlyB-CH2} = 5.9Hz, 1H, GlyB-NH), 8.46 (pt, ³J_{GlyA-NH, GlyA-CH2} = 5.9Hz, 1H, GlyA-NH), 7.93 (d, ³J_{6B-NH, 6B} = 8.5Hz, 1H, 6B-NH), 7.92 (d, ³J_{6C-NH, 6C} = 8.5Hz, 1H, 6C-NH), 6.53 (d, ³J_{Boc-NH, 6A} = 9.0Hz, 1H, Boc-NH), 5.73 (d, ³J_{9C-OH, 9C} = 8.2Hz, 1H, 9C-OH), 5.68 (d, ³J_{9B-OH, 9B} = 8.5Hz, 1H, 9B-OH), 5.54 (m, 3H, Tocsy: 5.545 8B-OH, 5.543 8A-OH, 5.538 8C-OH), 5.50 (d, ³J_{9A-OH, 9A} = ~10Hz, 1H, 9A-OH), 5.48 (s, 1H, 9aB-H), 5.47 (s, 1H, 9aC-H), 5.45 (s, 1H, 9aA-H), 5.23 (d, ³J_{7C-OH, 7C} = 5.1Hz, 1H, 7C-OH), 5.15 (d, ³J_{7B-OH, 7B} = 5.1Hz, 1H, 7B-OH), 5.09 (d, ³J_{7A-OH, 7A} = 4.6Hz, 1H, 7A-OH), 5.09 (d, ³J_{6C, 6C-NH} = 8.5Hz, 1H, 6C-H), 5.07 (d, ³J_{6B, 6B-NH} = 8.2Hz, 1H, 6B-H), 4.75 (d, ³J_{6A, Boc-NH} = 8.7Hz, 1H, 6A-H), 4.64 (m, 3H, Roesy: 4.65 3B-H, 4.64 3A-H, 4.63 3C-H), 3.88 (dd, ³J_{GlyC-CHt, GlyC-NH} = 6.1Hz ²J_{GlyC-CH2gem} = 17.4Hz, 1H, GlyC-CH^t), 3.9-3.7 (m, 10H, DQF-COSY: 3.82 8B/C-H, 3.79 8A-H, 3.78 GlyB-CH^t, 3.75 GlyC-CH^h /7B-H, 3.74 7A-H, 3.73 7C-H/GlyA-CH₂, 3.71 GlyB-CH^h), 3.62 (m, 2H, 9B/C-H), 3.61 (s, 3H, OCH₃), 3.58 (dd, ³J_{9A, 9A-OH} = 9.5Hz ³J_{9A, 8A} = 3.6Hz, 1H, 9A-H), 3.3-3.2 (m, 6H, Roesy: 3.31 2A-H^t/2B-H^t, 3.28 2C-H, 3.26 2B-H^h, 3.25 2A-H^h), 1.37 (s, 9H, Boc-CH₃)

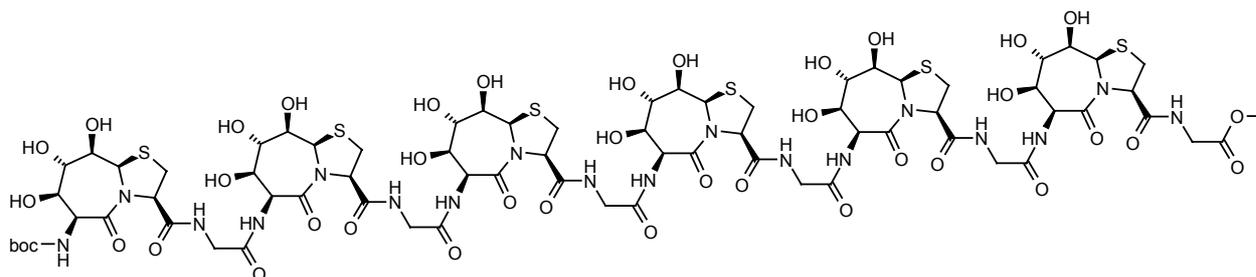
¹³C-NMR(HMQC, DMSO_{d6}): δ = 76.8 (C-9A), 76.5 (C-9B/C), 74.5 (C-7A/B/C), 71.4 (C-8B/C), 71.2 (C-8A), 65.1 (C-3A/B/C), 61.2 (C-9aA/B/C), 53.8 (C-6A), 52.2 (C-6B), 51.9 (C-6C), 51.5 (OCH₃), 41.6 (GlyA/B-CH₂), 40.3 (GlyC-CH₂), 32.2 (C-2A/B/C), 27.8 (Boc-CH₃)

Masse:

(+ p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac) 1084.4 [MH]⁺, 1106.4 [M+Na]⁺,

(- p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac) 540.7 [M-2H]²⁻, 1082.2 [M-H]⁻

Boc-(7,5BicGly)₆-OMe (109)



C₇₂H₁₀₂N₁₈O₃₉S₆ [2036.10]

40mg (0.037mmol) **108** wurden 1ml MeOH und 1ml H₂O gelöst. Nach Zugabe von 120μL 1N LiOH wurde 20min bei RT gerührt. Nach Neutralisation mit 1N HCl wurde das LM entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

40mg (0.037mmol) **108** wurden 4ml MeOH und 4ml DCM gelöst. Nach Zugabe von 10ml Et₂O x HCl wurde 45min bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Die beiden entschützten Peptide wurden in 5ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 30mg (0.058mmol) PyBop wurde mit NMM der pH auf 7-8 eingestellt, und die Lösung anschließend über Nacht bei RT gerührt. Das LM wurde jetzt entfernt und das Rohprodukt mittels HPLC aufgereinigt. Somit konnten nach anschließender Gefriertrocknung 18mg (0.009mmol, 24%) des Hexamers **109** erhalten werden.

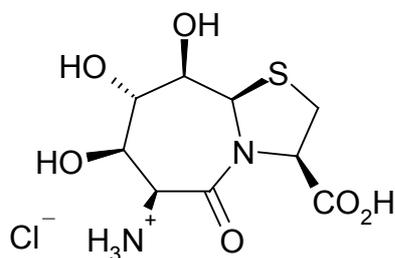
¹H-NMR (600MHz, DMSO_{d6}): δ = 8.59 (pt, ³J_{GlyF-NH, GlyF-CH2} = 6.0Hz, 1H, GlyF-NH), 8.54 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH2} = 6.0Hz, 1H, Gly-NH), 8.50 (m, 2H, Gly-NH), 8.49 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH2} = 6Hz, 1H, Gly-NH), 8.50 (pt, ³J_{Gly-NH, Gly-CH2} = 6.0Hz, 1H, Gly-NH), 7.92 (m, 5H, 6-NH), 6.52 (d, ³J_{Boc-NH, 6A} = 8.8Hz, 1H, Boc-NH), 5.8-5.45 (m, 12H, 8-OH/9-OH), 5.5-5.47 (m, 5H, 9aB-F), 5.45 (s, 1H, 9aA-H), 5.25-5.15 (m, 4H, 7-OH), 5.15-5.05 (m, 7H, 6-H/7-OH), 4.75 (d, ³J_{6A, Boc-NH} = 8.8Hz, 1H, 6A-H), 4.7-4.6 (m, 6H, 3-H), 3.88 (dd, ³J_{GlyF-CHt, GlyF-NH} = 6.0Hz, ²J_{GlyC-CH2gem} = 17.5Hz, 1H, GlyF-CH^t), 3.84-3.77 (m, 6H, 8-H), 3.79-3.69 (m, 17H, DQF-COSY: 3.75 GlyF-CH^h, GlyA-E-CH₂, 7-H), 3.64-3.56 (m, 6H, 9-H), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 3.34-3.29 (m, 12H, 2-H), 1.37 (s, 9H, Boc-CH₃)

¹³C-NMR (HMQC, DMSO_{d6}): δ = 76.5 (C-9), 74 (C-7), 71 (C-8), 65 (C-3), 61 (C-9a), 53.7 (C-6A), 52 (C-6B-F), 51.4 (OCH₃), 41.5 (GlyA-E-CH₂), 40.3 (GlyF-CH₂), 32 (C-2), 27.8 (Boc-CH₃)

Masse:

(+ p ESI MS, CH₂Cl₂/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac) 1035.6 [M+2NH₄]²⁺, 2036.6 [MH]⁺, 2054.5 [M+NH₄]⁺

9a(R)H-(6S)-amino-5-oxo-(7R,8S,9R)-trihydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-3R-carbonsäure hydrochlorid (110)



C₉H₁₄N₂O₆S [278.29] x HCl

300mg **80** Boc-7,5Bic-OLi x LiCl (0.7mmol) wurden in 20ml Et₂O x HCl suspensiert und 2h bei RT gerührt. Das LM wurde entfernt und der Rückstand im Vakuum über KOH getrocknet. So konnte praktisch quantitativ Verbindung **110** erhalten werden.

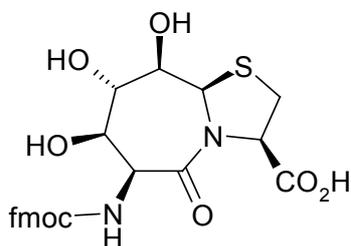
¹H-NMR (400 MHz, DMSO_{d6}): δ = 5.99 (bs, 1H, 8-OH), 5.78 (bs, 1H, 7-OH), 5.61 (s, 1H, 9a-H), 4.71 (pt, ³J_{3,2} = 7.5Hz, 1H, 3-H), 4.64 (bs, 1H, 6-H), 4.00 (d, ³J_{7,8} = 4.6Hz, 1H, 7-H) 3.89 (pt, ³J_{8,7/9} = 4.4Hz, 1H, 8-H), 3.62 (d, ³J_{9,8} = 3.7Hz, 1H, 9H), 3.33 (m, 2H, 2-H)

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO_{d6}): δ = 171.10 165.53 (CO-5, C3-CO), 76.41 (C-9), 71.67 (C-7), 70.51 (C-8), 64.24 (C-3), 61.32 (C-9a), 53.24 (C-6), 31.82 (C-2)

Masse:

(+ p ESI ms, H₂O/MeOH + 1% AcOH): 278.8 [MH]⁺, 284.9 [M+Li]⁺

9a(R)H-(6S)-(9H-fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-5-oxo-(7R,8S,9R)-trihydroxy-octahydro-thiazolo[3,2-a]azepin-(3R)-carbonsäure (111)



C₂₄H₂₄N₂O₈S [500.53]

Das ungeschützte Dipeptid **110** (aus 300mg Boc-7,5Bic-OLi x LiCl/0.7mmol) wurde in 2.5ml Aceton und 2.5ml H₂O gelöst. Zur Lösung wurden 400mg Fmoc-Succinimid (1.2mmol) und 60mg NaHCO₃ (0.7mmol). Die Lösung wurde 3Tage bei RT gerührt. Das Rohprodukt wurde auf Kieselgel absorbiert. Die flashromatographische Aufreinigung (CHCl₃/MeOH + 0.2%AcOH, R_f = 0.3) erbrachte 335mg der Verbindung **111** (0.67mmol, 96%).

¹H-NMR (400MHz, DMSO_{d6}): δ = 7.88 (d, ³J = 7.5Hz, 2H, Fmoc-H_{arom.}), 7.73 7.41 7.32 (je m, 2H, Fmoc-H_{arom.}), 7.08 (d, ³J_{Fmoc-NH, 6} = 8.4Hz, 1H, Fmoc-NH), 5.51 (s, 1H, 9a-H), 5.50 (d, ³J_{8-OH, 8} = 4Hz, 1H, 8-OH), 4.81 (d, ³J_{6, Fmoc-NH} = 8.3Hz, 1H, 6-H), 4.64 (dd, ³J_{3, 2-Ht} = 7.5Hz ³J_{3, 2-Hh} = 5.5Hz, 1H, 3-H), 4.2 (m, 3H, Fmoc-CH/Fmoc-CH₂), 3.83 (m, 1H, 8-H), 3.72 (d, ³J_{7, 8} = 4.4Hz, 1H, 7-H), 3.48 (d, ³J_{9, 8} = 3.7Hz, 1H, 9-H), 3.23 (dd, ³J_{2-Ht, 3} = 7.5Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.8Hz, 1H, 2-H^t), 3.18 (dd, ³J_{2-Hh, 3} = 5.5Hz ²J_{2-Hgem.} = 11.8Hz, 1H, 2-H^h)

¹³C-NMR (100MHz, DMSO_{d6}): δ = 174.11 167.07 (CO-5, COOH), 155.57 (CO-Fmoc), 143.84 143.73 140.62(2C) (Fmoc-C_{quart.}), 127.58(2C) 127.03(2C) 125.32 125.25 120.03(2C) (Fmoc-CH_{arom.}), 75.60 (C-9), 75.15 (C-7), 71.90 (C-8), 65.80 (Fmoc-CH₂/C-3), 61.13 (C-9a), 54.33 (C-6), 46.54 (Fmoc-CH), 32.77 (C-2)

Masse:

(- p ESI MS, DMSO/MeOH + 10mmol/l NH₄Ac) 556.2 [M-H]⁻, 1113.5 [2M-H]⁻

D. Literaturstellen

- [1] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149
- [2] R. Hirschmann, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 1305-1330
- [3] J. Gante, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 1780-1802
- [4] A. Giannis, T. Kolter, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1303-1326
- [5] P. C. Bélanger, C. Dufresne, *Can. J. Chem.* **1986**, 64, 1514
- [6] R. Hirschmann, P. A. Sprengler, T. Kawasaki, J. W. Leahy, W. C. Shakespeare, A. B. Smith III, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 9699
- [7] R. Hirschmann, K. C. Nicolau, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoor, W. C. Shakespeare, P. A. Sprengler, P. Hamley, A. B. Smith III, T. Reisine, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 12550-12568
- [8] D. F. Veber, R. M. Freidinger, D. S. Perlow, W. J. Paleveda, F. W. Holly, R. G. Strachan, R. F. Nutt, B. H. Arrison, C. Homnick, W. C. Randall, M. S. Glitzer, R. Saperstein, R. Hirschmann, *Nature* **1981**, 292, 55
- [9] J. Boer, D. Gottschling, A. Schuster, B. Holzmann, H. Kessler, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 3988-3991
- [10] K. C. Nicolaou, J. I. Trujillo, K. Chibale, *Tetrahedron* **1997**, 53, 8751-8778
- [11] C. Papageorgiou, R. Haltiner, C. Bruns, T. Petcher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, 2, 135
- [12] E. Locardi, J. Boer, A. Modlinger, A. Schuster, B. Holzmann, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 5752-5762
- [13] J. D. Watson, F. H. C. A. Crick, *Nature* **1953**, 171, 737-738
- [14] L. Pauling, R. B. Corey, H. R. Branson *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **1951**, 37, 205-211
- [15] L. Pauling, R. B. Corey, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **1951**, 37, 729-740
- [16] D. S. Kemp, T. J. Allen, S. L. Oslick, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 6641-6657
- [17] D. S. Kemp, T. J. Allen, S. L. Oslick, J. G. Boyd, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 117, 4240-4248
- [18] W. Maison, E. Arce, P. Renold, R. J. Kennedy, D. S. Kemp, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 10245-10254
- [19] R. E. Austin, R. A. Maplestone, A. M. Seffler, K. Liu, W. N. Hruzewics, C. W. Liu, H. S. Cho, D. E. Wemmer, P. A. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 6461-6472

- [20] S. T. Phillips, M. Rezac, Uli Abel, M. Kossenjans, A. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 58-66
- [21] D.S. Kemp, B. R. Bowen, C. C. Muendel, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 4650-4657
- [22] J. S. Nowick, E. M. Smith, J. W. Ziller, A. J. Shaka, *Tetrahedron* **2002**, 58, 727-739
- [23] C. Bonauer, M. Zabel, B. König, *Org. Lett.* **2004**, 6, 1349-1352
- [24] P. Rzepecki, H.-C. Gallmeier, N. Geib, K. Cernovska, B. König, T. Schrader, *J. Org. Chem.* **2004**,
- [25] K. Cernovska, M. Kemter, H.-C Gallmeier, P. Rzepecki, T. Schrader, B. König, *Org. Biomol. Chem.* 2004, 2, 1603-1611
- [26] F. A. Syud, H. E. Stanger, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8667-8677
- [27] D. E. Davis, P. M. Doyle, R. D. Farrant, R. D. Hill, P. B. Hitchcock, P. N. Sanderson, D. W. Young, *Tetrahedron Letters* **2003**, 44, 8887-8891
- [28] F. M. Cordero, S. Valenza, F. Machetti, A. Brandi, *Chem. Commun.* **2001**, 1590-1591
- [29] X. Gu, W. Qiu, S. Cowell, V. A. Soloshonok, M. D. Carducci V. J. Hruby, *Tetrahedron Letters* **2001**, 42, 145-148
- [30] C. Park, K. Burgess, *J. Comb. Chem.* **2001**, 3, 257-266
- [31] M. Sukopp, L. Marinelli, M. Heller, T. Brandl, S. L. Goodmann, R. W. Hoffmann, H. Kessler, *Helvetica Chimica Acta* **2002**, 85, 4442-4452
- [32] M. Eguchi, R. Y. W. Shen, J. P. Shea, M. S. Lee, M. Kahn, *J. Med. Chem* **2002**, 45, 1395-1398
- [33] K. Burgess, *Acc. Chem. Res.* **2001**, 34, 826-835
- [34] W. M. De Borggraeve, F. J. R. Rombouts, D. Delaere, M. Froyen, S. M. Toppet, F. Campenolle, G. J. Hoornaert, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1868-1878
- [35] R. M. Freidinger, D. F. Veber, D. S. Perlow, J. R. Brooks, R. Saperstein, *Science* **1980**, 210, 656-658
- [36] M. Feigel, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 181-182
- [37] A. J. Souers, J. A. Ellmann, *Tetrahedron* **2001**, 57, 7431-7448
- [38] R. R. Gardner, G.-B. Liang, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 1806-1816
- [39] M. Pattarawarapan, M. C. Zaccaro, U. H. Saragovi, K. Burgess, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 4387-4390
- [40] C. Palomo, J. M. Aizpurua, A. Benito, R. Galarza, U. K. Khamrai, J. Vazquez, B. de Pascual-Teresa, P. M. Nieto, A. Linden, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 3241-3244
- [41] D. Albert, M. Feigel, J. Benet-Buchholz, R. Boese, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2855-2857
- [42] B. Wels, J. A. W. Kruijtzter, R. M. J. Liskamp, *Organic Letters* **2002**, 4, 2173-2176

- [43] C. Park, K. Burgess, *J. Comb. Chem.* **2001**, 3, 257-266
- [44] B. E. Fink, P. R. Kym, J. A. Katzenellengogen, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 4334-44
- [45] A. A. Virgilio, A. A. Bray, W. Zhang, L. Trinh, M. Snyder, M. m. Morrissey, J. A. Ellman, *Tetrahedron* **1997**, 19, 6635-6644
- [46] J. Quancard, P. Karoyan, O. Lequin, E. Wenger, A. Aubry, S. Lavielle, G. Chassaing, *Tetrahedron Letters* **2004**, 45, 623-625
- [47] L. Halab, W. D. Lubell, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2474-2484
- [48] S. A. W. Gruner, E. Locardi, E. Lohof, H. Kessler, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 491-514
- [49] K. Heyns, H. Paulsen, *Chem. Ber.* **1955**, 88, 188-195
- [50] J. C. Estevez, M. D. Smith, A. L. Lane, S. Crook, D. J. Watkin, G. S. Besra, P. J. Brennan, R. J. Nash, G. W. J. Fleet
- [51] N. L. Hungerford, G. W. J. Fleet, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1*, **2000**, 3680-3685
- [52] L. Poitout, Y. L. Merrer, J.-C. Depezay, *Tetrahedron Letters* **1995**, 36, 6887-6890
- [53] G. Casiraghi, L. Colombo, G. Rassu, P. Spanu, *J. Org. Chem*, **1991**, 56, 6523-6527
- [54] M. F. Semmelhack, Y. Jiang, D. Ho, *Org. Letters*. **2001**, 3, 2403-2406
- [55] Z. Györgydeak, L. Szilagyi, H. Paulsen, *J. Carbohdr. Chem.* **1993**, 12, 139-163
- [56] E. Graf von Rödern, Dissertation, **1994**, TU München
- [57] J. B. Mc Devitt, J. P. T. Lansbury, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 3818-3828
- [58] E. Graf von Roedern, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 687-689
- [59] E. Graf von Roedern, E. Lohof, G. Hessler, H. Hoffmann, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 10156-10167
- [60] M. Stöckle, G. Voll, R. Günther, E. Lohof, E. Locardi, S. Gruner, H. Kessler, *Org. Lett.* **2002**, 4, 2501-2504
- [61] R. M. van Well, H. S. Overkleeft, M. Overhand, E. V. Carstenen, G. A. van Marel, J. H. van Boom, *Tetrahedron Letters*, **2000**, 41, 9331-9335
- [62] G. M. Grotenbreg, M. S. M. Timmer, A. L. Llamas-Saiz, M. Verdoes, G. A. van der Marle, M. J. van Raaij, H. S. Overkleeft, M. Overhand, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 3444-3446
- [63] S. A. W. Gruner, G. Kéri, R. Schwab, A. Venetianer, H. Kessler, *Org. Lett.* **2001**, 3, 3723-3725
- [64] R. M. van Well, H. S. Overkleeft, G. A. van der Marle, D. Bruss, G. Thibault, P. G. de Groot, J. H. van Boom, M. Overhand, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 331-334
- [65] H. S. Overkleeft, S. H. L. Verhelst, E. Pieterman, N. J. Meeuwenoord, M. Overhand, L. H. Cohen, G. A. van Marel, J. H. van Boom, *Tetrahedron Letters*, **1999**, 40, 4103-4106

- [66] U. Nagai, K. Sato, *Tetrahedron Letters* **1985**, 26, 647-650
- [67] U. Nagai, K. Sato, R. Nakamura, R. Kato, *Tetrahedron* **1993**, 49, 3577-3592
- [68] M. J. Genin, R. L. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 8778-8783
- [69] M. Angiolini, S. Araneo, L. Belevesi, E. Cesarotti, A. Checcia, L. Crippa, L. Manzoni, C. Scolastico, *Eur. J. Org. Chem* **2000**, 2571-2581
- [70] F. M. Cordero, S. Valenza, F. Machetti, A. Brandi, *Chem. Commun.* **2001**, 1590-1591
- [71] X. Gu, S. Cowell, J. Ying, X. Tang, V. J. Hruby, *Tetrahedron Letters* **2003**, 44, 5863-5866
- [72] F. Cornille, U. Slomczynska, M. L. Smythe, D. D. Beusen, K. D. Moeller, G. R. Marshall, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 909-917
- [73] N. L. Subashinghe, E. M. Khalil, R. L. Johnson, *Tetrahedron Letters* **1997**, 38, 1317-1320
- [74] F. Gosselin, W. D. Lubell, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 2163-2171
- [75] S. Hanessian, G. McNaughton-Smith, H.-G. Lombart, W. D. Lubell, *Tetrahedron* **1997**, 53, 12789-12854
- [76] J. E. Baldwin, C. Hulme, C. J. Schofield, A. J. Edwards, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 935-936
- [77] N. L. Subashinge, R. J. Bontems, E. McIntee, R. K. Mishra, R. L. Johnson, *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 2356-2361
- [78] M. A. Estiarte, M. Rubiralta, A. Diez, M. Thormann, E. Giralt, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 6992-6999
- [79] F. Polyak, W. D. Lubell, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 5937-5949
- [80] C. Xiong, J. Zhang, P. Davis, W. Wang, J. Ying, F. Porreca, V. J. Hruby, *Chem. Commun.* **2003**, 1598-1599
- [81] L. Belvisi, A. Bernardi, A. Checchia, L. Manzoni, D. Potenza, C. Scolastico, M. Castorina, A. Cupelli, G. Giannini, C. Pisano, *Org. Lett.* **2001**, 3, 1001-1004
- [82] L. Belvisi, A. Caporale, M. Colombo, L. Manzoni, D. Potenza, C. Scolastico, M. Castorina, M. Cati, G. Giannini, C. Pisano, *Helvetica Chimica Acta* **2002**, 85, 4353-4368
- [83] R. González-Muñiz, M. Martín-Martínez, C. Granata, E. de Oliveira, C. M. Santiveri, C. González, D. Frechilla, R. Herranz, M. T. García-López, J. del Río, M. A. Jiménez, D. Andreu, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 3173-3183
- [84] L. Belvisi, C. Gennari, A. Madder, A. Mielgo, D. Potenza, C. Scolastico, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 695-699

- [85] L. Halab, J. A. Becker, Z. Darula, D. Tourwe, B. L. Kieffer, F. Simonin, W. D. Lubell, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 5353-5357
- [86] S. Roy, H. G. Lombart, W. D. Lubell, R. E. W. Hancock, S. W. Farmer, *J. Peptide Res.* **2002**, 60, 198-214
- [87] K. Sato, U. Nagai, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1986**, 1231-1243
- [88] D. Andreu, S. Ruiz, C. Carreño, J. Alsina, F. Albericio, M. A. Jiménez, N. de la Figuera, R. Herranz, M. T. García-López, R. González-Muñiz, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 10579-10586
- [89] J. H. Viles, S. U. Patel, J. B. O. Mitchell, C. M. Moody, D. E. Justice, J. Uppenbrink, P. M. Doyle, C. J. Harris, P. J. Sadler, J. M. Thornton, *J. Mol. Biol.* **1998**, 279, 973-986
- [90] G. Müller, G. Hessler, H. Y. Decornez, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 894-896
- [91] Y. Takeuchi, G. R. Marshall, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 5363-5372
- [92] R. Haubner, Dissertation **1995**, AG Kessler, TU München
- [93] R. Haubner, W. Schmitt, G. Hölzemann, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 7881-7891
- [94] D. J. Hill, M. J. Mio, R. B. Prince, T. S. Hughes, J. S. Moore, *Chem. Rev.* 101, 3893-4011
- [95] X. Yang, L. Yuan, K. Yamato, A. L. Brown, W. Feng, M. Furukawa, X. C. Zeng, Bing Gong, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 3148-3162
- [96] L. A. Cuccia, E. Ruiz, J.-M. Lehn, J.-C. Homo, M. Schmutz, *Chem. Eur. J.* **2002**, 15, 3448-3457
- [97] D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kühnle, B. Martinoni, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta*, **1996**, 79, 913
- [98] D. Seebach, J. L. Matthews, *Chem. Commun.* **1997**, 2015-2022
- [99] M. Rueping, Y. R. Mahajan, B. Jaun, D. Seebach, *Angew. Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 1607-1615
- [100] T. Etezady-Esfarjani, C. Hilty, K. Wütherich, M. Rueping, J. Schreiber, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta*, **2002**, 85, 1197-1208
- [101] D. Seebach, A. Jacobi, M. Rueping, K. Gademann, M. Ernst, B. Jaun, *Helv. Chim. Acta*, **2000**, 83, 2115
- [102] D. Seebach, J. V. Schreiber, S. Abele, X. Daura, W. F. van Gunsteren, *Helv. Chim. Acta*, **2000**, 83, 34
- [103] S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 173-180

- [104] D. H. Appella, L. A. Christianson, I. L. Karle, D. R. Powell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 6206-6212
- [105] J. Applequist, K. A. Bode, D. H. Appella, L. A. Christianson, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 120, 4891-4892
- [106] D. H. Appella, J. J. Barchi Jr., S. R. Durell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 2309-2310
- [107] X. Wang, J. F. Espinosa, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 4821-4822
- [108] Y. Suhara, M. Ichikawa, J. E. K. Hildreth, Y. Ichikawa, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 2549-2552
- [109] J. Ferrara-Sinfreu, L. Zaccaro, D. Vidal, X. Salvatella, E. Giralt, M. Pons, F. Alberico, M. Royo, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 6048-6057
- [110] C. Tomasini, V. Trigari, S. Lucarini, F. Bernardi, M. Garavelli, C. Peggion, F. Formaggio, C. Toniolo, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 259-256
- [111] S. F. Barker, D. Angus, C. Taillefumier, M. R. Propert, D. J. Watkin, M. P. Watterson, T. D. W. Claridge, N. L. Hungerford, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Letters*, **2001**, 42, 4247-4250
- [112] T. D. W. Claridge, J. M. Goodman, A. Moreno, D. Angus, S. F. Barker, C. Taillefumier, M. P. Watterson, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Letters*, **2001**, 42, 4251-4255
- [113] Y. Suhara, M. Izumi, M. Ichikawa, M. B. Penno, Y. Ichikawa, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 7167-7170
- [114] Y. Suhara, J. E. K. Hildreth, Y. Ichikawa, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 1575-1578
- [115] Y. Suhara, M. Ichikawa, J. E. K. Hildreth, Y. Ichikawa, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 2549-2552
- [116] N. L. Hungerford, T. D. W. Claridge, M. P. Watterson, R. T. Aplin, A. Moreno, G. W. J. Fleet, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2000**, 3666-3679
- [117] D. E. A. Brittain, M. P. Watterson, T. D. W. Claridge, M. D. Smith, G. W. J. Fleet, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2000**, 3655-3656
- [118] T. D. W. Claridge, D. D. Long, N. L. Hungerford, R. T. Aplin, M. D. Smith, D. G. Marquess, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 2199-2202
- [119] M. D. Smith, T. D. W. Claridge, G. E. Tranter, M. S. P. Sansom, G. W. J. Fleet, *Chem. Commun.* **1998**, 2041-2042
- [120] M. D. Smith, D. D. Long, D. G. Marquess, T. D. W. Claridge, G. W. J. Fleet, *Chem. Commun.* **1998**, 2039-2040
- [121] S. A. W. Gruner, V. Truffault, G. Voll, E. Locardi, M. Stöckle, H. Kessler, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 4366-4376

- [122] A. Geyer, D. Bockelmann, K. Weissenbach, H. Fischer, *Tetrahedron Letters* **1999**, 40, 477-478
- [123] B. P. Bashyal, H. F. Chow, L. E. Fellows, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron* **1987**, 43, 415-422
- [124] T. M. Krülle, B. Davis, H. Ardron, D. D. Long, N. A. Hindle, C. Smith, D. Brown, A. L. Lane, D. J. Watkin, D. G. Marquess, G. W. J. Fleet, *Chem. Commun.* **1996**, 1271-1272
- [125] F. Moser, Diplomarbeit **1999**, AG Geyer, Universität Konstanz
- [126] T. D. W. Claridge, *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*, *Tetrahedron Organic Chemistry Series Volume 19*, **1999**
- [127] H. Kessler, *Angew. Chem.* **1982**, 94, 509-520
- [128] A. Geyer, F. Moser, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 1113-1120
- [129] G. W. Fleet, N. G. Ramsden, D. R. Witty, *Tetrahedron* **1989**, 45, 319-326
- [130] J. Royer, M. Bonin, L. Micouin, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 2311-2352
- [131] H. Seger, Diplomarbeit **2003**, AG Geyer, Universität Regensburg.
- [132] A. Buschauer, G. Bernhardt, S. Dove, *Pharmazeutische Zeitung* **2000**, 24, 1955-1962
- [133] C. Cabrele, A. G. Beck-Sickinger, *Journal of Peptide Science* **2000**, 6, 97-122
- [134] A. A. Adzhubei, M. J. E. Sternberg, *J. Mol. Biol.* **1993**, 229, 472-493
- [135] J. Dabrowski, T. Kožár, H. Grosskurth, N. E. Nifant'ef, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 5534-5539
- [136] C. L. Jenkins, R. T. Raines, *Nat. Prod. Rep.* **2002**, 19, 49-59
- [137] J. Kwak, A. De Capua, E. Locardi, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 14085-14091
- [138] E. T. Rump, D. T. S. Rijkers, H. W. Hilbers, P. G. de Groot, R. M. J. Liskamp, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 4613-4621
- [139] M. Goodman, M. Bhumralkar, E. A. Jefferson, J. Kwak, E. Locardi, *Biopolymers* **1998**, 47, 127-142
- [140] M. Mayer, B. Meyer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1784-1788
- [141] D. Bockelmann, Diplomarbeit **1998**, AG Geyer, Universität Konstanz
- [142] D. J. Kempf, K. C. Marsh, J. F. Denissen, E. McDonald, S. Vasavanonda, C. A. Flentgen, B. E. Green, L. Fino, C. H. Park, X.-P. Kong, N. E. Wideburg, A. Saldivar, L. Ruiz, W. M. Kati, H. L. Sham, T. Robins, K. D. Steward, A. Hsu, J. J. Plattner, J. M. Leonard, D. W. Norbeck, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 2484-2488
- [143] E. Locardi, M. Stöckle, S. Gruner, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8189-8196