

Synthese und biologische Evaluation von Prätubulysin-Derivaten

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

vorgelegt von
Diplom-Chemiker Jens L. Burkhart

Saarbrücken
2011

Die vorliegende Arbeit wurde von Juni 2008 bis Oktober 2011 unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. U. Kazmaier am Institut für Organische Chemie der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät III der Universität des Saarlandes angefertigt.

Tag des Kolloquiums:	13.01.2012
Dekan:	Prof. Dr. Wilhelm F. Maier
Berichterstatter:	Prof. Dr. Uli Kazmaier Prof. Dr. Dirk Menche Prof. Dr. Dr. h.c. Theophil Eicher
Vorsitz:	Prof. Dr. Johann Jauch
Akad. Mitarbeiter:	Prof. Dr. Andreas Speicher

*“Success is going from failure to failure
without losing enthusiasm.”*

Sir Winston Leonard Spencer-Churchill

Abstract

This PhD-work describes the synthesis of simplified derivatives of pretubulysin, a biosynthetic intermediate of tubulysin D, where the central amino acid, tubuvaline, is replaced by the rather simple building blocks oxazoletubuvaline, phenyltubuvaline, phenoxytubuvaline and triazoletubuvaline. These new amino acids can be obtained in few steps from easily accessible starting materials. The new pretubulysin derivatives, called oxazolepretubulysin, phenylpretubulysin, phenoxypretubulysin and triazolepretubulysin are less active compared to the natural tubulysins, but the activity of several derivatives against different tumor cells are still in the nM range.

Furthermore hydroxypretubulysin was synthesized to confirm some speculations of the tubulysin-biosynthesis in collaboration with the group of Prof. Dr. R. Müller (Department of Pharmaceutical Biotechnology, Saarland University). In collaboration with the group of Prof. Dr. S. A. Siebert (LMU Munich), the thesis deals with the synthesis of photoreactive pretubulysin derivatives to identify new targets of tubulysins.

Kurzfassung

Diese Dissertation beschreibt die Synthese von vereinfachten Derivaten des Tubulysin D-Biosyntheseintermediates Prätubulysin, wobei die zentrale Aminosäure Tubuvalin, durch die relativ einfachen Bausteine Oxazoltubuvalin, Phenyltubuvalin, Phenoxytubuvalin und Triazoltubuvalin ersetzt wurde. Diese neuen Aminosäuren können in wenigen Schritten aus leicht zugänglichen Ausgangsmaterialien gewonnen werden. Die neuen Prätubulysin-Derivate, namentlich Oxazolprätubulysin, Phenylprätubulysin, Phenoxyprätubulysin und Triazolprätubulysin, sind zwar weniger aktiv im Vergleich zu den natürlichen Tubulysinen, dennoch liegt die Aktivität einiger Derivate gegenüber diverser Tumorzellen weiterhin im nanomolaren Bereich.

Darüber hinaus wurde Hydroxyprätubulysin synthetisiert, um die letzten Geheimnisse der Tubulysin-Biosynthese aufzuklären. Dieses Projekt läuft in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. R. Müller vom Institut für Pharmazeutische Biotechnologie an der Universität des Saarlandes. Außerdem beschäftigt sich die Arbeit mit der Synthese von photoaktivierbaren Prätubulysin-Derivaten zur Identifikation neuer biologischer Angriffsziele der Tubulysine. Der Kooperationspartner ist in diesem Fall die Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. S. A. Siebert von der LMU München.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Kenntnisstand	5
2.1	Tubulysine	5
2.1.1	Struktur der Tubulysine	5
2.1.2	Biologische Aktivität der Tubulysine	7
2.1.3	Prätubulysin	8
2.2	Mikrotubuli als Angriffsziel antimittotischer Cytostatika	9
2.3	Biosynthese bakterieller Naturstoffe	14
2.3.1	Allgemeine Funktionsweise der bakteriellen Biosynthese	14
2.3.2	Biosynthese der Tubulysine	19
2.4	Totalsynthesen der Tubulysine	21
2.4.1	Totalsynthese von Tubulysin nach Höfle	22
2.4.2	Diverse Totalsynthesen der Tubulysine U und V	24
2.4.3	Totalsynthese von Tubulysin D nach Ellman	30
2.4.4	Totalsynthese von Tubulysin B nach Wessjohann	32
2.4.5	Totalsynthese von N^{14} -Desacetoxytubulysin H nach Wipf	34
2.4.6	Totalsynthese von Prätubulysin nach Kazmaier	35
2.5	Synthese von Tubulysin-Derivaten	37
2.5.1	Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Tubulysin-Analoga	37
3	Aufgabenstellung	46
4	Ergebnisse und Diskussion	49
4.1	Synthese von Oxazolprätubulysin	49
4.1.1	Synthese von Oxazoltubuvalin	49
4.1.2	Synthese des Oxazolprätubulysins	52
4.2	Synthese von Phenyl-, Phenoxy- und Oxythiazolprätubulysin	54
4.2.1	Synthese von Phenyltubuvalin	54
4.2.2	Synthese von Phenoxytubuvalin	55
4.2.3	Synthese von Oxythiazoltubuvalin	56
4.2.4	Synthese von Phenyl- und Phenoxyprätubulysin	60
4.3	Synthese von Triazolprätubulysin und Derivaten	62
4.3.1	Synthese von Triazoltubuvalin	62
4.3.2	Synthese eines Peptid-Azids	64

4.3.3	Synthese diverser Alkine.....	65
4.3.4	Synthese der Triazole via <i>Click</i> -Chemie	70
4.4	Synthese von Hydroxyprätubulysin	74
4.4.1	Synthese von <i>N</i> -Desacetyoxytubuvalin	75
4.4.2	Synthese des Hydroxyprätubulysins	76
4.5	Synthese photoaktivierbarer Prätubulysin-Derivate.....	78
4.5.1	Synthese von <i>p</i> -Benzoyl-Tubupenylalanin.....	78
4.5.2	Synthese der Benzophenon-Prätubulysin-Derivate	83
4.6	Biologische Evaluierung der Prätubulysin-Derivate	85
4.6.1	Cytotoxizitätsstudien	85
4.6.2	Fluoreszenzmessungen.....	90
4.6.3	Biosynthetische Untersuchungen.....	91
4.6.4	Bindungsstudien	91
5	Experimenteller Teil	93
5.1	Allgemeine Angaben	93
5.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften	94
5.3	Synthese der Verbindungen	98
6	Zusammenfassung.....	209
7	Literaturverzeichnis	213
8	Anhang.....	222
8.1	Publikationsliste.....	222
8.2	Posterbeiträge auf Konferenzen.....	222

Abkürzungsverzeichnis

°	Grad	DMP	Dess-Martin-Periodinan
°C	Grad Celcius	DMSO	Dimethylsulfoxid
µl	Mikroliter	Doe	Dolaphenin
A	Adenylierungsdomäne	DPPA	Diphenylphosphorylazid
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift	dppf	1,1'- <i>bis</i> (Diphenylphosphino)-ferrocen
ABPP	aktivitätsbasiertes Protein Profiling	dr	<i>diastereometric ratio</i>
ACN	Acetonitril	ds	<i>diastereometric selectivity</i>
ACP	Acyl-Carrier-Protein	<i>E</i>	entgegen
AIBN	<i>N,N</i> -Azo- <i>bis-iso</i> -butyronitril	E	Epimerisierungsdomäne
AK	Arbeitskreis	EDCI	1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)carbodiimid
Äq.	Äquivalente	ee	<i>enantiomeric excess</i>
AT	Acytransferase	EE	Ethylacetat
ATP	Adenintriphosphat	<i>epi</i>	Epimer
ax	axial	EPR	<i>Enhanced Permeability and Retention</i>
BAIB	<i>bis</i> -(Acetoxy)iodbenzol	eq	äquitorial
BEP	2-Bromo-1-ethyl-pyridinium-tetrafluoroborat	ER	Enoylreduktase
ber.	berechnet	<i>et al.</i>	<i>et alii</i>
Boc	<i>tert</i> -Butoxyoxycarbonyl	etc.	<i>et cetera</i>
BuLi	<i>n</i> -Butyllithium	Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
C	Kondensationsdomäne	g	Gramm
ca.	circa	GC	Gaschromatographie
CBS	<i>Corey-Bakshi-Shibata</i>	gef.	gefunden
Cbz	Carbobenzoxy	ges.	gesucht
CDI	Carbonyldiimidazol	Gew%	Gewichtsprozent
Cl	chemische Ionisation	h	Stunde
CoA	Coenzym A	HATU	(1 <i>H</i> -7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphat
COD	Cyclooctadien	HC	Heterocyclisierungsdomäne
Cys	Cystein	HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
d	Tag	HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en	HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
DC	Dünnschichtchromatographie	HRMS	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
DCC	<i>N,N</i> -Dicyclocarbodiimid	IBCF	<i>iso</i> -Butylchloroformiat
DCE	Dichlorethan	IC ₅₀	<i>50% Inhibitor Concentration</i>
DCM	Dichlormethan	IG ₅₀	<i>50% Inhibition of Growth</i>
DH	β-Hydroxy-Dehydratase	Ile	Isoleucin
DIAD	Di- <i>iso</i> -propylazodicarboxylat	KHMDS	Kaliumhexamethyldisilazan
DibalH	Di- <i>iso</i> -butylaluminiumhydrid	Konf.	Konfiguration
DIC	Di- <i>iso</i> -propylcarbodiimid	konz.	konzentriert
DIPEA	Di- <i>iso</i> -propylethylamin	KR	β-Ketoacylreduktase
DMAP	<i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin	KS	β-Ketosynthase
DMF	Dimethylformamid	LAH	Lithiumaluminiumhydrid

LHMDS	Lithiumhexamethyldisilazan	ppm	<i>Parts per Million</i>
M	Molar	Pro	Prolin
Mep	<i>N</i> -Methylpipercolinsäure	Py	Pyridin
mg	Milligramm	quant.	quantitativ
min	Minuten	R	Reduktionsdomäne
ml	Milliliter	R _f	Retentionsfaktor
MOMCl	Methyloxymethylchlorid	RT	Raumtemperatur
MT	Mikrotubulus	SG	Schutzgruppe
MT	Methyltransferase-Domäne	Smp.	Schmelzpunkt
n. best.	nicht bestimmt	TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
n. isol.	nicht isoliert	TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
NADH	Nicotinamidadenindinucleotid	TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
NADPH	Nikotinamidadenindinucleotid-phosphat	TBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium tetra-fluoroborat
NaHMDS	Natriumhexamethyldisilazan	TEA	Triethylamin
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid	TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin	<i>tert.</i>	<i>tertiär</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>	TES	Triethylsilyl
ng	Nanogramm	TFA	Trifluoressigsäure
NRPS	nichtribosomale Peptidsynthesen	THF	Tetrahydrofuran
Ox	Oxidationsdomäne	TMP	Tetramethylpiperidin
<i>p</i> BPhe	<i>p</i> -Benzophenonphenylalanin	TMS	Trimethylsilyl
<i>p</i> BTup	<i>p</i> -Benzophenontubuphenylalanin	t _R	<i>Retention Time</i>
PCP	Peptidyl-Carrier-Protein	Tr	Trityl
PFP	Pentafluorphenol	Tup	Tubuphenylalanin
pg	Picogramm	Tut	Tubutyrosin
Pip	Pipercolinsäure	Tuv	Tubuvalin
Piv	Pivaloyl	Tyr	Tyrosin
PKS	Polyketidsynthasen	UV	Ultraviolett
<i>p</i> NP	<i>p</i> -Nitrophenol	Val	Valin
ppan	Phosphopantethein	vgl.	vergleiche
ppan	Phosphopantetheinylrest	Z	zusammen

1 Einleitung

Diagnose Krebs! Dieses niederschmetternde Urteil verändert das Leben der betroffenen Patienten schlagartig und ist in vielen Fällen gleichbedeutend mit einem Todesurteil. So überleben nur ca. 50% aller Krebspatienten die ersten fünf Jahre nach der Diagnosestellung. Während die Überlebensraten für schwarzen Hautkrebs (*malignes Melanom*) und Prostatakrebs mittlerweile deutlich angestiegen sind, können die Ärzte dagegen bis heute für Patienten mit Bauchspeicheldrüsenkrebs, Lungenkrebs oder Speiseröhrenkrebs keine längere Überlebenszeit oder gar Heilung in Aussicht stellen. Jeder vierte Todesfall in Deutschland ist auf ein Krebsleiden zurückzuführen. Laut Statistik lebten 2010 in Deutschland ca. 1.5 Millionen Menschen mit dieser Krankheit, wobei ca. 450.000 Neuerkrankungen registriert wurden.¹

Daher ist es heutzutage ein großes Anliegen der pharmazeutischen Forschung neue und effizientere Wirkstoffe gegen Krebs zu entwickeln. Da mittlerweile über 300 verschiedene Krebsarten bekannt sind, und nicht jede Erkrankung gleich verläuft, werden viele verschiedene Medikamente benötigt, um jede Krebsart individuell behandeln zu können. Außerdem ist es wichtig, dass die Wirkstoffe selektiv die bösartigen Zellen bekämpfen, ohne dabei den Rest des Organismus in Mitleidenschaft zu ziehen. So sind heutzutage viele Chemotherapeutika wenig selektiv und schwächen das ohnehin angeschlagene Immunsystem der Patienten noch weiter, was in vielen Fällen die Anfälligkeit gegen weitere gefährliche Folgeerkrankungen erhöht.

Die größte Inspirationsquelle bei der Entwicklung neuer Antikrebsmittel ist und bleibt die Natur. So produzieren zahlreiche niedere Organismen (z. B. marine Tiere, Pflanzen, Pilze) eine gigantische Anzahl biologisch wirksamer Naturstoffe in Form von Sekundärmetaboliten. Einige dieser Substanzen haben es unverändert auf den Medikamentenmarkt geschafft. Eines der bekanntesten Beispiele in diesem Zusammenhang ist das Paclitaxel (Taxol[®]), welches erstmals 1971 von M. E. Wall und M. C. Wani aus der Rinde der pazifischen Eibe (*Taxus brevifolia*) isoliert wurde^[1] und seit 1993 als Medikament für verschiedene Krebsarten (z.B. Brustkrebs) zur Verfügung steht (**Abbildung 1.1**).^[2] Zahlreiche andere biologisch aktive Naturstoffe dienen als Leitstrukturen für die Entwicklung neuer Wirkstoffe.^[3] Die Meister unter den Synthetikern in der Natur sind dabei eindeutig die Pilze. Diese einfachen Organismen stellen eine erstaunliche Vielzahl an extrem komplexen und hochwirksamen Naturstoffen her.

¹ Informationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrums.

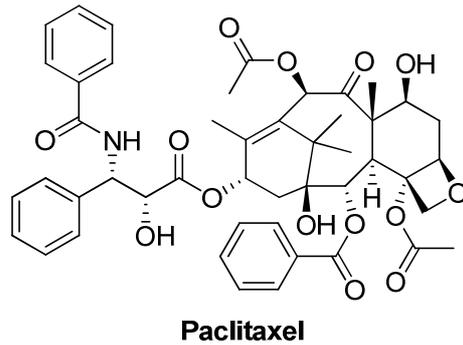


Abbildung 1.1: Struktur von Paclitaxel (Taxol®).

Aber auch Mikroorganismen dienen als reichhaltige Quelle für die Isolierung von pharmazeutisch interessanten Verbindungen.^[4] Besonders die Bodenbakterien sind dabei interessant, da diese Einzeller mit zahlreichen Organismen um Lebensraum konkurrieren. So haben diese ein beachtliches chemisches Arsenal entwickelt um unerwünschte Organismen in ihrem Wachstum zu hemmen oder abzutöten. Eine besonders interessante Art sind dabei die Myxobakterien.^[5] Das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI)² in Braunschweig kultivierte und erforschte in den letzten 30 Jahren über 6000 Stämme dieser Bakterien, wobei rund 100 unbekannte Strukturen mit mehr als 500 Derivaten isoliert wurden.^[6] Besonders viele dieser Verbindungen wirken dabei in unterschiedlicher Weise auf die Zellen höherer Organismen.

Die Myxobakterien sind gramnegative, stäbchenförmige Bakterien und besitzen einige bemerkenswerte Eigenschaften. So sind sie die einzigen bisher bekannten Prokaryoten, die im Übergang von einzelliger zu mehrzelliger Lebensweise stehen. Sie besitzen ein ausgeprägtes Sozialverhalten und bilden auf festem Nährboden Schwärme von einigen tausend Zellen um die Umgebung nach Nahrung abzusuchen, wobei sie sich durch Gleiten oder Kriechen fortbewegen. Man vermutet, dass die Kommunikation dabei durch interzelluläre Signale in Form von Botenstoffen erfolgt. Im Falle eines Nahrungsmangels schließen sich mehrere tausend Zellen zu Fruchtkörpern zusammen, die sich dann unter Ausbildung dicker Zellwände zu Myxosporen entwickeln können. In diesem Stadium können die Bakterien ungünstige Umweltbedingungen (z.B. Trockenheit) überdauern, indem Sie den Stoffwechsel herunterfahren und anschließend erneut auskeimen um neue Populationen zu gründen. Die einzelnen Arten bilden unterschiedliche Fruchtkörper und können an Hand ihres Aussehens klassifiziert werden (**Abbildung 1.2**). Die Myxobakterien haben, im Vergleich zu anderen Prokaryoten, sehr große Genome, die aus rund 9–12 Millionen Basenpaaren bestehen. Das Genom von *Sorangium cellulosum* ist mit

² Ehemals Gesellschaft für Biotechnologische Forschung.

mehr als 13 Millionen Basenpaaren das bisher größte bekannte bakterielle Genom überhaupt.^[7]

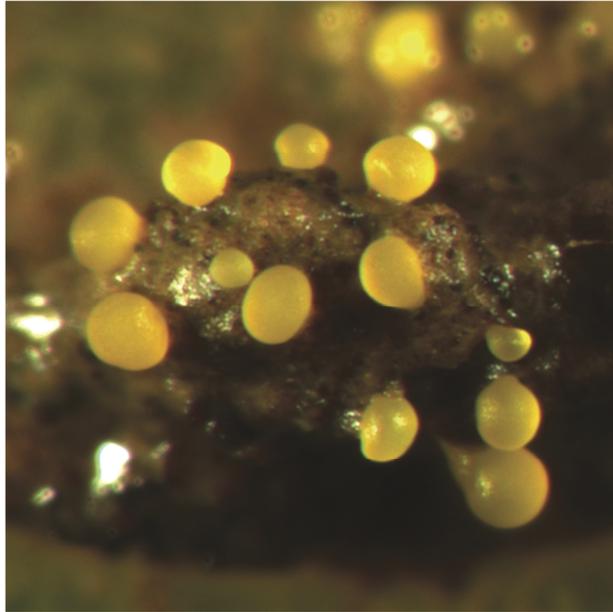


Abbildung 1.2: Fruchtkörper von *Myxococcus xanthus*.

Viele der isolierten Sekundärmetaboliten von Myxobakterien sind lineare oder cyclische Polyketide und Peptide bzw. eine Kombination aus einer Polyketidsequenz und einer Aminosäure.^[8] Diese Naturstoffe weisen recht unterschiedliche Wirkmechanismen auf. So inhibieren zum Beispiel einige Substanzen den Elektronentransport, während andere spezifisch eubakterielle RNA-Polymerasen hemmen. Eine erstaunliche Entdeckung war, dass etwa 10% der Verbindungen spezifisch mit dem Cytoskelett eukaryotischer Zellen wechselwirken, wodurch sie eine Störung fundamentaler Zellprozesse und letztlich den programmierten Zelltod (Apoptose) bewirken. Somit kommen diese Substanzen als potentielle Kandidaten für den Einsatz als Cytostatika in Frage. Eine kleine Auswahl dieser Sekundärmetaboliten ist in **Abbildung 1.3** dargestellt. Die Chondramide A–D sind cyclische Depsipeptide und wurden aus *Chondromyces crocatus* isoliert.^[9] Ihre cytotoxischen Eigenschaften beruhen auf der Stimulation der Aktin-Polymerisation³. Die entgegengesetzte Wirkung lässt sich beim Rhizopodin beobachten. Dieser Naturstoff, der aus *Myxococcus stipitatus* isoliert wurde, destabilisiert das Aktin und führt somit zur Apoptose.^[10] Das Disorazol A₁ ist ein makrocyclisches Polyketid, das vom Myxobakterium *Sorangium cellulosum* produziert wird.^[11] Es inhibiert die Proliferation diverser Krebszelllinien indem es die Polymerisation von Tubulin⁴ inhibiert. Die Epothilone A und B dagegen hemmen die Tubulin-Depolymerisation.^[12] Diese Klasse der Sekundärmetaboliten stammt ebenfalls aus *Sorangium Cellulosum*. Die Epothilone zeigen eine dem Taxol[®]

³ Aktin ist ein Strukturprotein des Cytoskeletts in eukaryotischen Zellen.

⁴ Tubulin ist ein kugelförmiges Protein und kommt in allen eukaryotischen Zellen vor.

nahezu identische Wirkungsweise und Aktivität. Allerdings haben die Epothilone den Vorteil, dass sie auch gegen Paclitaxel-resistente Zellen aktiv sind. Und da sie im Gegensatz zu dem Wirkstoff aus der Eibe bakteriellen Ursprungs sind, lassen sie sich fermentativ herstellen. Seit 2007 ist in den USA das Analoga Ixabepilon unter dem Handelsnamen Ixempra[®] auf dem Markt und dient zur Behandlung von fortgeschrittenem Brustkrebs. Bei diesem synthetischen Epothilon B-Derivat ist die Lacton-Funktion durch eine Lactam-Einheit substituiert. Alle beschriebenen Cytostatika wirken schon im picomolaren Bereich.

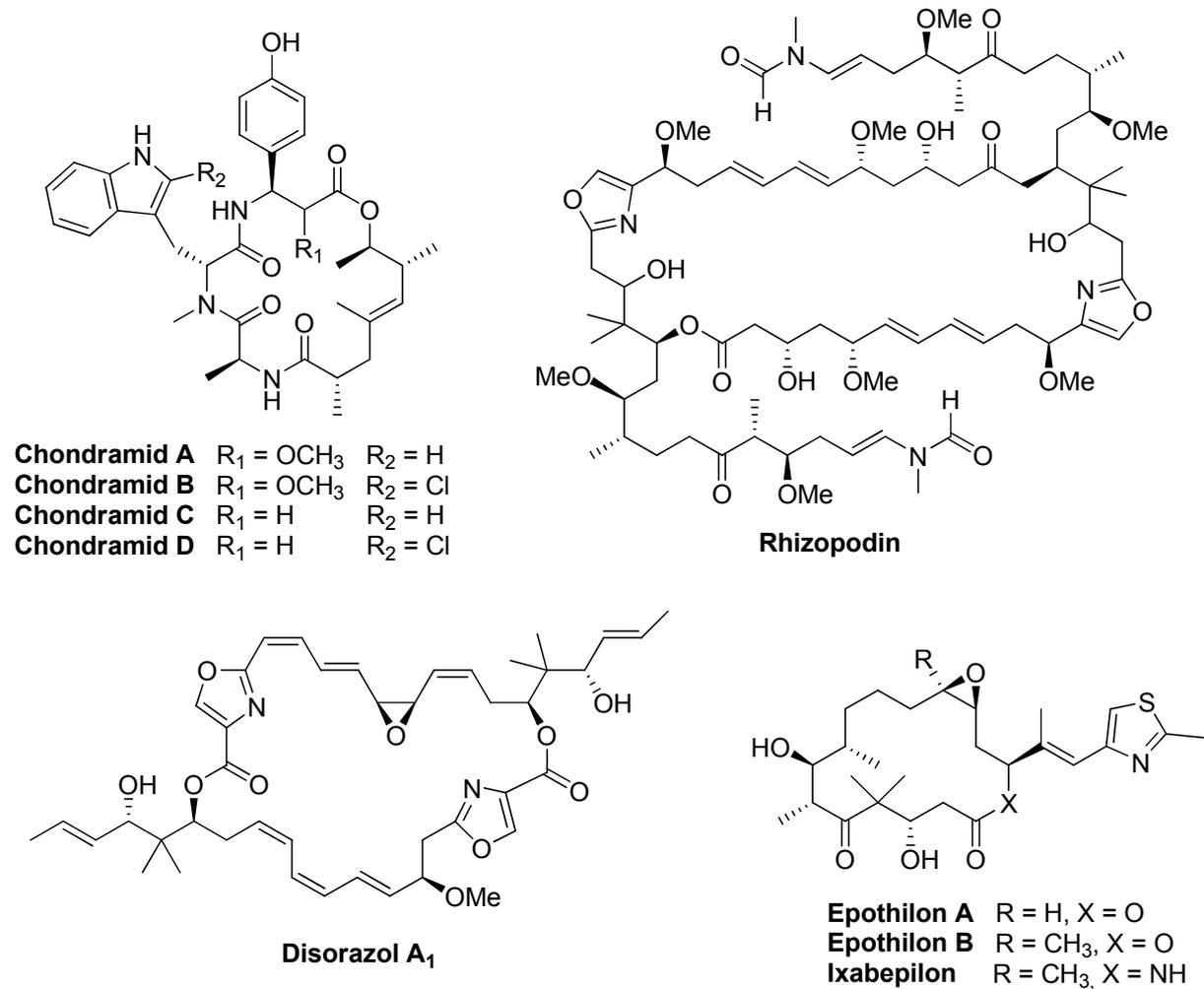


Abbildung 1.3: Myxobakterielle Sekundärmetaboliten mit cytostatischer Wirkung.

2 Kenntnisstand

2.1 Tubulysine

2.1.1 Struktur der Tubulysine

Während des Screenings nach neuen, biologisch aktiven Sekundärmetaboliten der Myxobakterien, stießen Höfle und Reichenbach im Jahr 2000 auf eine neue Substanzklasse, die eine bis dahin ungeahnte Cytotoxizität gegenüber L-929 Mausfibroblasten zeigten, die Tubulysine.^[13] Diese Substanzklasse wurde erstmals aus den Stämmen der Myxobakterien *Archangium gephyra* Ar 315 und *Angiococcus disciformis* An d48 isoliert, die diese Verbindungen in geringen Mengen produzieren (<4 mg/L). Bis 2009 waren neun verschiedene Tubulysine (A–I) bekannt (**Abbildung 2.1**). 2010 wurden von Müller *et al.* 23 weitere Vertreter in *Angiococcus Disciformis* An d48 und *Cystobacter SBCb 004* entdeckt.^[14]

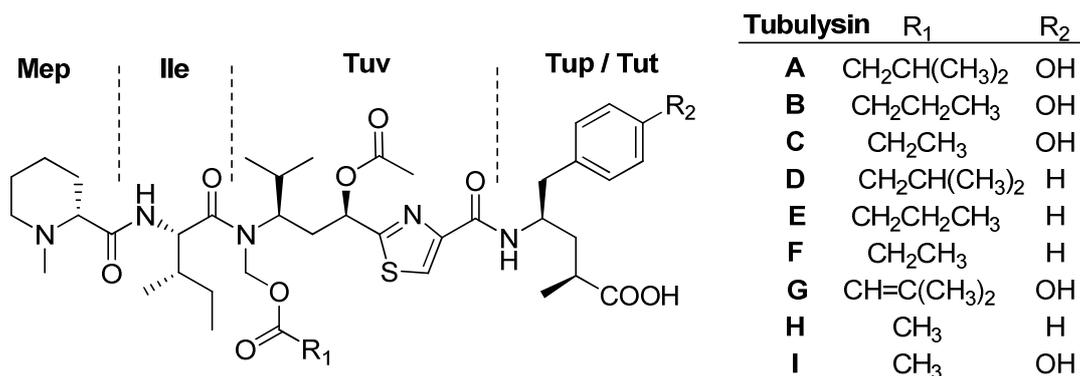


Abbildung 2.1: Strukturelle Diversität natürlicher Tubulysine.

Die Tubulysine sind eine Familie von Tetrapeptiden. Sie bestehen aus den Aminosäuren *N*-Methylpipercolinsäure (Mep) am *N*-terminalen Ende, dem Isoleucin (Ile) als einzige proteinogene Aminosäure und den beiden ungewöhnlichen Aminosäuren Tubuvalin (Tuv) sowie Tubuphenylalanin (Tup) bzw. Tubutyrosin (Tut). Während das Isoleucin die natürliche *L*-Konfiguration aufweist, liegt die Pipercolinsäure in der ungewöhnlichen *D*-Konfiguration vor. Die Thiazol-Aminosäure Tubuvalin besitzt zwei Stereozentren und leitet sich biosynthetisch von Valin ab. Dabei enthält sie Cystein als „versteckte“ Aminosäure. Das *C*-terminale Fragment besitzt ebenfalls zwei stereogene Zentren und basiert entweder auf Phenylalanin oder Tyrosin. Ein ungewöhnliches Strukturmerkmal ist das *N,O*-Acetal mit den verschiedenen Esterfunktionen im Tubuvalin-Mittelpart. Bei den Vertretern A–I sind sowohl die Tuv-Hydroxyfunktion acetyliert, als auch der Tuv-Stickstoff acyloxymethyliert, wohingegen die neu entdeckten Derivate sich hauptsächlich durch unterschiedliche Oxidations-

und Acylierungsmuster unterscheiden. Daher liegt die Vermutung nahe, dass es sich dabei um biosynthetische Intermediate oder hydrolytische Artefakte handelt.^[15] Die *N*-Alkylierung des Tubuvalins hat zur Folge, dass die Amidbindung bevorzugt in der *s-cis*-Konfiguration vorliegt, während im Normalfall das Gleichgewicht vollständig auf der Seite des *s-trans*-Amids liegt (**Abbildung 2.2**).

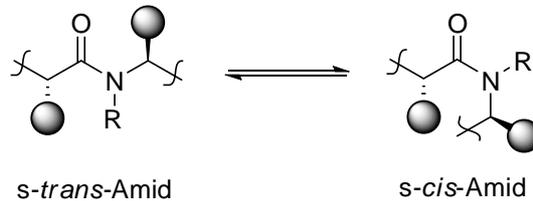


Abbildung 2.2: Gleichgewicht zwischen *s-cis*- und *s-trans*-Amid.

Die *N*-alkylierten Peptide besitzen oftmals weniger Wasserstoffbrückenbindungen und sind somit flexibler und membrangängiger. Dabei ist die Amidrotation gewöhnlich schneller, wodurch diese Peptide mit deutlich geringerem Energieverlust andere Rezeptorkonformationen erreichen können als gewöhnliche Peptide. Dies könnte mitunter die extrem hohe Aktivität der Tubulysine erklären. Dieses Strukturmerkmal findet man auch bei den Dolastatinen^[16] und Belamiden^[17].

Die Struktur und absolute Konfiguration der Tubulysine wurde zuerst durch saure Hydrolyse, Abbau und Partialsynthesen einzelner Bausteine aufgeklärt.^[18] Trotzdem blieben Zweifel bezüglich der Konfiguration des Tuv C-5 und des Tup C-2, da nicht ausgeschlossen werden konnte, dass die Konfiguration durch Derivatisierungen invertiert wurde. Da glücklicherweise das Tubulysin A in einem Methanol/Wasser-Gemisch spontan kristallisierte, konnte von dieser Verbindung eine Kristallstruktur aufgenommen werden, die die letzten Zweifel bezüglich der absoluten Konfiguration beseitigte (**Abbildung 2.3**).^[19]

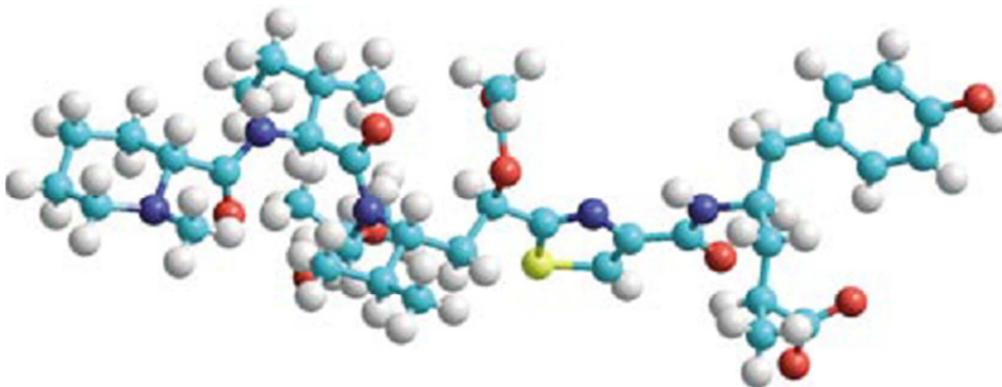


Abbildung 2.3: Kristallstruktur von Tubulysin A.

2.1.2 Biologische Aktivität der Tubulysine

Wie viele andere Sekundärmetaboliten der Myxobakterien zeigen die Tubulysine A–I eine extrem hohe Cytotoxizität gegenüber eukaryotischen Zellen, die sogar um den Faktor 20–1000 höher liegen als bei den anfangs erwähnten Naturstoffen Epothilon und Paclitaxel.^[19] Die Wirkung beruht dabei ebenfalls auf einer Wechselwirkung mit dem Cytoskelett. Genauso wie das Disorazol A₁ hemmen auch die Tubulysine die Tubulin-Polymerisation und führen somit zu einer Desintegration der Mikrotubuli, die essentiell sind für die Zellteilung (der genaue Wirkmechanismus wird im nächsten Kapitel erläutert). Dies führt letztlich zur Apoptose. In **Tabelle 2.1** sind die IC₅₀-Werte⁵ gegen zwei Zelllinien exemplarisch dargestellt. Während die Tubulysine bei den Mausfibroblasten L-929 schon teilweise im unteren pg-Bereich eine Aktivität zeigen, liegt der IC₅₀-Wert bei der multi-resistenten Zelllinie KB-V1 (Gebärmutterhalskarzinom) durchgängig im unteren ng-Bereich.

Tabelle 2.1: Biologische Aktivität der natürlichen Tubulysine A–I.

Tubulysin	L-929 ^a	KB-V1 ^b
	IC ₅₀ [ng/ml]	IC ₅₀ [ng/ml]
A	0.070	1.4
B	0.091	2.3
C	0.30	4.0
D	0.011	0.25
E	0.013	0.25
F	0.015	0.35
G	0.093	2.9
H	0.031	1.3
I	0.68	6.8

^a Mausfibroblasten, ^b Humanes Gebärmutterhalskarzinom (multi-resistente Zelllinie).

Die cytostatischen Eigenschaften wurden auch gegenüber zahlreichen anderen Krebszelllinien beobachtet, so z.B. Prostata-, Lungen-, Dickdarm- oder Brustkrebs.^[20] Außerdem wurde bei der biologischen Evaluierung der Tubulysine festgestellt, dass diese ebenfalls eine anti-angiogene Wirkung zeigen, die höher liegt als die von Taxol[®]. Unter Angiogenese versteht man die Blutgefäßneubildung. Diese ist für einen wachsenden Tumor essentiell, wenn er über eine Größe von wenigen Millimetern

⁵ Mittlere inhibitorische Konzentration bezogen auf das Zellwachstum.

hinauswachsen will, da die schnell wachsenden Zellen ausreichend mit Nährstoffen versorgt werden müssen. Diese hervorragenden biologischen Eigenschaften machen die Tubulysine zu exzellenten Kandidaten für neue Krebstherapeutika, die sich allerdings noch in klinischen Tests beweisen müssen. Dagegen zeigen die Tubulysine gegenüber Bakterien keinerlei Wirkung. Dies verwundert insofern nicht, da Tubulin in Bakterien nicht vorkommt. Außerdem weisen die Tubulysine nur eine sehr schwache fungizide Aktivität auf.

2.1.3 Prätubulysin

Müller *et al.* fanden während der Aufklärung des Biosyntheseweges einen neuen myxobakteriellen Naturstoff im Metabolom von *Angiococcus disciformis* An d48. Hochauflösende Massenspektrometrie lieferte m/z 670.3987, was mit der Summenformel $C_{36}H_{55}N_5O_5S$ im Einklang steht. Weil der neue Naturstoff die Struktur eines bereits zuvor postulierten Biosyntheseintermediates zu haben schien,^[21] wurde er Prätubulysin genannt.^[22] Das Prätubulysin entspricht dabei dem Tubulysinrückgrat ohne die Acetoxy- und Acyloxymethyl-Gruppen im Tubuvalin (**Abbildung 2.4**). Die Verbindung wurde durch Fütterungsexperimente und hochauflösende Massenspektrometrie charakterisiert und durch den Vergleich mit vollsynthetischem Material verifiziert. Die biologische Evaluation des Prätubulysins zeigte, dass die cytostatischen Aktivitäten gegenüber diversen Krebszelllinien zwar um den Faktor 1–50 geringer sind als die der Tubulysine A und D aber immer noch im unteren Nanomol- bzw. Picomolbereich liegen (s. Kapitel 2.4.6). Da aber die Synthese auf Grund der fehlenden Acetoxy-Gruppe und des *N,O*-Acetals ungleich leichter ist, ist das Prätubulysin eine hervorragende Leitstruktur zum Design vereinfachter aber dennoch potenter Analoga der Tubulysine als potentielle Antitumoragenzien.

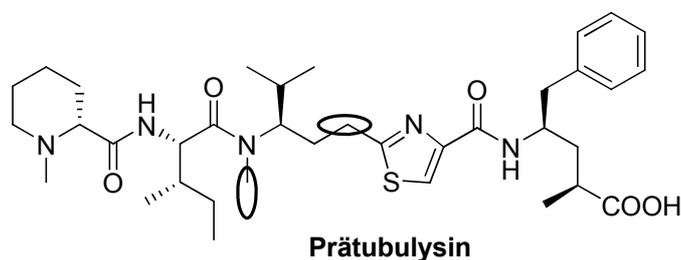


Abbildung 2.4: Prätubulysin, die biosynthetische Vorstufe von Tubulysin D.

2.2 Mikrotubuli als Angriffsziel antimitotischer Cytostatika

Alle eukaryotischen Zellen besitzen ein aus Proteinfilamenten aufgebautes Netzwerk, das sogenannte Cytoskelett. Dieses gibt der Zelle ihre äußere Form und ist darüber hinaus verantwortlich für die Bewegung der Zelle sowie den Transport ihrer subzellulären Strukturen. Zu diesen obligaten Strukturelementen gehören das Aktin, Intermediär-Filamente und die Mikrotubuli.

Die Mikrotubuli (MT) sind hohle, zylindrische Gebilde mit einem Außendurchmesser von 24 nm (Innendurchmesser 14 nm). Die Länge der MT in der Zelle variiert je nach Funktion und Objekt und kann Werte von mehr als 100 μm erreichen. Die Mikrotubuli sind aus Tubulin-Einheiten aufgebaut. Tubulin ist ein kugelförmiges Protein (Durchmesser 4 nm), das in zwei verschiedenen strukturellen Varianten vorkommt: α -Tubulin und β -Tubulin. Diese können sich zu einem α/β -Heterodimer zusammenlagern, was die eigentlichen Bausteine der Mikrotubuli sind.^[23] Die Polymerisation des Tubulins zum MT ist in **Abbildung 2.5** dargestellt.

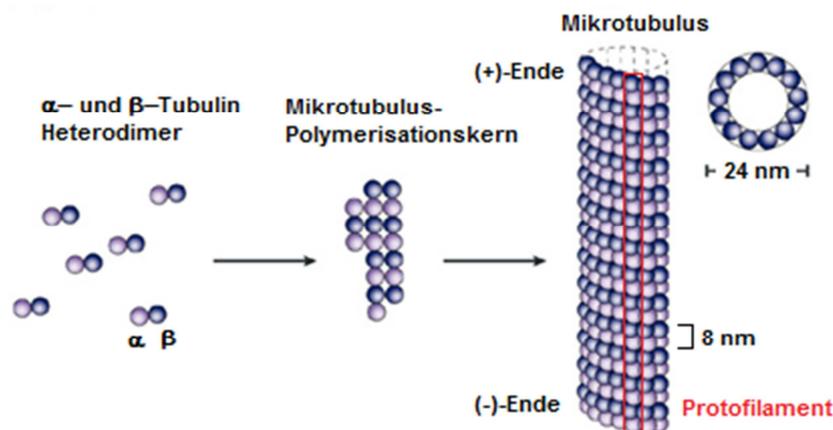


Abbildung 2.5: Tubulin-Polymerisation.^[24]

Der Prozess verläuft nach einem Nucleations-Elongations-Mechanismus^[25]. Die erste Phase ist die Nucleationsphase, bei der sich die Heterodimere zu Polymerisationskernen zusammenlagern. In der Elongationsphase lagern sich die Tubulindimere sehr schnell und reversibel an die Polymerisationskerne und bilden so die röhrenförmige Struktur aus, wobei die Wand aus dreizehn abwechselnd angeordneten und gegeneinander versetzten Protofilamenten besteht (helikale Anordnung). Diese Protofilamente sind parallel zur Mikrotubulus-Achse angeordnet und bestehen abwechselnd aus α - und β -Tubulin-Molekülen, wodurch eine polare Struktur entsteht, was wiederum zu einer einheitlichen Polarität des gesamten Mikrotubulus führt. Die beiden Enden eines MT unterscheiden sich in ihrer Nettoassoziationsrate von Tubulindimeren. Während an dem sogenannten (+)-Ende die Anlage-

Die Ablösung der Tubulinmoleküle überwiegt, findet am (-)-Ende bevorzugt die Ablösung statt.

Die Mikrotubuli sind keine statischen Strukturen, sondern dynamische Polymere, die zwei Arten von Nichtgleichgewichtsdynamiken unterliegen, der dynamischen Instabilität und dem *Treadmilling* (**Abbildung 2.6**)^[24]. Bei der dynamischen Instabilität wechseln sich die beiden Enden bezüglich ihrer Assoziationsrate ab. So können sich die Mikrotubuli in beliebige Richtungen verkürzen oder verlängern. Beim *Treadmilling* werden dagegen am (+)-Ende so viele Dimer-Einheiten angelagert wie am entgegengesetzten (-)-Ende abgegeben werden. Dadurch behält der MT zwar die gleiche Länge, ist aber in der Lage sich durch den Raum fortzubewegen.

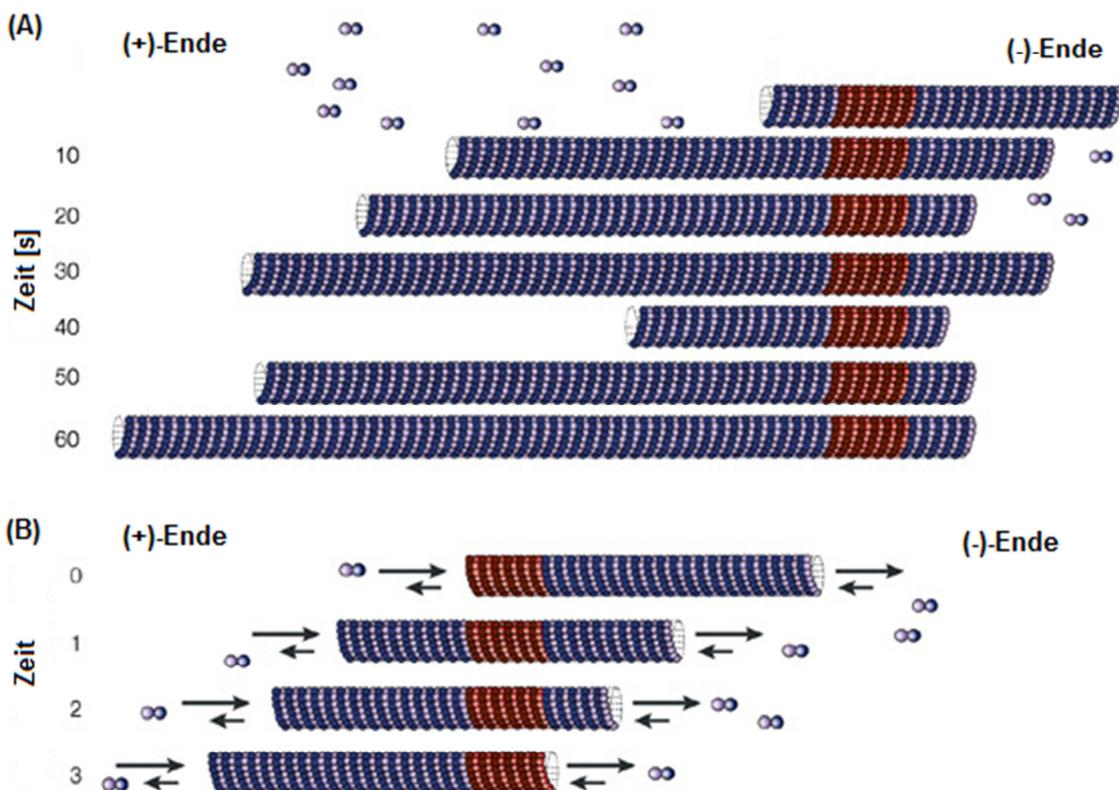


Abbildung 2.6: Dynamische Instabilität (A) und *Treadmilling* (B) in den MT.^[24]

Dieses dynamische Verhalten macht sich die Zelle während des Zellcyclus zu nutze. So spielen die Mikrotubuli eine essentielle Rolle bei der Zellkernteilung, der Mitose. Dies ist ein fundamentaler Prozess während der Zellteilung und ist in mehrere Phasen unterteilt. Während dieses Vorganges bilden die Mikrotubuli einen sogenannten „Spindelapparat“ aus, der dafür sorgt, dass die beiden identischen Tochter-Chromatiden, die durch die Teilung der Chromosomen entstehen, zu gleichen Teilen auf die beiden neuen Zellen verteilt werden. Dies ist wichtig, damit die beiden neuen Zellen nach der Teilung die gleiche Erbinformation enthalten.

Und genau an dieser Stelle kommt das Tubulysin ins Spiel. Dieser antimittotische Wirkstoff hemmt die Tubulin-Polymerisation und führt zur Desintegration der Mikrotubuli.^[26] Dadurch wird verhindert, dass der „Spindelapparat“ korrekt funktioniert, was letztendlich zum Zelltod führt. Die Wirkung ist in **Abbildung 2.7** illustriert. Bei diesem Experiment wurden PtK2-Zellen einmal ohne Tubulysin A (linkes Bild) und einmal mit Tubulysin A (rechtes Bild) vier Stunden inkubiert. Die Bilder zeigen Aufnahmen mit einem Fluoreszenzmikroskop, wobei die Chromosomen bzw. Zellkerne blau und die Mikrotubuli-Netzwerke grün eingefärbt sind. Das Kontrollexperiment (A) zeigt ein intaktes Mikrotubuli-Netzwerk der Mitose, während man in den mit Tubulysin A behandelten Zellen (B) den Abbau der Mikrotubuli erkennen kann. Hier ist das Netzwerk weniger dicht.

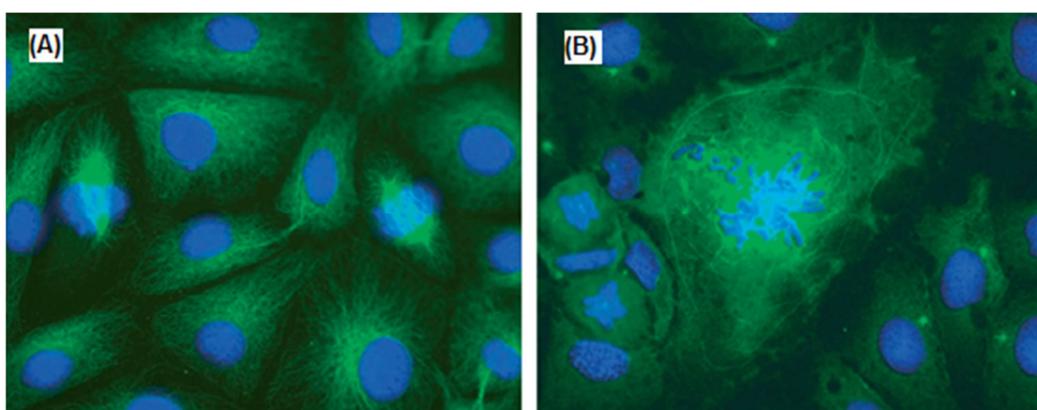
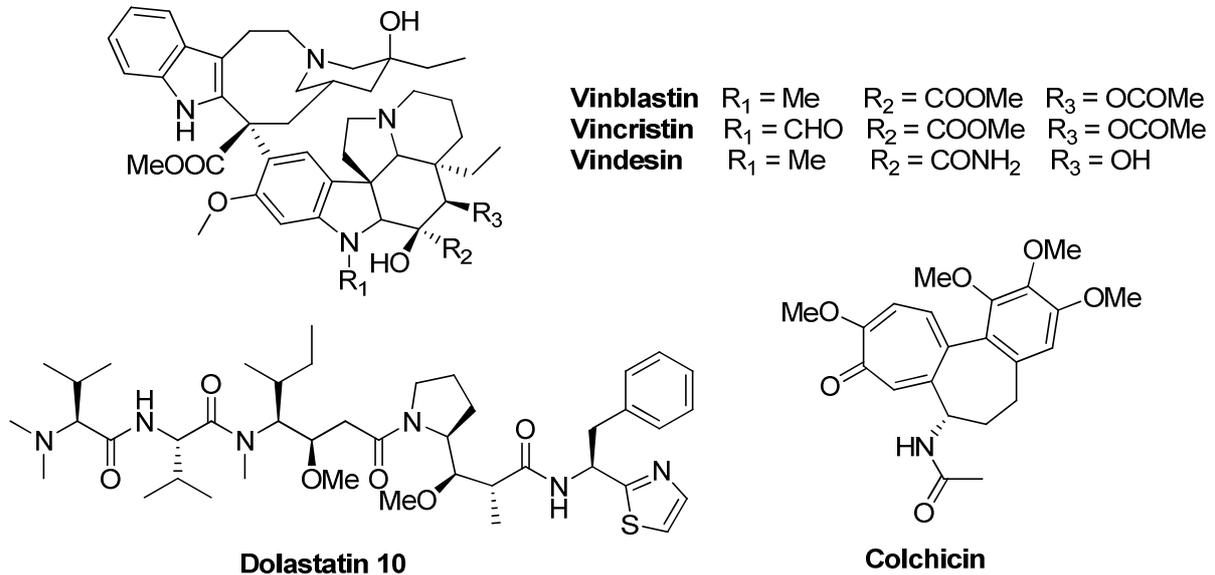


Abbildung 2.7: PtK2-Nierenzellen ohne Tubulysin (A) und mit Tubulysin A (B).^[26]

In **Abbildung 2.8a** sind einige weitere Naturstoffe mit antimittotischer Wirkung dargestellt, die ebenso wie die Tubulysine die Tubulin-Polymerisation hemmen. Die ersten Naturstoffe, die in der klinischen Onkologie benutzt wurden, sind die *bis*-Indol-Alkaloide Vinblastin und Vincristin.^[27] Sie gehören zu den sogenannten *Vinca*-Alkaloïden und wurden vor 50 Jahren erstmals aus der Strandschnecke *Vinca rosea* isoliert. Das Vindesin ist ein synthetisches Analogon der *Vinca*-Alkaloïde und wird ebenfalls klinisch genutzt. Das Vinblastin bindet an eine Region der β -Untereinheit der Tubulin-Heterodimere am (+)-Ende der Mikrotubuli, die daher als *Vinca*-Domäne bezeichnet wird (**Abbildung 2.9**). Das Colchicin dagegen bildet einen nahezu irreversiblen Komplex mit freiem Tubulin. Dieser Komplex wird dann mit Tubulin-Dimeren zu den Mikrotubuli copolymerisiert. Zwar besitzen die Enden dieses MT noch die Möglichkeit zu wachsen, allerdings wird deren Dynamik unterdrückt.^[28] Aus struktureller und biosynthetischer Sicht ist das Dolastatin 10, welches von Pettit *et al.* aus dem Seehasen *Dolabella auricularia* isoliert wurde, mit dem Tubulysin eng verwandt. Beide Verbindungen sind Polypeptid-Polyketid-Hybriden mit einer ähnlichen Anzahl an Aminosäuren. Diese Ähnlichkeiten lassen vermuten, dass sie

evolutionstechnisch aus einem gemeinsamen bakteriellen Biosynthese-Genpool abstammen.

a) Mikrotubuli-destabilisierende Cytostatika



b) Mikrotubuli-stabilisierende Cytostatika

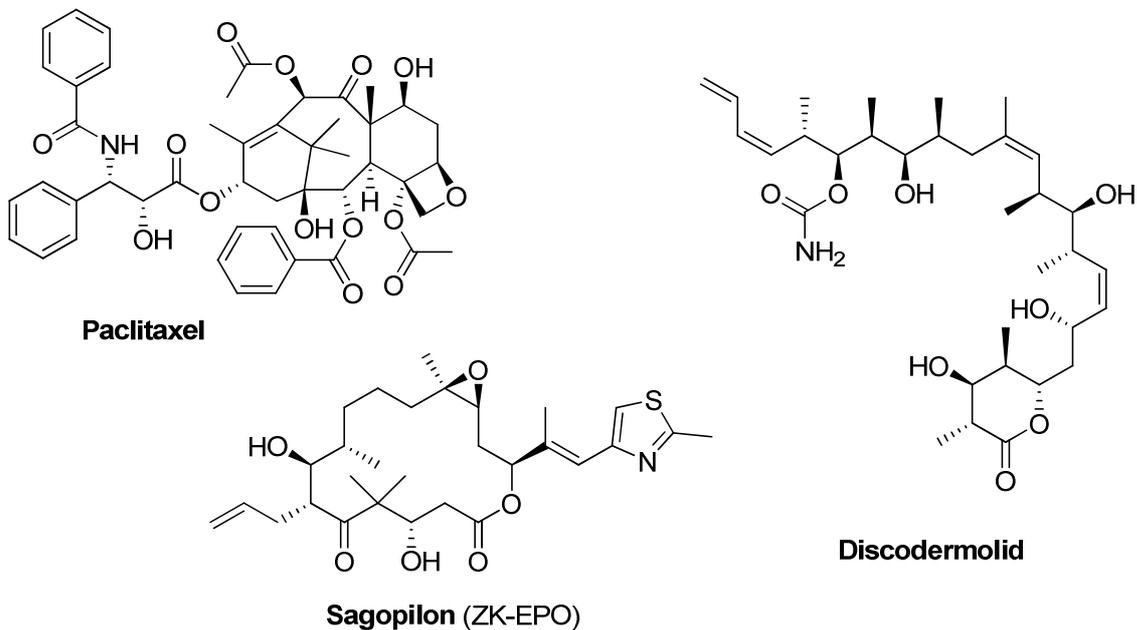


Abbildung 2.8: Antimitotisch wirksame Naturstoffe.

Daneben gibt es auch antimitotische Wirkstoffe, die einen genau entgegengesetzten Wirkmechanismus zu den oben beschriebenen Naturstoffen aufweisen. Diese Verbindungen induzieren eine Polymerisation und hemmen somit die Depolymerisation der Mikrotubuli, was ebenfalls zur Apoptose führt (**Abbildung 2.8b**). Das berühmteste Beispiel ist das in der Einleitung beschriebene Paclitaxel aus der Familie der Taxane, welches als Taxol[®] auf dem Markt ist. Dieses bindet an die

β -Untereinheit auf der inneren Oberfläche der Mikrotubuli-Röhren (**Abbildung 2.9**). Die Taxan-Bindungsstelle konnte durch Elektronenkristallstruktur genau lokalisiert werden.^[29] Das Sagopilon ist ein vollsynthetisches Epothilon-Derivat, welches in seiner Aktivität sogar die Taxane übertrifft. Es wurde von *Bayer-Schering* entwickelt und durchläuft zurzeit fortgeschrittene klinische Studien zur Behandlung verschiedener Krebsleiden wie z. B. kleinzelligem Lungenkrebs und Prostata-Krebs.^[30] Ein letztes Beispiel ist das Discodermolid. Dabei handelt es um einen marinen Naturstoff aus dem Schwamm *Discodermia dissoluta*. Novartis brachte die Verbindung ebenfalls in die klinische Studie. Dabei stellte sich jedoch schnell heraus, dass der Naturstoff toxische Nebenwirkungen besitzt. Allerdings dient das Discodermolid immer noch als Leitstruktur für synthetische Analoga.

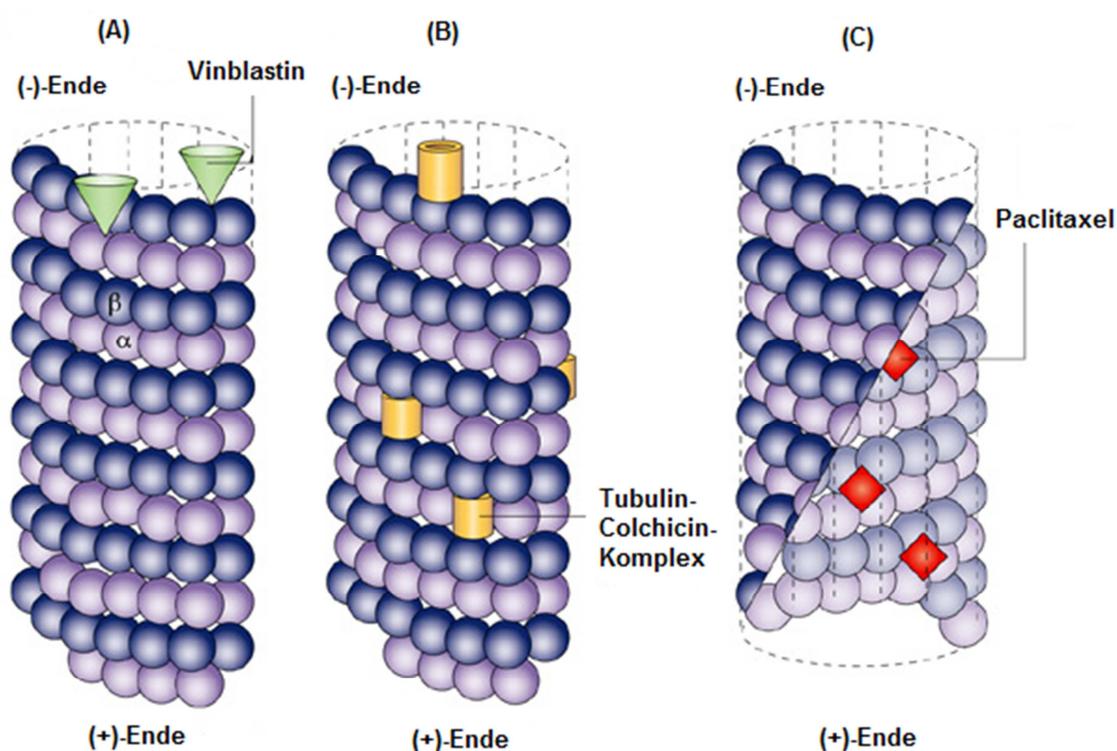


Abbildung 2.9: Verschiedene Bindungsdomänen in den Mikrotubuli.^[24]

Im Falle des Tubulysins konnte die Bindungsregion im Tubulin bzw. in den Mikrotubuli bis heute nicht lokalisiert werden. Jedoch zeigten Bindungsexperimente, dass Tubulysin A die Bindung von Vinblastin an Tubulin stark allosterisch⁶ hemmt, während die Bindung von Colchicin nur geringfügig gehindert wird. Ein ähnliches Verhalten zeigen auch andere antimittotische Wirkstoffe mit einer peptidischen Struktur, wie z. B. Dolastatin 10. Dagegen weisen makrolidische Antimitotika sehr wohl eine kompetitive Hemmung gegenüber den *Vinca*-Alkaloiden auf. Daher liegt die Vermutung nahe, dass es zwei Bindungstaschen im Bereich der *Vinca*-Domäne

⁶ Wirkstoffe konkurrieren nicht um die gleiche Bindungsstelle (auch nicht-kompetitive Hemmung).

gibt, nämlich eine *Vinca*-Stelle und eine Peptidstelle.^[31] Vor kurzer Zeit wurde von Carlomagno *et al.* die Bindungskonformation des Tubulysins durch NMR-Experimente aufgeklärt.^[32] Dabei stellte sich heraus, dass sich diese komplett von der freien Konformation in Lösung unterscheidet. Dies ist ein weiterer Schritt bei der Suche nach der Bindungsdomäne der Tubulysine.

2.3 Biosynthese bakterieller Naturstoffe

Da viele interessante bakterielle Naturstoffe hochkomplexe Strukturen aufweisen ist die Totalsynthese dieser Verbindungen oftmals nicht trivial, in einigen Fällen sogar schier unmöglich. Der Zeitaufwand für die Entwicklung einer solchen Synthese ist darüber hinaus immens. Daher ist es neben dem vollsynthetischen Zugang zu diesen Wirkstoffen ebenso wichtig, diese durch Fermentation zu gewinnen. Da aber die fermentativen Ausbeuten oftmals nur einige Milligramm pro Liter Zellkultur betragen, müssen diese Ausbeuten durch Genmanipulation der produzierenden Bakterien gesteigert werden. Um dies effektiver gestalten zu können ist es von großer Bedeutung den Biosyntheseweg der Naturstoffe aufzuklären, um zu wissen an welchen Stellen im Genom die beteiligten Enzyme codiert sind. So wurden von Müller *et al.* die Biosynthesen einiger myxobakterieller Sekundärmetabolite, wie z. B. Chondramid C und Myxochromid S₁, aufgeklärt (**Abbildung 2.10**).^[33]

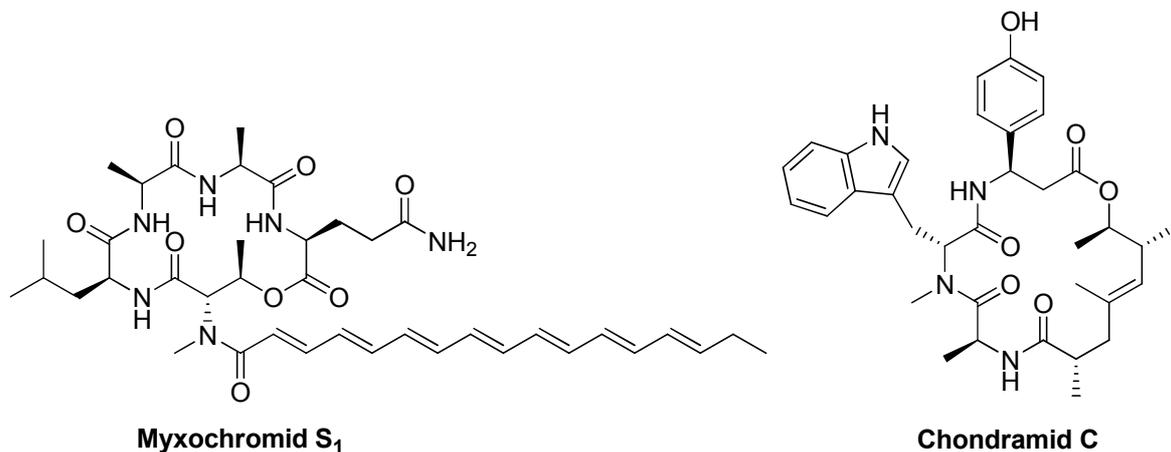


Abbildung 2.10: Beispiel für biosynthetisch gut untersuchte myxobakterielle Naturstoffe.

2.3.1 Allgemeine Funktionsweise der bakteriellen Biosynthese

Bevor nun auf die Biosynthese der Tubulysine eingegangen wird, soll zuerst die allgemeine Funktionsweise der bakteriellen Biosynthese erklärt werden. Viele Sekundärmetabolite von Bakterien und Pilzen weisen eine hybride Struktur aus

niedermolekularen Polyketiden und Polypeptiden auf. Diese Naturstoffe werden von sogenannten Megaenzymen synthetisiert. Dabei unterscheidet man Polyketidsynthasen (PKS) und nichtribosomale Peptidsynthetasen (NRPS).^[34]

2.3.1.1 Polyketid-Biosynthese^[35]

Die Polyketidsynthasen (PKS) sind multifunktionale Proteinkomplexe, die sich je nach Aufbau und Katalysemechanismus in drei unterschiedliche Typen einteilen lassen. PKS vom Typ I bestehen aus mehreren Modulen, die für die Selektivität, den Einbau eines Monomeren in die wachsende Kette sowie etwaige Modifikationen zuständig sind. Diese Module wiederum sind in Domänen unterteilt, in denen die einzelnen Katalyseschritte ablaufen (**Abbildung 2.11**). Dabei differenziert man zwischen Kern- und optionalen Domänen. Im Verlauf der Biosynthese wird jedes Modul nur einmal verwendet und das wachsende Intermediat nach jedem Syntheseschritt an das nachfolgende Modul weitergereicht. Nach dem Einbau des letzten Monomers wird das Biosyntheseintermediat entweder durch Hydrolyse oder Cyclisierung vom Multienzymkomplex abgespalten. Dieser Vorgang wird durch eine Thioesterase katalysiert.

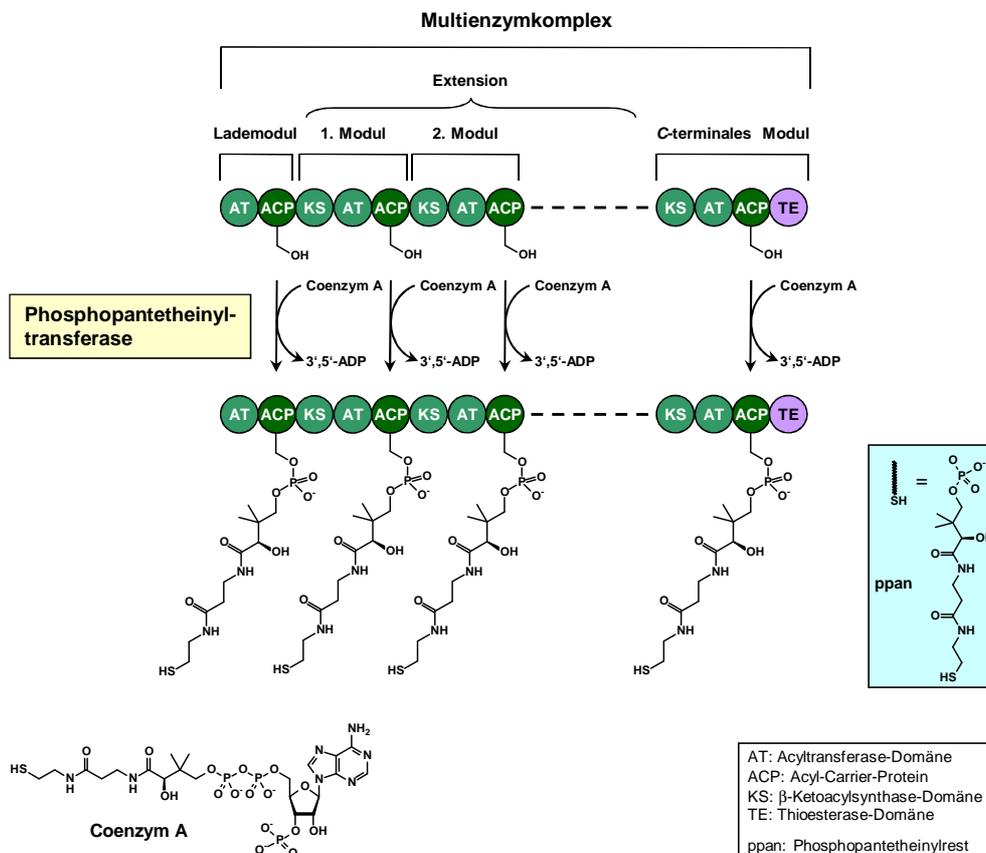


Abbildung 2.11: Posttranslationale Aktivierung eines Multienzymkomplexes.^[22b]

Zur Grundausstattung eines Elongationsmoduls gehören neben dem Acyl-Carrier-Protein (ACP) die Acyltransferase- (AT) sowie eine β -Ketoacylsynthase-Domäne (KS). Das ACP ist verantwortlich für die kovalente Verknüpfung und die Übertragung der Intermediate von einem Modul auf das nächste. Vor dem Beginn der Biosynthese müssen diese Domänen posttranslational aktiviert werden, indem ein Phosphopantetheinylrest (ppan) vom Coenzym A (CoA) auf einen konservierten Serinrest des ACP übertragen wird. Diese ATP-abhängige Reaktion wird von einer Phosphopantetheinyltransferase katalysiert. An der Thiofunktion des ppan-Armes werden die Intermediate als Thioester gebunden. In der Modellvorstellung fungiert der ppan-Rest als schwingender Arm, der die wachsende Kette zum nächsten Modul weiterreicht. Die KS und AT sind während der Biosynthese für die eigentliche Verlängerung der wachsenden Ketidkette zuständig.

Die Biosynthese beginnt mit der substratspezifischen Beladung der AT im Lademodul (**Abbildung 2.12**). Dieses Lademodul besteht im Gegensatz zu den Elongationsmodulen nur aus einer AT- und einer ACP-Domäne. Dabei fungieren die CoA-Thioester kurzkettiger Carbonsäuren (Acetyl-CoA bzw. Propionyl-CoA) als Substrate. Entsprechend werden die AT-Domänen der Elongationsmodule mit Malonyl- oder Methylmalonyl-CoA beladen. Nach der Weiterreichung des Substrates an die KS des ersten Elongationsmoduls katalysiert die β -Ketidsynthese die Verknüpfung der einzelnen Carbonsäuren. Durch Decarboxylierung des am ACP gebundenen Malonylrestes entsteht formal ein Carbanion, welches dann am Thioester der KS-Domäne nucleophil angreift.

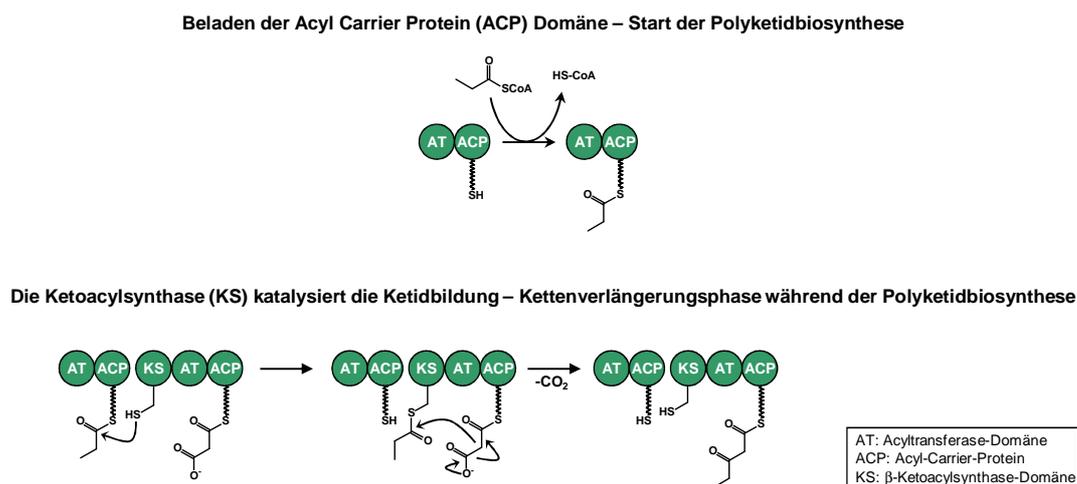


Abbildung 2.12: Schematische Darstellung der Polyketidbiosynthese. [22b]

Nach diesem Schritt ist das um zwei C-Einheiten verlängerte Intermediat kovalent an das ACP gebunden und wird von dort an das nächste Elongationsmodul

weitergereicht. Die Reaktionsabfolge wiederholt sich bis das fertige Polyketid von der TE im letzten Modul vom Multienzymkomplex abgespalten wird.

Die β -Ketogruppen des wachsenden Polyketids können zu verschiedenen Oxidationsstufen reduziert werden. Dafür sind optionale Domänen im jeweiligen Modul verantwortlich, die eine sogenannte „reduktive Schleife“ bilden (**Abbildung 2.13**). In einer NADPH-abhängigen Reaktion kann die β -Ketogruppe durch eine β -Ketoacylreduktase-Domäne (KR) zur Hydroxyfunktion reduziert werden. Der Alkohol kann dann wiederum durch eine Hydroxy-Dehydratase-Domäne (DH) unter Eliminierung von Wasser in das α,β -ungesättigte Derivat überführt werden. Unter Verbrauch eines weiteren NADPH-Moleküls kann dann das Enoyl letztendlich zum Alkanoyl reduziert werden. Dieser Schritt wird durch eine Enoylreduktase-Domäne (ER) katalysiert. Bei der mechanistisch verwandten Fettsäurebiosynthese werden im Gegensatz zur Polyketidsynthese immer alle Reduktionsstufen durchlaufen.

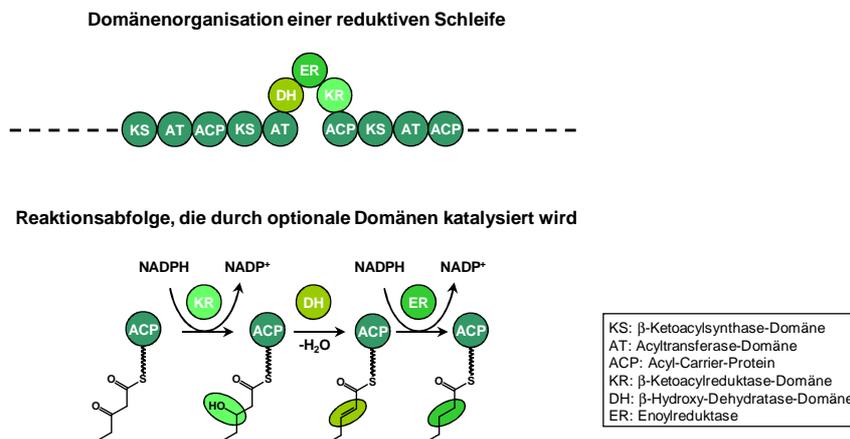


Abbildung 2.13: Reduktive Schleife einer PKS. [22b]

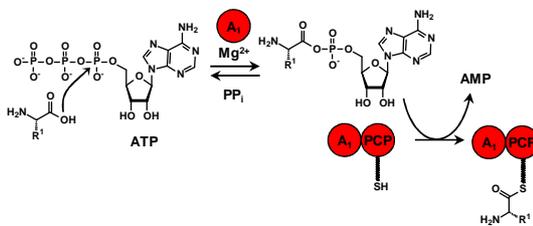
Die PKS vom Typ II sind aus monofunktionalen Proteinen aufgebaut und verwenden ausschließlich Malonyl-CoA zur Kettenverlängerung. Zudem finden sich in den Extentionsmodulen im Vergleich zur PKS I keine reduktiven Schleifen. Die Multienzymkomplexe PKS III verknüpfen ebenfalls CoA-einheiten, die aber im Gegensatz zur PKS I nicht kovalent an den Enzymkomplex gebunden werden.

2.3.1.2 Nichtribosomale Peptidsynthese^[36]

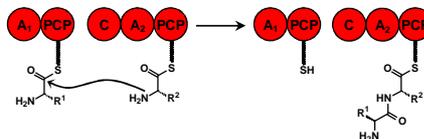
Die nichtribosomalen Peptidsynthetasen sind ebenfalls multifunktionale Enzymkomplexe, die einen ähnlichen modularen Aufbau wie die PKS aufweisen. Der große Unterschied ist, dass bei der NRPS Aminosäuren (proteinogene und nicht proteinogene) verwendet werden. Ein typisches Extentionsmodul besteht aus Adenylierungs-Domäne (A), Peptidyl-Carrier-Protein (PCP) und Kondensationsdomäne (C) (**Abbildung 2.14**). Das Lademodul dagegen besteht nur aus einer A- und C-Domäne

ne. Das PCP ist das Pendant zum ACP in der PKS und muss ebenfalls posttranslational aktiviert werden. Die A-Domäne eines Moduls dient zur spezifischen Substraterkennung. Außerdem aktiviert sie die Aminosäure in einer ATP-abhängigen Reaktion als energiereiches Aminoacyladenylat und überträgt dieses auf die folgende PCP, wo die Aminosäure als Thioester kovalent gebunden wird. Die Substratspezifität wird dabei von acht nicht konservierten Aminosäuren innerhalb der hydrophoben Bindungstasche bestimmt.^[37] Die Kettenverlängerung wird durch die C-Domäne katalysiert. Dabei greift die Aminogruppe eines Acylrestes den Thioester des am vorgelagerten Modul gebundenen Peptidyl- bzw. Aminoacylrestes an, wobei die Peptidbindung geknüpft wird. Die Schritte werden solange wiederholt bis das fertige Polypeptid im letzten Schritt durch Hydrolyse oder Makrolactamisierung mittels TE vom Multienzymkomplex abgespalten wird.

Beladen der Peptidyl Carrier Protein (PCP) Domäne – Start der nichtribosomalen Peptidbiosynthese



Kettenverlängerungsphase während der nichtribosomalen Peptidbiosynthese



Abspaltung des Polypeptids vom Multienzymkomplex durch die Thioesterase (TE) Domäne

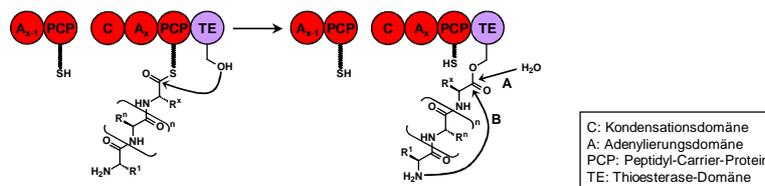


Abbildung 2.14: Funktionsweise einer NRPS.^[22b]

Genauso wie bei der PKS können auch in den Modulen der NRPS optionale Domänen auftreten, die das wachsende Polypeptid in vielfältigster Weise modifizieren. Dadurch kommt es im Vergleich zur ribosomalen Peptidsynthese, bei der nur bedingte posttranslationale Modifikationen möglich sind, zu einer enormen strukturellen Vielfalt. Zu den optionalen Domänen gehören Epimerisierungsdomänen (E), Methyltransferase-Domänen (MT), Heterocyclisierungsdomänen (HC) und Oxidations- (Ox) bzw. Reduktionsdomänen (R) (**Abbildung 2.15**).

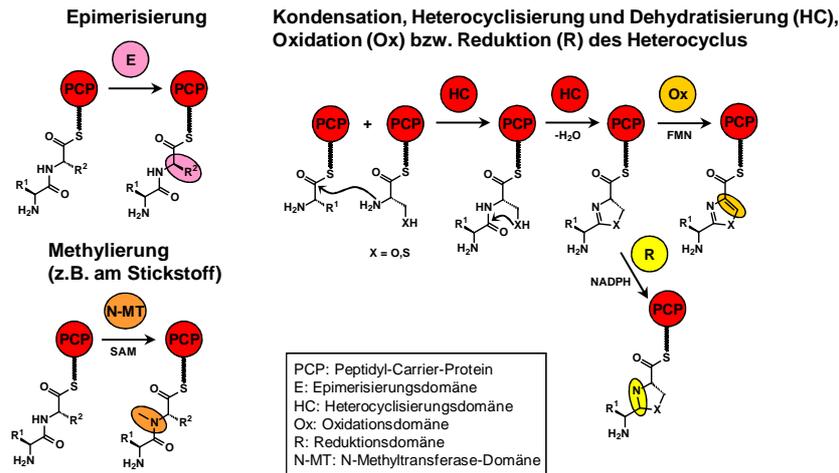


Abbildung 2.15: Optionale Domänen der NRPS.^[22b]

Die E-Domäne katalysiert die Retention des entsprechenden Stereozentrums und sorgt so für den Zugang zu den unnatürlichen D-Aminosäuren. Die MT überträgt eine Methylgruppe von S-Adenosyl-Methionin auf ein Kohlenstoff-, Sauerstoff- oder Stickstoffatom. Durch die HC-Domäne werden Peptide mit Cystein oder Serin bzw. Threonin unter Wasserabspaltung zu den entsprechenden Thiazolin- bzw Oxazolin-Derivaten cyclisiert, die dann entweder durch eine O-Domäne zum jeweiligen Heteroaromaten oxidiert oder durch eine R-Domäne zum vollständig gesättigten Heterocyclus reduziert werden können. Die Reduktasen sind im Gegensatz zu den Oxidasen keine integralen Bestandteile der Module, sondern externe Enzyme.

2.3.2 Biosynthese der Tubuly sine

Im Rahmen einer Dissertation im AK Müller wurde von A. Sandmann der Biosynthesegencluster aus dem Myxobakterium *Angiococcus disciformis d48* identifiziert, der für die Biosynthese des Tubuly sin D verantwortlich ist.^[21] Der sequenzierte Gencluster codiert eine hybride Megasy nthesetase, die aus PKS und NRPS aufgebaut ist (**Abbildung 2.16**). Die einzelnen Untereinheiten des Multienzymkomplexes werden dabei durch sogenannte *Docking*-Proteine verbunden.^[38] Die Biosynthese besteht aus 30 Schritten und startet mit der Synthese von Pipecolinsäure. Dabei codiert die Lysin-Cyclodeaminase TubZ die Cyclisierung von L-Lysin zu L-Pipecolinsäure. Durch Fütterungsexperimente von deuterierter L- und D-Pipecolinsäure konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass die Starteinheit L-Pipecolinsäure ist, da nur diese in deuterierter Form von den Bakterien akzeptiert wurde.^[14] Dadurch kann man rückschließen, dass es irgendwann während der Biosynthese zu einer Retention des Stereozentrums der Pipecolinsäureeinheit kommt.

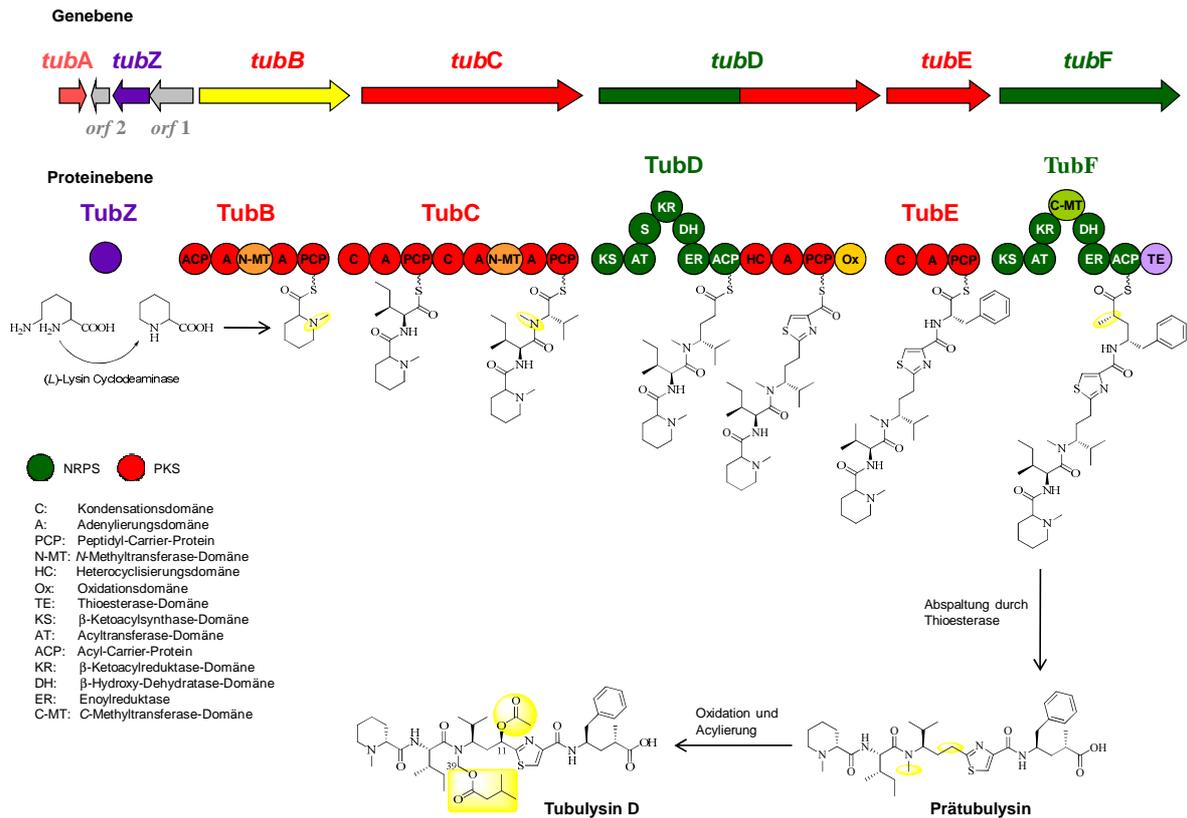


Abbildung 2.16: Modell der Biosynthese von Tubulysin D.

Allerdings ist bis heute nicht geklärt zu welchem Zeitpunkt der Biosynthese die Epimerisierung stattfindet. Nach der Cyclisierung wird die Pipecolinsäure als Startereinheit an das Lademodul TubB gebunden. Dort wird sie von einer MT am Stickstoff methyliert und anschließend an das nächste Modul weitergereicht. Im TubH-Modul wurde auch eine C-Domäne lokalisiert, deren Funktion jedoch weiterhin unbekannt ist. Das TubC-Modul beinhaltet zwei Kondensationsdomänen. Hier wird die N-methylierte Pipecolinsäure zuerst mit L-Isoleucin zum Dipeptid und anschließend mit L-Valin zum Tripeptid geknüpft. Eine N-Methyltransferase katalysiert die Methylierung des Valin-Stickstoffes bevor das Tripeptid an das TubD weitergereicht wird. Dieses Modul besteht aus einer PKS und einer NRPS. In der PKS wird das Valin mit Malonat um eine C₂-Einheit verlängert und mittels „reduktiver Schleife“ vollständig reduziert. Die „reduktive Schleife“ weist dabei eine ungewöhnliche Domänenanordnung auf, da der biochemische Reaktionsverlauf von KR über DH zu ER erfolgt und nicht wie in anderen literaturbekannten PKS-System von DH über ER nach KR. Desweiteren befindet sich in der „reduktiven Schleife“ eine „Spacerregion“ S, die eine stabilisierende Rolle für die dreidimensionale Struktur des Enzyms spielt. Im NRPS-Teil katalysiert dann die HC-Domäne die Peptidknüpfung mit L-Cystein und die Cyclisierung zum Thiazolin. Die letzte Domäne oxidiert das Thiazolin zum Thiazol.

Das nächste Modul (TubE) katalysiert die Kondensation mit L-Phenylalanin bzw L-Tyrosin. Anschließend wird das Tetrapeptid an das letzte Modul (TubF) weitergereicht. Dabei handelt es sich um eine PKS. Hier wird das Phenylalanin bzw. Tyrosin mittels Malonat-Einheit verlängert und anschließend durch eine weitere „reduktive Schleife“ vollständig reduziert. Auch diese „reduktive Schleife“ besitzt die gleiche ungewöhnliche Domänenanordnung wie das TubD. Zusätzlich befindet sich in dem Modul zwischen KR und DH eine Methyltransferase, die die α -Position des verlängerten Phenylalanins methyliert.

Die TE im letzten Modul katalysiert die Hydrolyse des Tetrapeptides als freie Säure. Dieses erste Enzym-freie Syntheseintermediat ist das Prätubulysin. Es wurde 2004 von Sandmann postuliert und 2008 von Kazmaier und Müller durch Vergleich mit vollsynthetischem Material nachgewiesen.^[22] Das Prätubulysin muss noch an Position C-11 und C-39 hydroxyliert und acyliert werden. Für die Oxidationsschritte werden P450-Monooxygenasen erwartet. Allerdings konnten innerhalb des Biosynthesegenclusters keine entsprechenden Gene lokalisiert werden. Möglicherweise werden die Monooxygenasen an einer anderen Stelle des bakteriellen Genoms codiert. Die Acyltransferasen, die zur Bildung des fertigen Tubulysins nötig sind, konnten ebenfalls noch nicht identifiziert werden.

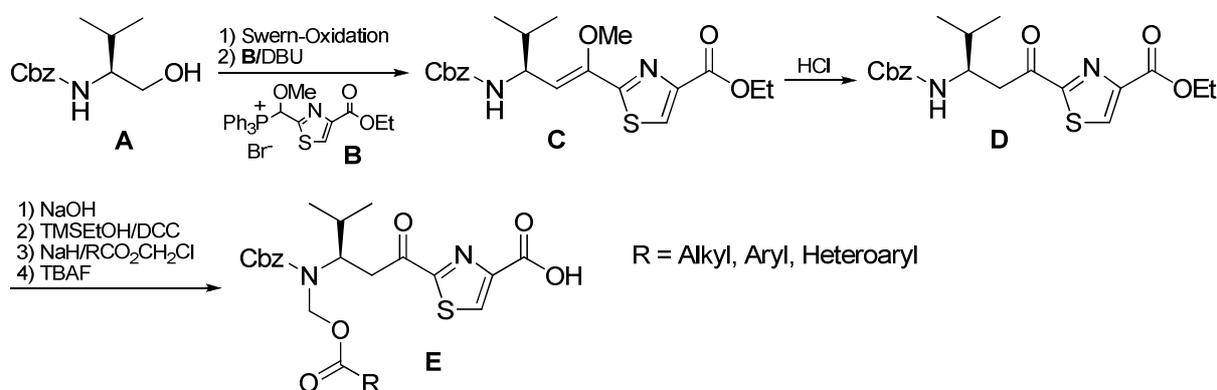
2.4 Totalsynthesen der Tubulysine

Da die Gewinnung der Tubulysine durch Fermentation unter einer mühevollen chromatographischen Reinigung leidet und zurzeit nur bis zu 10 mg/L Material liefert, ist es nötig ausreichende Mengen für Struktur-Wirkungs- und (prä)klinische Untersuchungen durch Totalsynthesen zur Verfügung zu stellen.^[15] Obwohl auf den ersten Blick eine Totalsynthese wenig herausfordernd scheint, ist diese alles andere als trivial. Besonders die Einführung der säure- und baselabilen *N,O*-Acetalester-Funktion in einer anspruchsvollen Umgebung bereitet bei der Synthese große Probleme, da die meisten Schutzgruppenstrategien nicht kompatibel sind. Auch die Darstellung des Tubuvalins und die Peptidknüpfung im sterisch anspruchsvollen Amidbereich (Ile-Tuv) erfordert einfallreiche Lösungsansätze. Daher verwundert es nicht, dass auch knapp zehn Jahre nach der Entdeckung der Tubulysine nur eine überschaubare Anzahl vollständiger Totalsynthesen publiziert wurden.

2.4.1 Totalsynthese von Tubulyisin nach Höfle

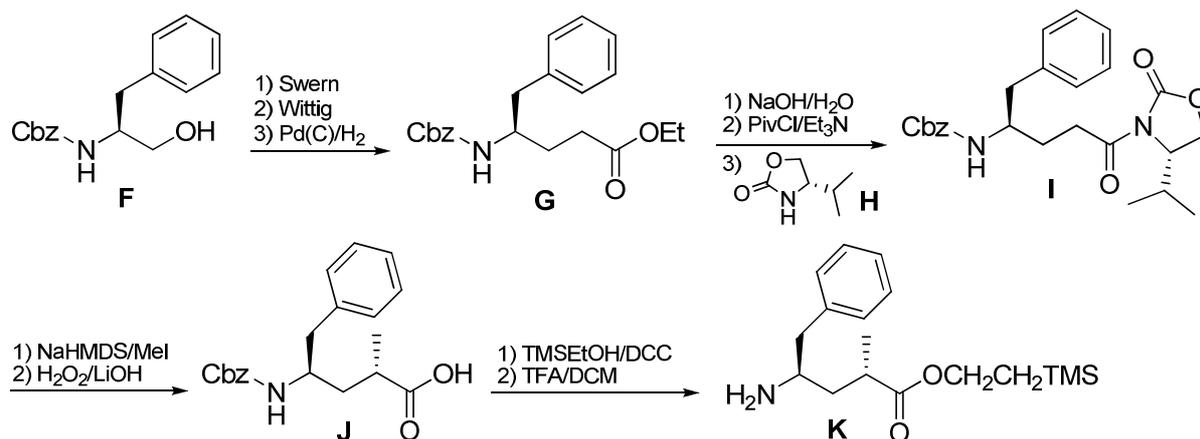
Die allererste Totalsynthese von Tubulyisin stammt von Höfle und Steinmetz. Sie wurde zwar schon 2001 zum Patent^[39] angemeldet aber erst 2006 von Zanda und Neri in einem Minireview in der Literatur erwähnt.^[40] Leider werden in der Publikation keinerlei Angaben zu Ausbeuten und Selektivitäten gemacht.

Die Synthese der Tubuvalin-Einheit startet mit Cbz-Valinol **A**, welches mittels Swern-Oxidation zum α -Aminoaldehyd oxidiert und anschließend mit dem Phosphoniumsalz **B** in einer Wittig-Reaktion umgesetzt wurde (**Schema 2.1**). Der resultierende Thiazolylenolether **C** wurde mit HCl zum Thiazolylketon **D** hydrolysiert. Nach der Umschützung des Ethylesters zum β -TMS-Ethylester, wurde die Cbz-Aminofunktion alkyliert. Dabei wurden verschiedene *N,O*-Acetalester-Funktionen eingeführt. Die Reste „R“ sind leider nicht näher spezifiziert. Nach Alkylierung wurde mit TBAF die Säurefunktion wieder freigesetzt, wobei die Tubuvalin-Analoga **E** erhalten wurden. Die eher ungewöhnliche TMS-Ethylester-Schutzgruppe ist dabei nötig, da sie im Gegensatz zum normalen Ethylester orthogonal zum basen- und säurelabilen *N,O*-Acetal ist.



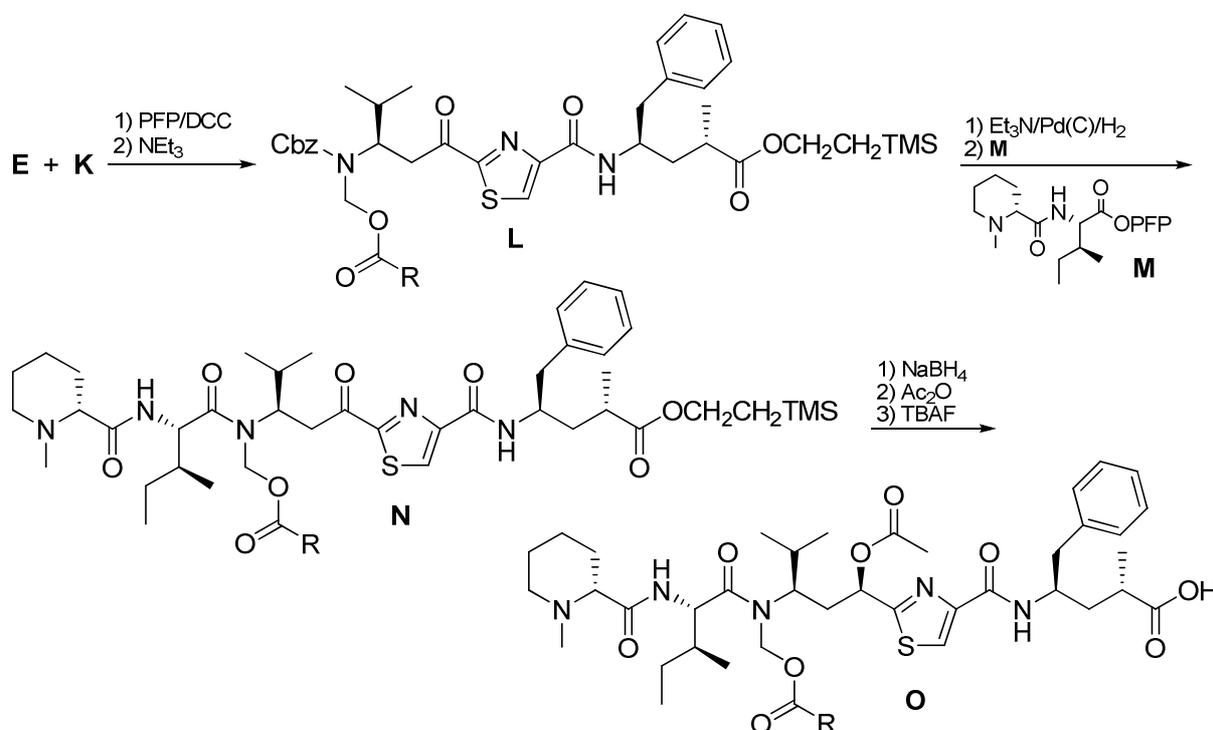
Schema 2.1: Synthese der Tuv-Analoga **E** nach Höfle.

Der Schlüsselschritt bei der Synthese des Tubuphenylalanins ist eine stereoselektive α -Alkylierung von γ -Phenylalanin nach Evans (**Schema 2.2**). Dazu wurde Phenylalaninol **F** durch eine kombinierte Swern-/Wittig-Reaktion um zwei C-Einheiten verlängert und anschließend mit dem Evans-Auxiliar **H** geknüpft. Nach erfolgter α -Alkylierung von **I** wurde das Auxiliar mit LiOOH abgespalten und die Säurefunktion wiederum mit dem orthogonalen TMS-Ethylester geschützt, wobei Tup-Derivat **K** erhalten wurde.



Schema 2.2: Synthese von Tup nach Höfle.

Die Vervollständigung der Synthese ist in **Schema 2.3** dargestellt. Die beiden Fragmente **E** und **K** wurden zum Dipeptid **L** geknüpft. Dabei wurde die Säure als Pentafluorphenolester aktiviert. Interessanterweise wurde die Cbz-Schutzgruppe im darauf folgenden Schritt durch katalytische Hydrierung entfernt. Dies verwundert insofern, da der Schwefel des Thiazolringes eigentlich den Katalysator vergiften sollte. Das freie Amin wurde dann mit dem Dipeptid **M**, welches ebenfalls als PFP-Ester aktiviert wurde, zum Tetrapeptid **N** umgesetzt. Dabei wurde bei der Knüpfung erstaunlicherweise das sekundäre Amin trotz des sterischen Anspruchs akzeptiert. Leider sind keine Angaben zur Ausbeute oder etwaigen Epimerisierung des Isoleucins gemacht.

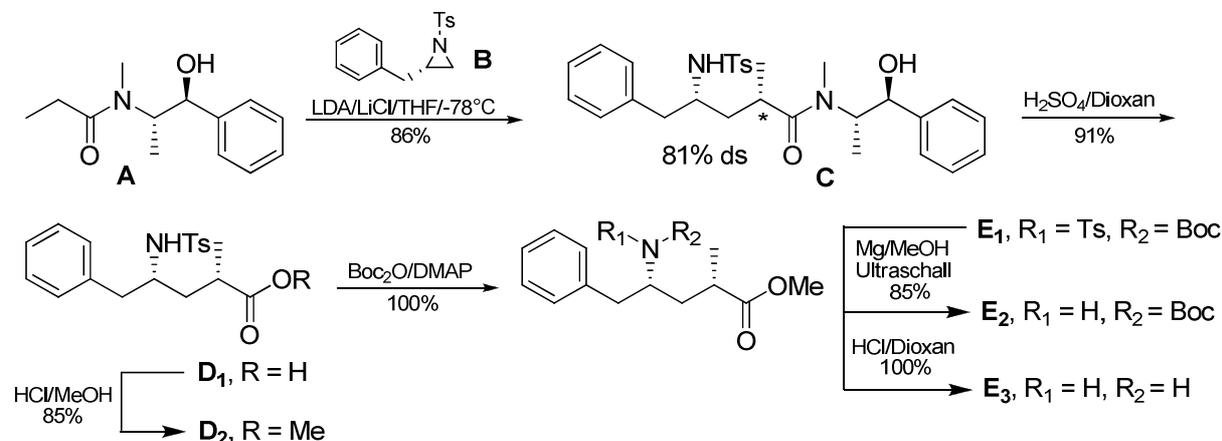


Schema 2.3: Synthese verschiedener Tubulysine nach Höfle.

Anschließend wurde das Keton reduziert und der resultierende Alkohol acetyliert. Im letzten Schritt wurde dann die Säure-Schutzgruppe mit TBAF entfernt, wobei die Tubulysine **O** erhalten wurden. In dem anfangs erwähnten Minireview von Zanda und Neri ist auch eine Totalsynthese der Firma *Morphochem* erwähnt, die 2004 zum Patent angemeldet wurde.^[41] Auf Grund der sehr spärlichen Informationen soll dies hier nur am Rande erwähnt werden.

2.4.2 Diverse Totalsynthesen der Tubulysine U und V

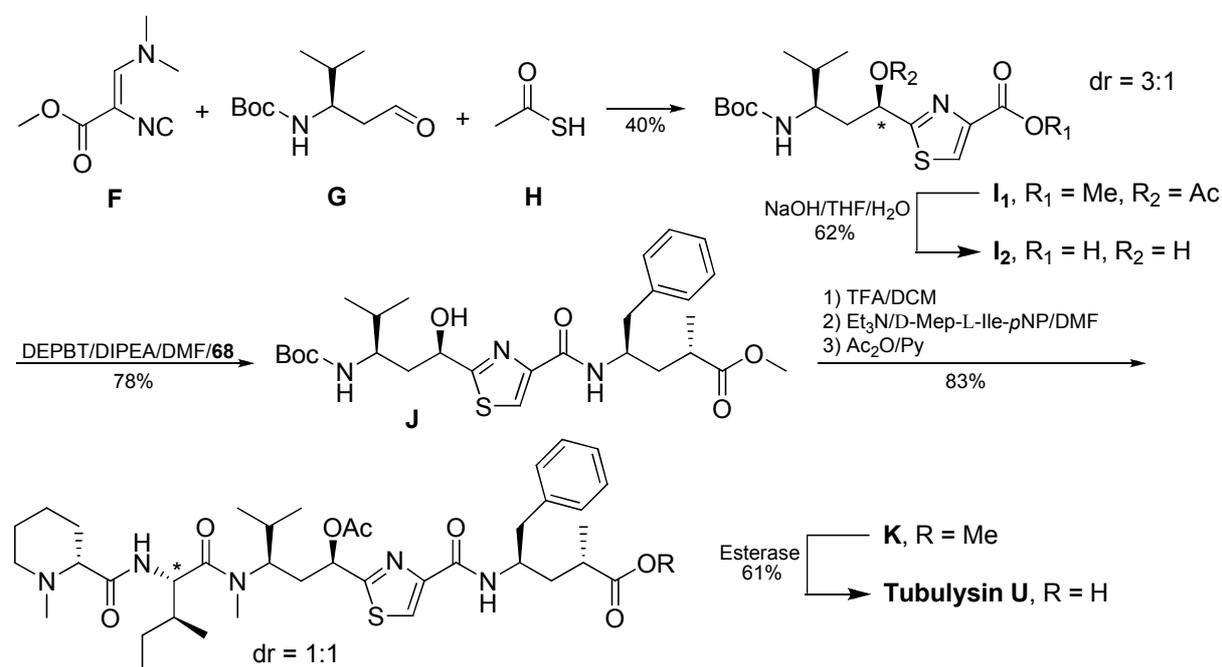
Die erste in der Literatur vollständig beschriebene Totalsynthese eines Tubulysins stammt von Dömling und Wessjohann aus dem Jahre 2006 und beschreibt die Synthesen der Tubulysine U und V.^[42] Diese zeichnen sich dadurch aus, dass sie keine *N,O*-Acetalesterfunktion besitzen und daher nicht sicher ist, ob es sich wirklich um vollwertige Tubulysine oder um Biosyntheseintermediate handelt. Diese Verbindungen besitzen zwar eine geringere Aktivität als die der Reihe A–I, liegen aber immer noch in der Größenordnung von Taxol[®] oder Epothilon. Daher sind diese Naturstoffe ebenfalls sehr interessant, zumal sie aus synthetischer Sicht leichter zugänglich sind als die strukturell komplizierteren Tubulysine A–I. Die Darstellung des Tup-Fragmentes ist in **Schema 2.4** dargestellt. Der Schlüsselschritt zur Synthese von Tup ist eine Auxiliar-vermittelte Ringöffnung eines Azirins. Als Auxiliar fungiert Pseudoephedrin, das mit Propionsäure zu dem Ausgangsstoff **A** umgesetzt wurde. Anschließend wurde **A** mit LDA deprotoniert und dem Azirin **B** umgesetzt. Dabei erhielt man das *syn*-Diastereomer **C** mit 85% Ausbeute und 81% ds. Das *anti*-Isomer konnte dabei durch Kristallisation abgetrennt werden. Nach der sauren Hydrolyse des Auxiliars wurde die freie Säure verestert (**D**₂) und die Tosylschutzgruppe über einen zweistufigen Prozess entfernt, so dass Tup **E**₃ in wenigen Schritten stereoselektiv und mit durchweg sehr guten Ausbeuten erhalten wurde.



Schema 2.4: Synthese von Tup nach Dömling und Wessjohann.

Zur Darstellung des Tuv wurde eine neuartige Drei-Komponentenreaktion zur Synthese von 2-Hydroxymethylthiazolen verwendet (**Schema 2.5**). Das Schöllkopf-Isonitril **F** wurde mit Boc-geschütztem Homovalin-Aldehyd **G** und Thioessigsäure **H** in einer Eintopfreaktion mit 40% Ausbeute und einer guten Diastereoselektivität (3:1) zum Tubuvalin **I**₁ umgesetzt. Nach der simultanen Verseifung des Acetats und des Methylesters wurde die freie Säure mit Tup **E**₃ zum Dipeptid **J** geknüpft.

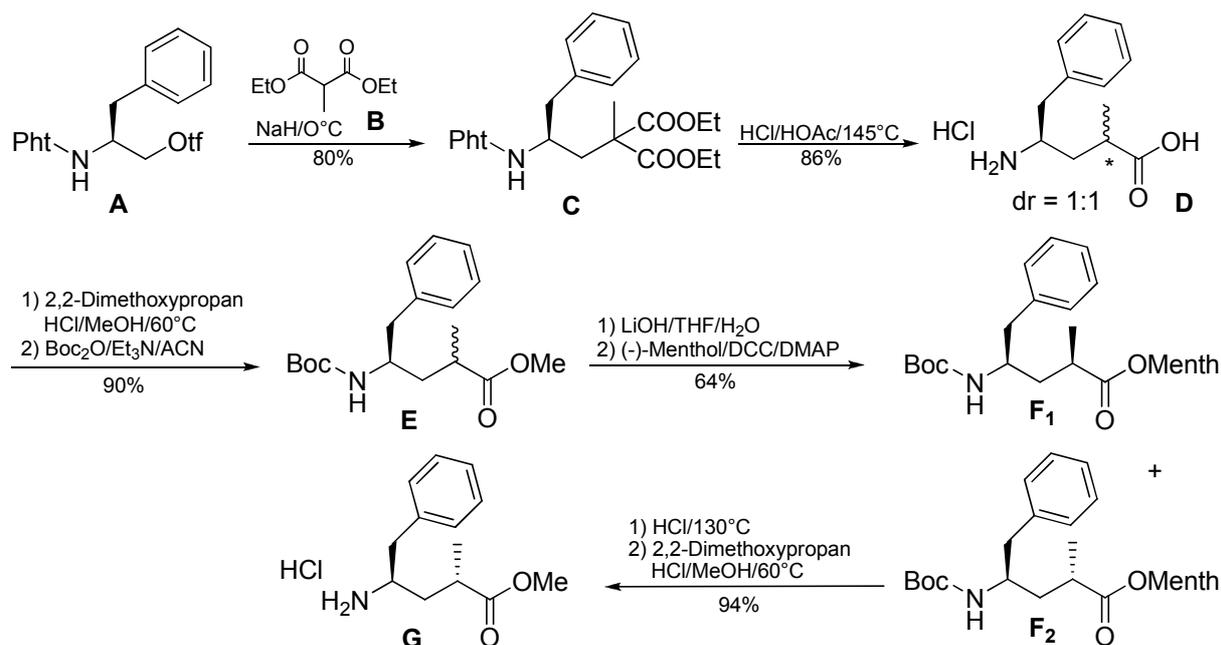
Anschließend wurde die Boc-Schutzgruppe mit TFA gespalten und das Tuv-Tup-Fragment **J** mit dem Dipeptid D-Mep-L-Ile geknüpft, wobei die Säure als *p*-Nitrophenolester aktiviert wurde. Nach der Acetylierung der Hydroxyfunktion mit Essigsäureanhydrid wurde das Tetrapeptid **K** mit einer hervorragenden Ausbeute von 83% über drei Stufen erhalten. Allerdings zeigte sich, dass das Stereozentrum im Ile quantitativ racemisiert war, so dass man ein 1:1 Gemisch der beiden Diastereomere erhielt. Nichtsdestotrotz konnten die beiden Epimere chromatographisch getrennt werden, so dass letztendlich 40% des gewünschten Diastereomers isoliert werden konnten. Im letzten Schritt wurde der Methylester selektiv neben dem Acetat mit einer Schweineleberesterase verseift, wobei Tubulysin **U** erhalten wurde. Tubulysin **V**, welches statt des Acetats eine freie OH-Gruppe besitzt, ist zugänglich durch vollständige basische Hydrolyse von **K**.



Schema 2.5: Synthese von Tuv und Tubulysin U nach Dömling und Wessjohann.

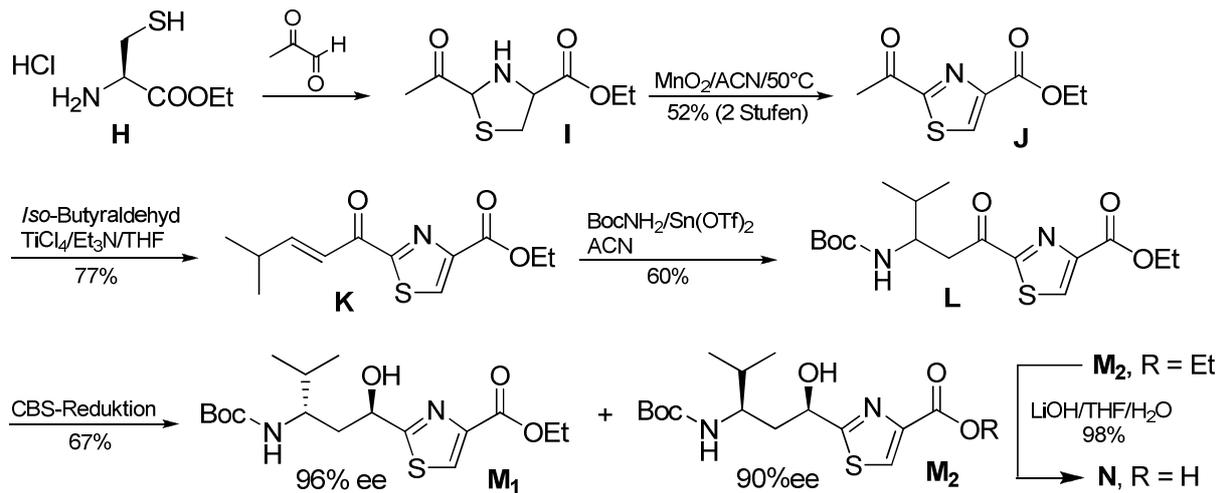
Knapp ein Jahr später wurden weitere Totalsynthesen von Tubulysin **U** und **V** durch die Arbeitsgruppe Zanda publiziert.^[43] Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Varianten, wurde das Tup als Epimerengemisch dargestellt und anschließend chromatographisch getrennt (**Schema 2.6**). Im ersten Schritt wurde in einer S_N-Reak-

tion das Triflat **A** mit dem Methylmalonat **B** umgesetzt. Nach saurer Hydrolyse und Decarboxylierung erhielt man Tubuphenylalanin **D** als Diastereomerenmischung im Verhältnis 1:1. Zur chromatographischen Trennung der Epimere sollte die Aminfunktion Boc-geschützt und die Säure in den Methyl ester überführt werden. Allerdings konnte der Methyl ester **E** nicht chromatographisch aufgetrennt werden. Nach extensiven Experimenten fanden Zanda *et al.* heraus, dass sich die beiden (-)-Mentholester **F** relativ leicht chromatographisch trennen lassen. Nach der Umschüttung des Esters konnte so Tup **G** im Multigrammaßstab hergestellt werden.



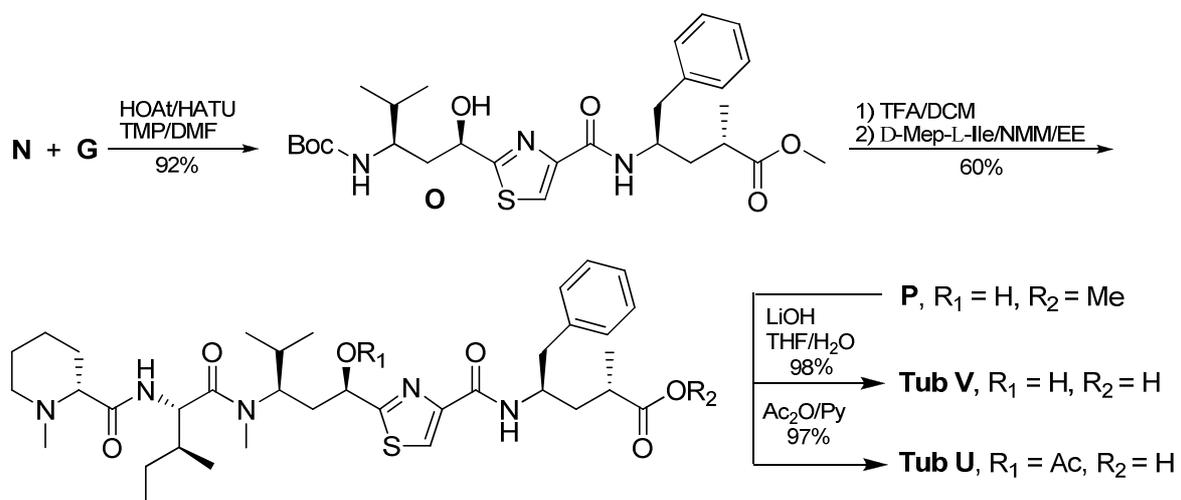
Schema 2.6: Synthese von Tup nach Zanda.

Die Synthese von Tuv ist in **Schema 2.7** dargestellt und beinhaltet mehrere Schlüsselschritte. Im ersten Schritt wurde Cystein **H** mit Pyruvaldehyd zum Thiazolidin **I** umgesetzt und anschließend mit MnO₂ zum Thiazol **J** oxidiert. Die Ausbeute betrug dabei 52% über beide Stufen. Anschließend wurde **J** mit *iso*-Butyraldehyd und TiCl₄ als Lewisäure in einer Aldolkondensation (**K**) umgesetzt. Die Aminfunktion wurde über eine Zinn-katalysierte Aza-Michael-Addition mit Boc-NH₂ eingeführt, wobei **L** racemisch isoliert wurde. Mittels Corey-Bakshi-Shibata-Reaktion wurde das Keton anschließend stereoselektiv zum sekundären Alkohol reduziert, wobei die Ausbeute nur moderate 60% betrug. Die beiden Epimere **M** sind flashchromatographisch leicht trennbar, so dass das gewünschte Tuv **M**₂ mit 90% ee erhalten wurde.



Schema 2.7: Synthese von Tuv nach Zanda.

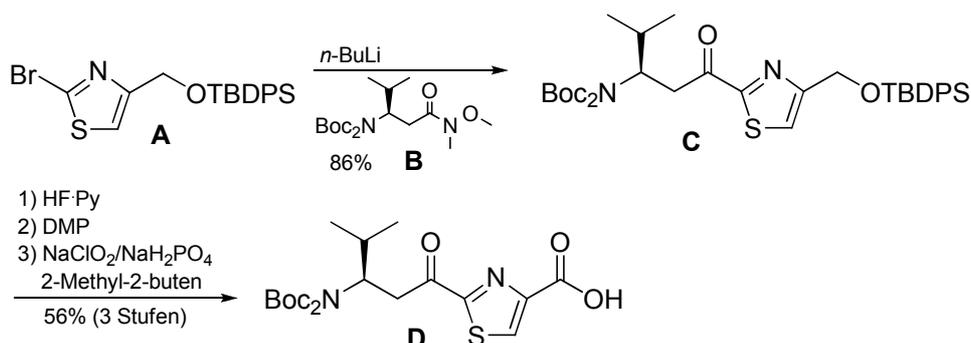
Nach der quantitativen Verseifung des Ethylesters wurde die freie Säure mit dem Tup-Fragment **G** mit einer exzellenten Ausbeute (92%) zur Tuv-Tup-Einheit **O** umgesetzt (**Schema 2.8**). Als Knüpfungsreagenz fungierte dabei HATU. Anschließend wurde versucht das Tetrapeptid **P** durch schrittweise Umsetzung mit Ile und Mep aufzubauen um eine Epimerisierung des α -Stereozyentrums im Ile zu vermeiden (s. oben). Zwar konnte das Dipeptid **O** mit Ile problemlos zum Tripeptid umgesetzt werden, aber die Knüpfung mit Mep schlug fehl. Daher wurde entschieden, analog zu Dömling und Wessjohann, **O** direkt mit dem Dipeptid Mep-Ile umzusetzen. Nach einer extensiven Suche nach einem geeigneten Knüpfungsreagenz, wurde die Säure *via* gemischtes Anhydrid aktiviert. Dadurch konnte die Epimerisierung auf unter 5% reduziert werden, so dass das Tetrapeptid nach chromatographischer Reinigung diastereomerenrein mit 60% isoliert wurde. Quantitative Verseifung des Methylesters ergab Tubulysin V und anschließende Acetylierung Tubulysin U.



Schema 2.8: Synthese der Tubulysine U und V nach Zanda.

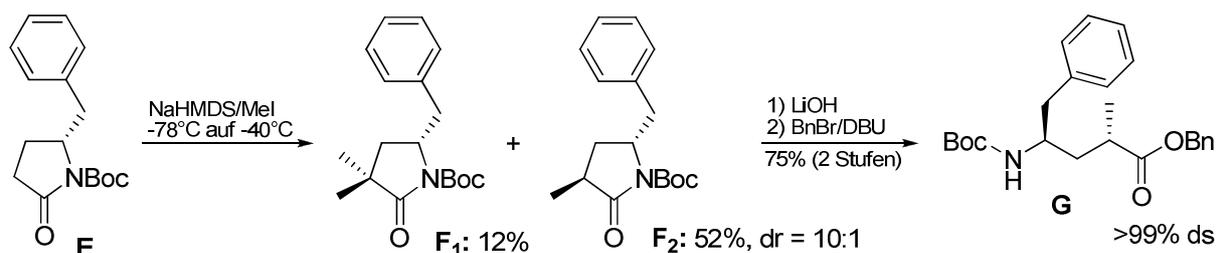
Durch einen Vergleich der NMR-Spektren mit den Spektren von Dömling und Wessjohann stellte sich im nachhinein heraus, dass diese unwissentlich die *epi*-Tubulysine U und V synthetisiert hatten, da ihnen bei der Bestimmung des Stereozentrums der Tubuvalin-Einheit ein Fehler unterlaufen war. Dies wurde in einer *Corrigenda* 2007 richtig gestellt.^[44]

Eine weitere Totalsynthese der Tubulysine U und V stammt von Fecik *et al.* aus dem Jahre 2009.^[45] Auch hier ist der Schlüsselschritt zur Einführung der korrekten Stereochemie im Tuv-Fragment eine CBS-Reduktion. Allerdings sollte diese hier erst auf der fast fertigen Stufe des Tetrapeptides erfolgen, ähnlich wie bei der Totalsynthese nach Höfle. Die Synthese des Keto-Tuv-Analogons **D** ist in **Schema 2.9** dargestellt. Das Brom im Bromthiazol **A** wurde in einem Metall-Halogen-Austausch mittels *n*-Buli durch Lithium ersetzt und anschließend mit dem Weinrebamid **B**, welches in vier Stufen aus L-Valin zugänglich war, zum α -Ketothiazol **C** umgesetzt. Die Ausbeute war mit 86% exzellent. Die Silylschutzgruppe wurde entfernt und der Alkohol in einer zweistufigen Dess-Martin-Lindgren-Oxidation zur Säure **D** oxidiert.



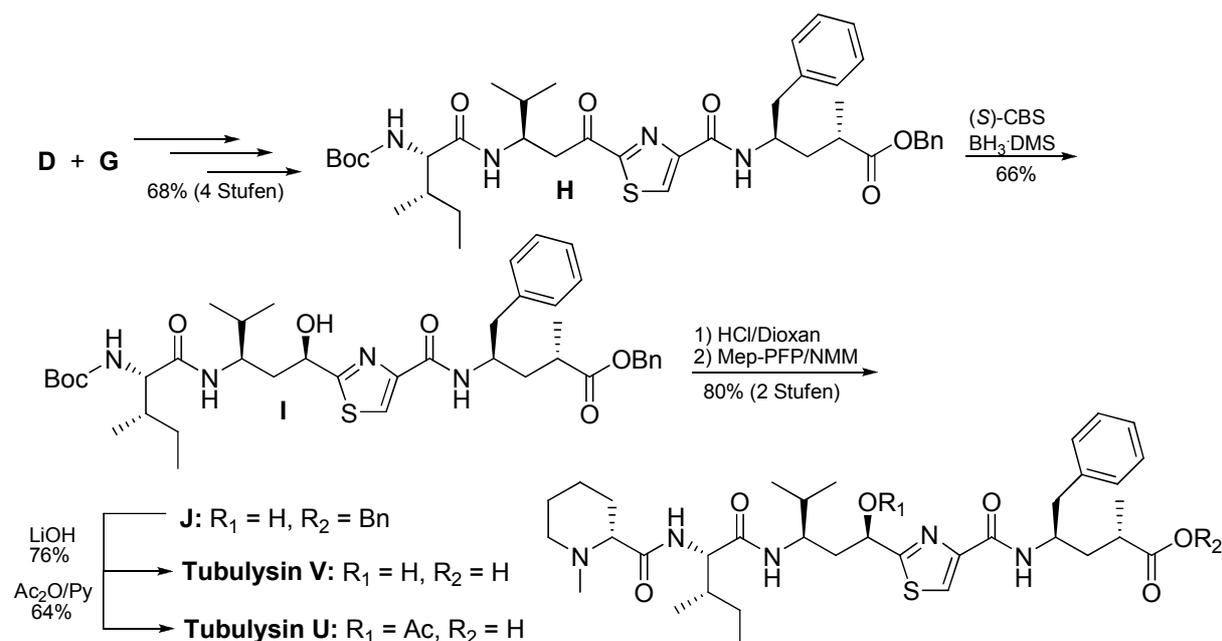
Schema 2.9: Synthese von Tuv nach Fecik.

Die Synthese von Tup erfolgte durch Methylierung von Lactam **E**, wobei die Benzylseitenkette für eine induzierte Diastereoselektivität sorgte (**Schema 2.10**). Das gewünschte Produkt **F₂** wurde mit 52% Ausbeute isoliert. Daneben entstanden noch 12% des doppelt methylierten Lactams **F₁**. Nach der Verseifung des Lactams **F₂** zur Säure, konnte diese durch Umkristallisation diastereomerenrein erhalten werden. Für die weitere Synthese wurde die freie Säure in den Benzylester **G** überführt.



Schema 2.10: Synthese von Tup nach Fecik.

Im Folgenden wurde durch sukzessive Peptidknüpfungen (68% über vier Stufen) das Tripeptid **H** synthetisiert (**Schema 2.11**). Auf dieser Stufe wurde die stereoselektive CBS-Reduktion zum sekundären Alkohol durchgeführt, wobei das gewünschte Epimer **I** diastereomerenrein mit 66% isoliert wurde. Versuche die Reduktion auf der Stufe des Tetrapeptides durchzuführen, scheiterten an nicht identifizierbaren Produktgemischen. Anschließende Knüpfung mit Mep und Entschützung sowie Acetylierung lieferten die Tubulysine **U** und **V**.



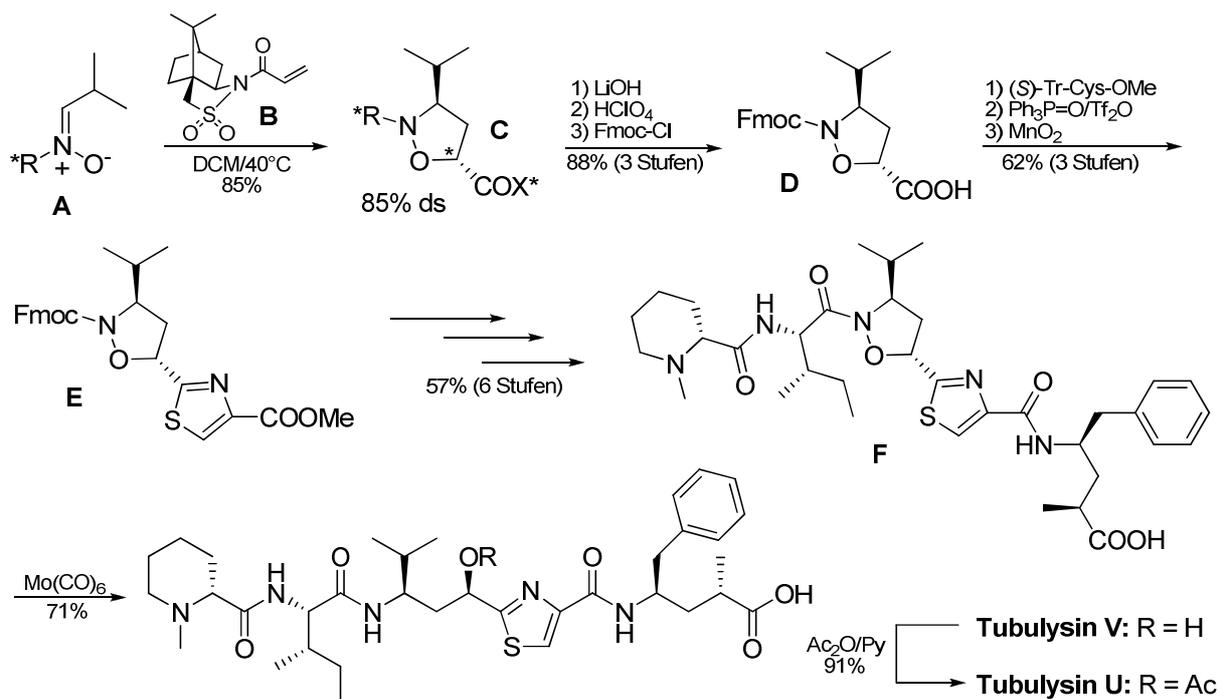
Schema 2.11: Synthese der Tubulysine **U** und **V** nach Fecik.

Durch die Verwendung des (*R*)-CBS-Katalysators statt der (*S*)-Form konnten mit Hilfe dieser Syntheseroute auch leicht die *epi*-Tubulysine **U** und **V** synthetisiert werden. Ihre biologische Aktivität im Vergleich zu den normalen Tubulysinen **U** und **V** wird im nächsten Kapitel erläutert.

Die letzte bekannte Totalsynthese von Tub **U** und **V** wurde im letzten Jahr von Tamura *et al.* vorgestellt.^[46] Auch sie soll hier kurz besprochen werden, da sie eine interessante Schutzgruppenstrategie verfolgt (**Schema 2.12**). Der Schlüsselschritt zur Synthese des Tuv-Fragmentes ist eine doppelt Auxiliar-gesteuerte 1,3-dipolare Cycloaddition eines chiralen Nitrons an ein chirales Acrylamid. Das chirale Nitron **A** enthält als Auxiliar einen D-Gulosylrest⁷ (*R*^{*}) und das chirale Dipolarophil **B** ist ein *N*-Acryloylcamphersultam. Die Umsetzung der beiden Komponenten führte in sehr guter Ausbeute zum Isooxazolidin-Derivat **C**. Die Diastereoselektivität ist dabei mit 85% zwar ganz passabel, könnte aber für eine doppelte Induktion deutlich besser sein. Anschließend wurden in einem dreistufigen Prozess die beiden Auxiliare

⁷ Gulose ist eine Hexose.

abgespalten und der Stickstoff Fmoc-geschützt (**D**). Die freie Säure wurde mit HATU aktiviert und mit (*S*)-Tritylcysteinmethylester zum entsprechenden Dipeptid geknüpft. Dieses wiederum wurde mit Hilfe *in situ* generiertem bis(Triphenyl)oxodiphosphoniumtrifluormethansulfonat zum Thiazolin cyclisiert und anschließend mit aktiviertem MnO₂ zum Thiazol oxidiert. Dabei wurde **E** ausgehend von **D** mit einer Gesamtausbeute von 62% über drei Stufen isoliert. Das Interessante dabei ist, dass **E** ein verkapptes Tubuvalin ist, bei dem der Isooxazolidin-Ring als Schutzgruppe fungiert.



Schema 2.12: Synthese von Tubulysin U und V nach Tamura.

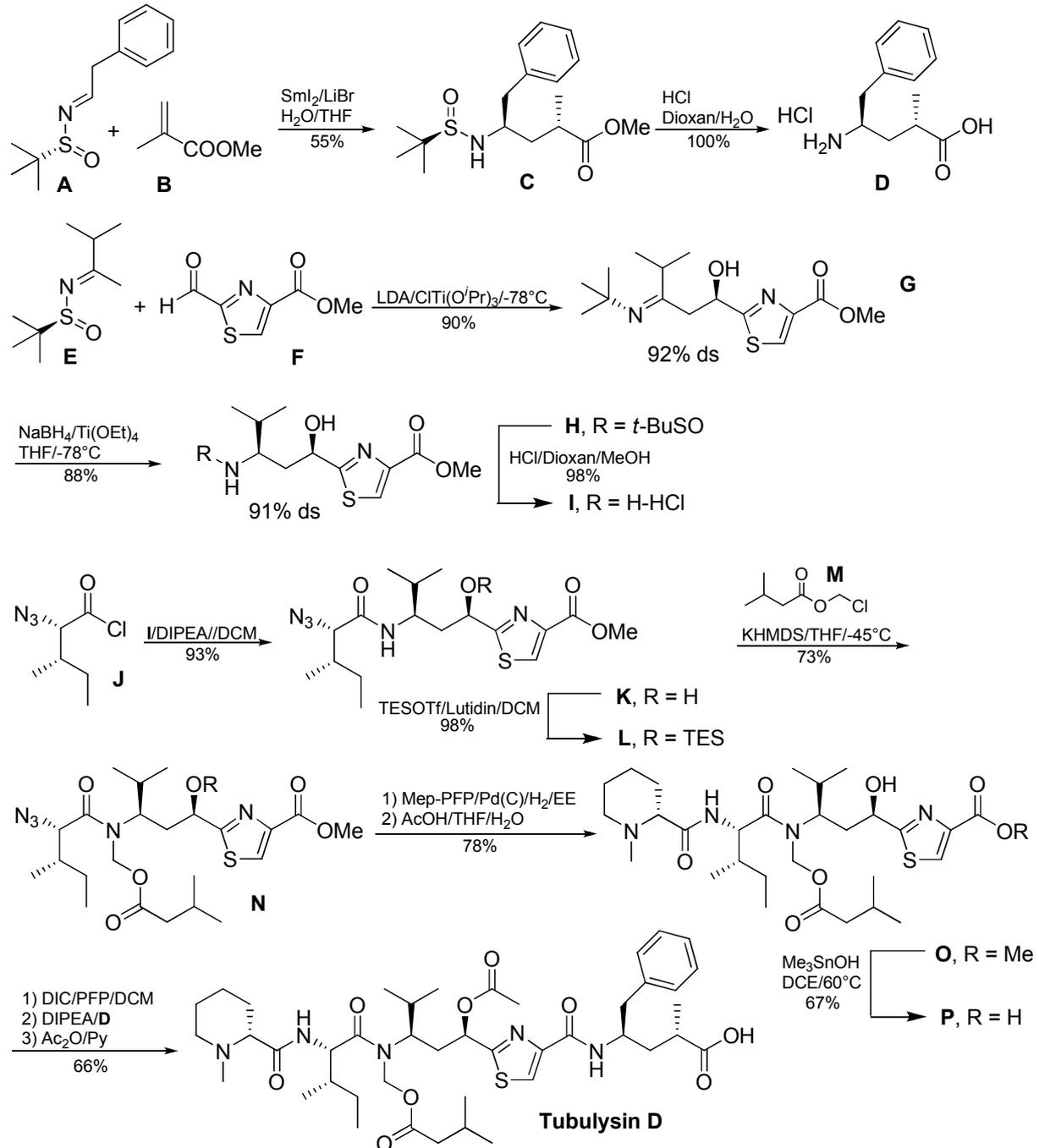
E wurde anschließend in sechs Stufen mit einer Gesamtausbeute von 57% in das Tetrapeptid **F** überführt. An dieser Stelle wurde die *N*-*O*-Bindung des Isooxazolidin-Ringes reaktiv mit Mo(CO)₆ geöffnet, wobei Tubulysin V erhalten wurde. Tubulysin U wurde durch nachträgliche Acetylierung nahezu quantitativ isoliert.

2.4.3 Totalsynthese von Tubulysin D nach Ellman

Im Gegensatz zu den verschiedenen Totalsynthesen von Tub U und V, ist in der Literatur bis heute nur eine vollständige Totalsynthese von Tubulysin D beschrieben. Sie stammt aus dem Jahre 2006 und wurde von Ellman *et al.* publiziert.^[47] Dies liegt daran, dass die Totalsynthese der Tubuly sine A–I auf Grund der *N*,*O*-Acetal-esterfunktion ungleich schwieriger ist. Die Synthese der Fragmente Tup und Tuv ist in **Schema 2.13** dargestellt. Das Tup wurde in einer dreistufigen Synthese hergestellt. Der Schlüsselschritt ist dabei eine Sml₂-vermittelte reduktive Kupplung von Methylacrylsäureester **B** und Phenylacetaldimin **A**. Nach säulenchromatographi-

scher Reinigung wurde **C** diastereomerenrein erhalten. Simultane Entschützung der Amin- und Esterfunktion lieferte Tuv **D** in quantitativer Ausbeute.

Der Schlüsselschritt zur Synthese des Tuv ist eine Addition von einem Titanenamin, welches durch Deprotonierung von **E** mit LDA und anschließender Transmetallierung auf Titan *in situ* generiert wird, an den Thiazolaldehyd **F**. Dabei konnte Imin **G** mit einer sehr guten Ausbeute von 90% und 92% ds erhalten werden. Die stereoselektive Reduktion des Imins mit NaBH₄ lieferte Tuv **H** mit 91% ds.

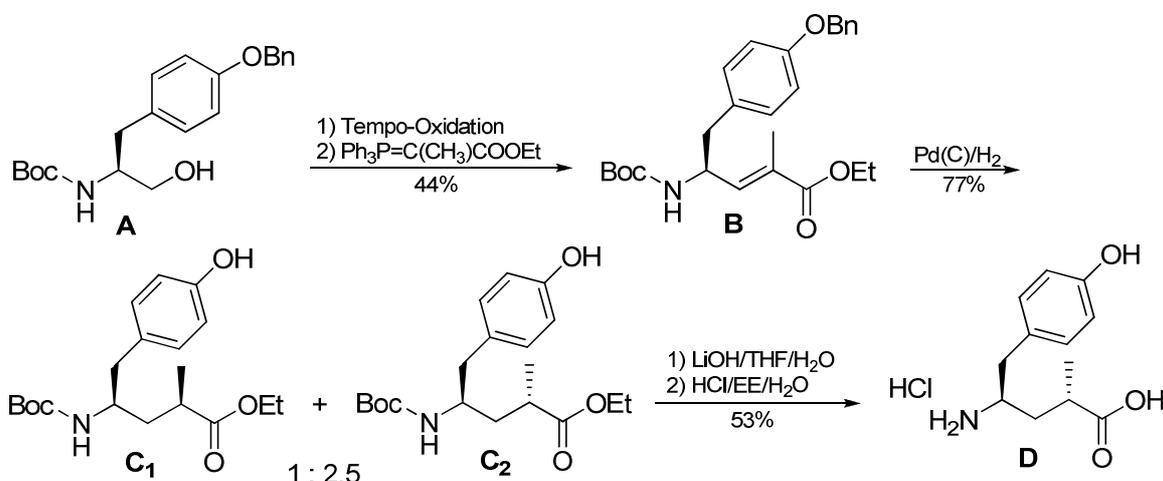


Schema 2.13: Totalsynthese von Tubulysin D nach Ellman.

Tubuvalin **I** wurde am *N*-Terminus quantitativ entschützt und mit α -Azidoisoleucinchlorid zum Dipeptid **K** geknüpft. Die Maskierung der Aminfunktion in Form des Azids wurde gewählt um die zum *N,O*-Acetal nicht orthogonalen Carbamat-Schutzgruppen zu umgehen. Nach der TES-Schätzung der Hydroxygruppe wurde **L** am Amidstickstoff mit KHMDS deprotoniert und mit **M** umgesetzt. Das Azid des resultierenden Produktes **N** wurde in einer Eintopfreaktion zum Amin hydriert und mit Mep-PFP zum Tripeptid geknüpft. Anschließend wurden nacheinander die Silylschutzgruppe und der Methylester gespalten. Dazu musste wegen dem basenlabilen *N,O*-Acetal Me_3SnOH verwendet werden. Die Knüpfung von **P** mit Tup-Fragment **D** mittels PFP und anschließende Reacetylierung der Hydroxyfunktion komplettiert die Synthese zum Tubulylin D mit einer Gesamtausbeute von 13% über 16 Stufen.

2.4.4 Totalsynthese von Tubulylin B nach Wessjohann

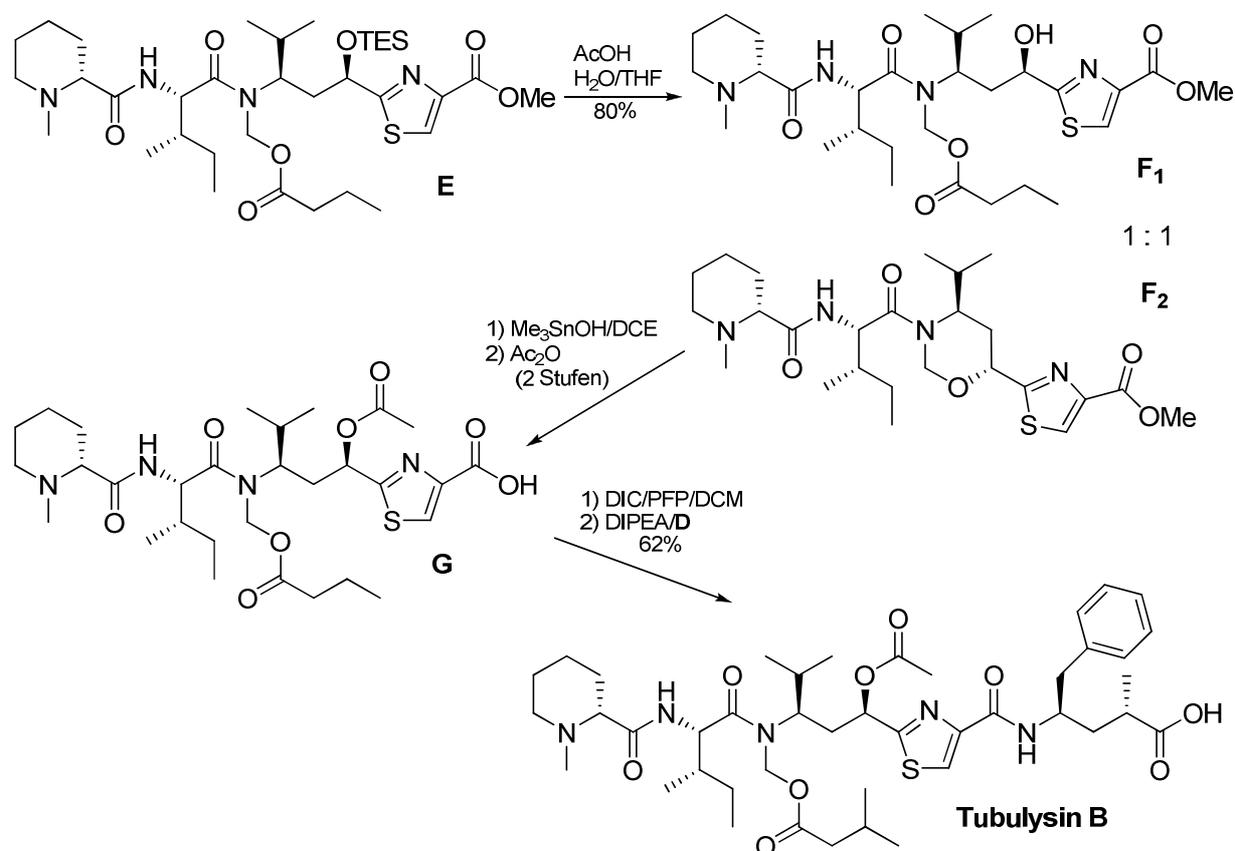
Die einzige bisher beschriebene Totalsynthese eines Tubulylins mit einer Tubutyrosin-Einheit (Tut) ist die Totalsynthese von Tubulylin B von Wessjohann *et al.* aus dem Jahre 2009.^[48] Die Synthese des Tut erfolgte analog zur Synthese des Tup nach Zanda (s. oben). Das kommerziell erhältliche *N,O*-geschützte Tyrosinol **A** wurde mittels TEMPO-Oxidation in den entsprechenden Aldehyd überführt und dieser anschließend ohne Reinigung in einer Wittig-Reaktion zu Olefin **B** umgesetzt (**Schema 2.14**). Die Ausbeute über beide Stufen betrug 44%. Erstaunlicherweise führte eine analoge Reaktionsführung mittels Swern-Oxidation zur vollständigen Racemisierung. Simultane Entschätzung des Benzylethers und Hydrierung der Doppelbindung lieferte die beiden Epimere **C**₁ und **C**₂ im Verhältnis 1:2.5, welche mittels präparativer HPLC getrennt werden konnten.



Schema 2.14: Synthese von Tubutyrosin nach Wessjohann.

Sukzessive Entschützung am C- und N-Terminus lieferte Tubutyrosin **D**. Interessanterweise konnten die analogen Mentholester **C** chromatographisch nicht getrennt werden, wie dies bei der analogen Synthese von Tup nach Zanda beschrieben ist.

Die Synthese des benötigten Tripeptides **E** erfolgte analog zur Totalsynthese von Tubulylin D nach Ellman (**Schema 2.15**). Der einzige Unterschied ist der Rest am Ester des N,O-Acetals. Die Spaltung der Silylschutzgruppe von **E** lieferte allerdings im Gegensatz zur analogen Reaktion in **Schema 2.13** ein 1:1 Produktgemisch aus dem gewünschten Alkohol **F₁** und dem cyclisierten Nebenprodukt **F₂**. Anscheinend schirmt die sterisch weniger anspruchsvolle Propylgruppe das N,O-Acetal weit weniger ab, so dass die Hydroxygruppe intramolekular an diesem Acetal unter Abspaltung von Buttersäure angreifen kann. Alle Versuche, die Nebenreaktion zu unterdrücken bzw. das Produktgemisch zu trennen, scheiterten. Glücklicherweise konnte das cyclische Nebenprodukt **F₂** nach der Spaltung des Methylresters und der Reacetylierung der Hydroxyfunktion auf der Säurestufe vom Produkt **G** abgetrennt werden. Die Knüpfung von **G** mit Tut-Fragment **D** mittels PFP komplettiert die erste Totalsynthese von Tubulylin B.

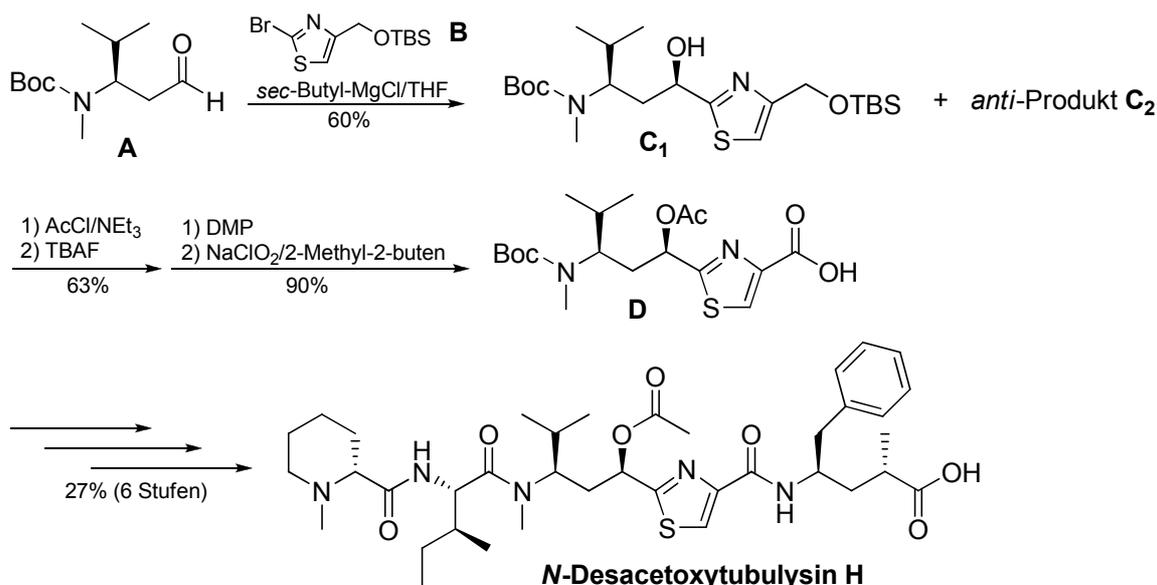


Schema 2.15: Synthese von Tubulylin B nach Wessjohann.

Auf analoge Art und Weise synthetisierte die Arbeitsgruppe unter Verwendung des *epi*-Tubutyrosins **C**₁ auch das *epi*-Tubulylin B, das sich nur durch die Stereochemie der Methylgruppe am C-Terminus unterscheidet. Ein Vergleich der Cytotoxizitäten von Tubulylin B und seinem C₂-Epimer gegenüber PC-3⁸- und HAT-29⁹-Krebszellen zeigte kurioserweise eine fast identische Aktivität (GI₅₀ = 1.1 nM gegenüber 0.8 nM und 1.0 nM gegenüber 1.4 nM). Dies zeigt, dass die Stereochemie der Methylgruppe nur einen sehr geringen Einfluss auf die Cytotoxizität besitzt.

2.4.5 Totalsynthese von N¹⁴-Desacetoxytubulylin H nach Wipf

2007 beschrieben Wipf und Mitarbeiter eine Totalsynthese von N¹⁴-Desacetoxytubulylin H.^[49] Die Synthese ist in **Schema 2.16** stark verkürzt dargestellt. Der Schlüsselschritt bei der Synthese des N-Desacetoxytubuvalin **D** ist eine Grignard-Reaktion nach Knochel. Dazu wurde das Bromthiazol **B** durch einen Halogen-Metall-Austausch mit dem Knochelreagenz *sec*-Butylmagnesiumchlorid in die entsprechende Grignardverbindung überführt und an den Homoalinaldehyd **A** addiert. Die beiden Produkte **C**₁ und **C**₂ wurden mit einer Gesamtausbeute von 60% im Verhältnis 2:1 zu Gunsten des gewünschten Epimers **C**₁ erhalten. Nach säulenchromatographischer Trennung konnte das gewünschte *syn*-Produkt **C**₁ mit 40% Ausbeute isoliert werden. Anschließende Standardtransformationen ergaben das N-Desacetoxytubuvalin **D**. Dieses wurde in sechs weiteren Stufen zum N-Desacetoxytubulylin H umgesetzt. Die Gesamtausbeute der Totalsynthese betrug dabei 2.1% über 20 Stufen für die längste lineare Sequenz.



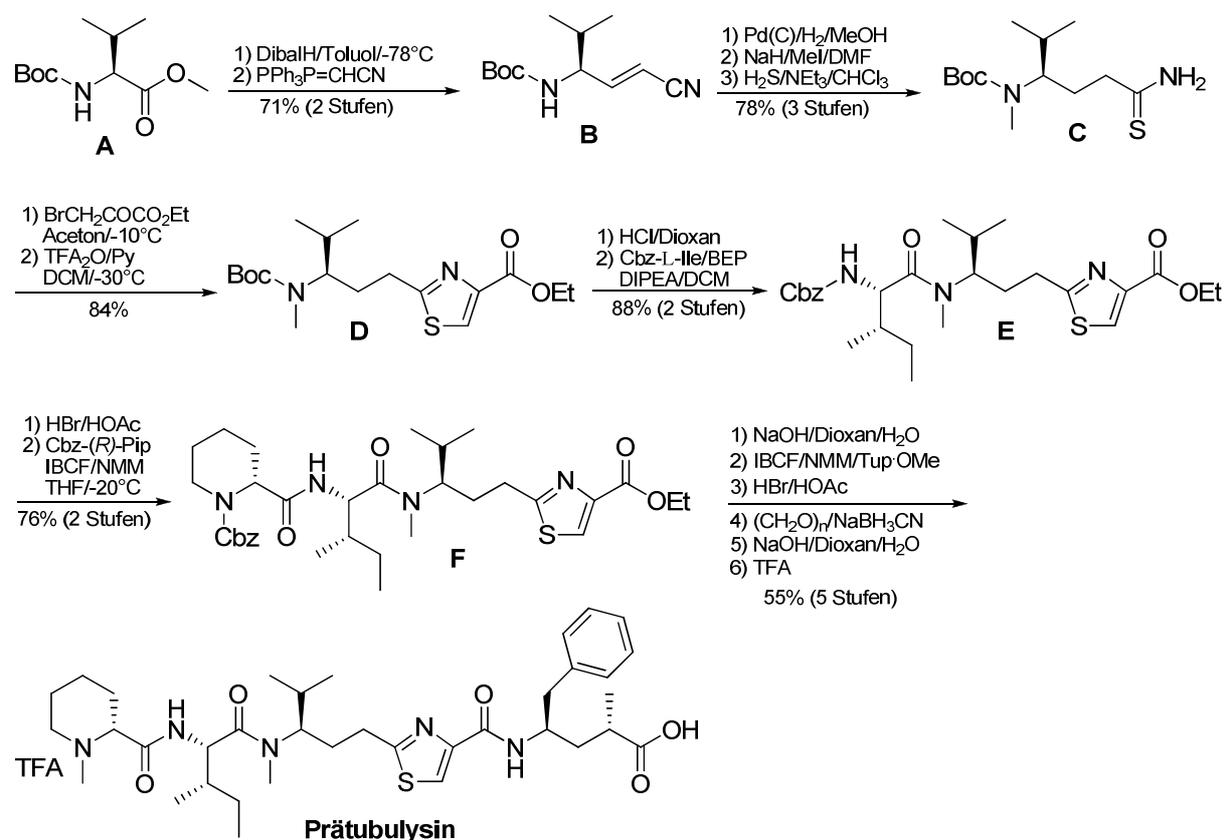
Schema 2.16: Totalsynthese von N¹⁴-Desacetoxytubulylin H nach Wipf.

⁸ Humanes Prostatakarzinom

⁹ Humanes Dickdarmkarzinom

2.4.6 Totalsynthese von Prätubulysin nach Kazmaier

Im Rahmen der Dissertation von A. Ullrich aus dem Jahre 2008 wurde in unserem AK eine Totalsynthese für Prätubulysin entwickelt.^[50] Wie in Kapitel 2.3.2 beschrieben, handelt sich dabei um die einige Jahre zuvor postulierte biosynthetische Vorstufe von Tubulysin. Die Synthese ist in **Schema 2.17** dargestellt. Ausgehend von Boc-Valinmethylester **A** wurde in einer DibalH-Wittig-Eintopf-Reaktion das ungesättigte Nitril **B** hergestellt, welches wiederum in drei Stufen in das gesättigte Thioamid **C** überführt wurde (Gesamtausbeute von 55% über fünf Stufen).



Schema 2.17: Totalsynthese von Prätubulysin nach Kazmaier.

Anschließend wurde **C** mit Brombrenztraubensäureethylester zum Thiazolin kondensiert und mit TFA₂O und Pyridin zum Thiazol **D** dehydratisiert. Im Gegensatz zu allen vorangegangenen Syntheserouten wurde das Prätubulysin durch sukzessive Peptidknüpfungen aufgebaut um potentielle Racemisierungen zu vermeiden. So wurde das Tubuvalin-Fragment **D** mit Cbz-Isoleucin zuerst zum Dipeptid **E** und anschließend mit Cbz-Pipecolinsäure zum Tripeptid **F** umgesetzt. Dabei kam es zu keinerlei Epimerisierungen und das Tripeptid **F** konnte mit einer Ausbeute von 64% ausgehend von **D** erhalten werden. Ein weiterer wichtiger Unterschied zu den obigen Synthesen ist die Verwendung von geschützter statt *N*-methylierter Pipecolinsäure. Dies hat den Vorteil, dass sich die Verbindungen viel leichter chromatographieren

lassen und die Reaktion sauberer verläuft als die Knüpfung mit Mep. Anschließend wurde das Tripeptid **F** am C-Terminus verseift und mit Tup zum Tetrapeptid geknüpft. Auf dieser Stufe wurde nun die Methylgruppe an der Pipecolinsäure-Einheit wie folgt eingeführt. Die Cbz-Schutzgruppe wurde mit HBr in Eisessig entfernt (Hydrierungen schlugen wegen dem Schwefel im Molekül fehl) und die freie Aminfunktion unter Verwendung von Paraformaldehyd und NaBH₃CN reduktiv methyliert. Im letzten Schritt wurde der Methylester der Tup-Einheit verseift und das Prätubulysin als TFA-Salz isoliert. Die Überführung in das TFA-Salz hat zwei wichtige Vorteile: die Verbindung lässt sich chromatographieren und sie ist besser lagerbar. Die Gesamtausbeute über die letzten fünf Stufen betrug dabei 55%. Außerdem wurden auf analoge Weise weitere Analoga, wie z. B. das 2-Desmethylprätubulysin synthetisiert, welches sich im Vergleich zum Prätubulysin einzig darin unterscheidet, dass es im Tup-Teil keine Methyl-Gruppe in der α -Position besitzt. Die Cytotoxizitätsstudien dieser beiden Derivate sind in **Tabelle 2.2** dargestellt.

Tabelle 2.2: Cytotoxizitäten von Prätubulysin und Analoga gegen diverse Krebszelllinien.

Zelllinie ^a	IC ₅₀ (ng/mL)			
	Tubulysin A	Tubulysin D	Prätubulysin	2-Desmethylprätubulysin
HL-60	0.05	0.003	0.014	0.22
A431	0.10	0.012	1.24	0.34
A549	0.09	0.006	4.35	31.2
COS-7	0.08	0.034	1.13	9.63
HEK293T	0.05	0.010	0.23	1.68
HepG2	0.12	0.007	0.64	8.75
K562	0.40	0.022	0.35	2.50
KB3.1	0.16	0.018	2.32	26.3
L929	0.21	0.017	3.87	40.0
SH-SY5Y	0.21	0.011	0.61	2.90
SW480	0.02	0.004	0.21	3.16
U-2 OS	0.19	0.034	0.56	3.23
U937	0.05	0.003	0.04	0.38

^a HL-60: Humane akute Promyelozytenleukämie, A341: Epithelialkarzinom A-549: Humanes Lungenkarzinom, COS-7: Nierenkarzinom der afrikanischen Meerkatze, HEK-293T: Humanes Nierenkarzinom, HepG2: Humanes hepatozelluläres Karzinom, K-562: Humane chronische myeloische Leukämie, KB3.1: Humanes Gebärmutterhalskarzinom, L-929: Subkutanes Bindegewebe der Maus,

SH-SY5Y: Humanes Neuroblastom, SW-480: Humanes Kolon-Adenokarzinom, U-2 OS: Humanes Osteosarkom, U-937: Humanes histiozytisches Lymphon.

Man erkennt, dass das Prätubulysin, verglichen mit Tubulysin A, eine 1–20 fach geringere Cytotoxizität gegenüber den getesteten Krebszelllinien aufweist, gegenüber dem toxischeren Tubulysin D sogar der Faktor 10–50. In Anbetracht der starken strukturellen Vereinfachung und der damit erheblich einfacheren Synthese, sind dies immer noch hervorragende Ergebnisse, zumal die Aktivität des Prätubulysins weiterhin im unteren ng- bzw. sogar pg-Bereich liegt. Die Aktivität des 2-Desmethylprätubulysin ist gegenüber dem Prätubulysin nochmal um den Faktor 10 geringer, obwohl es gegenüber den Epithelialkarzinomzellen (A431) eine etwas höhere Cytotoxizität zeigt. Diese Ergebnisse decken sich mit den Beobachtungen von Wessjohann *et al.*, die im Rahmen der Totalsynthese von Tubulysin B berichteten, dass die Methylgruppe im Tup-Teil nur einen geringen Einfluss auf die Aktivität besitzt.^[48]

Neben den hier besprochenen Totalsynthesen sind in der Literatur auch Synthesen von Tubulysin-Fragmenten zu finden. Diese sollen hier der Vollständigkeit halber nur erwähnt werden. So synthetisierten Friestad *et al.* die unnatürlichen Aminosäuren Tuv und Tup mittels Mangan-vermittelter stereoselektiver Kupplung von Iodiden mit Hydrazonen.^[51] Daneben finden sich in der Literatur Synthesen von Tuv-Tup-Fragmenten nach Wipf^[52] und Chandrasekhar^[53]. Zu guter Letzt wurde auch in unserem Arbeitskreis im Rahmen einer Diplomarbeit eine neuartige Synthese von Tubuphenylalanin, basierend auf einer stereoselektiven Irland-Claisen-Umlagerung von β -Aminosäureallylestern, entwickelt.^[54]

2.5 Synthese von Tubulysin-Derivaten

2.5.1 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Tubulysin-Analoga

Neben den zuvor beschriebenen Totalsynthesen wurden in den letzten Jahren zahlreiche Tubulysin-Derivate synthetisiert, um zum einen die teils sehr komplexen Synthesen zu vereinfachen und zum anderen durch Struktur-Wirkungs-Beziehungen (SAR) herauszufinden, welche Teile im Tubulysin für die biologische Aktivität essentiell sind und welche man „wegrationalisieren“ kann. So synthetisierten erstmals Wang *et al.* drei neue Derivate und unterzogen diese einer ausführlichen biologischen Evaluierung (**Abbildung 2.17**).^[55] Allen Verbindungen ist gemeinsam, dass sie statt des *N,O*-Acetals eine Methylgruppe am Tuv-NH besitzen. Das erste Derivat ist das *N*-Desacetytubulysin H von Wipf *et al.*, dessen Totalsynthese im letzten Kapitel vorgestellt wurde.^[49] Die beiden anderen Derivate wurden analog

synthetisiert, wobei die *N*-Methylpipercolinsäure durch *N,N*-Dimethylglycin substituiert wurde. Die beiden Derivate **A** und **epi-A** unterscheiden sich wiederum in der Konfiguration der Acetoxygruppe am C-11. Dadurch sollte der Einfluss dieses Zentrums auf die Aktivität überprüft werden, da dieses labile Stereozentrum die Synthese der Tubulysine ebenfalls erschwert.

Zur Cytotoxizitätsbestimmung der Derivate wurde der GI_{50} -Wert¹⁰ gegenüber T98G-Zellen¹¹ bestimmt. Während das *N*-Desacetoxytubulysin H mit einem Wert von 1.6 nM immer noch im unteren nanomolaren Bereich liegt (eine 10er Potenz geringer als Tubulysin A), bricht die Aktivität der Derivate **A** und **epi-A** deutlich ein auf 350 nM bzw. 400 nM. Die fast identischen Werte zeigen, dass die Stereochemie für den GI_{50} -Wert keine große Rolle spielt, während bei der Inhibierung von isoliertem Tubulin die natürliche (*R*)-Konfiguration deutlich bevorzugt wird. Der Ring am *N*-Terminus scheint ebenfalls wichtig zu sein wie der Vergleich mit der offenkettigen Variante **A** zeigt. Das wichtigste Ergebnis dieser Experimente war die Tatsache, dass das labile *N,O*-Acetal keine große Rolle für die antimittotische Wirkung spielt.

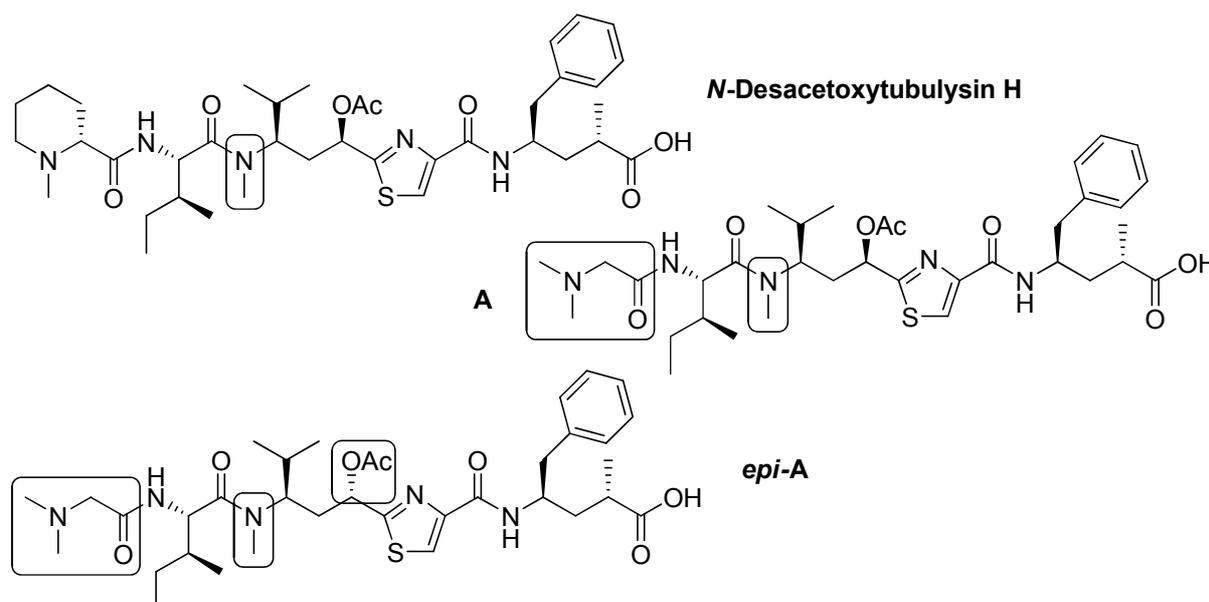


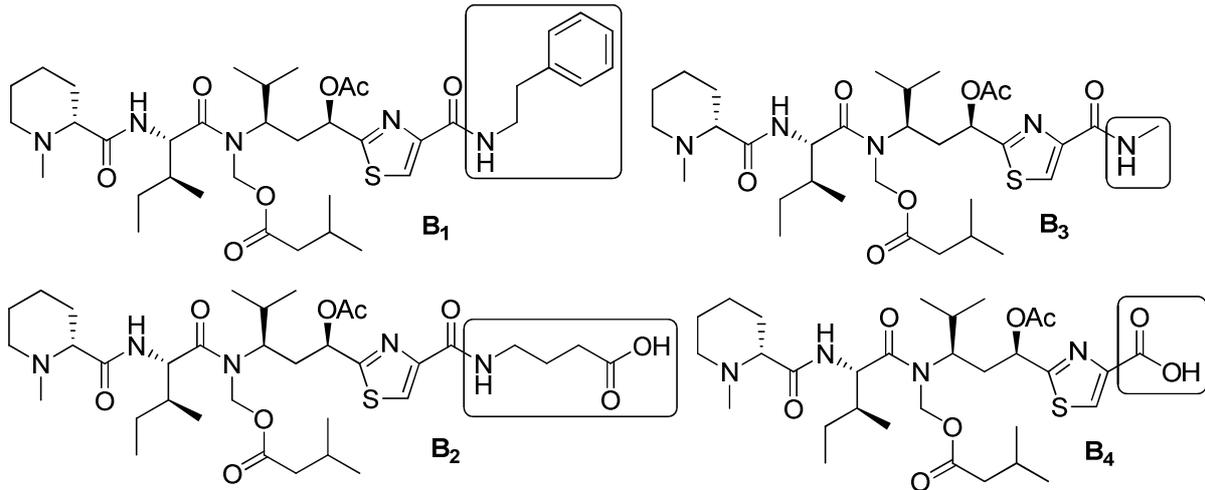
Abbildung 2.17: *N*-Methyltubulysin-Derivate nach Wang.

Ellman *et al.* synthetisierten mehrere Tubulysin D-Derivate, bei denen sie sowohl den *N*- als auch den *C*-Terminus variierten.^[56] Dadurch konnte der Einfluss der beiden Enden auf die biologische Aktivität untersucht werden. Die Verbindungen sind in **Abbildung 2.18** dargestellt und wurden alle bezüglich ihrer Cytotoxizität gegen verschiedene Zelllinien getestet (**Tabelle 2.3**).

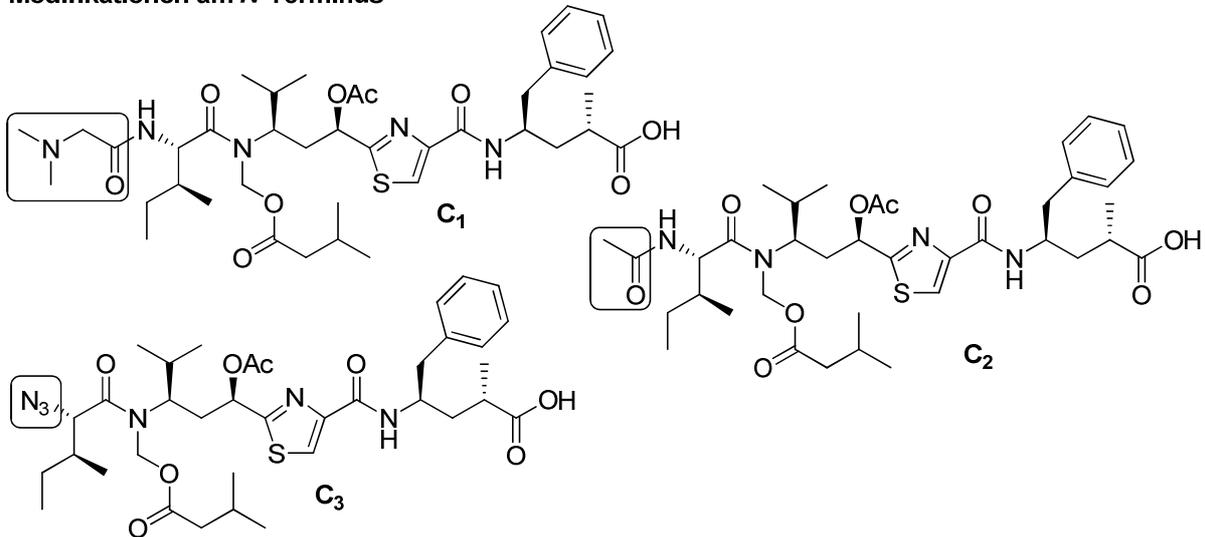
¹⁰ 50% growth inhibitory concentration. Beim GI_{50} wird der hemmende Effekt auf das Nettozellwachstum betrachtet, während er beim IC_{50} auf das gesamte Zellwachstum bezogen wird.

¹¹ Humane Glioblastom-Zellen.

Modifikationen am C-Terminus



Modifikationen am N-Terminus



Sonstige Modifikationen

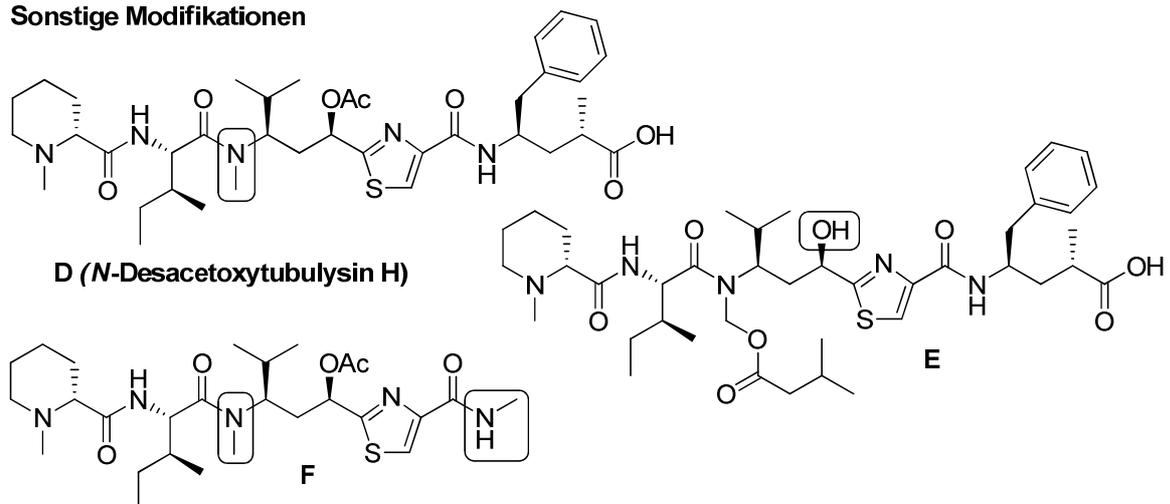


Abbildung 2.18: Tubulysin D-Analoga nach Ellman.

Tabelle 2.3: Biologische Aktivität der Verbindungen **B–F**.

Analogon	IC ₅₀ [ng/mL]		
	L929 ^a	SW-480 ^b	KB-3.1 ^c
Tubulysin D	0.056	0.022	0.070
B₁	0.24	0.30	0.25
B₂	3.5	0.91	1.8
B₃	0.30	0.35	0.22
B₄	2.2	0.35	1.5
C₁	0.040	0.10	0.029
C₂	120	15	80
C₃	45	8.8	20
D	0.23	0.016	0.13
E	0.25	0.057	0.22
F	1.7	0.50	1.2

^a L-929: Subkutanes Bindegewebe der Maus; ^b SW-480: Humanes Kolon-Adenokarzinom, ^c KB-3.1: Humanes Gebärmutterhalskarzinom.

Die Untersuchungen der Derivate **B** zeigte, dass zahlreiche Modifikationen im Tubuphenylalanin-Teil toleriert werden. So wurden sowohl hydrophobe (**B₁**) als auch hydrophile Reste akzeptiert (**B₂**). **B₁** zeigte eine Aktivität, die nur um den Faktor 10 geringer war als die von Tubulysin D, während **B₂** einen Aktivitätsverlust von zwei Zehnerpotenzen aufweist.

Erstaunlicherweise führte eine Verkürzung zum Methylamid (**B₃**) ebenfalls zu einer Aktivität im pg-Bereich. Sogar die vollständige Entfernung des Tup im Derivat **B₄** beeinflusst die Aktivität nur geringfügig. Diese Ergebnisse zeigen, dass diese Stelle im Tubulysin bestens geeignet ist, um umfangreiche Modifikationen durchzuführen, wie z. B. die Anbringung von Antikörpern oder Fluoreszenzmarkern.

Anschließend wurde der Einfluss des *N*-Terminus auf die Aktivität untersucht (Derivate **C**). Die Substitution des Mep durch das kleinere *N,N*-Dimethylglycin (**C₁**) führt sogar zu einer leichten Steigerung der Aktivität gegenüber dem Tubulysin D. Dies ist doch sehr erstaunlich, da zuvor Wang *et al.* berichteten, dass diese Substitution zu einem erheblichen Aktivitätsverlust führt.^[55] Verkürzt man den *N*-Terminus zum *N*-Acetyl- oder gar Azid-Rest, bricht die Aktivität um den Faktor 1000 ein. Dies zeigt deutlich, dass das basische Amin für die Bindung benötigt wird.

Die Betrachtung der Derivate **D** und **E** bestätigte nochmals die Ergebnisse, dass sowohl die Acetoxygruppe als auch die *N,O*-Acetalesterfunktion für die Cytotoxizität von geringer Bedeutung sind. Derivat **F** kombiniert die Vereinfachungen von Derivat **B₃** und **D**. Eine Betrachtung der Aktivität (0.5–1.7 ng/mL) zeigt, dass diese Struktur-Wirkungs-Beziehungen kumulativ sind. Dies ist schon erstaunlich, da das Derivat **F** nur noch 2/3 der molaren Masse von Tubulysin D besitzt. Angespornt durch diese Ergebnisse wurden von Ellman *et al.* für die Derivate **D** und **F** leistungsfähigere Totalsynthesen entwickelt, da die bisherigen Synthesestrategien von der durch das *N,O*-Acetal bedingten Schutzgruppen-Problematik geprägt war. Dabei konnte die Totalausbeute für diese Verbindungen auf über 40% gesteigert werden.^[57]

Auch die Arbeitsgruppe von Fecik beschäftigte sich intensiv mit SAR-Studien von vereinfachten Tubulysin-Derivaten mit dem Ziel die minimalen Anforderungen der Struktur für die cytotoxische Aktivität herauszufinden. So wurden Veränderungen der Ringgröße, *N*-Methylierung und der Konfiguration am *N*-Terminus untersucht (**Abbildung 2.19**).^[58] Zu diesem Zweck wurden Derivate mit Pipecolinsäure ($n = 2$) und Prolin ($n = 1$) synthetisiert. Zudem wurde der Einfluss der Methylgruppe im Tup studiert, indem sowohl Desmethyl- als auch Dimethyl-Derivate hergestellt wurden.^[59] Allen Verbindungen ist gemein, dass sie statt der Acetal-Funktion eine normale Amidbindung besitzen und statt der Acetoxy- eine Keto-Gruppe haben, da dieses Strukturmerkmal konvergent ist mit der Totalsynthese von Tubulysin U und V, die von Fecik *et al.* zuvor publiziert wurde.^[45]

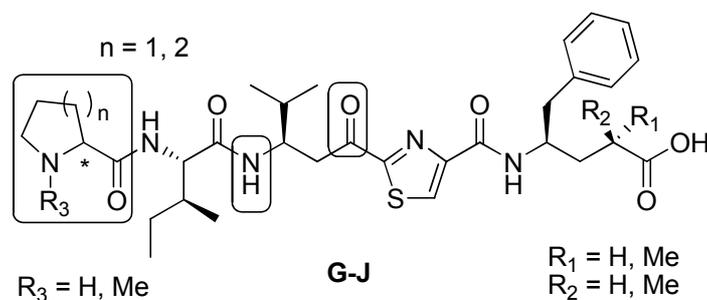


Abbildung 2.19: Tubulysin-Derivate nach Fecik.

Die Ergebnisse der Cytotoxizitätsstudien gegenüber 1A9-Ovarial-Krebszellen sind in **Tabelle 2.4** dargestellt, wobei das Hemiasterlin¹²-Analogon HTI-286 als Referenz verwendet wurde. Die Derivate **G** besitzen alle *N*-Methyl-Gruppen und variieren in der Ringgröße und der Konfiguration. Ein Vergleich von **G₁** und **G₂** zeigt, dass die Ringgröße keinen signifikanten Einfluss besitzt. Es werden sowohl das Mep als auch das *N*-Methylprolin akzeptiert. Dagegen ist die korrekte Stereochemie wichtig für die Aktivität, da sich die Verbindungen **G₃** und **G₄** um den Faktor 200 unterscheiden. Es

¹² Cytotoxisches Tripeptid des marinen Schwammes *Cymbastella sp.*

wird also ganz klar die unnatürliche (*R*)-Konfiguration bevorzugt. Die zweite Gruppe (Derivate **H**) sind analog zu den Verbindungen **G**, nur dass sie alle keine *N*-Methylgruppe besitzen. Hier sieht man schnell, dass die Methylgruppe für die biologische Aktivität sehr wichtig ist, da die IC₅₀-Werte stark einbrechen.

Tabelle 2.4: Biologische der Aktivität Verbindungen **G–J**.

Derivat	R ₁	R ₂	R ₃	n	Konf. (*)	IC ₅₀ [μM] ^a
G₁	Me	H	Me	1	<i>R</i>	0.8
G₂	Me	H	Me	1	<i>S</i>	18
G₃	Me	H	Me	2	<i>R</i>	0.2
G₄	Me	H	Me	2	<i>S</i>	25
H₁	Me	H	H	1	<i>R</i>	>33
H₂	Me	H	H	1	<i>S</i>	>33
H₃	Me	H	H	2	<i>R</i>	23
H₄	Me	H	H	2	<i>S</i>	24
I₁	H	H	Me	1	<i>R</i>	2.3
I₂	H	H	Me	2	<i>R</i>	0.6
J₁	Me	Me	Me	1	<i>R</i>	2.7
J₂	Me	Me	Me	2	<i>R</i>	1.5
HTI-286^b						0.03 nM

^a Gemessen in 1A9 Ovarial-Krebszellen; ^b Hemiasterlin-Analogon.

Die Analoga **I** und **J** unterscheiden sich gegenüber den Verbindungen **G₁** und **G₃** darin, dass sie unterschiedliche Substitutionsmuster am α-C-Atom des Tup aufweisen. Während die beiden Derivate **I** gar keine Methylgruppe an dieser Stelle besitzen, sind die Derivate **J** doppelt methyliert. Alle Verbindungen werden ungefähr in gleichem Maße akzeptiert, was wiederum bestätigt, dass der C-Terminus nur eine geringe Bedeutung für die Cytotoxizität besitzt.

Um den Einfluss der Konfiguration am C-11 und C-13 im Tubuvalin-Mittelteil zu untersuchen, synthetisierten Tamura *et al.* verschiedene Epimere von Tubulysin D (**Abbildung 2.20**) und verglichen diese untereinander bezüglich ihrer Wirkung auf die Tubulin-Polymerisation und das Zellwachstum.^[60] Dabei zeigte sich, dass diese beiden Parameter nicht zwangsläufig miteinander korrelieren müssen.

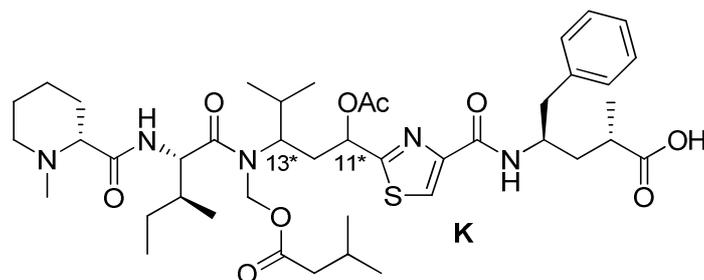


Abbildung 2.20: Tubulysin-D-Epimere nach Shibue.

Die Inhibierung der Tubulin-Polymerisation wurde mit isoliertem Material aus dem Schweinehirn durchgeführt. Die IC_{50} -Werte der Derivate **K** liegen alle zwischen 1.4 und 6.3 μM (nicht in **Tabelle 2.5** enthalten). Dies zeigt, dass die Konfiguration so gut wie keinen Einfluss auf die Tubulin-Polymerisation hat, was konträr zu den Ergebnissen von Wang *et al.* ist.^[55]

Die antiproliferative Wirkung der Epimere **K** auf vier verschiedene Zelllinien ist in **Tabelle 2.5** dargestellt. Durch Umkehr der Konfiguration der Acetoxygruppe am C-11 (**K₁**) sinkt die Aktivität, verglichen mit Tubulysin D, um den Faktor 100–1000. Noch dramatischer ist der Einbruch bei der Retention des Stereozentrums am C-13 (**K₂**, Faktor 10^5). Werden sogar beide Stereozentren umgedreht (**K₃**), besitzt das Tubulysin-Derivat praktisch keine cytotoxischen Eigenschaften mehr. Dies zeigt, dass die Stereochemie im Tubuvalin, im Vergleich zu der des Tubuphenylalanins, für die biologische Aktivität sehr wichtig ist.

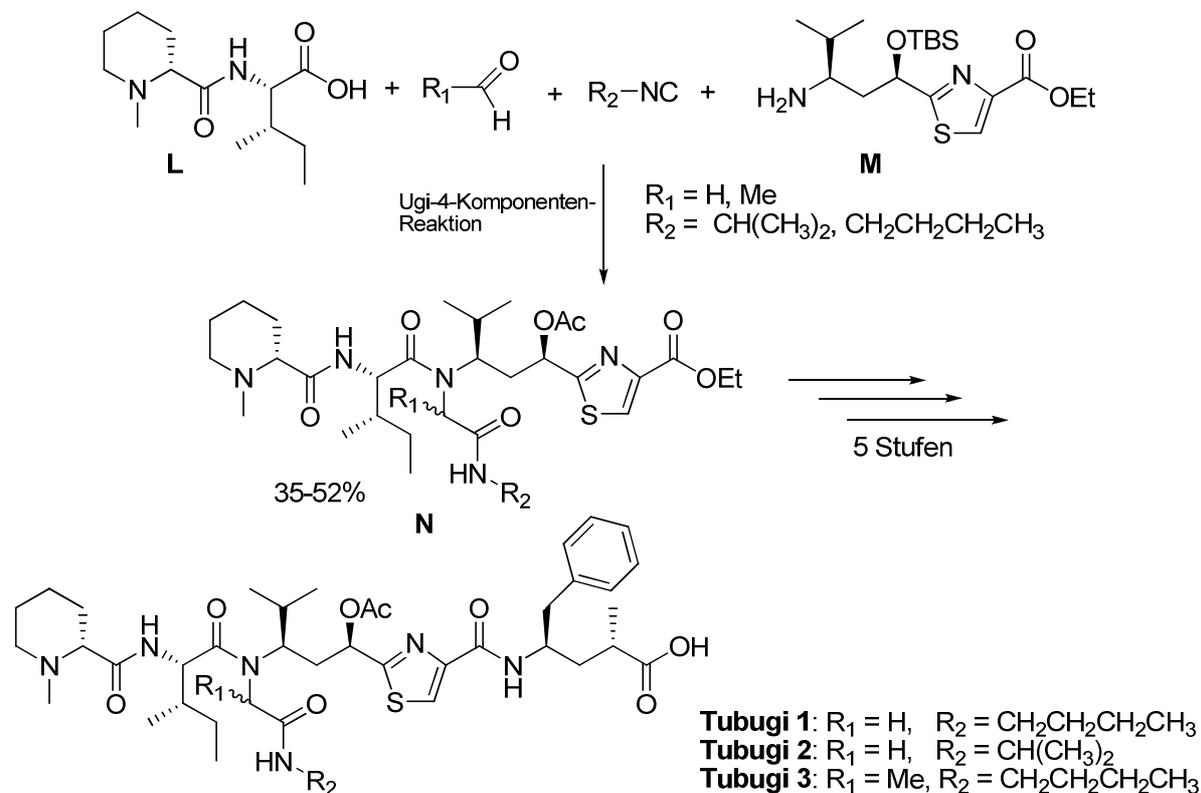
Tabelle 2.5: Biologische Aktivität der Epimere **K**.

Verbindung	Epimer	Konf. (11*)	Konf. (13*)	IC_{50} [nM]			
				HL60 ^a	HCT116 ^b	MCF7 ^c	A549 ^d
Tubulysin D		<i>R</i>	<i>R</i>	0.0047	0.0031	0.67	0.013
K₁	11-<i>epi</i>	<i>S</i>	<i>R</i>	3.1	13	280	43
K₂	13-<i>epi</i>	<i>R</i>	<i>S</i>	98	920	240	1200
K₃	11,13-<i>epi</i>	<i>S</i>	<i>S</i>	3600	>10000	>10000	>10000

^a HL60: Humane akute Promyelozytenleukämie; ^b HCT-116: Humanes Kolonkarzinom; ^c Humanes Brustadenokarzinom; ^d A-549: Humanes Lungenkarzinom.

Vor kurzem stellten Wessjohann *et al.* eine ganz neue Art von Tubulysin-Derivaten vor, die sie als Tubugis bezeichneten.^[61] Das Interessante an diesen Verbindungen ist, dass sie statt der labilen *N,O*-Acetalesterfunktion eine stabile Seitenkette in Form eines dipeptoiden Elementes besitzen (**Schema 2.18**). Der synthetische Schlüsselschritt ist dabei eine Vier-Komponenten-Ugi-Reaktion. Als Amin-Komponente fungiert das Tubuvalin **M**, während als Säure-Komponente das bekannte Mep-

Ile-Dipeptid **L** Verwendung findet. Der Aldehyd und das Nitril sind variabel und sorgen für die Einführung verschiedener Reste in der peptoiden Seitenkette. Die Tripeptide **N** können dabei mit einer Ausbeute von 35–52% dargestellt und in fünf weiteren Schritten zu den Tubugis umgesetzt werden.



Schema 2.18: Synthese der Tubugis nach Wessjohann.

Eine direkte Synthese der Tubugis unter Verwendung von Tuv-Tup als Amin-Komponente scheiterte bisher an einer nicht unterdrückbaren Nebenreaktion, die schneller abläuft als die Mumm-Umlagerung, die zur gewünschten Produktbildung führt.^[61] In **Tabelle 2.6** sind die Cytotoxizitätsstudien für drei dieser Derivate dargestellt. Die GI_{50} -Werte liegen allesamt im picomolaren Bereich wie bei Tubulyisin A.

Tabelle 2.6: Biologische Aktivität der Tubugis.

Verbindung	GI_{50} [nM]	
	PC-3 ^a	HAT-29 ^b
Tubulyisin A	0.21	0.32
Tubugi 1	0.23	0.14
Tubugi 2	0.29	0.34
Tubugi 3	0.22	0.56

^a Humanes Prostatakarzinom; ^b Humanes Dickdarmkarzinom.

Vor wenigen Monaten stellten Zanda *et al.* das erste Tubulysin-Derivat vor, das statt dem zentralen Thiazolring einen anderen Heteroaromaten besitzt. Dazu synthetisierten sie das Oxazoltubulysin U (**Abbildung 2.21**) und verglichen es mit Tubulysin U bezüglich der antimittotischen Wirkung auf HL-60-Leukämiezellen. Dabei zeigt das Oxazol-Derivat eine etwas höhere Wirkung als das Tubulysin U (Faktor zwei).^[62] Dieses Ergebnis zeigt, dass im Vergleich zu den restlichen Positionen im Molekül, an der zentralen Thiazoleinheit noch genügend Potential vorhanden ist, um neue hochwirksame Tubulysin-Analoga zu synthetisieren.

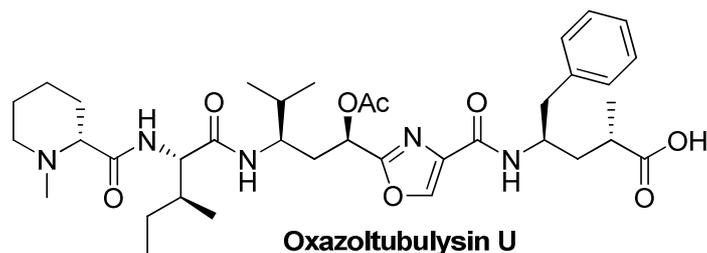


Abbildung 2.21: Oxazoltubulysin U nach Zanda.

Auch wenn die Tubulysine extrem hohe Aktivitäten bei *in vitro* Experimenten zeigen, gestaltet sich die Dosierung im Tiermodell als äußerst schwierig. In einem komplexen Organismus müssen die Wirkstoffe an den korrekten Wirkort geleitet werden, im Falle des Tubulysins sind es die wuchernden Krebszellen. Zu diesem Zweck wurden von der Firma *Endocyte Inc.* Folsäure-Konjugate der Tubulysine synthetisiert. Dazu wurden Tub A und Tub B mit reduzierbaren Disulfidbrücken über einen hydrophilen Peptid-Spacer mit Folsäure verknüpft. Der Folsäurerezeptor ist, im Gegensatz zu gesundem Gewebe, in verschiedenen Tumorarten extrem hochreguliert, da Krebszellen einen viel höheren Energiebedarf haben als normale Zellen. So lässt sich der Wirkstoff effizient an den korrekten Wirkort adressieren und als „trojanisches Pferd“ in die bösartige Zelle einschleusen, wo er nach Freisetzung die Apoptose auslösen soll. Auf Grund guter Wasserlöslichkeit und hoher Bindungsaffinität zum Folsäurerezeptor konnten im Mausmodell Tumore stark verkleinert und teilweise auch vollständig eliminiert werden.^[63]

Eine weitere Variante besteht in der Entwicklung eines Nanopartikel-*Prodrugs* von Tubulysin A. Dabei wird ein Thiol-Derivat von Tub A ebenfalls über eine Disulfidbrücke an ein Polymer, basierend auf β -Cyclodextrin, kovalent geknüpft. Aufgrund des EPR-Effektes (*Enhanced permeability and retention effect*) lagern sich Nanopartikel dieser Moleküle bevorzugt im Tumorgewebe an und setzen somit den Wirkstoff lokal konzentriert frei.^[64]

3 Aufgabenstellung

Basierend auf früheren Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe zur Synthese des biologisch hochaktiven Biosyntheseintermediats Prätubulysin^[22] (s. Kapitel 2.4.6) sollten nun im Rahmen dieser Arbeit weitere vereinfachte Prätubulysin-Derivate synthetisiert werden, um mit diesen Derivaten weitere Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu untersuchen. Dazu sollte der Thiazolring der Tubuvalineinheit, der sehr wahrscheinlich als „Spacer“ dient, um die beiden Enden des Tubulysins in die richtige Position für die Bindung an das Tubulysin zu bringen, durch andere starre Platzhalter in Form von aromatischen Systemen wie Oxazol-, Phenyl- und Triazol-Einheiten ersetzt werden um zu neuartigen Tubuvalinderivaten zu gelangen (**Abbildung 3.1**). Dabei kann die Triazoleinheit genutzt werden, um schnell und effizient *via Click-Chemie* Substanzbibliotheken aufzubauen.

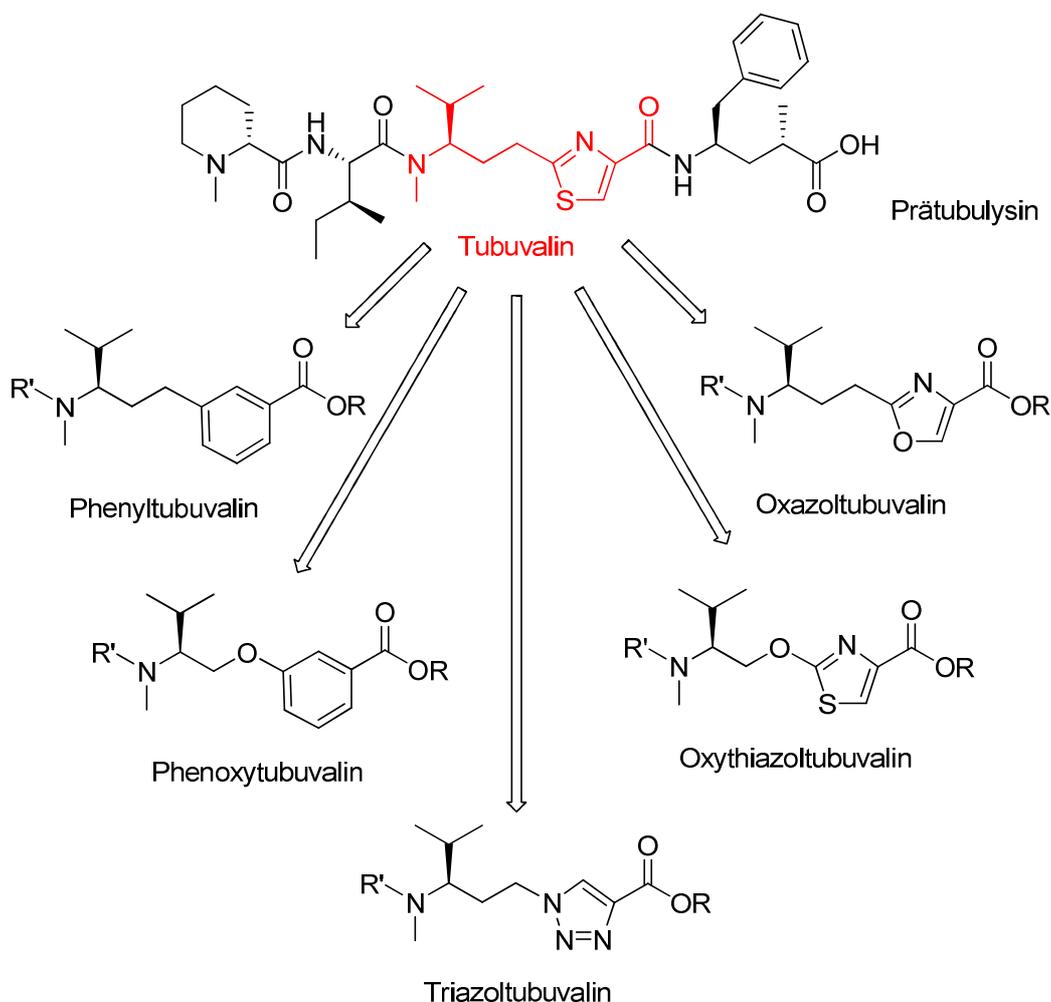
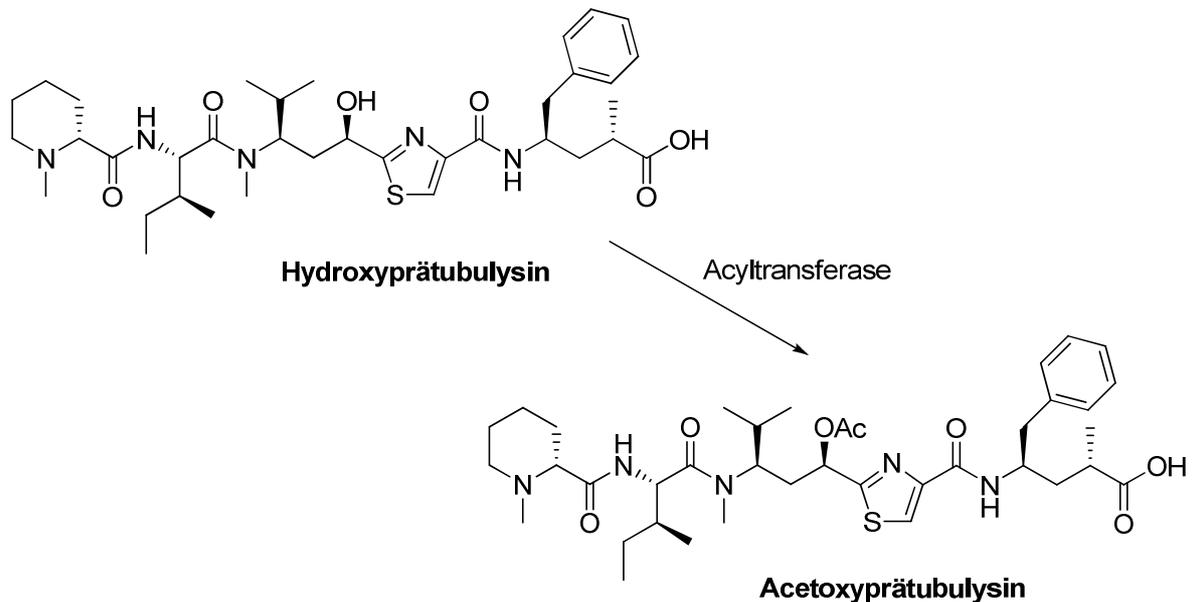


Abbildung 3.1: Neuartige Tubuvalin- und Prätubulysin-Derivate.

Anschließend sollten die neuen Prätubulysin-Derivate im Arbeitskreis von Herrn Prof. Rolf Müller am Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung an der Universität des Saarlandes auf ihre cytotoxischen Eigenschaften gegenüber diversen Krebszelllinien getestet werden. Dabei sollten neue Erkenntnisse darüber gewonnen werden welche Rolle die Thiazol-Einheit bei der biologischen Aktivität spielt. Ein Vorteil beim Ersetzen des Thiazol-Ringes könnte dabei sein, dass man die Moleküle im Nachhinein durch Kreuzkupplungsreaktionen modifizieren kann, die normalerweise durch den Schwefel limitiert sind.

Eine weitere Aufgabenstellung dieser Arbeit beinhaltet die weitere Aufklärung des Biosyntheseweges des Tubulysins. Obwohl dieser weitestgehend aufgeklärt ist, konnten die Gene für die Kodierung der Monooxygenasen und Acyltransferasen im Genom noch nicht lokalisiert werden (s. Kapitel 2.3.2). Im Arbeitskreis Müller wurde nun vor kurzem eine potentielle Acyltransferase gefunden, die das hydroxylierte Prätubulysin in das fertige Tubulysin überführen soll. Um dies zu bestätigen sollte im Rahmen dieser Arbeit Hydroxyprätubulysin (**Schema 3.1**) für Fütterungsexperimente bereitgestellt werden. Dabei erhoffte man sich durch den Nachweis von Acetoxyprätubulysin diese Hypothese zu untermauern.



Schema 3.1: Biotransformation von Hydroxyprätubulysin zu Acetoxyprätubulysin.

Das dritte Ziel dieser Arbeit war es einen Beitrag zur Identifizierung der Bindungsstelle des Tubulysins im Tubulin zu leisten, denn bis heute ist nicht sicher geklärt in welcher Bindungsdomäne das Tubulysin bindet (s. Kapitel 2.2). Zu diesem Zweck sollte ein Prätubulysin-Derivat mit photoaktivierbarer Gruppe synthetisiert werden um mittels *Photoaffinity Labeling* Bindungsstudien zu betreiben.^[65]

In unserem Fall bot sich an die Phenylgruppe im Tubuphenylalanin durch eine Benzophenongruppe zu ersetzen (**Abbildung 3.2**).^[66] Dieser photolabile *Precursor* bildet durch Bestrahlung mit UV-Licht hochreaktive Radikale, die dann kovalent an das Tubulin binden können.^[67] Dadurch erhofft man sich die Bindungsstelle des Tubulysins im Tubulin nachweisen zu können. Außerdem kann diese Methode verwendet werden, um neue Wirkorte zu identifizieren. Durch *aktivitätsbasiertes Protein-Profiling* (ABPP) sollen so weitere biologische Angriffsziele (z.B. Enzyme, Proteine) identifiziert werden, bei denen das Prätubulysin eine biologische Wirkung zeigt.^[68] Dieses Projekt läuft in Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis von Herrn Prof. Stephan Siebert der Ludwig-Maximilian Universität in München.

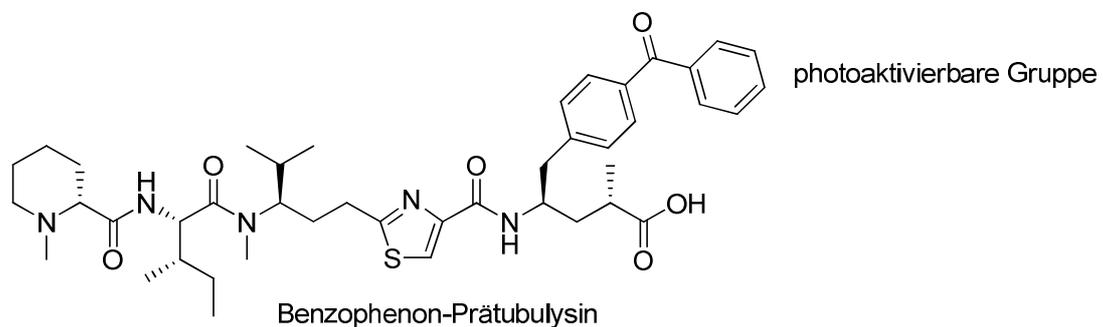


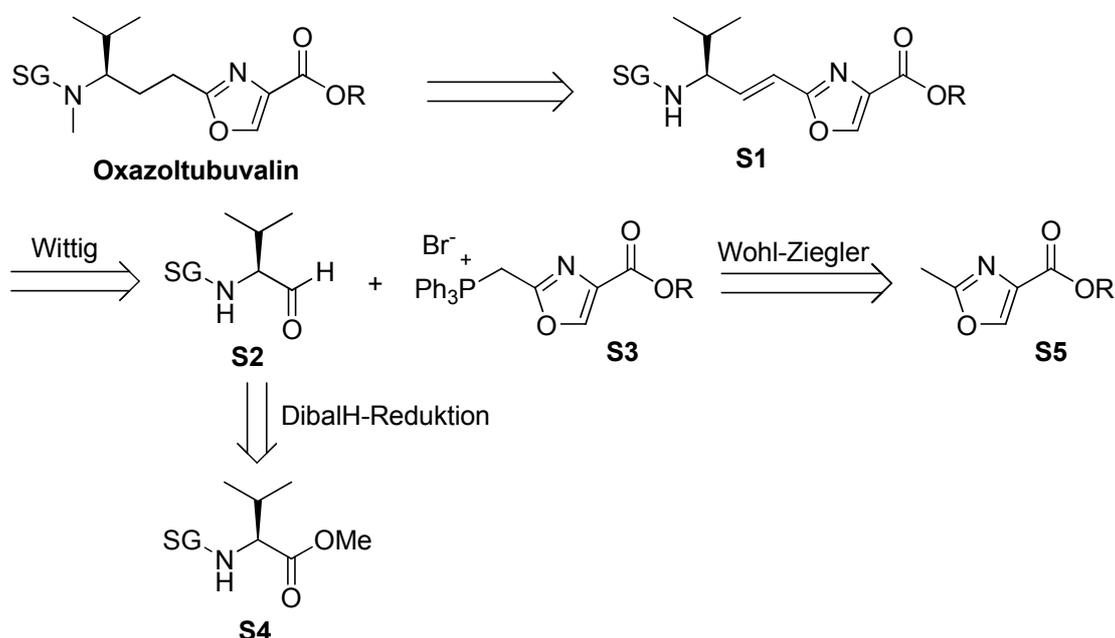
Abbildung 3.2: Photoaktivierbares Prätubulysin-Derivat für *Photoaffinity Labeling*.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Synthese von Oxazolprätubulylin

4.1.1 Synthese von Oxazoltubuvalin

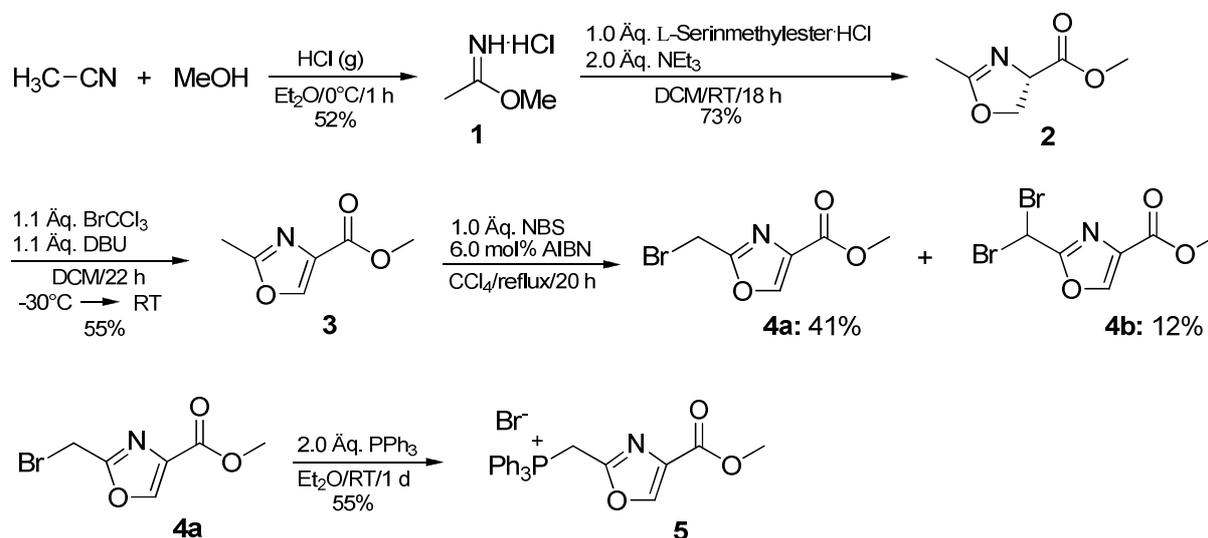
Im ersten Schritt musste das Oxazoltubuvalin hergestellt werden um dieses anschließend zum Oxazolprätubulylin umzusetzen (**Schema 4.1**). Der Schlüsselschritt zur Darstellung des Tubuvalin-Fragmentes sollte dabei eine kombinierte DibalH-Wittig-Reaktion sein um das Valin **S4** zum entsprechenden Oxazol-Derivat **S1** zu verlängern. Dazu wurden zuerst die benötigten Edukte **S4** und **S5** synthetisiert.



Schema 4.1: Retrosynthese von Oxazoltubuvalin.

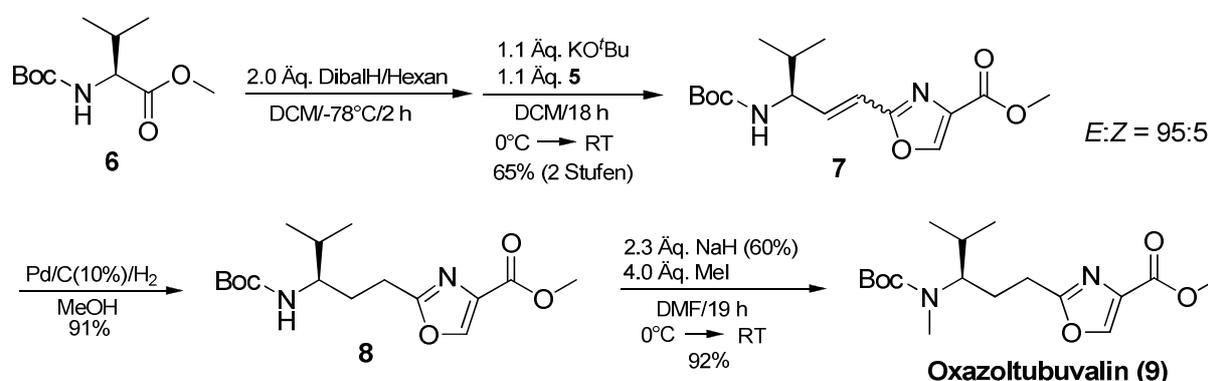
Die Synthese der Wittig-Komponente **S3** ist in **Schema 4.2** dargestellt. Ausgehend von Acetonitril und Methanol wurde der Imidoester **1** mit trockenem HCl-Gas in einer akzeptablen Ausbeute von 52% erhalten.^[69] Dieser wurde anschließend mit L-Serinmethylester in Gegenwart einer stöchiometrischen Menge an Triethylamin zum Oxazolin **2** umgesetzt und mit BrCCl_3 und DBU zum Oxazol **3** oxidiert.^{[70][71]} Im nächsten Schritt sollte die Methylgruppe des Oxazols mittels Wohl-Ziegler-Reaktion monobromiert werden.^[72] Das gewünschte monobromierte Produkt wurde mit einer moderaten Ausbeute von 41% erhalten. Daneben entstanden allerdings noch 12% des dibromierten Produktes **4b**. Das nicht abreagierte Edukt konnte ebenso wie das dibromierte Nebenprodukt problemlos mittels Flashchromatographie vom Hauptprodukt abgetrennt werden. Die Überführung des Bromids in das Wittigsalz **5** verlief

allerdings mit unerwarteten Problemen, obwohl die Reaktion in der Literatur als problemlos beschrieben war.^[73] Das Wittigsalz konnte nur mit einer Ausbeute von 55% isoliert werden. Neben nicht identifizierbaren Verunreinigungen wurde auch wieder das Oxazol **3** gefunden, welches durch Reduktion des Bromids mit dem Triphenylphosphin entstand.



Schema 4.2: Synthese des Wittigsalzes **5**.

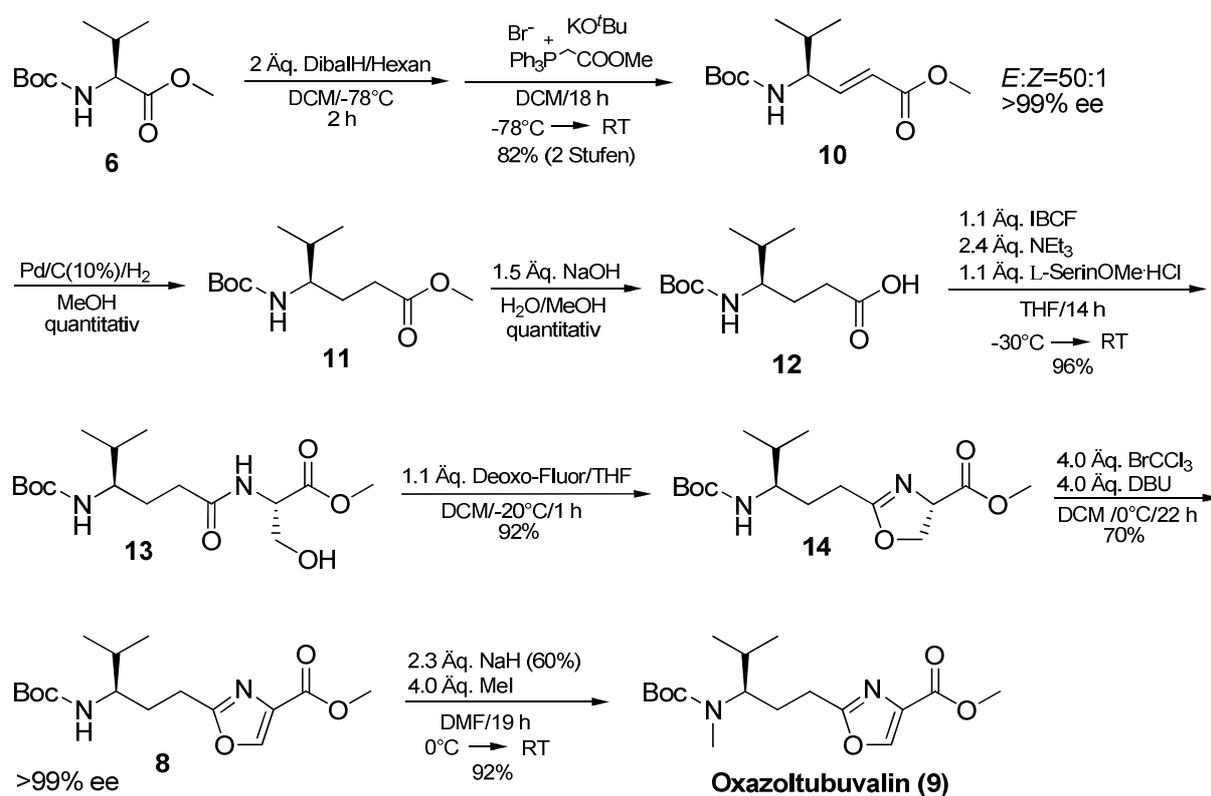
Das Wittigsalz **5** wurde anschließend in einer DibalH-Wittig-Eintopfreaktion mit Boc-Valinmethylester **6** zum ungesättigten Oxazol **7** umgesetzt (**Schema 4.3**). Dabei wurde zuerst der Ester bei -78°C mittels DibalH zum Aldehyd reduziert und dieser anschließend ohne Aufarbeitung mit dem Wittigsalz und Kalium-*tert*-butanolat als Base umgesetzt. Dabei entstand das gewünschte Produkt in einer guten Ausbeute von 65% (über zwei Stufen) mit einem *E:Z*-Verhältnis von 95:5 ($^1\text{H-NMR}$). Die anschließende Hydrierung der Doppelbindung zum Oxazol-Derivat **8** und die Methylierung der NH-Boc-Gruppe zum Oxazoltubuvalin **9** verliefen jeweils problemlos in hervorragenden Ausbeuten.



Schema 4.3: Synthese von Oxazoltubuvalin **9**.

Zur Überprüfung der Enantiomerenreinheit wurde Verbindung **8** ebenfalls racemisch synthetisiert. Dabei zeigte sich, dass es während der DibalH-Reduktion des Valinesters **6** zum entsprechenden Aldehyd zu keiner Racemisierung kam (>99% ee, HPLC). Da diese Syntheseroute auf Grund der beschriebenen Probleme und teilweise geringen Ausbeute nicht befriedigend war, wurde eine weitere, elegantere Synthese entwickelt (**Schema 4.4**), basierend auf den Arbeiten von Wipf *et al.* zur Synthese von Tubuvalin.^[52]

Wiederum ausgehend von Boc-Valinmethylester **6** wurde dieser in einer DibalH-Wittig-Eintopfreaktion um zwei CH₂-Einheiten zum α,β -ungesättigten Ester **10** verlängert. Das Produkt konnte in einer hervorragenden Ausbeute von 82% und einer Enantiomerenreinheit von >99% erhalten werden (HPLC). Hydrierung der Doppelbindung und Verseifung des Methylesters lieferten das verlängerte Valin **12** in quantitativer Ausbeute. Anschließend wurde die Säure *via* gemischtes Anhydrid mit L-Serinmethylester zum Dipeptid **13** geknüpft (96% Ausbeute).^[74] Das Dipeptid wurde nun mit Deoxo-Fluor¹³ (*bis*[2-Methoxyethyl]aminosulfurtrifluorid) bei -20°C zum entsprechenden Oxazolin **14** cyclisiert.^[75]



Schema 4.4: Alternative Synthese für Oxazoltubuvalin **9**.

¹³ Reagenz ist kommerziell erhältlich als 50%ige Lösung in THF.

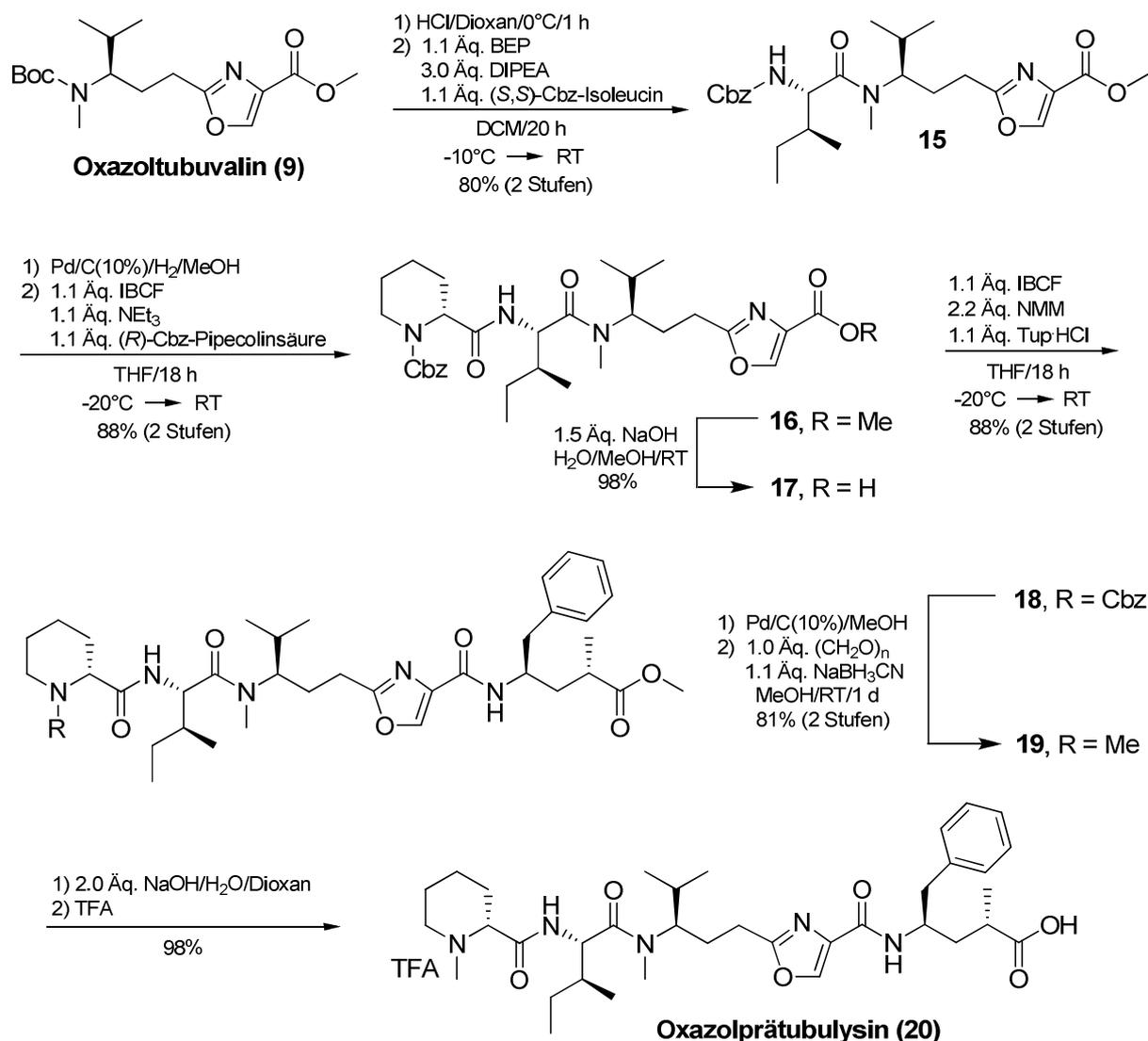
Deoxo-Fluor wirkt dabei genauso wie DAST (Diethylaminosulfurtrifluorid) als Dehydratisierungsreagenz und entzieht dem Gleichgewicht das Wasser, allerdings hat es gegenüber DAST den Vorteil, dass es thermisch stabiler ist.^[76] Die Reaktion verlief mit einer hervorragenden Ausbeute von 92%. Anschließend wurde das Oxazolin wiederum mit $\text{BrCCl}_3/\text{DBU}$ zum Oxazolderivat **8** oxidiert. In diesem Fall verlief die Oxidation mit guten 70%. Im letzten Schritt wurde wiederum der Stickstoff in nahezu quantitativer Ausbeute methyliert. Auch bei dieser Syntheseroute konnte keine Racemisierung detektiert werden (>99% ee, HPLC).

4.1.2 Synthese des Oxazolprätubulysins

Das Oxazoltubuvalin **9** wurde nun entsprechend der in unserem Arbeitskreis entwickelten Syntheseroute zum Tetrapeptid umgesetzt (**Schema 4.5**).^[22] Im ersten Schritt wurde die Boc-Schutzgruppe mit HCl in Dioxan abgespalten und das Hydrochlorid mit (S,S)-Cbz-Isoleucin zum Dipeptid **15** geknüpft. Als Knüpfungsreagenz wurde BEP (2-Bromo-1-ethylpyridiniumtetrafluoroborat) verwendet, da dieses hervorragend geeignet ist um *N*-methylierte Aminosäuren racemisierungsfrei zu knüpfen, wobei das Dipeptid **15** mit einer sehr guten Ausbeute von 80% über zwei Stufen erhalten wurde.^[77] Im nächsten Schritt wurde die Cbz-Schutzgruppe hydriert und das freie Amin *via* gemischtes Anhydrid mit (*R*)-Cbz-Pipecolinsäure zum Tripeptid **16** geknüpft (88% über beide Stufen). An dieser Stelle zeigte sich schon der erste synthetische Vorteil gegenüber dem „Originalprätubulysin“, welches Schwefel in Form von Thiazol enthält. Hier konnte die Cbz-Schutzgruppe mittels katalytischer Hydrierung schonend abgespalten werden und musste nicht mit aggressiven Reagenzien wie z.B. HBr in Eisessig behandelt werden. Da die unnatürliche (*R*)-Pipecolinsäure sehr teuer ist, wurde sie durch Racematspaltung der racemischen Cbz-Pipecolinsäure mit (*S*)-Phenethylamin selbst hergestellt.^[78]

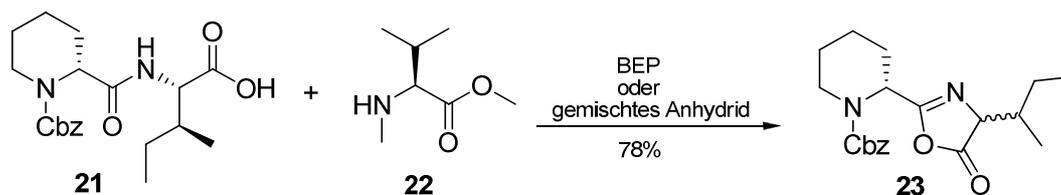
Im nächsten Schritt wurde der Methylester **16** mit NaOH verseift (**17**), die freie Säure als gemischtes Anhydrid aktiviert und der Aktivester mit Tubuphenylalanin (Tup) zum Tetrapeptid **18** umgesetzt (88% Ausbeute über zwei Stufen). Das eingesetzte Tubuphenylalanin wurde entsprechend der Literatur synthetisiert.^[22] Das Tetrapeptid wurde am *N*-Terminus entschützt und der Stickstoff mit Paraformaldehyd und NaBH_3CN mit einer hervorragenden Ausbeute von 81% (zwei Stufen) reaktiv methyliert (**19**). Zur Komplettierung der Synthese wurde der Methylester mit NaOH verseift und das Rohprodukt mit Trifluoressigsäure ins TFA-Salz **20** überführt. Auf Grund der Größe des Moleküls lässt sich dieses problemlos chromatographieren. Obwohl die Verseifung auf Grund der sterischen Hinderung des Tup bei 80°C durchgeführt werden musste, konnte keine Epimerisierung (¹H-NMR) detektiert werden.

Ergebnisse und Diskussion



Schema 4.5: Synthese von Oxazolprätubulylin 20.

Um einige Arbeitsschritte in Form der zahlreichen Knüpfungsschritte einzusparen wäre es von Vorteil Oxazoltubuvalin **9** direkt mit dem Dipeptid Cbz-Pip-Ile-OH **21** zu knüpfen (**Schema 4.6**). Dies hätte den Vorteil, dass man bei der Synthese weiterer Prätubulyinderivate viel Arbeit sparen könnte, da immer der Mittelpart (Tubuvalin) ausgetauscht werden sollte. Als Testsubstrat wurde *N*-Methylvalinmethylester **22** mit dem Dipeptid **21** umgesetzt. Als Knüpfungsreagenz wurde sowohl BEP als auch die Methode des gemischten Anhydrids verwendet. In beiden Fällen konnte allerdings nur das Azlacton **23** isoliert werden. Zwar funktioniert in beiden Fällen die Aktivierung des Dipeptides, allerdings ist das *N*-Methyl-Valin-Nucleophil sterisch zu gehindert um mit dem Aktivester abzureagieren. Erschwerend kommt außerdem der sterische Anspruch des Isoleucins hinzu. Daher verläuft die Cyclisierung des Aktivesters schneller als die Peptidknüpfung. Somit wurde dieser Ansatz wieder verworfen und die Tetrapeptide mussten doch Schritt für Schritt synthetisiert werden.

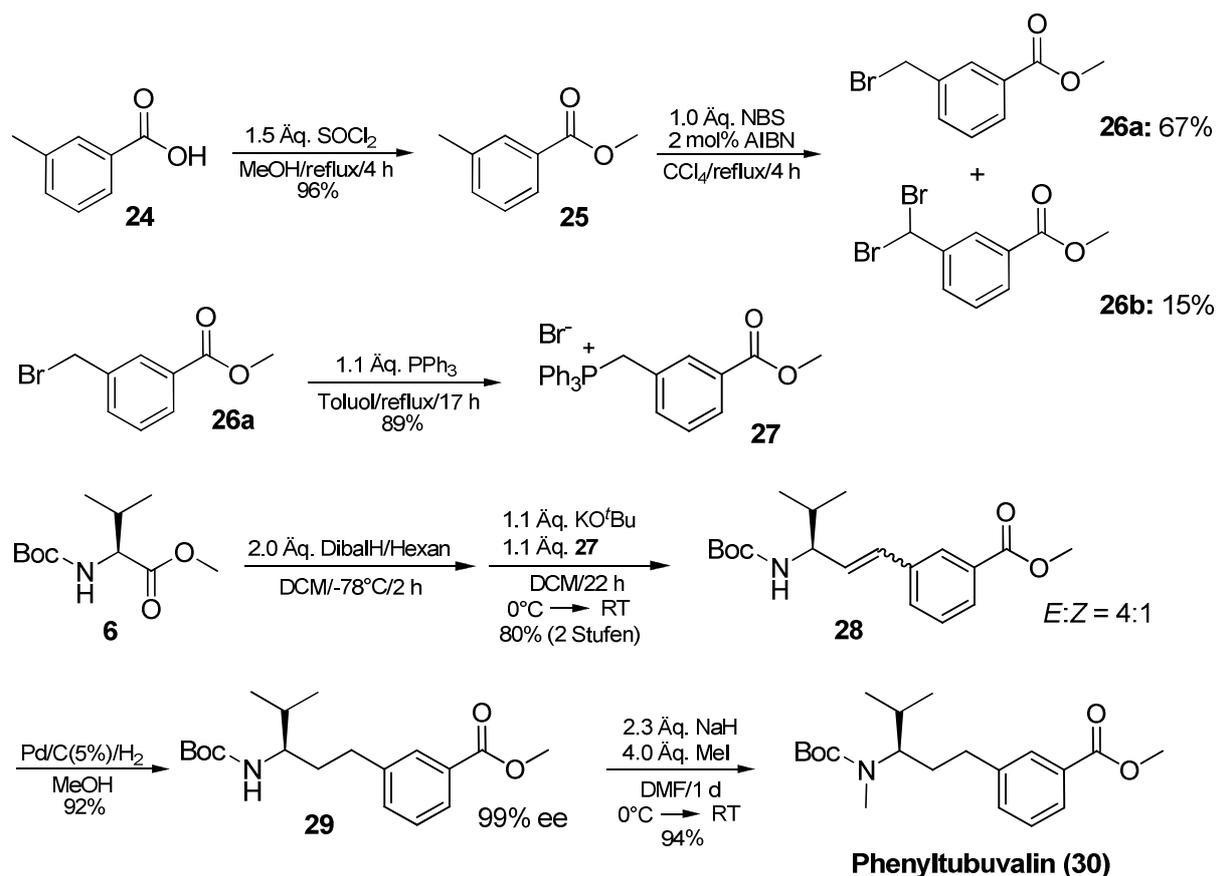


Schema 4.6: Unerwünschte Azlactonbildung bei der Aktivierung von Dipeptid **21**.

4.2 Synthese von Phenyl-, Phenoxy- und Oxythiazolprä-tubulysin

4.2.1 Synthese von Phenyltubuvalin

Die Synthese von Phenyltubuvalin sollte analog zur Synthese des Oxazoltubuvalins mit einer DibalH-Wittig-Eintopfreaktion als Schlüsselschritt erfolgen (**Schema 4.7**). Ausgehend von kommerziell erhältlicher *m*-Tolylsäure **24** wurde zuerst mit Thionylchlorid und Methanol in nahezu quantitativer Ausbeute der entsprechende Methylester **25** synthetisiert. Dieser wurde anschließend mittels Wohl-Ziegler-Reaktion unter Verwendung von einem Äquivalent NBS und katalytischen Mengen an AIBN bromiert.^[79] Dabei entstand ein chromatographisch nicht trennbares Gemisch aus monobromiertem (**26a**) und dibromiertem Produkt (**26b**) im Verhältnis 4.5:1. Allerdings konnten die beiden Produkte bei -78°C durch Kristallisation getrennt werden. Während das gewünschte monobromierte Produkt bei -78°C in Diethylether auskristallisiert, bleibt das dibromierte Nebenprodukt in Lösung. Auf diese Weise konnte Verbindung **26a** nahezu rein mit einer Ausbeute von 67% erhalten werden. Anschließend wurde Bromid **26a** mittels Triphenylphosphin mit 89% Ausbeute in das entsprechende Wittigsalz **27** überführt.^[80] Die ungesättigte Verbindung **28** wurde durch eine zweistufige DibalH-Wittig-Eintopfreaktion ausgehend vom Valinester **6** in 80% über beide Stufen erhalten. Dabei wurde zuerst der Ester bei -78°C mittels DibalH zum Aldehyd reduziert und dieser anschließend ohne Aufarbeitung mit dem Wittigsalz **27** und Kalium-*tert*-butanolat als Base umgesetzt. Man erhielt ein chromatographisch nicht trennbares *E:Z*-Gemisch im Verhältnis 4:1, was allerdings für die weitere Synthese keine Rolle spielte. Anschließend wurde die ungesättigte Verbindung hydriert (**29**) und am Stickstoff methyliert, wobei das Phenyltubuvalin **30** in exzellenter Ausbeute erhalten wurde. Mittels HPLC konnte gezeigt werden, dass Verbindung **29** eine Enantiomerenreinheit von 99% aufweist.



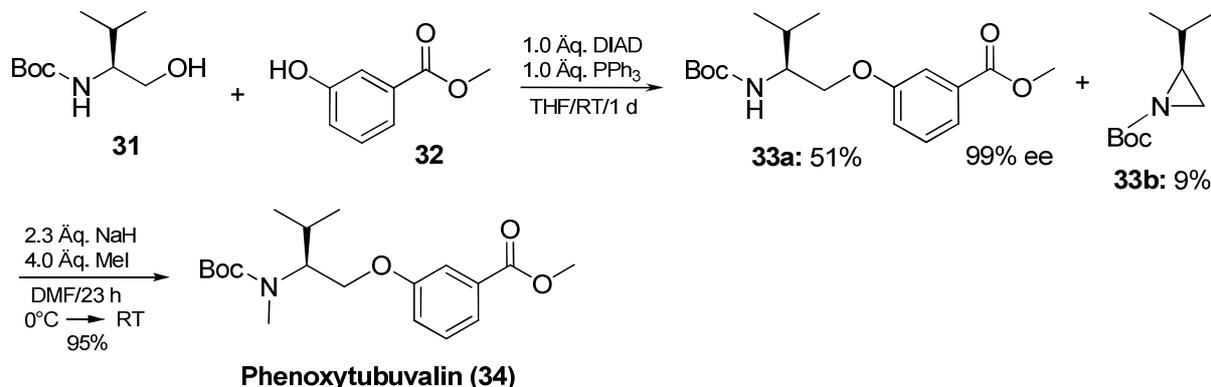
Schema 4.7: Synthese von Phenyltubuvalin 30.

Es wurde auch versucht die Methylgruppe am Stickstoff vor der Wittig-Reaktion einzuführen. Zu diesem Zweck wurde die *N*-Methyl-Variante von Valinester **6** mit DibalH reduziert und mit dem Wittigreagenz **27** geknüpft. Allerdings konnte bei dieser Variante das entsprechende Produkt nur mit einer Ausbeute von maximal 44% erhalten werden. Das Problem dabei war die DibalH-Reduktion, da die Methylgruppe am Stickstoff einen Angriff des sterisch anspruchsvollen DibalH's erschwert.

4.2.2 Synthese von Phenoxytubuvalin

Der Schlüsselschritt bei der Synthese von Phenoxytubuvalin sollte eine Mitsunobu-Reaktion^[81] sein um den Sauerstoff in Nachbarschaft zum Phenylring in das System einzuführen. Zu diesem Zweck wurde Boc-Valinol **31** mit kommerziell erhältlichem Methyl-3-hydroxybenzoat **32** in besagter Mitsunobu-Reaktion umgesetzt (**Schema 4.8**).^[82] Dabei konnte der gewünschte Phenoylether **33a** mit einer moderaten Ausbeute von 51% und einem exzellenten ee von 99% erhalten werden. Selbst nach drei Tagen konnte kein höherer Umsatz beobachtet werden. Sehr wahrscheinlich erschwert die starke Verzweigung des Alkohols einen nucleophilen Angriff des Phenolderivates. Daneben entstanden noch 9% des Azirins **33b** durch Cyclisierung

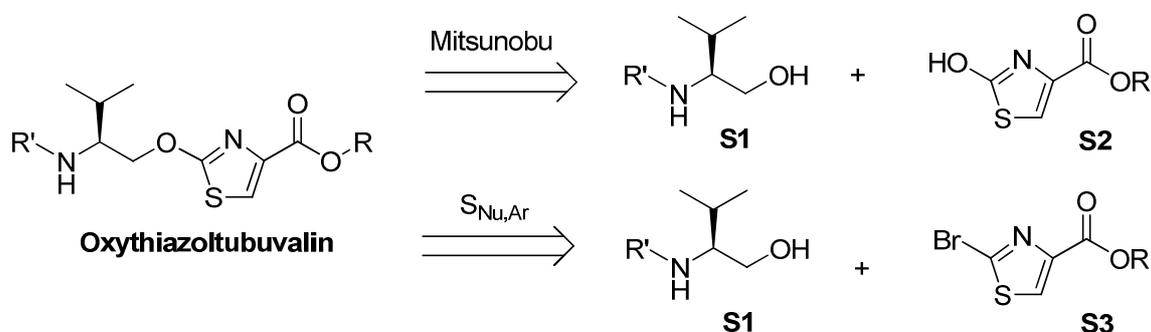
des aktivierten Alkohols.^[83] Durch nahezu quantitative Methylierung von **33a** am Stickstoff konnte das gewünschte Phenoxytubuvalin **34** erhalten werden.



Schema 4.8: Synthese von Phenoxytubuvalin **34**.

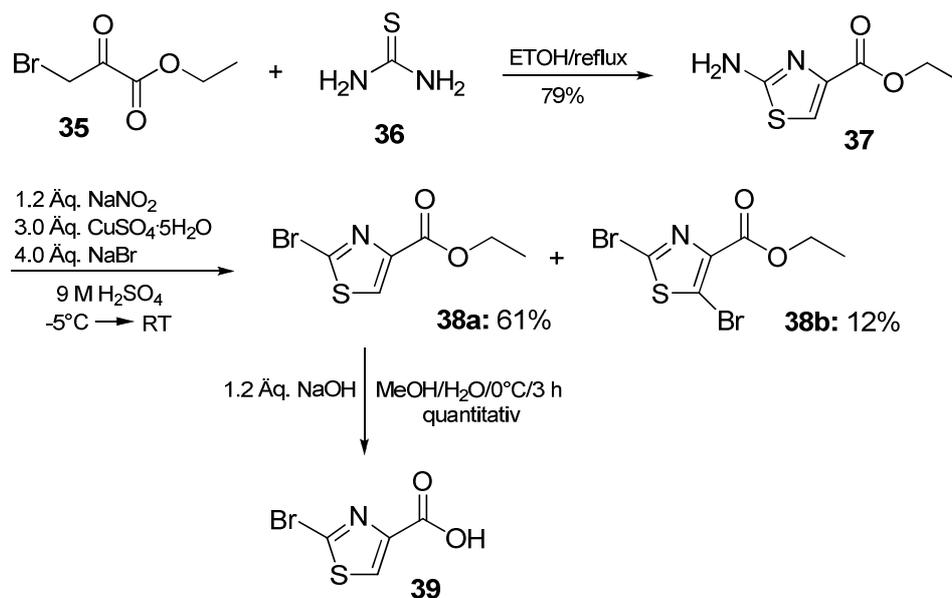
4.2.3 Synthese von Oxythiazoltubuvalin

Die erste Idee war, das Oxythiazoltubuvalin analog zur obigen Synthese mittels Mitsunobu-Reaktion aus Valinol **S1** und Hydroxythiazol **S2** zu synthetisieren (**Schema 4.9**). Da in der Literatur^[84] allerdings nur eine umständliche Synthese von **S2** beschrieben war und diese nicht sehr vertrauenswürdig erschien, wurde dieses Konzept wieder verworfen. Außerdem ist in der Literatur beschrieben, dass Hydroxythiazol-Derivate im tautomeren Gleichgewicht zum entsprechenden Thiazolon stehen.^[85] Die Lage des Gleichgewichts hängt dabei von den Substituenten ab. Dies könnte zu erheblichen Problemen bei der Mitsunobu-Reaktion führen, da nur die Oxy-Form abreagieren kann. Daher sollte versucht werden das Oxythiazoltubuvalin durch eine nucleophile Substitution des Bromthiazols **S3** mit Valinol **S2** durchzuführen. Eine ähnliche Reaktion mit unsubstituiertem Bromthiazol ist in der Literatur beschrieben.^[85]



Schema 4.9: Retrosynthese von Oxythiazoltubuvalin.

Die Synthese von Fragment **33** ist in **Schema 4.10** dargestellt.^[86] Im ersten Schritt wurde Brombrenztraubensäureethylester **35** mit Thioharnstoff **36** in einer Hantzschschen Thiazolsynthese zum Aminothiazol **37** umgesetzt. Im nächsten Schritt wurde die Aminogruppe mittels Sandmeyer-Reaktion durch Brom substituiert. Dabei erhielt man neben dem monobromierten Produkt **38a** (61%) auch das doppelt bromierte Nebenprodukt **38b** (12%), welches durch eine elektrophile Substitutionsreaktion mit dem während der Reaktion entstehenden, elementaren Brom gebildet wird.

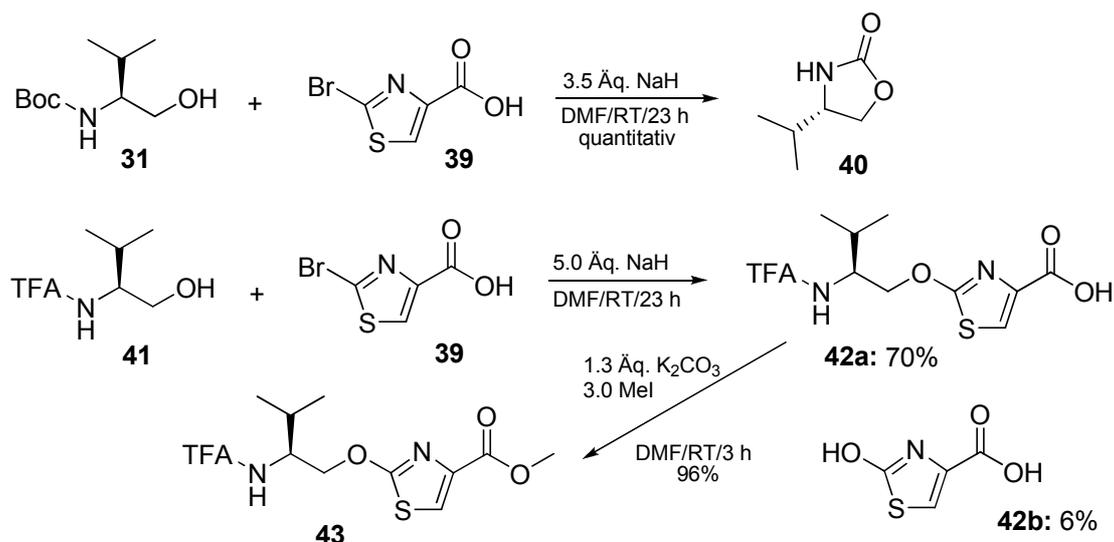


Schema 4.10: Synthese von Bromthiazol **39**.

Die beiden Produkte konnten chromatographisch leicht getrennt werden. Anschließend wurde der Ethylester mit NaOH quantitativ zur Bromthiazolsäure **39** verseift. Die Verwendung der freien Säure anstatt des Esters sollte verhindern, dass es bei der Umsetzung mit Valinol **S1** zu einer Umesterung kommt. Die weitere Synthese ist in **Schema 4.11** dargestellt.

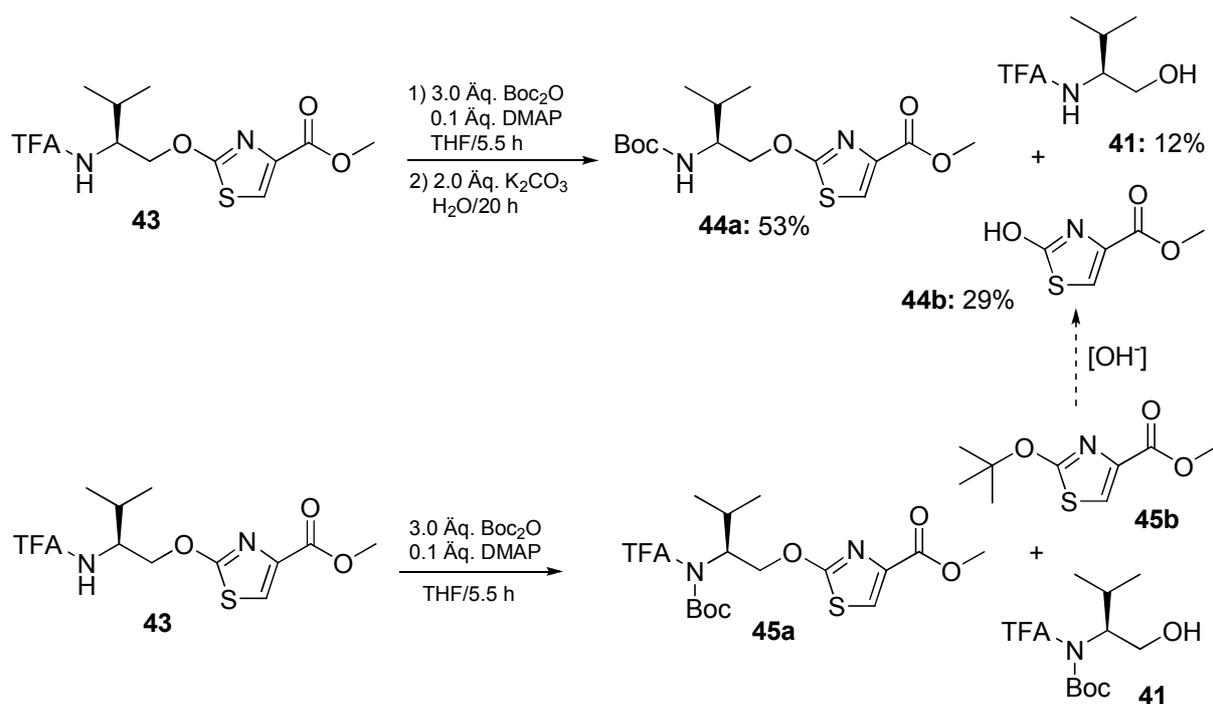
Zuerst wurde versucht Bromthiazol **39** mit Boc-Valinol **31** umzusetzen. Dazu wurde mit einem Überschuss an Natriumhydrid gearbeitet um zu gewährleisten, dass sowohl der Alkohol und die Säure als auch das Carbamat-NH quantitativ deprotoniert werden. Vorversuche mit schwächeren Basen wie z.B. Imidazol oder Kaliumcarbonat führten zu keiner Reaktion, da die Basizität nicht ausreicht um den Alkohol zu deprotonieren. Leider konnte bei der Reaktion nur das Oxazolidinon **40** isoliert werden, da der deprotonierte Alkohol unter Eliminierung von *tert*-Butanol cyclisierte. Daher war die Überlegung Valinol ohne Carbamatschutzgruppe einzusetzen, wobei die Wahl auf TFA-geschütztes Valinol **41** fiel.^[87] Der Alkohol wurde im Überschuss (zwei Äquivalente) eingesetzt um zu gewährleisten, dass die Bromthiazolsäure **39**

vollständig abreagiert, da diese vom Produkt nicht getrennt werden kann. In diesem Fall konnte das gewünschte Produkt **42a** mit einer guten Ausbeute von 70% isoliert werden. Daneben entstanden noch 6% Hydroxythiazol **42b**, welches auf dieser Stufe nicht abgetrennt werden konnte. Dies zeigte, dass sich nach erfolgter Reaktion ein geringer Teil des Produktes zersetzte. Ob dies während der Reaktion oder bei der wässrigen Aufarbeitung passierte, konnte nicht geklärt werden. Anschließend wurde die freie Säure nahezu quantitativ in den Methylester überführt. An dieser Stelle konnte das ebenfalls veresterte Nebenprodukt **42b** problemlos abgetrennt werden.



Schema 4.11: Nucleophile Substitution von Bromthiazol **39**.

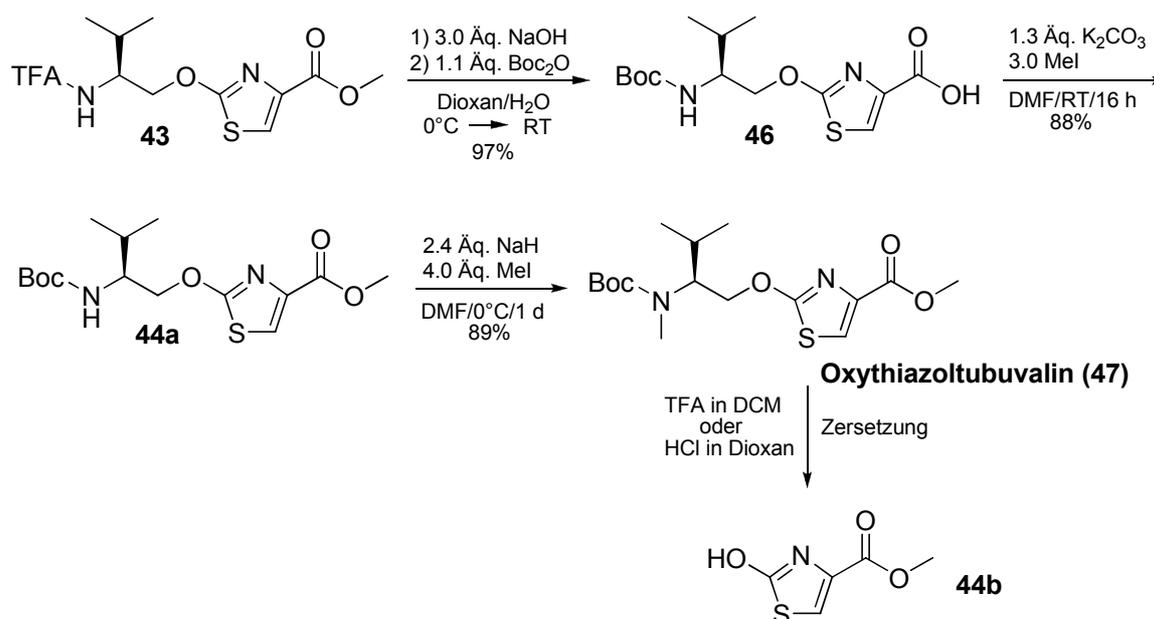
Als nächstes sollte die TFA-Schutzgruppe in eine Boc-Schutzgruppe umgewandelt werden um zwei orthogonale Schutzgruppen im Molekül zu haben. Dazu wurde ein aus der Literatur^[88] bekanntes Eintopf-Verfahren verwendet (**Schema 4.12**). Im ersten Schritt wird mit Boc_2O und DMAP das noch freie NH der TFA-Schutzgruppe Boc-geschützt. Im zweiten Schritt wird dann mit Kaliumcarbonat die TFA-Schutzgruppe gespalten. Leider konnte bei dieser Variante Verbindung **44a** nur mit 53% Ausbeute isoliert werden. Daneben wurden wieder TFA-Valinol **41** und das Hydroxythiazol **44b** gefunden. Dies zeigte, dass sich Verbindung **44a** teilweise zersetzt hatte. Führte man die Reaktion nur mit Boc_2O und DMAP durch, fand man neben dem erwarteten Produkt **45a** interessanterweise auch den *tert*-Butylether **45b**. Dies bedeutet, dass das in der Reaktionsmischung vorhandene *tert*-Butanol das Oxythiazol angreift und anschließend bei der Zugabe von Kaliumcarbonat Verbindung **45b** in Verbindung **44b** durch die vorhandenen Hydroxidionen gespalten wird.



Schema 4.12: Eintopf-Umschützung von Verbindung **43**.

Daher war die nächste Idee, die Umschützung in zwei Stufen durchzuführen. Da aber die alleinige Entschützung der Aminfunktion sowohl mit Kaliumcarbonat^[89] als auch mit NaBH_4 ^[90] fehlschlug (der Methylester wurde immer mit angegriffen), wurde entschieden die TFA-Schutzgruppe und den Methylester simultan zu entfernen und anschließend die Boc-Schutzgruppe einzuführen. Dies wurde ebenfalls im Eintopfverfahren durchgeführt (**Schema 4.13**).

Die TFA-Gruppe und der Methylester wurden bei 0°C mit NaOH in einem Wasser/Dioxan Gemisch entfernt. Anschließend wurde Boc_2O zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Dabei konnte die gewünschte Verbindung **46** in nahezu quantitativer Ausbeute (ohne Zersetzung) erhalten werden. Die Rohsäure wurde anschließend mit Methyljodid verestert und am Stickstoff methyliert. So konnte Oxythiazoltubuvalin **47** letztlich mit einer sehr guten Ausbeute erhalten werden. Bei dem anschließenden Versuch die Boc-Schutzgruppe mit TFA oder HCl zu entfernen, zersetzte sich **47** jeweils nach wenigen Minuten quantitativ in das Hydroxythiazol **44b**. Auf Grund der Instabilität des Oxythiazols sowohl gegenüber Basen als auch Säuren wurde die Synthese des Oxythiazolprätubulysins an dieser Stelle eingestellt. Anscheinend kann man diese Struktur als eine Art Aktivester ansehen, der von Nucleophilen leicht gespalten wird.



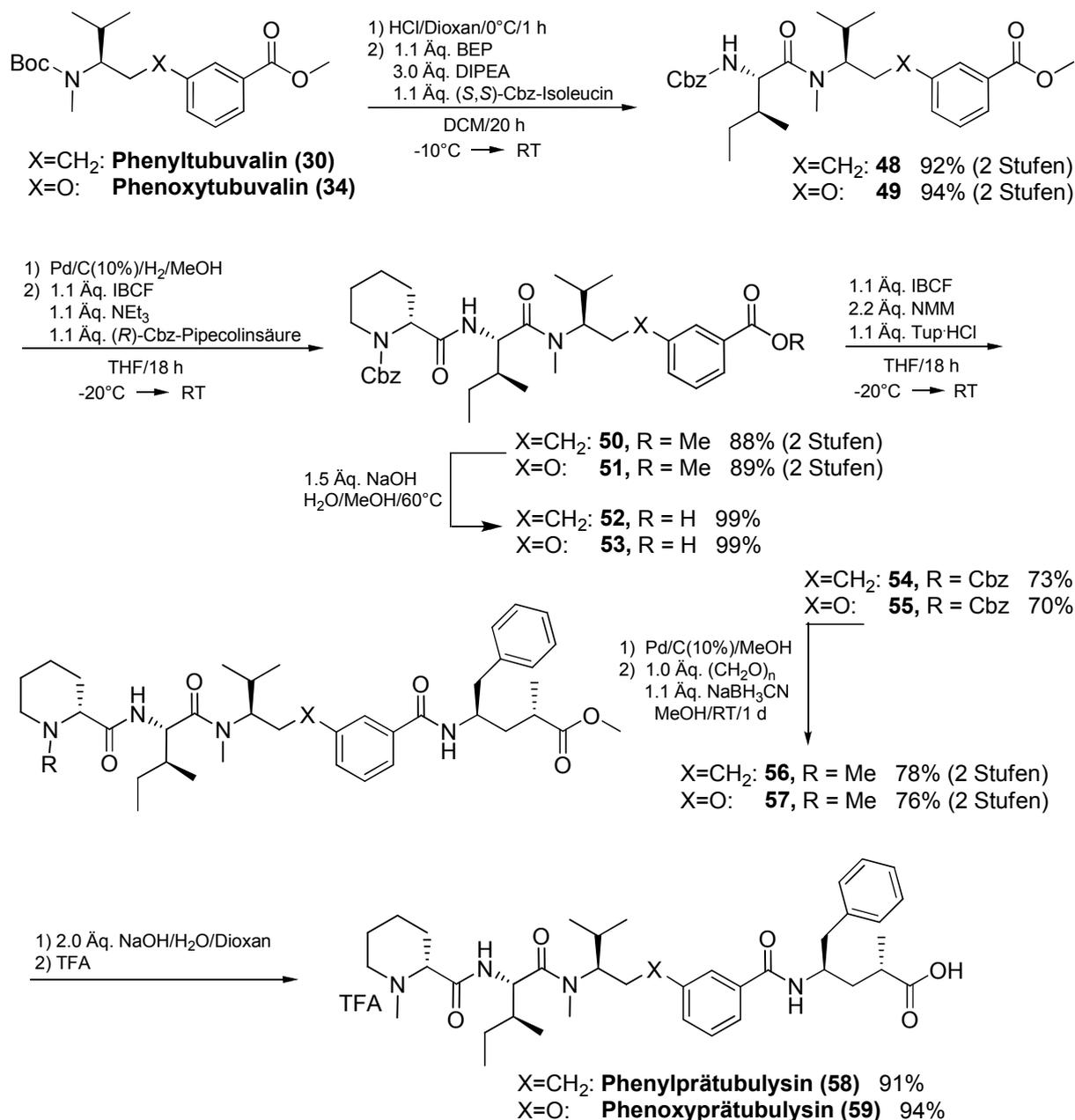
Schema 4.13: Synthese von Oxythiazoltubuvalin **47**.

4.2.4 Synthese von Phenyl- und Phenoxyprätubulysin

Die Synthese von Phenyl- und Phenoxyprätubulysin **58** und **59** verlief völlig analog zur Synthese des Oxazolprätubulysins **21** (**Schema 4.5**) in Kapitel 4.1.2 und ist ausgehend von den entsprechenden Tubuvalin-Derivaten **30** und **34** in **Schema 4.14** dargestellt. Nur die Esterverseifung der Tripeptide **50** und **51** musste im Vergleich zum Oxazolanalogon bei 60°C statt Raumtemperatur durchgeführt werden. Allerdings wurde dabei keinerlei Epimerisierung beobachtet. Da bei der Synthese keine Probleme auftraten und alle Reaktionen mit sehr guten Ausbeuten abliefen, wurde auf eine erneute Beschreibung des Syntheseschemas verzichtet. So konnten die beiden Prätubulysin-Derivate **58** und **59**, ausgehend von den jeweiligen Tubuvalin-Derivaten, mit einer Gesamtausbeute von 41 bzw. 49% über neun Stufen erhalten werden. Die Ergebnisse wurden vor kurzem publiziert.^[91]

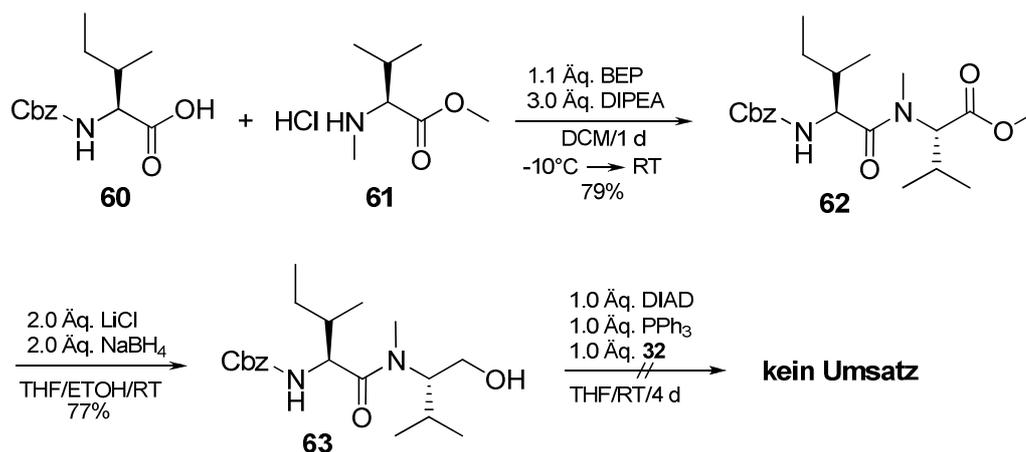
Im Zusammenhang mit der Synthese des Phenoxytubuvalins **34** kam die Idee auf, die verwendete Mitsunobu-Reaktion zu nutzen um schnell und effizient verschiedene Phenoxy-Prätubulysin-Derivate zu synthetisieren, in dem man direkt zwei verschiedene Dipeptid-Alkohole über eine Phenoylether-Brücke zu einem Tetrapeptid mit verschiedenen Resten verknüpft. Dadurch hätte man Zugang zu einer kleinen Substanzbibliothek, die man wiederum für SAR-Studien nutzen könnte.

Ergebnisse und Diskussion



Schema 4.14: Synthese von Phenyl- und Phenoxyprätubulysin **58** und **59**.

Zu diesem Zweck sollte getestet werden, ob man den Peptid-Alkohol **63** ebenfalls in einer Mitsunobu-Reaktion umsetzen kann (**Schema 4.15**). Zuerst wurde das Peptid **62**, bestehend aus Isoleucin und *N*-Methyl-Valin, *via* BEP-Knüpfung hergestellt und anschließend der Methylester mit NaBH₄ und LiCl zum entsprechenden Alkohol **63** reduziert.^[92] Leider konnte dieser nicht mit dem Methyl-3-hydroxybenzoat **32** umgesetzt werden. Selbst nach vier Tagen war keine Produktbildung zu erkennen. Das Problem an der Reaktion war wohl der nucleophile Angriff des Phenols an das sterisch stark gehinderte Peptid **63**.



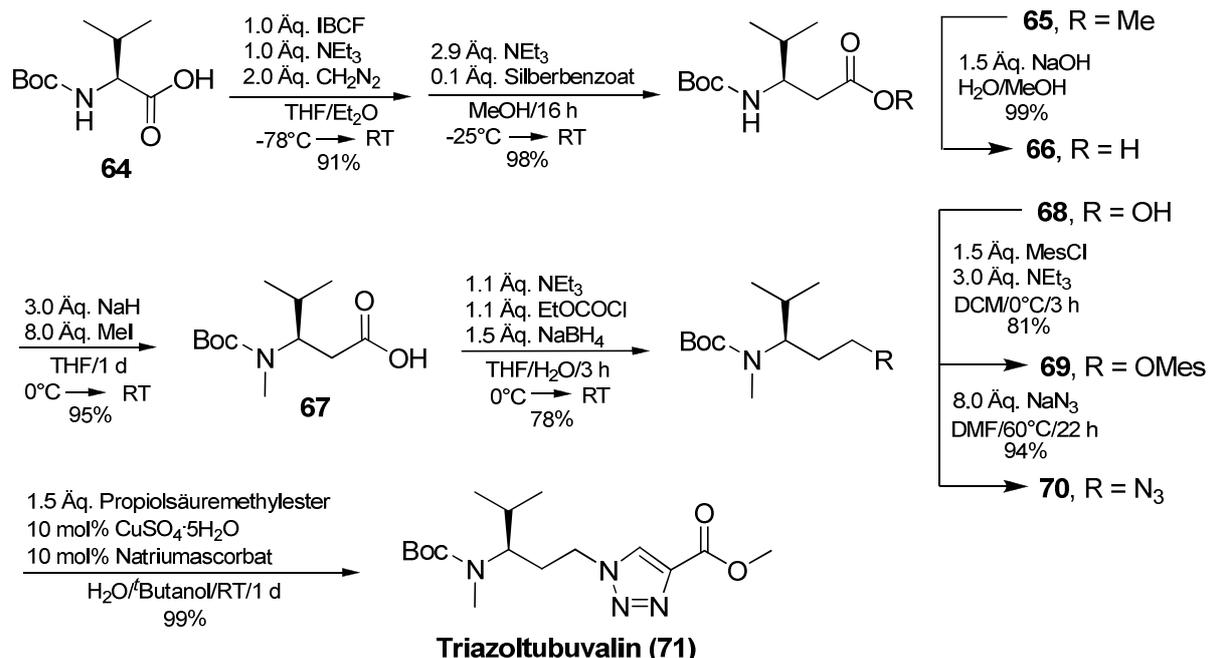
Schema 4.15: Synthese von Peptid-Alkohol **63**.

4.3 Synthese von Triazolprä-tubulysin und Derivaten

4.3.1 Synthese von Triazoltubuvalin

Die Synthese der Triazolderivate sollte durch *Click*-Chemie erfolgen. Dazu musste ein adäquates Azid synthetisiert werden (**Schema 4.16**). Zuerst wurde das Boc-geschützte Valin **64** um eine CH_2 -Einheit verlängert. Dies geschah durch eine Arndt-Eistert-Reaktion bei der die Aminosäure als gemischtes Anhydrid aktiviert und anschließend mit frisch bereiteter etherischer Diazomethan-Lösung^[93] in das entsprechende Diazoketon überführt wurde.^[94] Dieses wurde isoliert und anschließend mit Silberbenzoat in Gegenwart von Methanol zersetzt, wobei sich in einer Wolff-Umlagerung der elongierte Methylester **65** bildete.^[95] Anschließend wurde der Methylester mit NaOH verseift. Der Umweg über den Ester wurde deshalb gewählt, da in der Literatur^[95] beschrieben ist, dass sich die Aufreinigung der Säure **66** nach der Arndt-Eistert-Reaktion als äußerst schwierig gestaltet. Im nächsten Schritt wurde die Säure am *N*-Terminus quantitativ methyliert (**67**).^[96] Durch die Verwendung von Natriumhydrid als Base und THF als Lösemittel kann verhindert werden, dass sich der Methylester bildet, da die Carboxylatgruppe durch Chelatbildung mit der Boc-Gruppe und Natriumionen als Lewisäure *in situ* geschützt wird.^[97] Es wurde auch versucht den Methylester **65** direkt zu methylieren, allerdings bildete sich dabei auch der α -methylierte Methylester. Anschließend wurde die methylierte Säure **67** zum entsprechenden Alkohol **68** reduziert. Dazu wurde die Säure als gemischtes Anhydrid aktiviert und mit NaBH_4 umgesetzt.^[98] Der Alkohol wurde in sehr guter Ausbeute in das Mesylat **69** überführt^[99] und anschließend mit Natriumazid in einer S_N -Reaktion nahezu quantitativ zum Azid **70** umgesetzt.^[100] Während das Azid auf Grund seiner hohen Stabilität problemlos gelagert werden konnte,^[101] ist das Mesylat

extrem instabil und musste nach der Reinigung direkt umgesetzt werden. Im letzten Schritt wurde das Azid mit Propiolsäuremethylester quantitativ zum Triazoltubuvalin **71** „geclickt“. Als Lösemittel wurde dabei ein 1:1 Gemisch aus Wasser und *tert*-Butanol verwendet. Durch die Verwendung von 10 mol% Kupfer(I) als Katalysator, welcher *in situ* durch Reduktion von Kupfer(II)sulfat mit Natriumascorbat erzeugt wurde, konnte regiospezifisch nur das 1,5-Triazol erhalten werden.^[102] Um einen quantitativen Umsatz des Azides zu gewährleisten wurde das Alkin im leichten Überschuss (1.5 Äquivalente) eingesetzt.

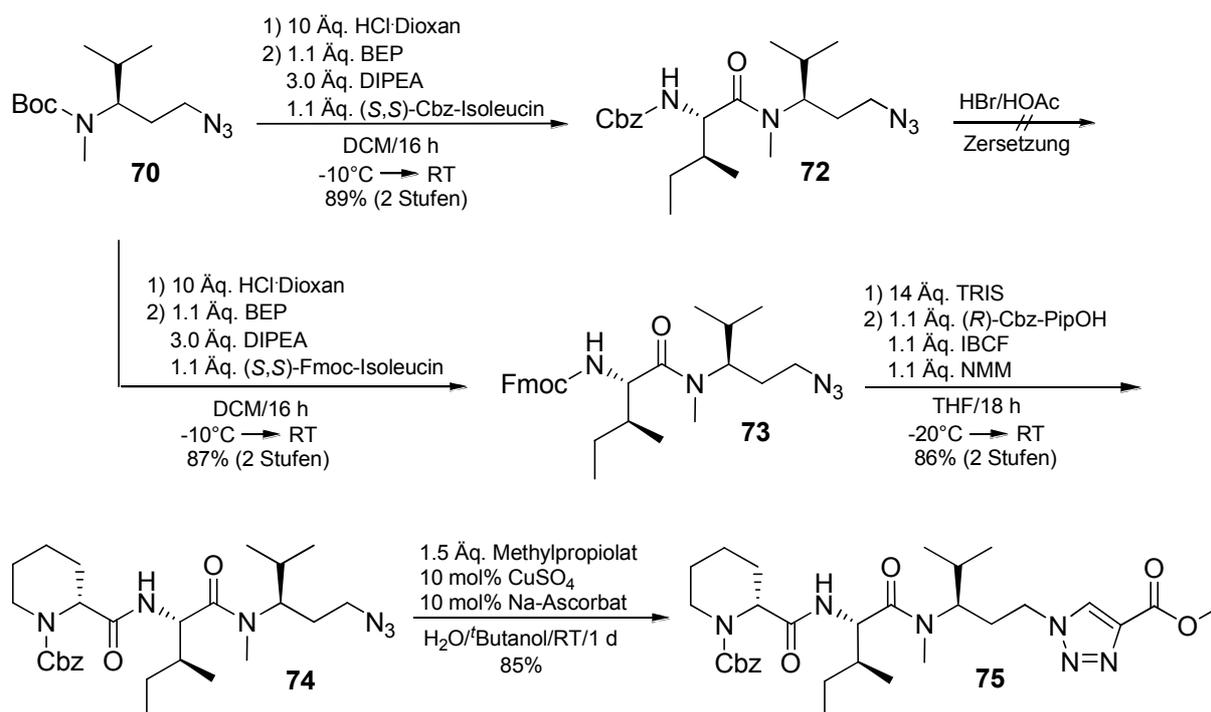


Schema 4.16: Synthese von Triazoltubuvalin **71**.

Anstatt das Triazolprä tubulysin analog zu den obigen Prä tubulysin-Derivaten durch sukzessive Peptidknüpfungen aufzubauen (vgl. Kapitel 4.1 und 4.2), sollte nun versucht werden die Synthese des Triazoltubuvalins **71** auf die Synthese diverser Triazolprä tubulysin-Derivate anzuwenden. Dazu sollte wiederum das linke Fragment der Prä tubulysin-Einheit als Peptid-Azid zur Verfügung gestellt werden und mit verschiedenen Alkinen zu den entsprechenden Tetrapeptiden geknüpft werden, die dann durch Entschützen in die jeweiligen Prä tubulysin-Derivate umgewandelt werden. Auf diese Weise sollte sich schnell und effizient eine kleine Substanzbibliothek aufbauen lassen, die dann im AK Müller sehr schnell auf ihre biologische Aktivität „gescreent“ werden kann.

4.3.2 Synthese eines Peptid-Azids

Die Synthese des benötigten Peptid-Azids ist in **Schema 4.17** dargestellt. Das Azid **70** wurde mit HCl in Dioxan am *N*-Terminus entschützt und mit (*S,S*)-Cbz-Isoleucin unter Verwendung von BEP zum Peptid **72** geknüpft.^[77] Da die Cbz-Schutzgruppe nicht durch katalytische Hydrierung entfernt werden konnte, musste HBr in Eisessig verwendet werden. Dies führte allerdings zur Zersetzung des Moleküls. Daher wurde das Azid **70** analog zu den obigen Bedingungen mit Fmoc-geschütztem (*S,S*)-Isoleucin zum entsprechenden Dipeptid **73** umgesetzt. Die Verwendung von Boc-Aminosäuren ist bei BEP-Knüpfern nicht möglich, da es hierbei zu einer Cyclisierung des Aktivesters kommt.^[103] Das Peptid **73** konnte nun unter schwach basischen Bedingungen mit *tris*(2-Aminoethyl)amin (TRIS) problemlos am *N*-Terminus entschützt und via gemischtes Anhydrid mit (*R*)-Cbz-Pipecolinsäure zum Dipeptid-Azid **74** mit einer exzellenten Ausbeute von 88% (über zwei Stufen) geknüpft werden. Das bei der Entschützung verwendete TRIS hat dabei den Vorteil, dass es bei der Aufarbeitung unter neutralen bzw. basischen Bedingungen in die wässrige Phase extrahiert werden kann.^[49]



Schema 4.17: Synthese von Peptid-Azid **75**.

Verbindung **74** wurde nun testweise mit Propiolsäuremethylester zum entsprechenden Triazol-Tripeptid **75** umgesetzt. Dabei zeigte sich, dass sich die Azid-Peptide genauso gut „clicken“ lassen wie das Aminosäure-Azid **70** (85% Ausbeute). Mit diesen Ergebnissen in den Händen sollte nun eine Reihe von Alkinen für die Synthese von weiteren Triazol-Derivaten synthetisiert werden.

4.3.3 Synthese diverser Alkine

Für den Aufbau der Triazol-Substanzbibliothek sollten Alkine mit möglichst großer Diversität synthetisiert werden (**Abbildung 4.1**). Zum einen natürlich Tubuphenylalanin-Alkin **78** sowie weitere Amid-Alkine (**76**, **77**) um möglichst nahe am Originalmolekül zu bleiben, aber trotzdem den Einfluss des C-Terminus auf die Aktivität studieren zu können. Eine Umsetzung mit Dolaphenin-Alkin **79** sollte ebenfalls erfolgen um ein Tubulysin-Dolastatin-Hybrid zu synthetisieren. (S)-Dolaphenin (Doe) ist eine unnatürliche Aminosäure des Naturstoffs Dolastatin 10, welcher ebenfalls Tubulin inhibiert und eine starke antimitotische Wirkung gegen zahlreiche Krebszelllinien besitzt.^[104] Eine Kreuzung dieser beiden Naturstoffe könnte daher ein interessanter Ansatz sein. Zum anderen war die Idee auch nicht-amidische Alkine (**80–82**) zu synthetisieren, die auf Grund der fehlenden Peptidbindung nicht so leicht proteolytisch gespalten werden können. Derivat **82** sollte auf Grund seiner Cumarin-Struktur zudem stark fluoreszierende Eigenschaften besitzen, so dass man es je nach Aktivität ausnutzen könnte um Bindungsstudien zu betreiben.

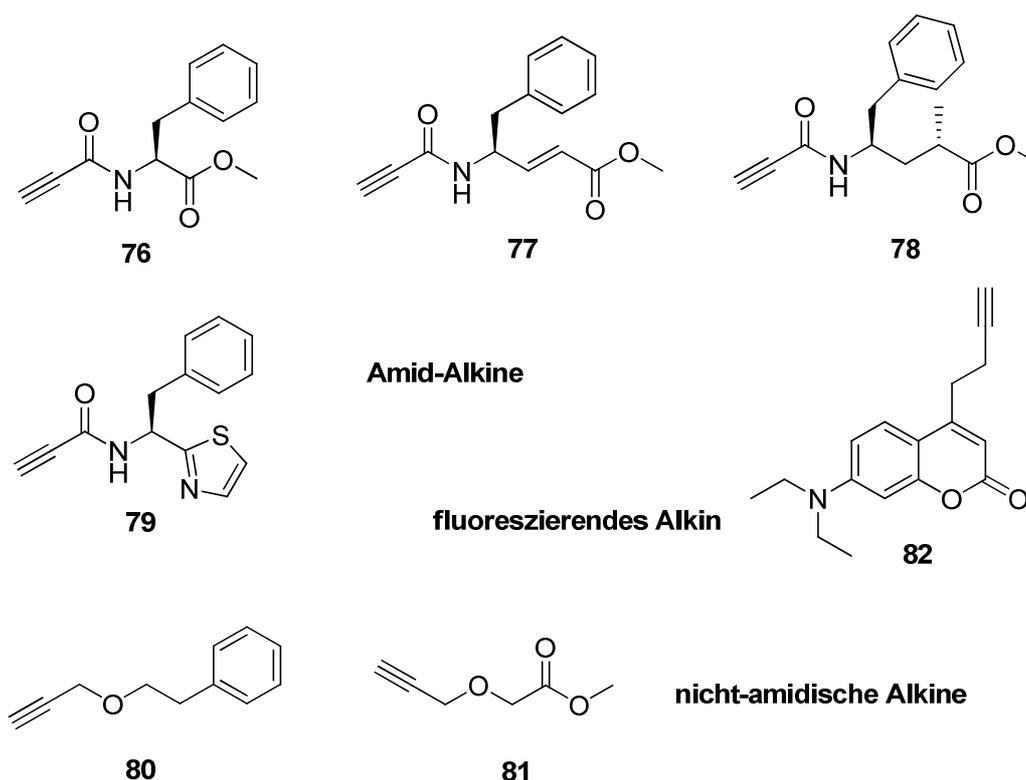
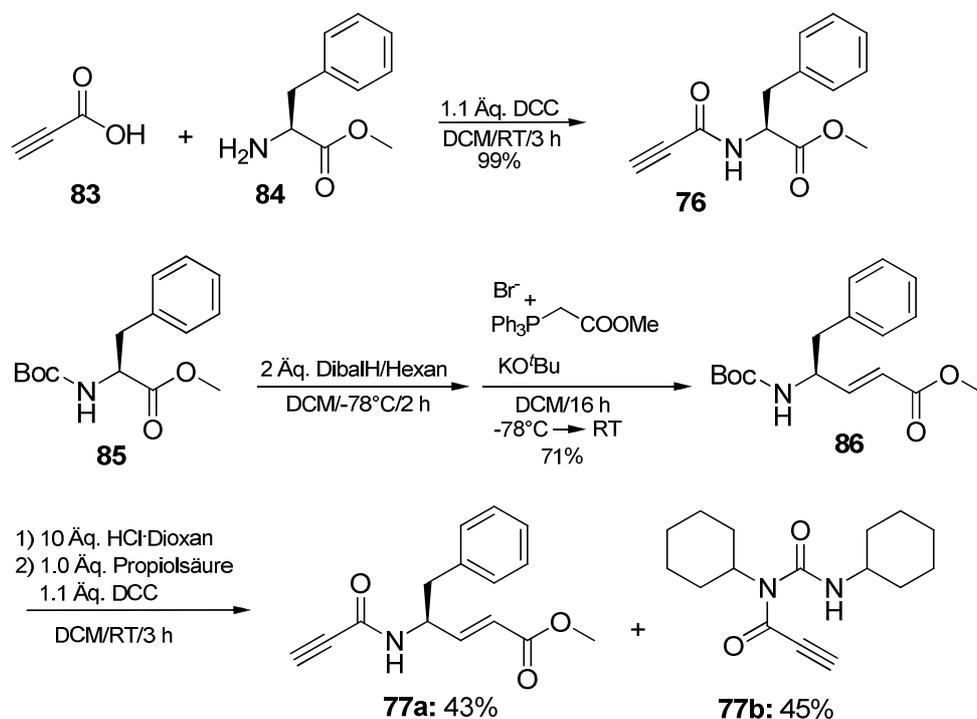


Abbildung 4.1: Diverse Alkine zur Synthese von Triazolprä-tubulysin-Derivaten.

4.3.3.1 Amid-Alkine

Die Synthese der Alkine mit einer Amidbindung ist in **Schema 4.18** dargestellt. Zur Darstellung dieser Verbindungen wurde Propiolsäure **83** mit verschiedenen Aminen umgesetzt. Die Reaktion mit L-Phenylalaninmethylester und DCC verlief sehr schnell und benötigte keinen zusätzlichen Katalysator (z.B. HOBt, DMAP etc.), der verhindert, dass es zu einer Bildung des inaktiven Acylharnstoffes kommt.^[105] So konnte Verbindung **76** quantitativ isoliert werden. Analog sollte die Knüpfung mit dem verlängerten Derivat **86** verlaufen, welches durch die schon mehrmals beschriebene DibalH-Wittig-Eintopf-Reaktion synthetisiert wurde. Allerdings erhielt man in diesem Fall ein Gemisch aus dem gewünschten Amid **77a** und dem inaktiven Acylharnstoff **77b** im Verhältnis 1:1. Diese konnten zwar leicht chromatographisch getrennt werden, allerdings enthielt die Produktfraktion stets den nicht abtrennbaren Dicyclohexylharnstoff.

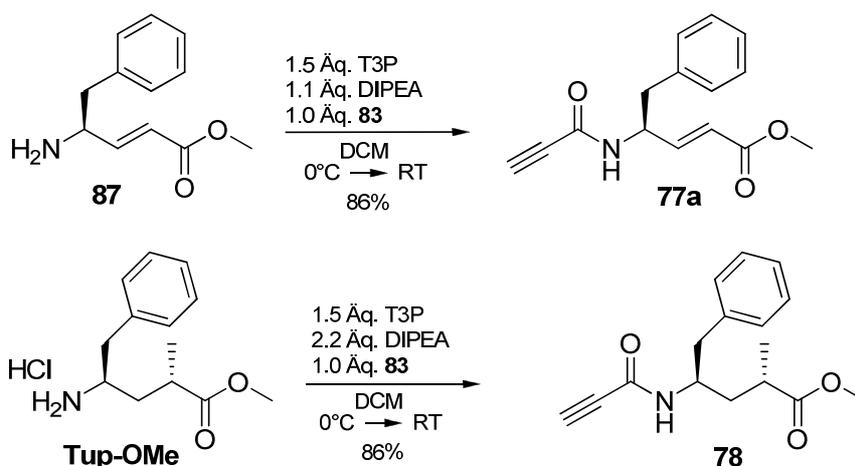


Schema 4.18: Synthese von Amid-Alkinen.

Da die Umlagerung des Aktivesters in diesem Fall sehr schnell verlief (nach 10 Minuten auf dem DC erkennbar) wurde nach einem alternativen Knüpfungsreagenz gesucht. Der Versuch die Propiolsäure als gemischtes Anhydrid bzw. mit TBTU zu aktivieren scheiterte ebenfalls. In beiden Fällen erhielt man eine unsaubere Reaktion mit zahlreichen Nebenprodukten. In der Literatur wird seit kurzem das Knüpfungsreagenz T3P (2-Propanphosphonsäureanhydrid)¹⁴ angepriesen.^[106] Mit

¹⁴ Kommerziell erhältlich als 50%ige Lösung in Ethylacetat.

diesem konnte das Amin **87** unter Verwendung von DIPEA als Base problemlos mit der Propiolsäure in einer hervorragenden Ausbeute von 86% umgesetzt werden (**77a**). Der Vorteil des Reagenzes ist neben der sehr einfachen Reaktionsführung (alles bei 0°C zusammengeben und auf RT erwärmen), dass alle Nebenprodukte wasserlöslich sind. Als letztes Amin wurde noch das Tubuphenylalanin (Tup-OMe) mit der Propiolsäure unter Verwendung von T3P umgesetzt. In diesem Fall musste allerdings das Hydrochlorid verwendet werden, da ansonsten die Gefahr besteht, dass das freie Amin zum Lactam cyclisiert. Auch in diesem Fall konnte das gewünschte Produkt **78** mit einer sehr guten Ausbeute von 86% isoliert werden.



Schema 4.19: Synthese von Amid-Alkinen unter Verwendung von T3P.

4.3.3.2 Neue Synthese von (S)-Dolaphenin

Während der Entwicklung verschiedener Totalsynthesen zu Dolastatin 10 wurden zahlreiche Methoden zur Darstellung von (S)-Dolaphenin entwickelt.^[107] Obwohl die Struktur des Moleküls (**Abbildung 4.2**) auf den ersten Blick nicht sehr kompliziert aussieht ist die Synthese von Doe alles andere als trivial, insbesondere wegen der Labilität des Stereozentrums.



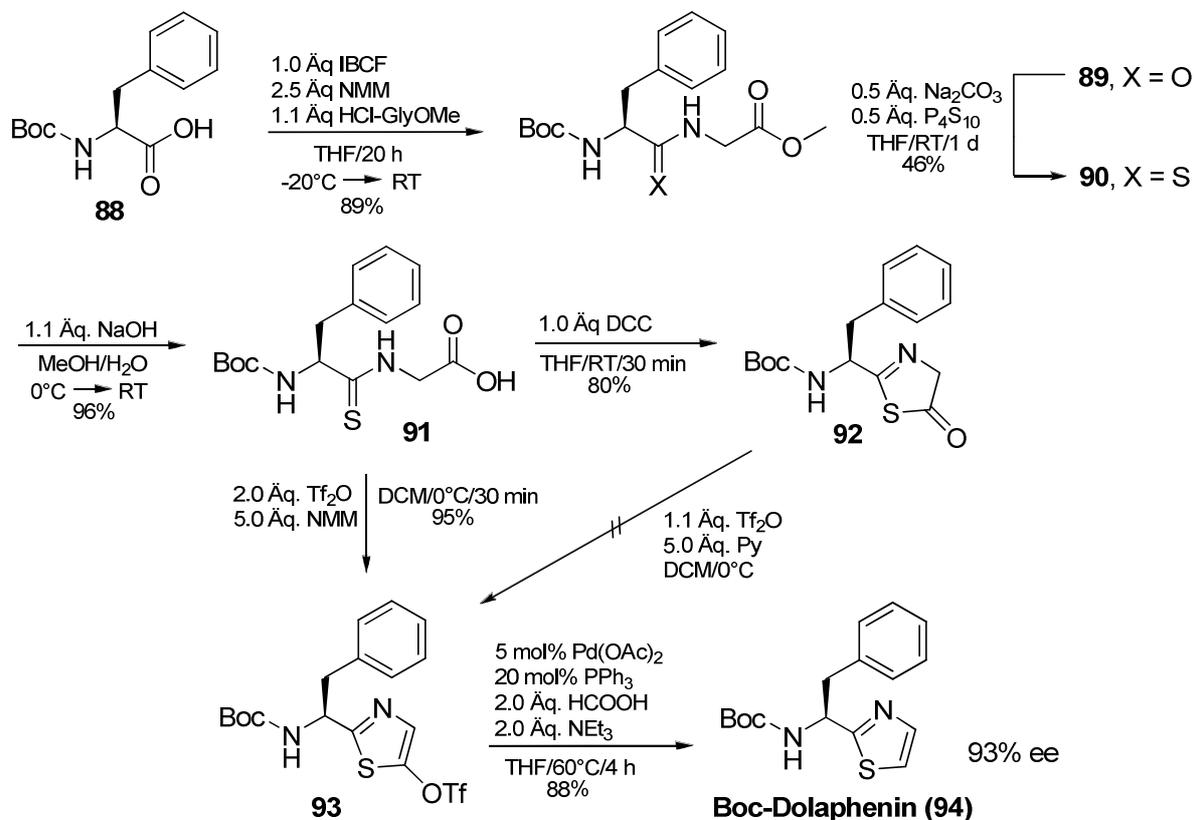
(S)-Dolaphenin (Doe)

Abbildung 4.2: Struktur von (S)-Dolaphenin (Doe).

Die bisher in der Literatur beschriebenen Synthesen nutzen entweder teure Reagenzien für asymmetrische Reaktionen,^{[108][109][110]} beinhalten Stufen mit sehr geringen Ausbeuten (z.B. MnO₂-Oxidationen)^[111] oder haben das Problem der Race-

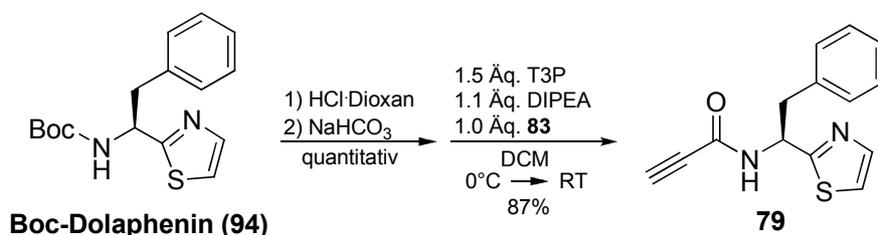
misierung des Stereozentrums.^[112] Daher haben wir eine neue Synthesemethode gesucht, um racemisierungsfrei in wenigen Schritten größere Mengen Doe herzustellen um es in unserer Tubulysinsynthese verwenden zu können. Vor einiger Zeit wurde in unserem Arbeitskreis im Rahmen einer Diplomarbeit eine Synthese zur Darstellung von 5-substituierten Thiazolpeptiden entwickelt.^[113] Dieses Protokoll wurde nun auf die Synthese von Boc-Dolaphenin (**94**) angewendet (**Schema 4.20**).^[114]

Im ersten Schritt wurden Boc-Phenylalanin **88** und Glycinmethylester *via* gemischtes Anhydrid zum Dipeptid **89** geknüpft, welches dann mit P₄S₁₀ in das entsprechende Thiopeptid **90** überführt wurde.^[115] Die Ausbeute war mit 46% eher bescheiden, jedoch führte auch eine Erhöhung der Reaktionsdauer auf vier Tage nicht zu einem höheren Umsatz. Allerdings war dies nicht weiter tragisch, da das Edukt problemlos zurückgewonnen werden konnte. Nach der Verseifung des Methylesters und Aktivierung der resultierenden Säure **91** mit DCC, cyclisierte der Aktivester spontan zum Thiazolon **92**. Erstaunlicherweise konnte das Thiazolon nicht mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid (Tf₂O) in das entsprechende Triflat **93** überführt werden, da sich das Edukt stets zersetzte.



Schema 4.20: Synthese von Boc-Dolaphenin **94**.

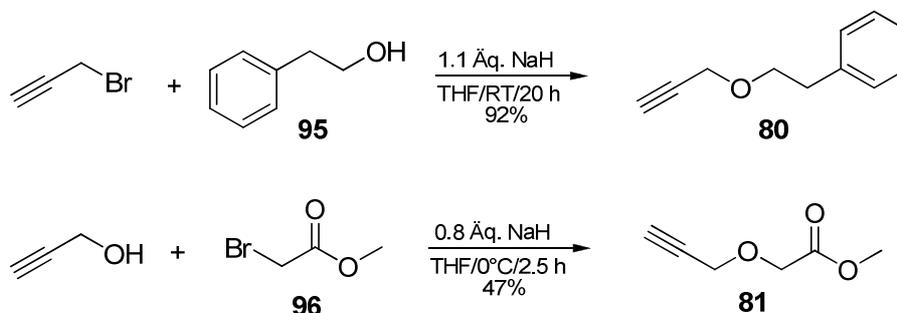
Allerdings gelang es in nahezu quantitativer Ausbeute **91** mit zwei Äquivalenten Tf_2O und NMM als Base direkt in das Triflat **93** zu überführen. Im letzten Schritt wurde das Triflat mittels Palladium-katalysiertem Hydridtransfer zum Boc-Dolaphenin **94** reduziert.^[116] Als Hydridquelle fungierte dabei ein Gemisch aus Ameisensäure und Triethylamin. Die Ausbeute war mit 88% sehr gut. Mittels HPLC und Vergleich mit racemisch synthetisiertem **94** konnte gezeigt werden, dass es während der Synthesesequenz kaum zu einer Racemisierung kam (93% ee). Somit hatten wir eine neue und nahezu racemisierungsfreie Methode entwickelt um schnell Dolaphenin im größeren Maßstab bereitzustellen. Die Gesamtausbeute, ausgehend vom literaturbekannten Thiopeptid **90**,^[115] beträgt dabei 80% über vier Stufen. Die Ergebnisse werden in Kürze publiziert.^[117] Anschließend wurde **94** mit HCl entschützt und das freie Amin problemlos mit Propiolsäure unter Verwendung von T3P zum benötigten Alkin **79** geknüpft (**Schema 4.21**).



Schema 4.21: Synthese von Dolaphenin-Alkin **79**.

4.3.3.3 Nicht-amidische Alkine

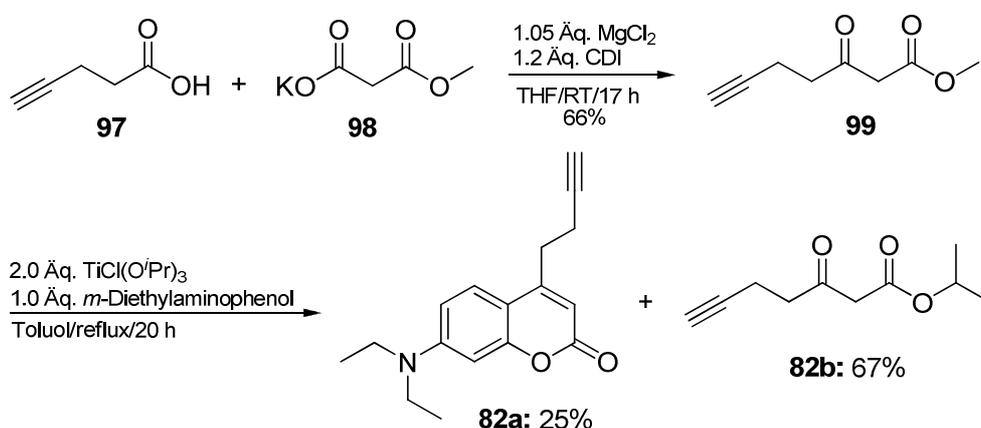
Die Synthese der nicht-amidischen Alkine ist in **Schema 4.22** dargestellt. Dabei handelt es sich um die beiden Propargylderivate **80** und **81**. Die Synthese der beiden Verbindungen mittels Williamson'scher Ethersynthese ist in der Literatur beschrieben.^{[118][119]} Diese Derivate wurden gewählt, da sie wegen des Phenethyl- und des Glycolrestes mit dem Original-Tubuphenylalanin eine gewisse strukturelle Verwandtschaft aufweisen und trotzdem sehr einfach zu synthetisieren sind.



Schema 4.22: Synthese von nicht-amidischen Alkinen.

4.3.3.4 Synthese eines fluoreszierenden Alkins

Im Rahmen einer Dissertation in unserer Arbeitsgruppe wurde eine neuartige und milde Synthese von Fluoreszenzfarbstoffen auf Cumarin-Basis entwickelt.^[120] Diese können verwendet werden um Peptide oder Aminosäuren zu „labeln“. Daher bot sich diese Methode an, um ein fluoreszenzmarkiertes Triazolderivat zu synthetisieren, welches interessant für Bindungsstudien sein könnte. Die Synthese ist in **Schema 4.23** dargestellt. 4-Pentinsäure **97** wurde mit Carbodiimidazol (CDI) aktiviert und anschließend mit Malonat **98** zum entsprechenden β -Ketoester **99** umgesetzt.^[121] Dieser wiederum wurde einer Variante der Pechmann-Kondensation unterzogen. Normalerweise werden bei dieser Reaktion Phenole und Malonate bzw. β -Ketoester in Gegenwart von starken Säuren (z.B. konz. Schwefelsäure) zu Cumarinen umgesetzt.^[122] Da aber bei der Verwendung eines Aminophenols eine Protonierung der Aminfunktion durch die Schwefelsäure zu einer Desaktivierung des Aromaten führen würde, wurde in unserem Fall $\text{TiCl}(\text{O}^i\text{Pr})_3$ als Lewisäure eingesetzt. So wurde der β -Ketoester **99** zusammen mit 2-Diethylaminophenol und der Lewisäure über Nacht in Toluol refluxiert. Leider konnte entgegen bisheriger Ergebnisse das gewünschte Cumarin-Derivat **82a** nur mit 25% Ausbeute isoliert werden. Daneben erhielt man als Hauptprodukt, den durch Umesterung gebildeten, Isopropylester **82b** mit 67% Ausbeute. Nichtsdestotrotz wurde das stark fluoreszierende Alkin **82a** in der nachfolgenden Synthese verwendet.



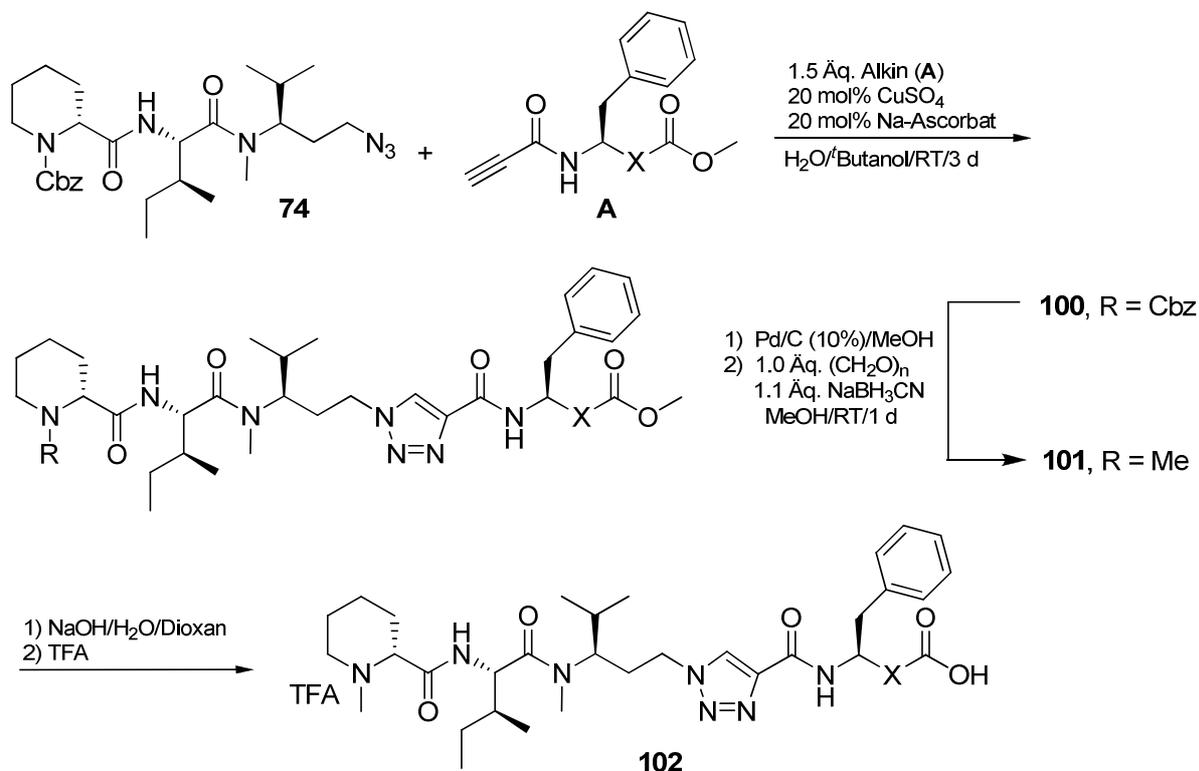
Schema 4.23: Synthese des fluoreszierenden Cumarin-Alkins **82a**.

4.3.4 Synthese der Triazole via *Click-Chemie*

4.3.4.1 Triazolprä tubulysin und Analoga

Die Synthese der Triazolprä tubulysin-Derivate ausgehend von den Amid-Alkinen ist in **Schema 4.24** dargestellt. Azid **74** wurde mit den Alkinen **A** zu den entsprechen-

den Triazolen **100** umgesetzt (**Tabelle 4.1**).^[102] Bei der Verwendung dieser Amid-Alkine (im Gegensatz zum Propiolsäuremethylester) musste die Reaktionszeit auf drei Tage erhöht werden um einen quantitativen Umsatz zu gewährleisten. Außerdem benötigte man für diese reaktionsträgeren Alkine 20 mol% Katalysator in Form von Kupfer(I). Die Ausbeute bei der Verwendung von Alkin **76** und **77** war nahezu quantitativ. Im Falle von **77** musste ein DMSO/Wasser-Gemisch als Lösemittel verwendet werden,^[123] da das Edukt in *tert*-Butanol/Wasser ausfiel und dadurch die Ausbeute auf ca. 50% einbrach. Durch die Verwendung von DMSO konnte sie immerhin auf sehr gute 81% gesteigert werden. Anschließend wurden die Triazole **100** am *N*-Terminus durch katalytische Hydrierung entschützt und reduktiv methyliert (**101**). Bei der Entschützung von Verbindung **100b** wurde gleichzeitig die Doppelbindung am *C*-Terminus mthydriert. Im letzten Schritt wurde der Methylester quantitativ verseift und die Säuren in die entsprechenden TFA-Salze **102** überführt. Während bei der Synthese von Triazolprätubulysin **102a** die Verseifung des Methylesters bei 80°C durchgeführt werden musste (ohne detektierbare Racemisierung) konnten die Analoga **102b** und **102c** bei Raumtemperatur entschützt werden.



Schema 4.24: Synthese von Triazolprätubulysin und Analoga.

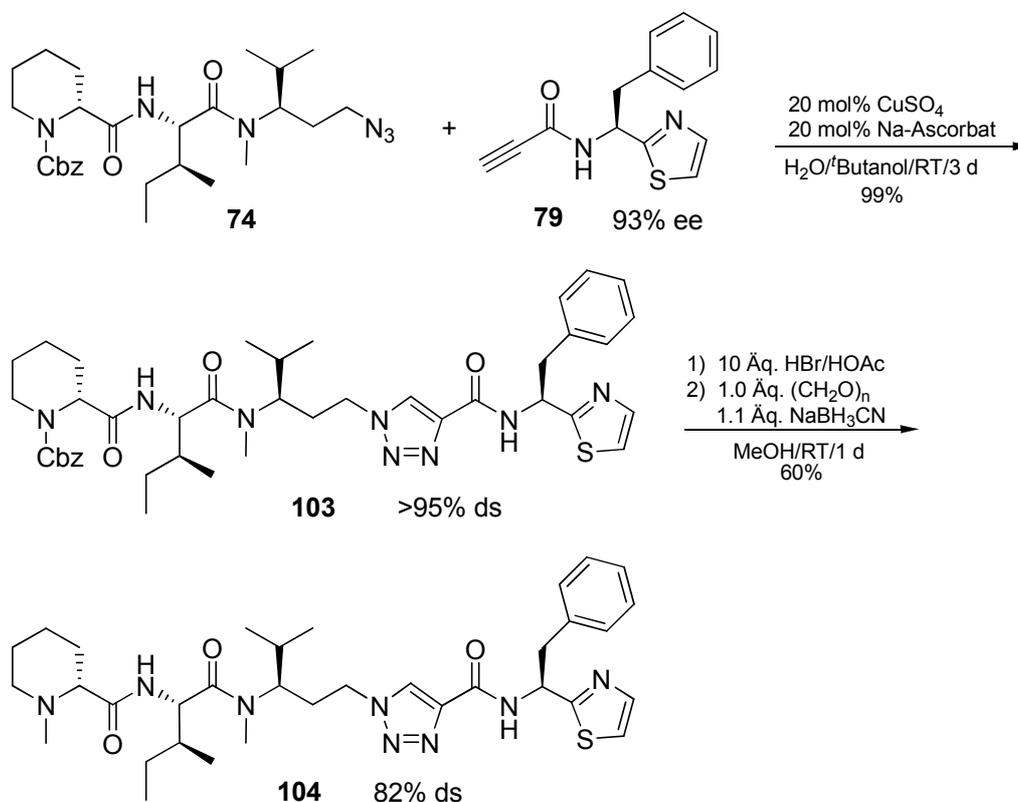
Tabelle 4.1: Synthese von Triazolprä tubulysin und Analoga.

Eintrag	A	X-COOMe	100	Ausbeute	101	Ausbeute	102	Ausbeute
1	78		100a	96%	101a	81%	102a	97%
2	77		100b ^a	81%	101b ^b	77%	102b ^b	99%
3	76		100c	93%	101c	79%	102c	89%

^a Reaktion wurde in DMSO/H₂O durchgeführt. ^b Produkt mit hydrierter Doppelbindung.

4.3.4.2 Synthese eines Prä tubulysin-Dolastatin-Hybrids

Durch die Kupplung von Azid **74** mit dem Dolaphenin-Amid **79** wurde ein Hybrid aus Prä tubulysin (linke Seite) und Dolastatin 10 (rechte Seite) erhalten, wobei Triazol **103** in quantitativer Ausbeute isoliert werden konnte. Obwohl das Stereozentrum von Dolaphenin-Derivaten anfällig für Epimerisierungen ist, konnte in diesem Fall keine Racemisierung beobachtet werden (¹H-NMR), so dass Verbindung **103** mit >95% ds erhalten wurde. Im letzten Schritt konnte die Cbz-Schutzgruppe wegen des Schwefels im Molekül nicht katalytisch hydriert werden, so dass zur Entschützung HBr in Eisessig verwendet werden musste.^[124]

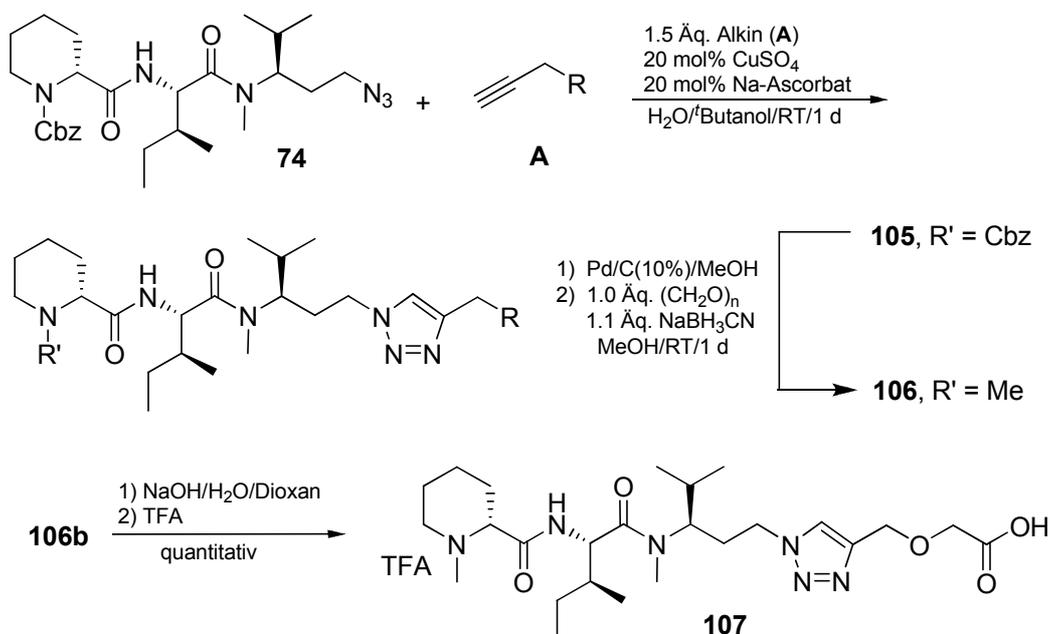


Schema 4.25: Synthese eines Prä tubulysin-Dolastatin Hybrids (**104**).

Nach der reduktiven Methylierung der Pipecolinsäure konnte eine geringe Epimerisierung (82% ds) im $^1\text{H-NMR}$ beobachtet werden. Allerdings konnten einige mg **104** mit >95% ds durch Flashchromatographie isoliert werden, die dann auf ihre biologische Aktivität untersucht wurden. Die Gesamtausbeute im letzten Schritt betrug allerdings nur moderate 60% (über zwei Stufen), was darauf hindeutet, dass es neben der Racemisierung auch zu einer partiellen Zersetzung des Eduktes durch den sehr aggressiven Bromwasserstoff kam.

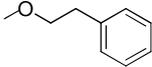
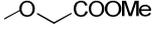
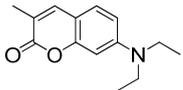
4.3.4.3 Synthese weiterer Triazolprä tubulysin-Analoga

Die bisher beschriebenen Triazol-Derivate sind strukturell eng mit dem Prä tubulysin verwandt, da sie zwischen der Triazol-Einheit und dem C-Terminus eine Amidbindung besitzen. Im Folgenden ist nun die Synthese von Triazolderivaten dargestellt, die keine Amidbindung, sondern einen Alkylrest am C-Terminus aufweisen (**Schema 4.26**). Der Vorteil könnte dabei sein, dass durch das Fehlen der Peptidbindung diese Moleküle durch Enzyme nicht so leicht proteolytisch abgebaut werden. Dadurch könnte man eine längere Halbwertszeit des Wirkstoffs im Organismus erreichen. Während die Amid-Alkine eine Reaktionszeit von drei Tagen für einen vollständigen Umsatz benötigen, beträgt die Reaktionszeit der Propargyl-ether **80** und **81** nur ein Tag bei gleichbleibenden Bedingungen. Die entsprechenden Triazole **105** konnten dabei mit sehr guter Ausbeute erhalten werden (**Tabelle 4.2**).



Schema 4.26: Synthese von Triazolderivaten mit Alkylseitenketten.

Tabelle 4.2: Synthese weiterer Triazolprätubulysin-Analoga.

Eintrag	A	X-COOMe	105	Ausbeute	106	Ausbeute	107	Ausbeute
1	80		105a	85%	106a	87%	/	/
2	81		105b	83%	106b	72%	107	quant.
3	82		105c	86%	106c	79%	/	/

Sukzessive Entschützung sowie *N*-Methylierung lieferte die Derivate **106** in ebenfalls sehr guten Ausbeuten. Im Falle von Verbindung **106b** musste diese noch am C-Terminus zur freien Säure entschützt werden. Nach der Überführung in das TFA-Salz erhielt man Derivat **107** in quantitativer Ausbeute. Im Gegensatz zu allen anderen in dieser Dissertation beschriebenen TFA-Salzen konnte dieses Derivat auf Grund seiner Polarität nach der wässrigen Aufarbeitung nicht in die organische Phase überführt werden. Daher wurde das Produkt durch Lyophilisierung der wässrigen Phase gewonnen. Deshalb enthielt das ansonsten saubere Produkt noch geringe Mengen an Natriumtrifluoracetat, das aber bei der Bestimmung der biologischen Aktivität nicht störte, da es sowieso im Puffer vorhanden war. Im Falle des Coumarin-Derivates **106c** hat man nun ein fluoreszierendes Prätubulysin-Derivat, welches neben der biologischen Evaluierung auch für Bindungsstudien interessant sein könnte.

4.4 Synthese von Hydroxyprätubulysin

Die Synthese des Hydroxyprätubulysins sollte analog zur Synthese des *N*-Desacetytubulysin H nach Wipf *et al.* erfolgen (**Abbildung 4.3**).^[49] Dazu musste zuerst entsprechend der Literatur der *N*-Desacetytubuvalin-Baustein synthetisiert werden. Da es dabei allerdings zu unvorhergesehenen Problemen kam und daher einiges optimiert werden musste, soll die Synthese dieses Derivates im nächsten Abschnitt ausführlich diskutiert werden, obwohl die Verbindung in der Literatur bekannt ist. Außerdem wurden durch die Optimierung der Reaktionsbedingungen die Ausbeuten gegenüber der Literatur deutlich erhöht.

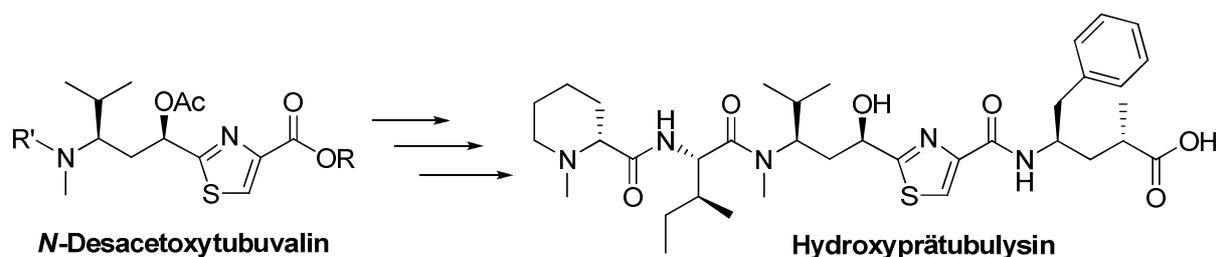
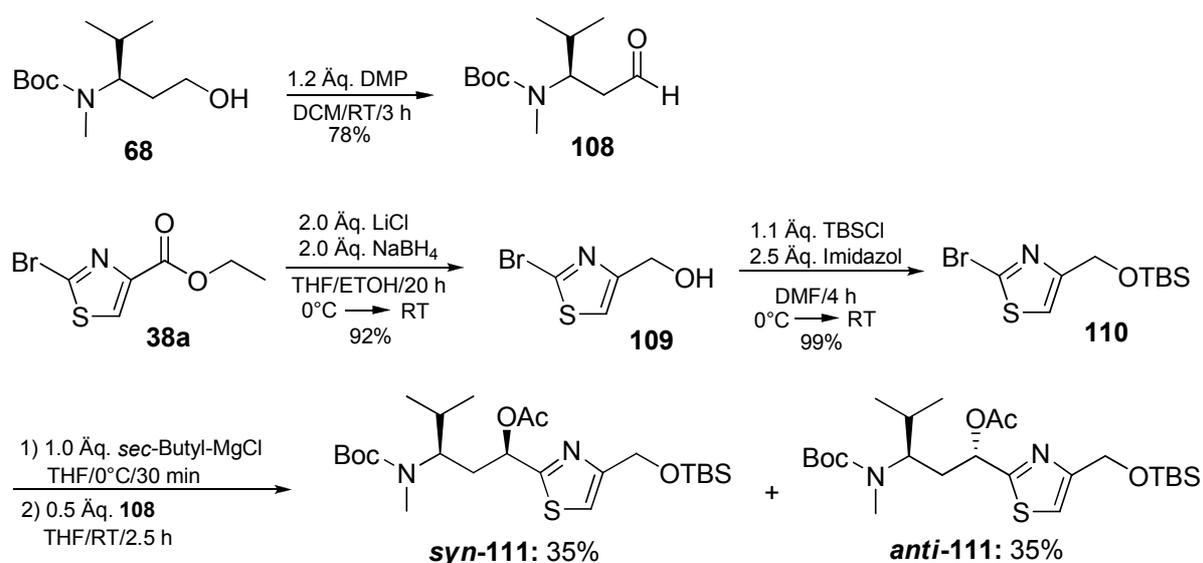


Abbildung 4.3: N -Desacetoxytubuvalin als Vorstufe zur Synthese von Hydroxyprätubulylin.

4.4.1 Synthese von N -Desacetoxytubuvalin

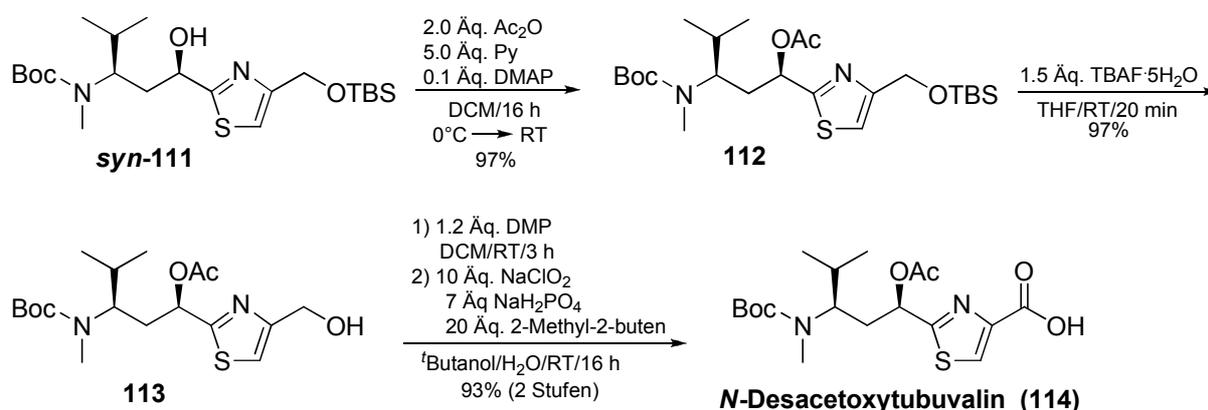
Der Schlüsselschritt bei der Synthese des N -Desacetoxytubuvalins ist eine Grignard-Reaktion nach Knochel (**Schema 4.27**).^[125] Zur Herstellung dieser beiden Bausteine konnten in den vorherigen Kapiteln vorgestellte Produkte verwendet werden. Während das benötigte β -Valinal **108** durch Dess-Martin-Oxidation^[126] des Alkohols **68** bereitgestellt wurde, konnte das Bromthiazol **110** durch quantitative Reduktion des Ethylesters **38a** und TBS-Schützung des resultierenden Alkohols **109** erhalten werden. Das Bromthiazol **110** wurde bei 0°C durch Halogen-Metall-Austausch mit *sec*-Butylmagnesiumchlorid (Knochel-Reagenz) in das entsprechende Grignardreagenz überführt.^[127] Anschließend wurden 0.5 Äquivalente des Aldehyds **108** zugesetzt und die Reaktionsmischung 2.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Aufarbeitung erhielt man die beiden Diastereomere **111** im Verhältnis 1:1 mit jeweils 35% Ausbeute. Die beiden Diastereomere ließen sich allerdings problemlos durch Flashchromatographie trennen.



Schema 4.27: Grignard-Reaktion nach Knochel.

Rührt man den Ansatz dagegen wie in der Literatur^[49] beschrieben über längere Zeit bei 0°C findet man neben nicht umgesetzten Aldehyd **108** auch nicht identifizierbare Nebenprodukte. Außerdem ist in der Literatur beschrieben, dass die Diastereomere **111** im Verhältnis 2:1 (*syn:anti*) entstehen. Obwohl die Reaktion mit unterschiedlichen Reaktionsbedingungen (Variation der Temperatur, Zeit) durchgeführt wurde, war das Verhältnis der Diastereomere stets 1:1. Die weitere Synthese ist in **Schema 4.28** dargestellt.

Die OH-Gruppe wurde mit Essigsäureanhydrid und DMAP quantitativ acetyliert, da die in der Literatur beschriebene Umsetzung mit Acetylchlorid zur partiellen Zersetzung des Eduktes führte. Das erhaltene Acetat **112** wurde mit TBAF quantitativ entschützt und die Hydroxygruppe anschließend in zwei Stufen mit einer exzellenten Ausbeute (93% über beide Stufen) zur Carbonsäure oxidiert, wobei *N*-Desacetytubuvalin (**114**) erhalten wurde. Im ersten Schritt wurde dabei der Alkohol mittels Dess-Martin-Reaktion zum Aldehyd oxidiert und dieser anschließend durch eine Lindgren-Oxidation^[128] mit Natriumchlorit in die Carbonsäure überführt. Zur Zerstörung des entstehenden Hypochlorites wurde 2-Methyl-2-buten als milder „Scavenger“ eingesetzt, der viele funktionelle Gruppen toleriert.^[129]

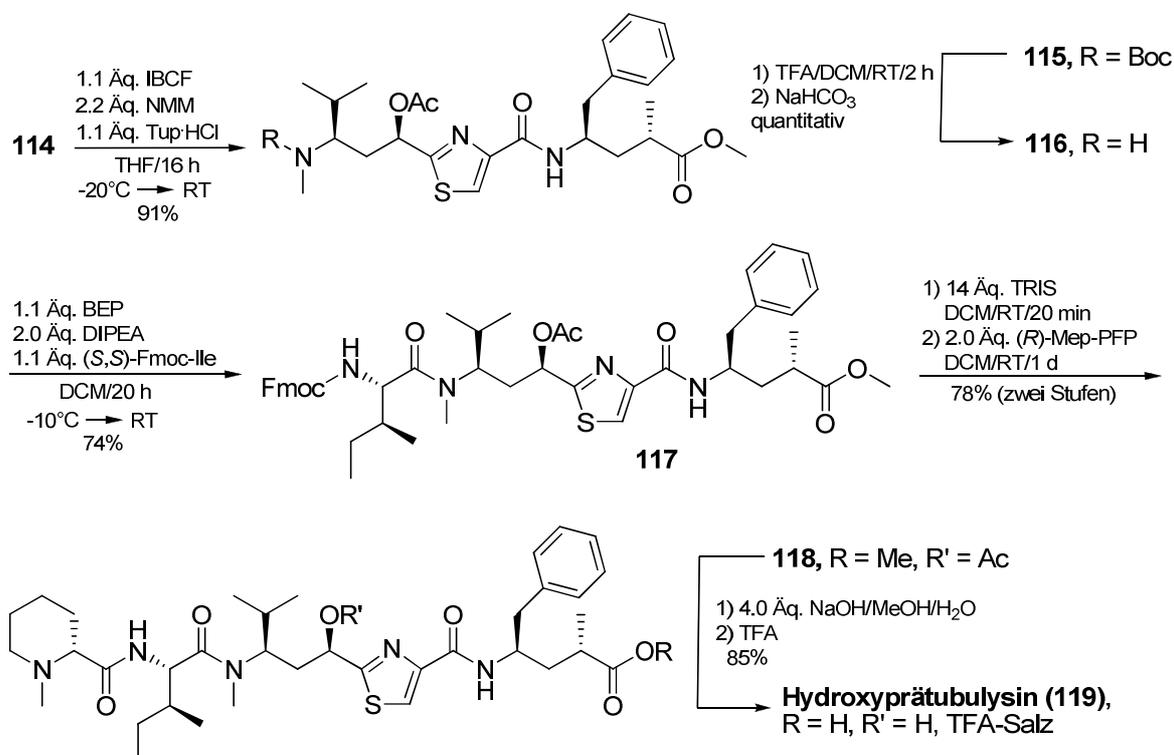


Schema 4.28: Synthese von *N*-Desacetytubuvalin (**114**).

4.4.2 Synthese des Hydroxyprätubulysins

Die Komplettierung der Synthese zum Hydroxyprätubulysin ist in **Schema 4.29** dargestellt. **114** wurde als gemischtes Anhydrid aktiviert und anschließend mit Tubuphenylalanin in hervorragender Ausbeute zum Dipeptid **115** geknüpft. Im nächsten Schritt wurde das Dipeptid mit TFA quantitativ entschützt. Bei der Verwendung von HCl in Dioxan kam es teilweise zur Zersetzung des Dipeptides, was zu unerwünschten Nebenprodukten bei der Peptidknüpfung führte. Wahrscheinlich eliminiert das Dipeptid im stark sauren Milieu Essigsäure. Das TFA-Salz wurde mit NaHCO₃ in das freie Amin überführt und anschließend mit (*S,S*)-Fmoc-Isoleucin unter Verwendung

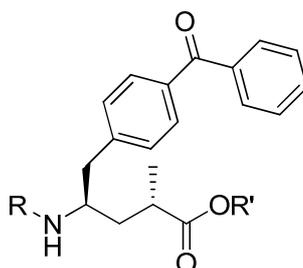
von BEP in guter Ausbeute zum Tripeptid **117** geknüpft. Die Cbz-Schutzgruppe konnte nicht verwendet werden, da deren Spaltung mit HBr/HOAc wiederum zu einer Zersetzung des Moleküls führen würde (s. oben HCl in Dioxan). Das Tripeptid wurde mit TRIS am *N*-Terminus entschützt und das freie Amin mit (*R*)-*N*-Methyl-Pipecolinsäure geknüpft, welche entsprechend der Literatur hergestellt wurde.^[47] Die Pipecolinsäure wurde in diesem Fall als Pentafluorphenolester (PFP) aktiviert. Dadurch erspart man sich zwar den Schritt der reduktiven Methylierung am Stickstoff, allerdings ist die Reaktion nicht so sauber wie bei der Knüpfung mit Cbz-Pipecolinsäure (*via* gemischtes Anhydrid) und die Aufreinigung des Tetrapeptides gestaltet sich ungleich schwieriger. In diesem Fall wurde diese Variante gewählt, da nicht klar war, ob die Acetatgruppe in Nachbarschaft zum Thiazolring mit Reduktionsmitteln wie NaBH₃CN reagiert. So konnte das Tetrapeptid **118** mit einer sehr guten Ausbeute von 78% über zwei Stufen erhalten werden. Im letzten Schritt erfolgte eine simultane Verseifung der Acetatgruppe und des Methylesters mit NaOH. Da der Methylester bei Raumtemperatur unter diesen Bedingungen nur extrem langsam reagierte, wurde die Entschützung bei 50°C ohne detektierbare Racemisierung (¹H-NMR) durchgeführt, so dass das gewünschte Hydroxyprätubulysin **119** mit einer sehr guten Ausbeute von 85% isoliert wurde. Dieses wird nun im AK Müller zur biologischen Evaluation und zur weiteren Aufklärung der Biosynthese des Tubulysins eingesetzt.



Schema 4.29: Synthese von Hydroxyprätubulysin (**119**).

4.5 Synthese photoaktivierbarer Prätubulysin-Derivate

Wie schon in der Aufgabenstellung beschrieben ist das Ziel die Synthese eines photoaktivierbaren Prätubulysinderivates. Dabei bietet sich eine Benzophenon-Einheit an, die den Phenylring im Tubuphenylalanin ersetzen soll. Dies hat zum einen den Vorteil, dass diese photolabile Gruppe recht ähnlich zum Phenylring ist und zum anderen sollte die Benzophenon-Einheit durch Kreuzkupplungen leicht synthetisch zugänglich sein. Das erste Ziel war es daher *p*-Benzoyl-Tubuphenylalanin (*p*BTup) zu synthetisieren (**Abbildung 4.4**).

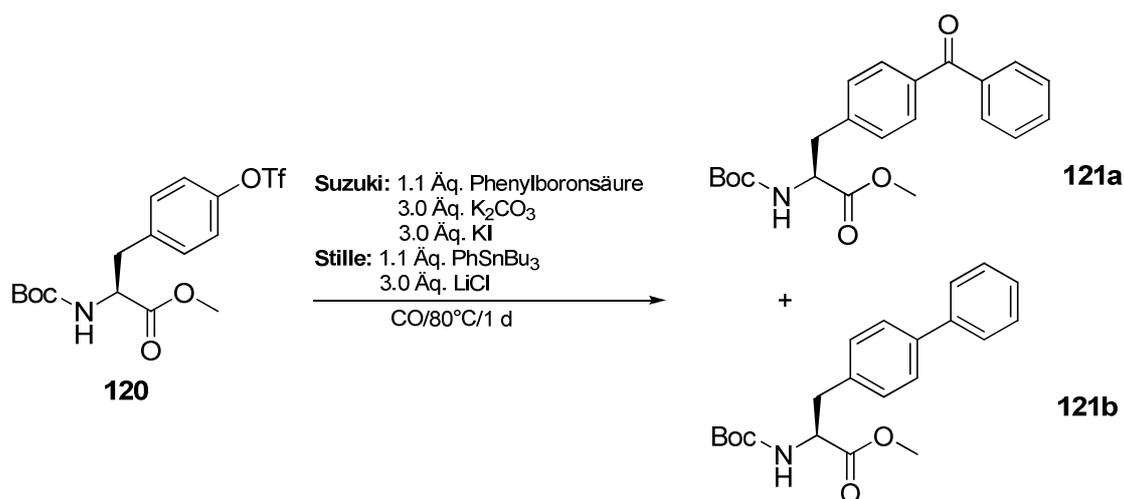


***p*-Benzoyl-Tubuphenylalanin (*p*BTup)**

Abbildung 4.4: Struktur der photolabilen Einheit *p*-Benzoyl-Tubuphenylalanin (*p*BTup).

4.5.1 Synthese von *p*-Benzoyl-Tubuphenylalanin

Die Idee war das *p*BTup ausgehend vom entsprechenden Triflat über eine carbonylierende Kreuzkupplung aufzubauen. Das Triflat wiederum sollte leicht zugänglich sein aus dem entsprechenden verlängerten Tyrosin, dem Tubutyrosin (Tut). Bevor allerdings die Synthese mit Tubutyrosin durchgeführt wurde, sollte die Kreuzkupplung zuerst am Triflat des Tyrosins optimiert werden. Während carbonylierende Stille- und Suzuki-Kupplungen mit Iodphenylalanin in der Literatur bekannt sind, sind die entsprechenden Reaktionen mit dem Tyrosin-Triflat nur ohne CO-Insertion beschrieben.^{[130][131]} Nichtsdestotrotz sollte nun Triflat **120** in einer Suzuki- bzw. Stille-Reaktion unter CO-Insertion zum Benzophenon-Derivat **121a** umgesetzt werden (**Schema 4.30**). Das Triflat selbst wurde nahezu quantitativ über drei Stufen aus L-Tyrosin dargestellt.^[132] Die Ergebnisse sind in **Tabelle 4.3** zusammengefasst. Die Suzuki-Kupplung wurde mit 1.1 Äq. Phenylboronsäure, 3.0 Äq. K₂CO₃ als Base und jeweils 5 mol% Palladium-Katalysator in Anisol oder Toluol als Lösemittel durchgeführt.^[133] Alle Ansätze wurden einen Tag bei 80°C gerührt, wo bei jeweils der Katalysator variiert wurde. Als Additiv wurde Kaliumiodid verwendet um die Reaktivität des Triflates zu erhöhen.



Schema 4.30: Carbonylierende Kreuzkupplungen mit Triflat **120**.

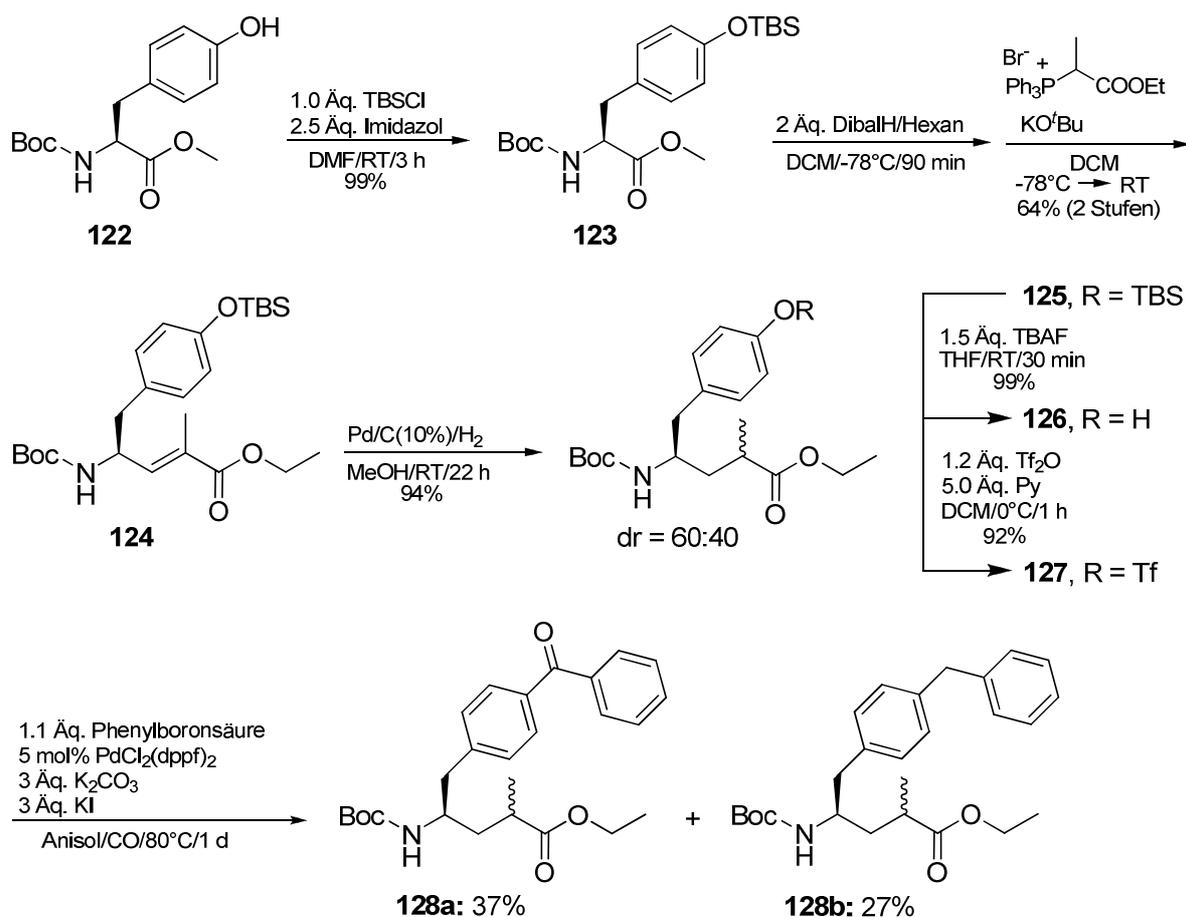
Bei der Verwendung von $PdCl_2(PPh_3)_2$ konnte ein Umsatz von 10% beobachtet werden. Allerdings war im Roh-NMR nur das uninsertierte Produkt **121b** zu finden. Das gewünschte Produkt **121a** hat sich erst gar nicht gebildet. Nimmt man dagegen „Tetrakis“ ($Pd(PPh_3)_4$) als Katalysator findet man im Roh-NMR 20% des gewünschten Produktes **121a**, der Rest ist nicht umgesetztes Edukt **120**. Das Hauptproblem bei dieser Reaktion ist, dass das CO den Palladium-Katalysator zu elementarem Palladium reduziert und dieses dann ausfällt. Schon nach kurzer Zeit (1–2 Stunden) färbt sich die Reaktionsmischung vom Palladium schwarz. Daher wurde als nächstes $PdCl_2(dppf)_2$ als Katalysator verwendet, da dieser laut Suzuki *et al.* besser geeignet ist um Triflate unter diesen Bedingungen umzusetzen.^[133] Eintrag 3 zeigt, dass in diesem Fall das gewünschte Produkt **121a** immerhin mit 66% Ausbeute isoliert werden konnte. Daneben erhielt man noch 2% uninsertiertes Produkt **121b** und 9% nicht umgesetztes Triflat **120**.

Tabelle 4.3: Kreuzkupplungen mit Triflat **120**.

Eintrag	Reaktion	Katalysator (5mol%)	Lm	Umsatz ^a	Ausbeute (121a)	Ausbeute (121b)	Ausbeute (120)
1	Suzuki	$PdCl_2(PPh_3)_2$	Anisol	10% 121b	n. isol.	n. isol.	n. isol.
2	Suzuki	$Pd(PPh_3)_4$	Toluol	20% 121a	n. isol.	n. isol.	n. isol.
3	Suzuki	$PdCl_2(dppf)_2$	Anisol	n. best.	66%	2%	9%
4	Stille	$PdCl_2(dppf)_2$	DMF	n. best.	7%	Spuren	54%
5	Stille	$Pd(PPh_3)_4$	DMF	n. best.	25%	Spuren	33%
6	Stille	$PdCl_2(PPh_3)_2$	DMF	20% 121a	n. isol.	n. isol.	n. isol.

^a Bestimmt im 1H -NMR aus dem Rohprodukt.

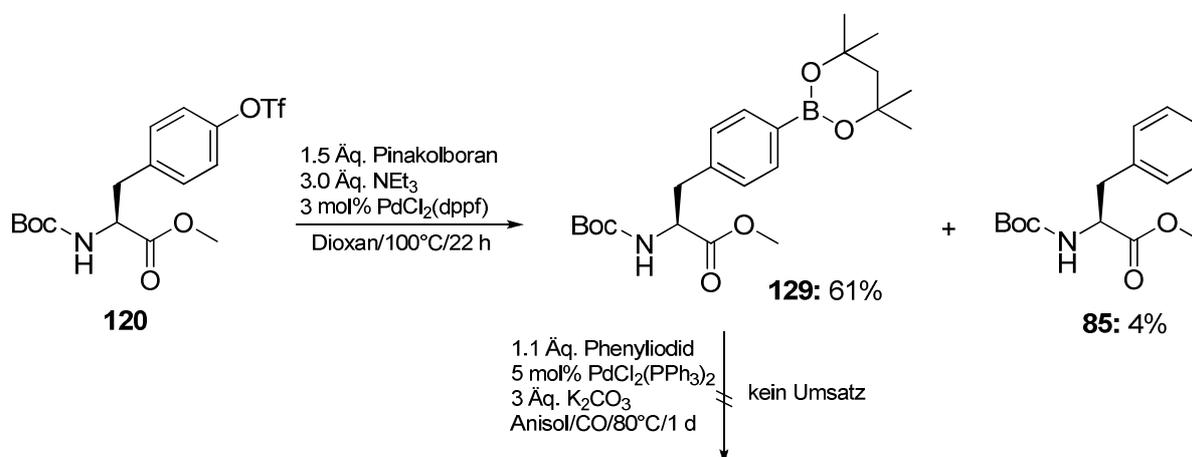
Anscheinend ist dieser Palladium-Katalysator auf Grund seiner Ferrocen-Liganden in der CO-Atmosphäre länger stabil. Als nächstes sollte die Stille-Kupplung untersucht werden. Diese wurde mit 1.1 Äq. PhSnBu_3 und 3.0 Äq. LiCl in DMF als Lösemittel durchgeführt.^[134] Die Ansätze wurden ebenfalls unter CO-Atmosphäre bei 80°C für einen Tag gerührt. Verwendet man hier ebenfalls den $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$ -Katalysator erhält man allerdings nur 7% von **121a** neben 54% Edukt. Dieser Katalysator scheint für die Stille-Kupplung weniger geeignet zu sein. Bei der Verwendung von „Tetrakis“ konnten 25% des gewünschten Produktes neben 33% Edukt isoliert werden. In beiden Fällen waren nur Spuren des uninsertierten Produktes **121b** zu finden. Zuletzt wurde noch der $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ -Katalysator getestet. In diesem Fall konnten im Roh-NMR nur 20% **121a** gefunden werden neben nicht abreagiertem Triflat **120**. Auch bei der Stille-Kupplung ist das Hauptproblem die Reduktion des Palladiums durch das CO. Das beste Ergebnis lieferte somit die Suzuki-Kupplung unter Verwendung des Palladium-Ferrocen-Katalysators $\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$. Daher sollte dieser nun auf das verlängerte Tyrosin-Derivat angewendet werden. Die Synthese des verlängerten Triflates **127** ist in **Schema 4.31** dargestellt.



Schema 4.31: Synthese und Suzuki-Kupplung von Triflat **127**.

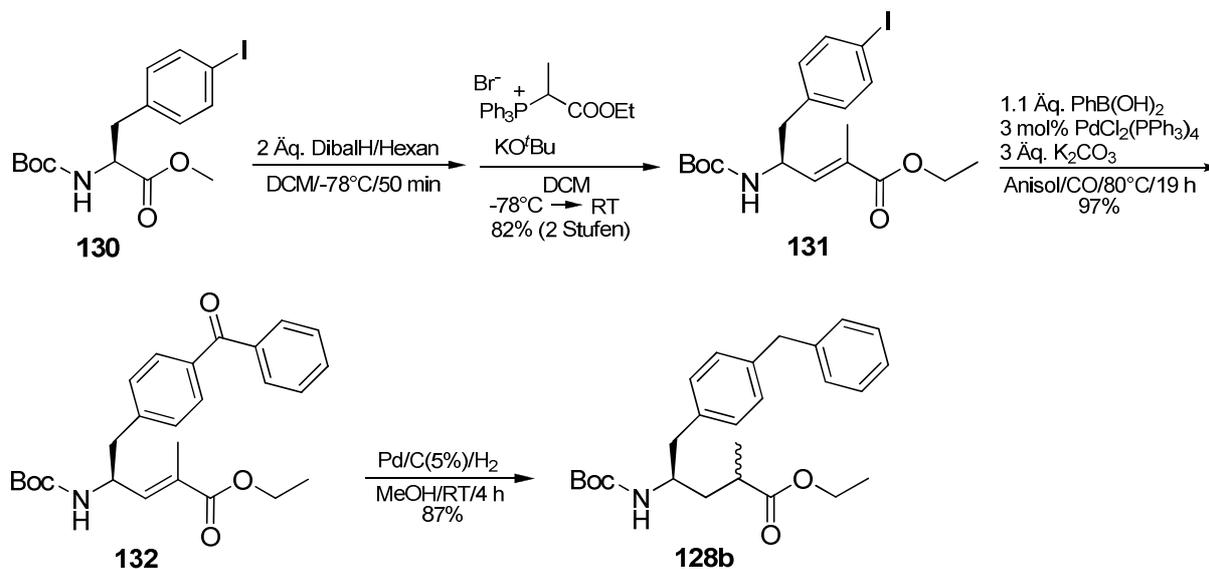
L-Boc-Tyrosinmethylester **122** wurde im ersten Schritt TBS-geschützt (**123**) und anschließend mittels bewährter DibalH-Wittig-Eintopfreaktion um zwei C-Einheiten zu Derivat **124** verlängert. Die Ausbeute war mit 63% über drei Stufen recht gut. Anschließend wurde die Doppelbindung quantitativ mit Palladium auf Kohle hydriert, wobei das TBS-geschützte Tubutyrosin-Derivat **125** mit einem Diastereomerenverhältnis von 60:40 isoliert wurde. Die beiden Diastereomere sind mittels Flashchromatographie nicht trennbar. Allerdings war dies nicht weiter tragisch, da hier zuerst einmal die Syntheseroute ausgearbeitet werden sollte. Falls diese erfolgreich ist kann man sich immer noch um eine diastereoselektive Synthese Gedanken machen. Die Silylschutzgruppe wurde mit TBAF problemlos abgespalten und die freie OH-Gruppe nahezu quantitativ ins Triflat überführt (**127**). Das Triflat wurde anschließend unter den zuvor optimierten Bedingungen in einer Suzuki-Reaktion umgesetzt. Dabei erhielt man allerdings das gewünschte Benzophenon-Derivat **128a** nur mit 37% Ausbeute. Daneben konnten noch 27% des Nebenproduktes **128b** isoliert werden. Dies bedeutet, dass im Vergleich zum unverlängerten Tyrosin-Triflat **120** die beiden Kreuzkupplungsprodukte nahezu im gleichen Verhältnis entstehen. Das restliche Edukt hatte sich während der Reaktion zersetzt.

In der Literatur ist von Huffman *et al.* eine milde Methode beschrieben um Aryltriflate in Boronsäureester umzuwandeln.^[135] Diese Variante sollte nun testweise auf das Tyrosin-Triflat angewendet werden (**Schema 4.32**). Triflat **120** wurde mit Pinakolboran und PdCl₂(dppf) als Katalysator in Dioxan bei 100°C umgesetzt. Der gewünschte Boronsäureester **129** konnte dabei mit 61% Ausbeute gewonnen werden. Daneben entstanden noch 4% Boc-Tyrosinmethylester. Anschließend wurde **129** in einer carbonylierenden Suzuki-Kupplung mit Phenyljodid umgesetzt. Dies sollte den Vorteil haben, dass man die elektrophile mit der nucleophilen Komponente tauscht und so das reaktivere Phenyljodid (im Vergleich zum Triflat) nutzen kann.



Schema 4.32: Umwandlung von Triflat **120** in den Boronsäureester **129**.

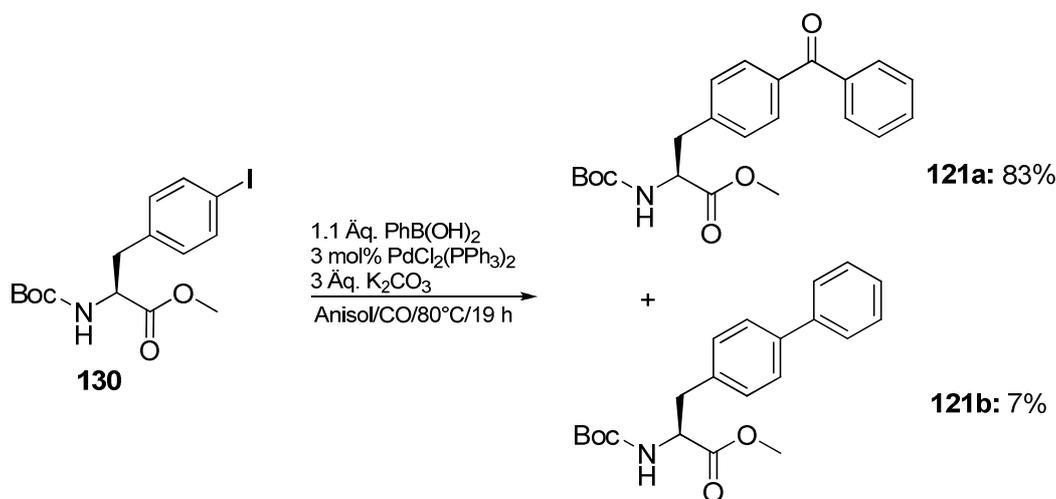
Erstaunlicherweise war auch nach einem Tag kein Umsatz der Edukte zu beobachten. Daher wurde an dieser Stelle die Idee mit den Triflaten verworfen und die Synthese des *p*BTup sollte ausgehend von Iodphenylalanin **130** erfolgen (**Schema 4.33**), da sowohl Stille- als auch Suzuki-Kupplungen mit diesem Substrat in der Literatur beschrieben sind.^[130] L-Boc-Iodphenylalaninmethylester wurde entsprechend der Literatur aus L-Phenylalanin in drei Stufen hergestellt.^[136] Die standardmäßige Verlängerung zu Verbindung **131** gelang in exzellenter Ausbeute. Dabei tolerierte das DibalH problemlos das Iod. Das verlängerte Iodphenylalanin **131** wurde mittels Suzuki-Kupplung unter CO-Insertion nahezu quantitativ in das Benzophenon-Derivat **132** umgewandelt. Im Anschluss sollte versucht werden die Doppelbindung unter Erhalt des Ketons zu hydrieren. Bei der Verwendung von Pd/C (5%) wurde **132** allerdings glatt zu **128b** reduziert. Das Keton wurde also bis zum Alkan reduziert. Anschließend wurde getestet, ob sich die Doppelbindung homogen mit dem Wilkinson- bzw. Iridium-Katalysator (Ir(COD)Cl) reduzieren lässt. In beiden Fällen blieb die Doppelbindung trotz 20 bar Wasserstoffdruck unangetastet. Auch der Versuch die Doppelbindung vor der Kreuzkupplung auf der Stufe des Iodides **131** zu hydrieren scheiterte, da das verwendete Palladium auf Kohle mit dem Iod reagierte.



Schema 4.33: Synthese des *p*BTup ausgehend von Iodphenylalanin **130**.

Da sich die Synthese des *p*BTup weitaus problematischer gestaltete als Anfangs angenommen, wurde an dieser Stelle beschlossen zuerst vereinfachte Benzophenon-Tubuphenylalanin-Derivate zum Aufbau von Benzophenon-Prätubulysin-Derivaten zu verwenden. Zum einen sollte das ungesättigte Derivat **132** und zum anderen das unverlängerte *p*-Benzophenon-Phenylalanin **121a** zur Synthese der Prätubulysin-Derivate genutzt werden. Von den entsprechenden Verbindungen ohne Benzophenon-Gruppe wurden schon biologische Aktivitäten im Rahmen der Dis-

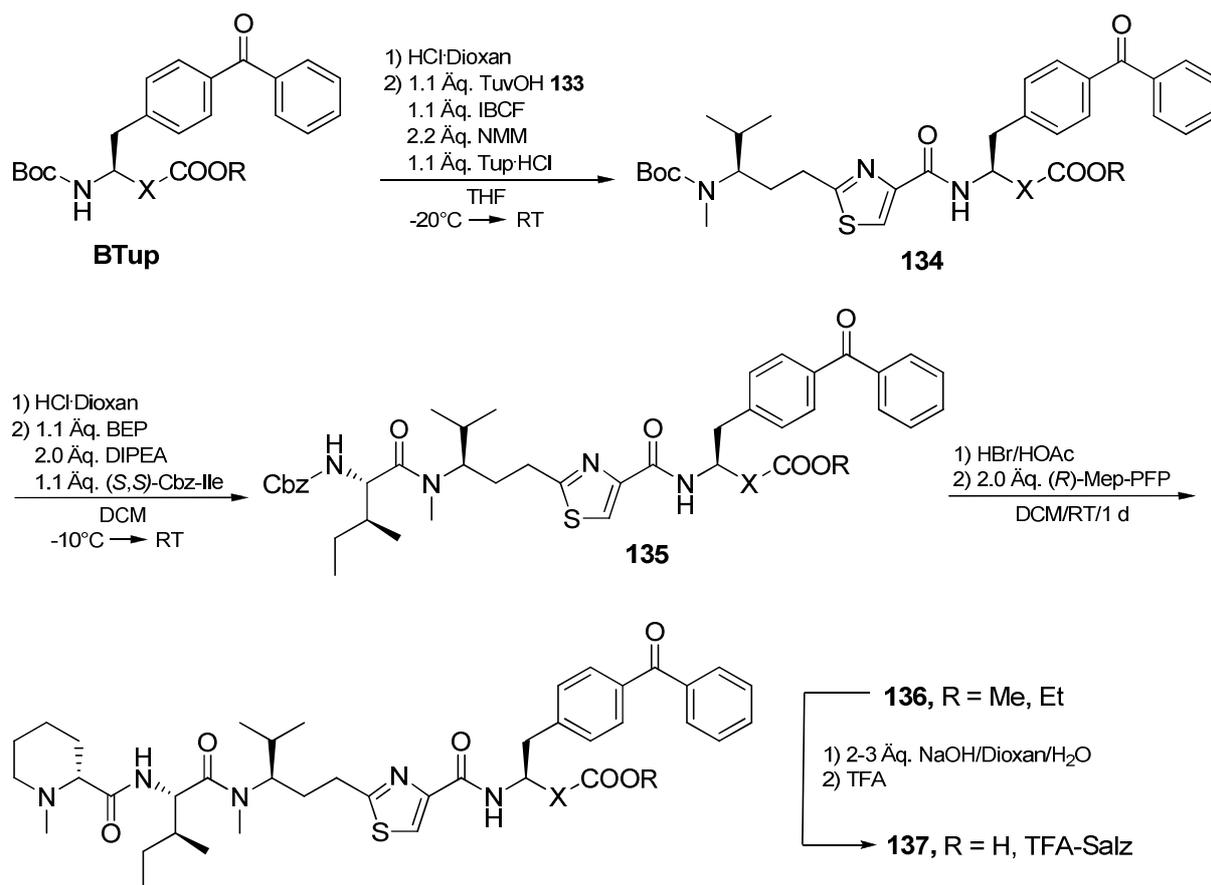
sertation von Angelika Ullrich bestimmt.^[22] Somit könnte man im Vergleich mit den entsprechenden Benzophenon-Derivaten direkt Rückschlüsse darauf ziehen inwiefern sich die Benzophenongruppe auf die biologische Aktivität der Prätubulysin-Derivate auswirkt. Sollten die Aktivitäten komplett einbrechen macht es keinen Sinn noch mehr Zeit für die Synthese von *p*BTup zu verwenden. Die Synthese des *p*-Benzoyl-Tubuphenylalanins (*p*BTup) **121a** ist in **Schema 4.34** dargestellt. Im Vergleich zum Triflat konnte das Iodid **130** problemlos in einer carbonylierenden Suzuki-Kupplung zu **121a** umgesetzt werden (83% Ausbeute). Daneben entstanden noch 7% Nebenprodukt **121b**, das aber problemlos abgetrennt werden konnte.



Schema 4.34: Synthese von *p*BTup **121a** mittels Suzuki-Kupplung.

4.5.2 Synthese der Benzophenon-Prätubulysin-Derivate

Die finale Synthese der Prätubulysin-Derivate ist in **Schema 4.35** dargestellt. Die beiden Benzophenon-Tubuphenylalanine (BTup) **121a** und **131** wurden im ersten Schritt quantitativ mit HCl in Dioxan entschützt und anschließend mit *N*-Boc-Tubuvalin **133**, aktiviert als gemischtes Anhydrid, zu den Dipeptiden **134** geknüpft. Das Tubuvalin wurde entsprechend der Literatur synthetisiert.^[22] Die Ausbeuten waren in beiden Fällen hervorragend (**Tabelle 4.4**). Anschließend wurde die Boc-Schutzgruppe erneut mit HCl in Dioxan gespalten und das resultierende Hydrochlorid mit Cbz-geschütztem (*S,S*)-Isoleucin zu den Tripeptiden **135** umgesetzt. Als Knüpfungsreagenz für die *N*-Methyl-Peptide wurde standardmäßig BEP verwendet. Auch hier waren die Ausbeuten mit knapp 90% über beide Stufen exzellent. Anschließend wurde der *N*-Terminus mit HBr in Eisessig entschützt, da eine Hydrierung der Cbz-Schutzgruppe nicht möglich war. Das freie Amin wurde dann mit (*R*)-*N*-Methyl-Pipecolinsäure-PFP zum Tetrapeptid umgesetzt.^[47]



Schema 4.35: Synthese der Benzophenon-Prätubulysin-Derivate **137**.

Tabelle 4.4: Synthese der Benzophenon-Prätubulysin-Derivate **137**.

Eintrag	BTup	X-COOR	134	Ausbeute	135	Ausbeute
1	121a	—COOMe	134a	85%	135a	86%
2	131		134b	92%	135b	90%
Eintrag	135	X-COOR	136	Ausbeute	137	Ausbeute ^a
3	135a	—COOMe	136a	84%	137a	97%
4	135b		136b	66%	137b	92%

^a Isoliert als TFA-Salz.

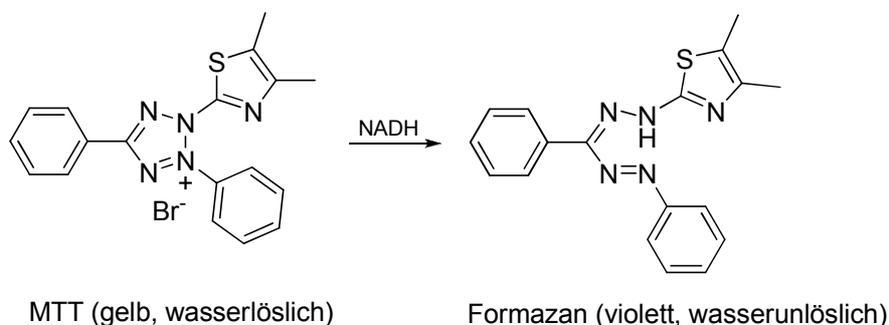
Während die Ausbeute zum Tetrapeptid **136a** mit 84% sehr gut verlief, wurde Verbindung **136b** nur mit guten 66% über beide Stufen isoliert. Eventuell hat sich das Edukt bei der Entschützung mit HBr zum Teil zersetzt. Die Variante mit *N*-Methyl-Pipecolinsäure musste hier angewendet werden, da eine nachträgliche reduktive Methylierung wegen der Benzophenongruppe nicht möglich war. Im letzten Schritt

wurde noch der Methylester mit NaOH verseift und die freien Säuren quantitativ in die TFA-Salze **137** überführt. Diese Prätubulysin-Derivate wurden zum einen an den Arbeitskreis Müller von der Pharmazie zur Bestimmung der biologischen Aktivität weitergegeben und zum anderen nach München zu Prof. Sieber von der LMU gesendet, um mit ihnen Bindungsstudien zu betreiben.

4.6 Biologische Evaluierung der Prätubulysin-Derivate

4.6.1 Cytotoxizitätsstudien

Alle zuvor synthetisierten Prätubulysin-Derivate wurden im AK Müller auf ihre cytotoxischen Eigenschaften gegen diverse Krebszelllinien getestet. Die Aktivitätsmessungen wurden von Jennifer Herrmann mit dem sogenannten *MTT Assay* durchgeführt.^[137] Dies ist eine einfache und bequeme Methode um den Einfluss externer Faktoren auf das Zellwachstum zu studieren. So kann der Assay zum Beispiel verwendet werden um die Cytotoxizität von Wirkstoffen oder die Proliferation¹⁵ von Zellen zu messen. Grundlage des Verfahrens ist die enzymatische NADH-abhängige Reduktion des Tetrazoliumsalses MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid] zu dem Farbstoff Formazan (**Schema 4.36**).



Schema 4.36: Enzymatische NADH-abhängige Reduktion von MTT zu Formazan.

Während das Salz gelb und wasserlöslich ist, fällt das Formazan im wässrigen Milieu in Form von violetten Nadeln aus. Diese irreversible Reduktion findet in den Mitochondrien lebender Zellen statt. Die Zellen werden zusammen mit dem Wirkstoff und MTT inkubiert. Nach einer festgelegten Inkubationszeit werden die Zellen mit einem Detergenz lysiert und das unlösliche Formazan in *iso*-Propanol gelöst. Anschließend wird die Absorption der Lösung photometrisch gegen eine Wellenlänge von 570 nm bestimmt. Die Absorption ist dabei direkt proportional zur Stoffwechsel-

¹⁵ Gewebsvermehrung durch Wucherung oder Sprossung.

aktivität der Zellen bzw. zur Anzahl der noch lebenden Zellen. Die Ergebnisse der Cytotoxizitätsstudien der Prätubulysin-Derivate sind in **Tabelle 4.5** zusammengefasst.

Die Strukturen der Prätubulysin-Derivate sind nochmals in **Abbildung 4.5** und **4.6** dargestellt. Die Aktivitäten werden in Form von IC_{50} -Werten in ng/ml angegeben, wobei Prätubulysin als Referenzsubstanz immer mitgemessen wurde. Die mit Abstand höchste Aktivität zeigt das Oxazol-Derivat **21**, die nur um den Faktor zwei geringer ist als Prätubulysin. Dies ist auch nicht verwunderlich, da der Oxazolring sich nur geringfügig vom Thiazolring unterscheidet.

Tabelle 4.5: Effekt der synthetisierten Prätubulysin-Derivate auf das Zellwachstum der Krebszelllinien U-2 OS und HCT-116.

	Zelllinien ^a (IC_{50} [ng/ml]) ^b	
	U-2 OS	HCT-116
Tubulysin A	0.19	0.59
Tubulysin D	0.03	0.03
Prätubulysin	0.56	1.02
Oxazolprätubulysin (21)	1.2	n. b.
Phenylprätubulysin (58)	78.6	n. b.
Phenoxyprätubulysin (59)	318	n. b.
Triazolprätubulysin (102a)	421	1770
102b	>300000	>300000
102c	>300000	>300000
104	13700	14200
106a	80.0	440
106c	350	300
107	6.060	24.340
Hydroxyprätubulysin (119)	84.2	42.5
137a	84.000	>300000
137b	3470	1700

^a U-2OS: Humanes Osteosarkom, HCT-116: Humanes Kolonkarzinom; ^b n. b.: nicht bestimmt.

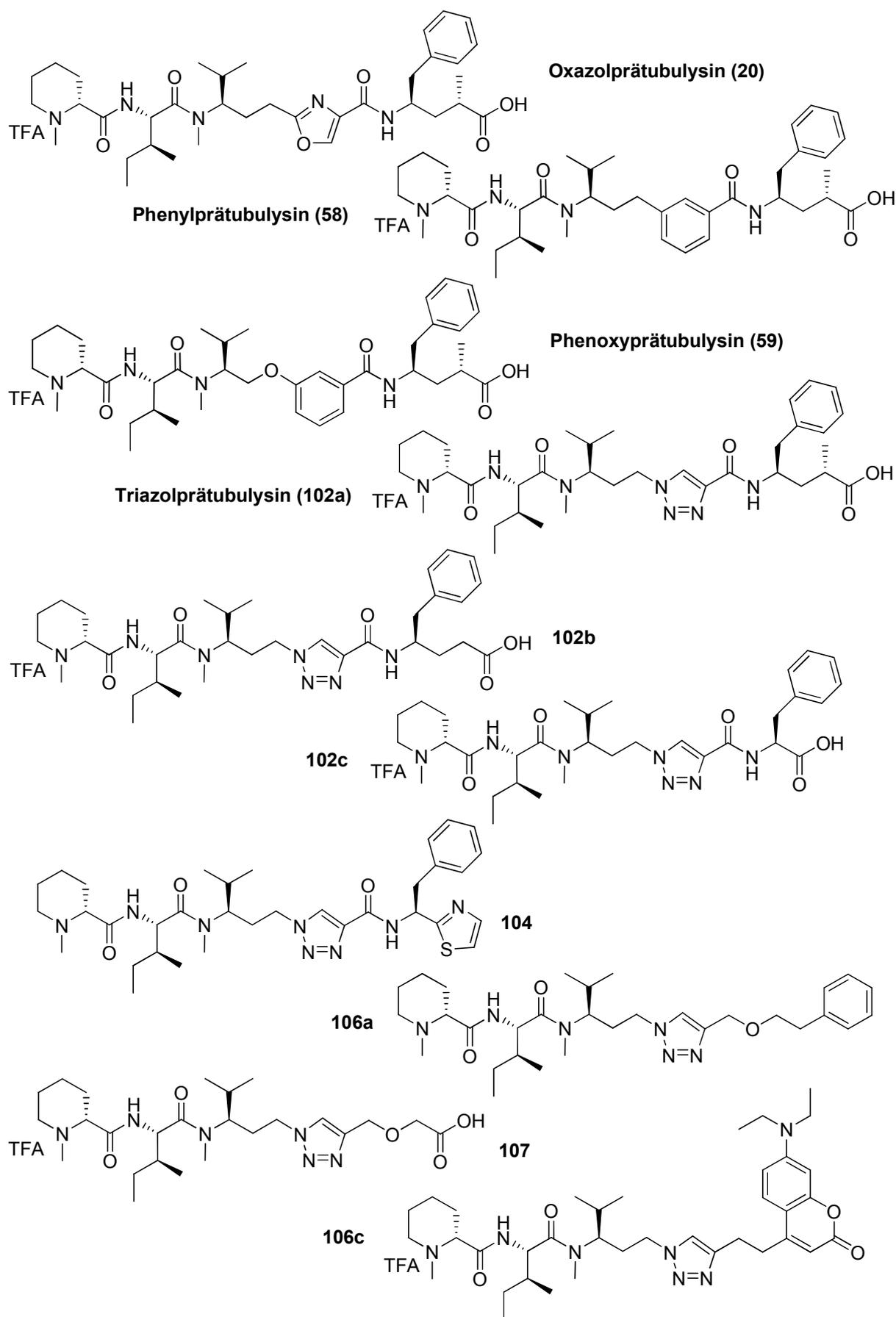


Abbildung 4.5: Synthetisierte Prätubulysin-Derivate (I).

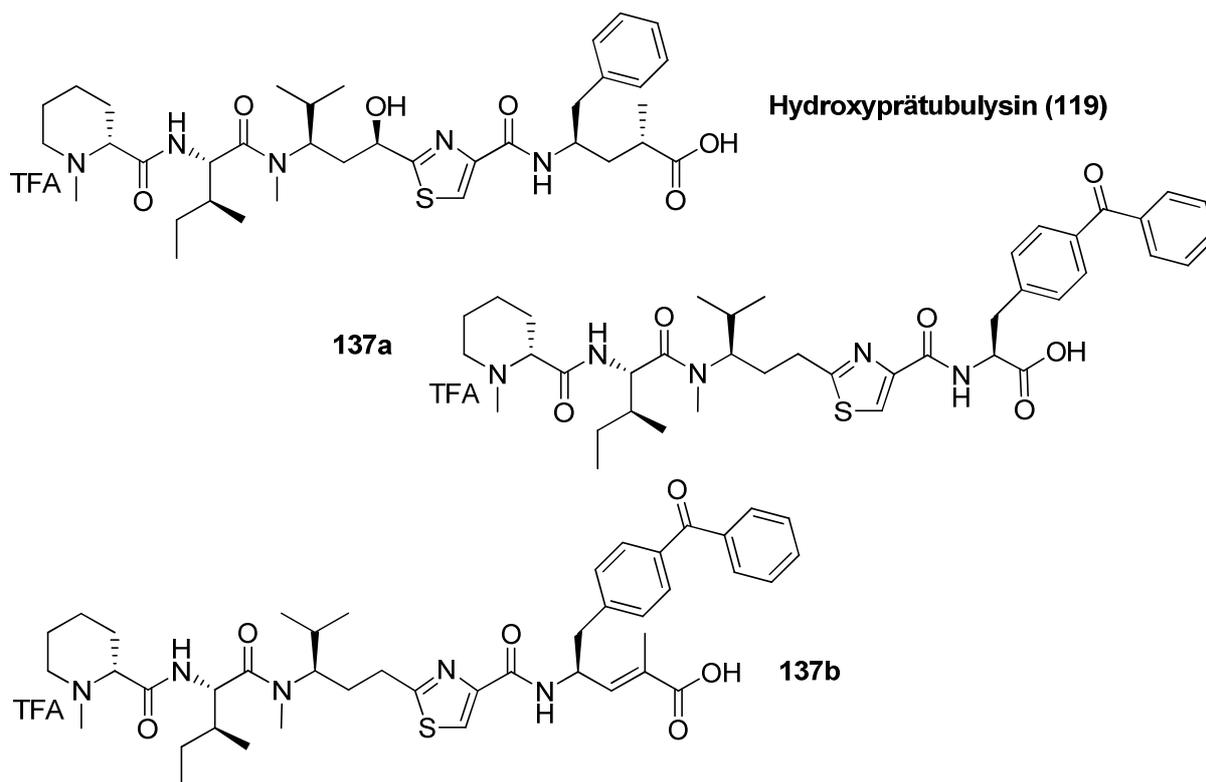


Abbildung 4.6: Synthetisierte Prätubulysin-Derivate (II).

Während das Phenylprätubulysin **58** gegenüber dem Oxazolderivat um den Faktor 70 schlechter ist, sinkt die Aktivität des Phenoxyprätubulysins um den Faktor 300. Dies zeigt, dass der Phenylring nicht mehr so leicht toleriert wird wie der Oxazolring. Die Aktivitäten der verschiedenen Triazol-Derivate schwanken stark. Das Triazolprätubulysin **102a**, welches strukturell dem Original am nächsten kommt, besitzt eine Aktivität von 421 ng/ml und liegt somit noch im nanomolaren Bereich. Die Derivate **102b** und **102c** besitzen keine Aktivität mehr im messbaren Bereich (>300 µg/ml). Die Dolastatin-Prätubulysin-Chimäre **104** zeigt dagegen noch eine passable Aktivität im unteren µg-Bereich. Etwas verwunderlich dagegen ist, dass die beiden Triazol-Derivate **106a** und **106c** eine höhere Cytotoxizität besitzen als **102a**, obwohl diese am C-Terminus sehr stark von der Originalstruktur abweichen. Die Werte liegen im ng-Bereich und sind vergleichbar mit den beiden Phenyl-Derivaten **58** und **59**. Die Aktivität des fluoreszierenden Cumarin-Derivates **107** befindet sich im unteren µg-Bereich. Im Falle des Hydroxy-Prätubulysins **119** liegt der IC₅₀-Wert dagegen im unteren ng-Bereich. Dies sollte man wegen der strukturellen Ähnlichkeit zum Tubulysin D auch erwarten. Während das 2,3-Dihydro-Benzophenon-Derivat **137b** noch eine passable Aktivität im unteren µg-Bereich besitzt, ist die Cytotoxizität des verkürzten Benzophenon-Derivates **137b** kaum noch messbar. Vergleicht man die beiden Verbindungen mit den entsprechenden Prätubulysin-Derivaten ohne Benzophenongruppe, zeigt sich, dass die Aktivität nur um den Faktor 30 geringer

ist.^[22] Könnte man also das richtige Benzophenonprätubulysin synthetisieren, sollte die Aktivität dieser Verbindung immer noch im subnanomolaren Bereich liegen.

Da die Aktivität des Oxazolprätubulysins **21** so hervorragend war, wurde die Verbindung an weiteren Krebszelllinien getestet. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 4.6** zusammengefasst. Auch hier wurde als Referenz Prätubulysin mitgemessen. Die Werte sind auch hier vergleichbar mit denen vom Prätubulysin und liegen fast alle im subnanomolaren Bereich. Eine Ausnahme bilden die HL-60 und U-937 Zellen. Hier sind die Cytotoxizitäten des Prätubulysins ein bzw. zwei Zehnerpotenzen höher als beim Oxazol-Derivat. Nichtsdestotrotz liegen die Werte immer noch im picomolaren Bereich.

Tabelle 4.6: Effekt von Oxazolprätubulysin (**20**) auf das Zellwachstum diverser Krebszelllinien.

Zelllinie ^a	IC ₅₀ [ng/ml]	
	Prätubulysin	Oxazolprätubulysin (20)
A-549	10.9	11.84
COS-7	18.5	20.14
HEK-293T/17	0.59	0.44
HepG2	0.95	1.67
HL-60	0.009	0.03
K-562	0.10	0.24
KB3.1	7.92	3.51
KBV.1	27.4	34.0
L-929	5.19	7.30
NIH/3T3	7.89	7.41
SW-480	0.45	0.98
U-937	0.009	0.34

^a A-549: Humanes Lungenkarzinom, COS-7: Nierenkarzinom der afrikanischen Meerkatze, HEK-293T/17: Humanes Nierenkarzinom, HepG2: Humanes hepatozelluläres Karzinom, HL-60: Humane akute Promyelozytenleukämie, K-562: Humane chronische myeloische Leukämie, KB3.1: Humanes Gebärmutterhalskarzinom, KBV.1: Humanes Epidermoidkarzinom, L-929: Subkutanes Bindegewebe der Maus, NIH/3T3: Embryonische Mausfibroblasten, SW-480: Humanes Kolon-Adenokarzinom, U-937: Humanes histiozytisches Lymphom.

4.6.2 Fluoreszenzmessungen

Da das Cumarin-Derivat **107** stark fluoreszierende Eigenschaften besitzt, sollte mit diesem auch Fluoreszenzmikroskopie betrieben werden. Dazu wurden PTK-2-Zellen¹⁶ zusammen mit dem Wirkstoff inkubiert und die Zellen anschließend unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht (**Abbildung 4.7**). Um den genauen Wirkort von **107** während der Inkubation bestimmen zu können, wurden die verschiedenen Zellkompartimente mit spezifischen Farbstoffen angefärbt. Ein Vergleich der Aufnahme von Cumarin-Derivat **107** mit den Aufnahmen der angefärbten Zellbestandteile zeigt, dass sich dieses in den Lysosomen befindet. Dies ist insofern verwunderlich, da es sich dabei um die „Abfalleimer“ der Zellen handelt, wo Fremdstoffe entweder abgebaut oder mittels Exocytose aus der Zelle geschleust werden. Dabei ist allerdings unklar, ob das Prätubulysin-Derivat **107** komplett in den Lysosomen landet, oder ob der Fluoreszenzfarbstoff abgespalten wurde und nur ein Fragment in die Lysosomen gelangt ist.

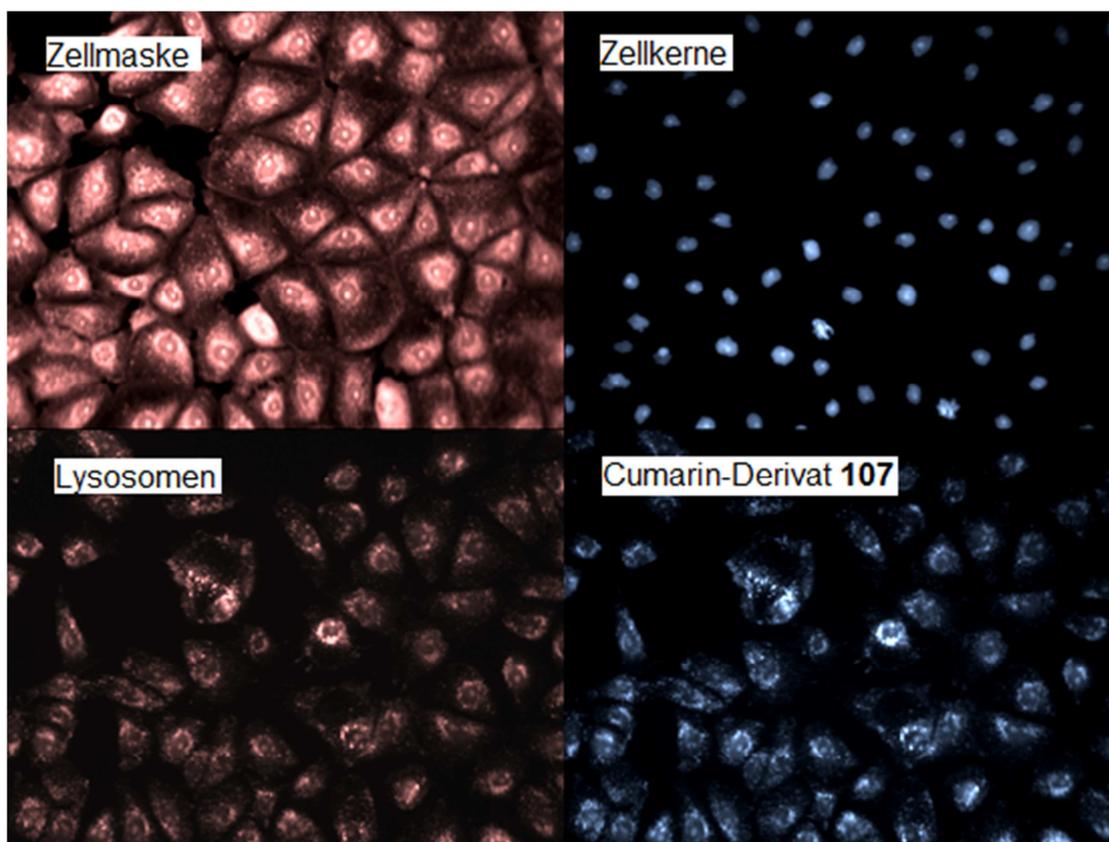
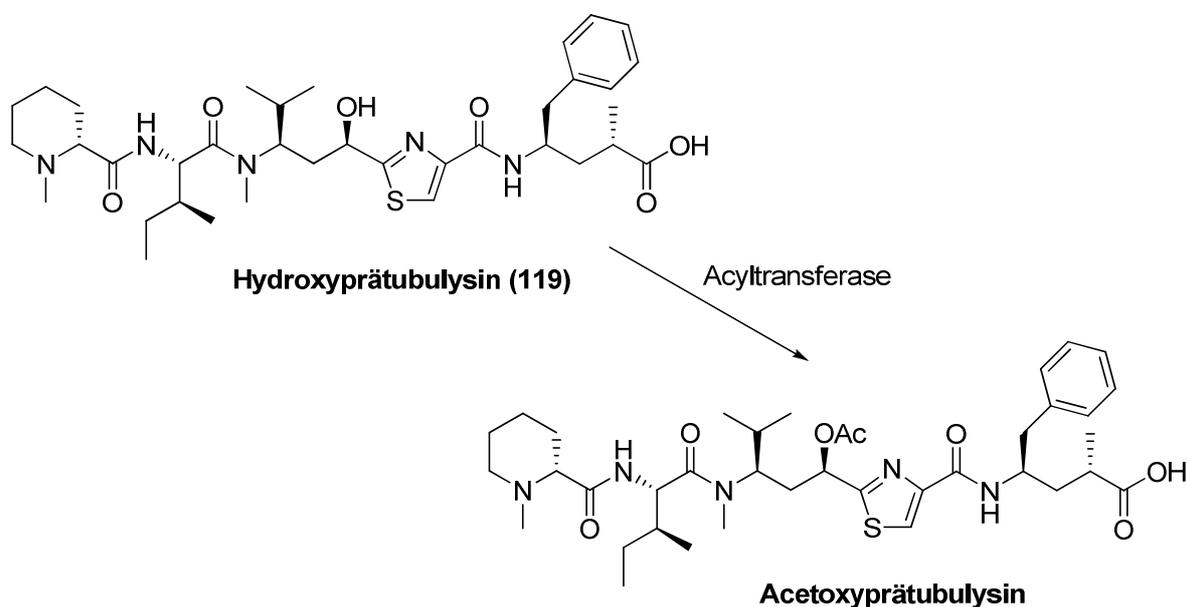


Abbildung 4.7: Fluoreszenzmikroskopie von Cumarin-Derivat **107** mit PTK-2-Zellen.

¹⁶ Nierenzellen der Beutelratte.

4.6.3 Biosynthetische Untersuchungen

Wie in der Aufgabenstellung beschrieben soll das Hydroxyprätubulysin **119** verwendet werden um den Biosyntheseweg der Tubulysine weiter aufzuklären. Im AK Müller wurde vor kurzem im Genom der Myxobakterien ein Gen entdeckt, welches eine Acyltransferase codiert, die für die Acetylierung der Hydroxygruppe im Tubulysin verantwortlich sein könnte. Dieses Enzym wurde exprimiert und isoliert und soll nun mit dem synthetisierten Hydroxyprätubulysin **119** umgesetzt werden. Anschließend soll durch den Nachweis des Acetoxypreatubulysins bewiesen werden, dass es sich bei der Acyltransferase um das gesuchte Enzym handelt (**Schema 4.37**). Diese Untersuchungen dauern zurzeit noch an.

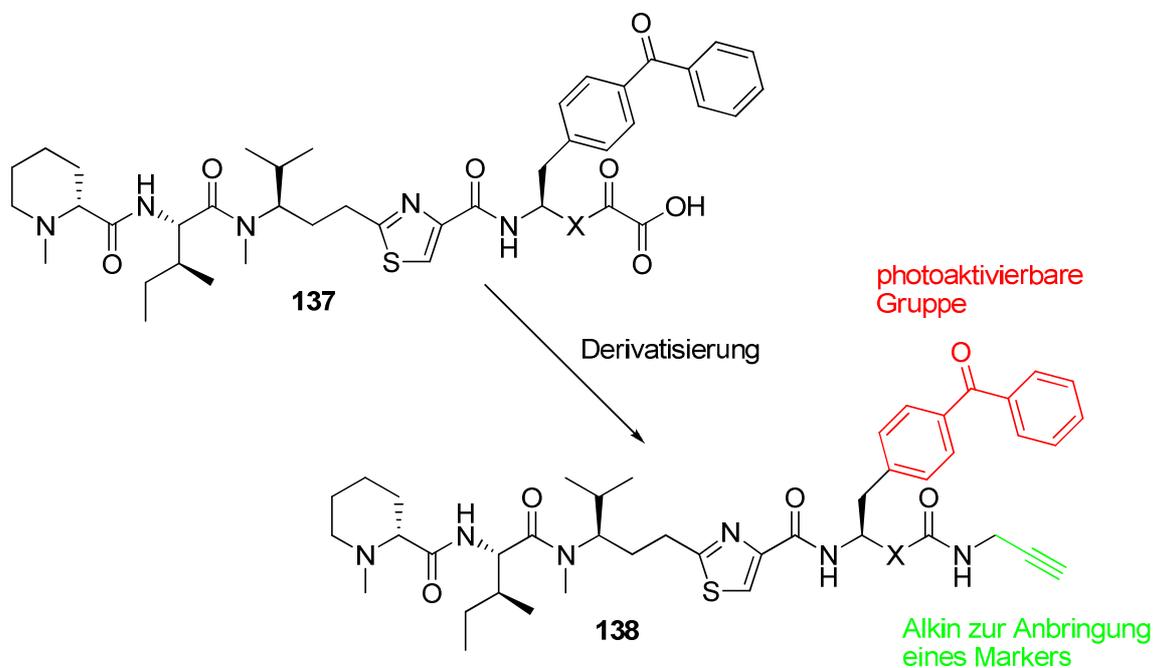


Schema 4.37: Umsetzung von Hydroxyprätubulysin **119** mit einer Acyltransferase.

4.6.4 Bindungsstudien

Die Benzophenon-Derivate **137** zeigten leider nicht die erhoffte Aktivität um mit ihnen Bindungsstudien am Tubulin zu betreiben. Nichtsdestotrotz können diese Derivate verwendet werden, um weitere biologische Angriffsziele (z.B. Proteine) der Tubulysine zu identifizieren. Dazu wurden einige mg der Substanz derivatisiert und nach München zu Herrn Prof. Siebert geschickt. Im AK Siebert sollen nun durch eine Kombination aus *aktivitätsbasiertem Protein-Profilng* (ABPP) und *photoaffinity labeling* neue Targets gefunden werden.^{[65][68]} Dazu wurden die Benzophenon-Derivate **137** in die Propargylamide **138** überführt (**Schema 4.38**). Dadurch besitzt das Molekül sowohl eine photoaktivierbare Gruppe in Form der Benzophenongruppe als auch eine Alkin-Funktion an der mittels bioorthogonaler *Click-Chemie* ein Marker angebracht werden kann. Durch Bestrahlung des Moleküls mit UV-Licht entstehen an

der Carbonylgruppe der Benzophenon-Einheit Radikale, die dann kovalent an die potentiellen Angriffsziele binden. Anschließend kann der Marker angebracht und die Moleküle mittels Affinitätschromatographie identifiziert werden. So kann man schnell und effizient ganze Proteome nach neuen Targets „scannen“. Die Untersuchungen dauern zurzeit noch an.



Schema 4.38: Derivatisierung von **137** für die ABPP.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeine Angaben

Schmelzpunkte wurden in offenen Glaskapillaren mit einer *MEL-TEMP II*-Schmelzpunktbestimmungsapparatur der Firma *Laboratory Devices* gemessen und nicht korrigiert.

Elementaranalysen wurden am Institut für Organische Chemie der Universität des Saarlandes von Frau Heike Röser und Frau Susanne Harling durchgeführt.

Hochaufgelöste Massenspektren (HRMS) wurden am Institut für Organische Chemie von Herrn Rudi Thomes mit Hilfe eines *MAT 95*-Gerätes der Firma *Finnigan* aufgenommen. Die Ionisierung erfolgte durch chemische Ionisation (CI).

¹H-NMR-Spektren wurden mit einem 400 MHz-Kernresonanzspektrometer *Avance II* der Firma *Bruker BioSpin* aufgenommen. Die Kalibrierung wurde auf die Lösungsmittel CDCl_3 ($\delta = 7.26$ ppm), MeOD ($\delta = 3.31$ ppm) oder DMSO- d_6 ($\delta = 2.50$ ppm) vorgenommen. Die Auswertung erfolgte nach erster Ordnung mittels *Mestre-C*-Software. Die Multiplizitäten wurden folgendermaßen abgekürzt: s = Singulett, bs = breites Signal, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, sh = Signalhaufen. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm angegeben.

¹³C-NMR-Spektren wurden ebenfalls mit oben genanntem Kernresonanzspektrometer bei einer Messfrequenz von 100 MHz aufgenommen. Die Kalibrierung erfolgte in Bezug auf die Lösungsmittel CDCl_3 ($\delta = 77.0$ ppm), MeOD ($\delta = 49.05$ ppm) oder DMSO- d_6 ($\delta = 49.43$ ppm). Bedeutung der Abkürzungen: s = Singulett (quartäres C-Atom), d = Dublett (CH-Gruppe), t = Triplett (CH₂-Gruppe), q = Quartett (CH₃-Gruppe).

Zur **Dünnschichtchromatographie** wurden „*Polygram Sil G/UV₂₅₄*“ Fertigfolien der Firma *Macherey-Nagel* verwendet. Die Detektion erfolgte mittels UV-Licht ($\lambda = 254$ nm) und Tauchreagenzien (Kaliumpermanganat, Ninhydrin, Molybdätophosphorsäure).

Zur **Kugelrohrdestillation** wurde ein Gerät *GKR-51* der Firma *Büchi* verwendet. Der angegebene Siedebereich bezieht sich auf die Temperatur des Luftbades.

Zur **Säulenchromatographie** wurden Säulen mit Kieselgel der Porengröße 60 M (0.04–0.063 mm / 230–400 mesh ASTM) der Firma *Macherey-Nagel* bzw. 63–200 μm (70–230 mesh ASTM) der Firma *Fluka* nassgepackt. Bei der Verwendung von DCM/Methanol als Laufmittel wurde das Kieselgel vorher mit DCM/Methanol (8:2) gespült.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) erfolgte an einem Gerät der Firma *Shimadzu* (Modell *10A VP*). Als chirale Trennphasen dienten eine *Reprosil 100 Chiral-NR-Fertigsäule* (250 x 4.6 mm, Korngröße 8 μm) der Firma *Trentec Analysetechnik Gerlingen*, sowie eine *Chiralcel OD-H* (250 x 4.6 mm) der Firma *Daicel Chemical Industries*. Als achirale Kieselgelsäule wurde eine *Lichrosorb Si-60* (250 x 4 mm, Korngröße 5 μm) der Firma *Phenomenex* benutzt. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der *Class VP-Software* (*Shimadzu*).

Gaschromatographie (GC) wurde mit Hilfe des Gaschromatographen *GC-2010* der Firma *Shimadzu* durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit der Software *GCsolution* (*Shimadzu*). Als Trennphase diente eine *Chirasil-Dex CB-Kapillarsäule* (25 m Länge, 0.25 mm Innendurchmesser). Als Trägergas wurde Helium verwendet.

Optische Drehwerte wurden mit einem *Perkin-Elmer-Polarimeter (Model 341)* in einer thermostatisierten (20°C) 1 dm-Küvette gemessen. Als Strahlungsquelle diente eine Natriumdampfampe ($\lambda = 589 \text{ nm}$). Die spezifische Rotation ($[\alpha]_{\text{D}}^{20}$) wurde nach Eingabe der Konzentration vom Messgerät berechnet. Die Konzentrationen sind in g/100 ml angegeben.

Lösungsmittel und verwendete **Chemikalien** wurden von dem zentralen Chemikalienlager der Universität des Saarlandes bezogen oder stammten aus Laborbeständen. Die Lösungsmittel wurden vor dem Gebrauch destilliert.

Wasserfreie Lösungsmittel wurden nach den üblichen Verfahren getrocknet (Tetrahydrofuran und Diethylether über Lithiumaluminiumhydrid, Dichlormethan über Calciumhydrid) und unter einer Stickstoffatmosphäre aufbewahrt.

5.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV 1: Peptidknüpfung *via* gemischtes Anhydrid^[138]

Ein Äquivalent der Säurekomponente (n mmol) wurde in absolutem THF gelöst (10 ml/mmol) und mit 1.1 Äq. *N*-Methylmorpholin (NMM) versetzt. Bei -20°C wurden 1.1 Äq. Chlorameisensäure-*iso*-butylester (IBCF) zugetropft. Nach einer Aktivierungsperiode von 20 min wurden entweder direkt 1.1 Äq. des freien Amins, gelöst in 2 n ml abs. THF, zugetropft oder es wurden erst weitere 1.4 Äq. NMM zugegeben, gefolgt von 1.1 Äq. des Amins als Hydrochlorid. Die weiße Suspension wurde über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit Wasser gequench und mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde mit 1 M HCl, ges. NaHCO_3 -Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt.

AAV 2: Peptidknüpfungen *N*-methylierter Aminosäuren mit BEP^[77]

Zu einer Lösung aus 1.0 Äq. des *N*-methylierten Aminosäuremethylesters als Hydrochlorid, 1.1 Äq. Cbz- bzw. Fmoc-geschütztem Isoleucin und 1.1 Äq. 2-Brom-1-ethylpyridiniumtetrafluorborat (BEP) in absolutem DCM (10 ml/mmol) wurden bei -10°C 3.0 Äq. Di-*iso*-propylethylamin (DIPEA) getropft. Nach 20 min wurde das Kältebad entfernt und das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit DCM verdünnt und nacheinander mit 1 M HCl, ges. NaHCO_3 -Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt.

AAV 3: Peptidknüpfung mit T3P^[106]

Zu einer Lösung aus 1.0 Äq. des freien Amins und 1.1 Äq. DIPEA in absolutem DCM (10 ml/mmol) wurden bei 0°C 1.0 Äq. Propionsäure und 1.5 Äq. 2-Propanphosphonsäureanhydrid (T3P, 50 Gew% in Ethylacetat) getropft. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktionsmischung wurde mit DCM verdünnt und nacheinander mit 1 M HCl, ges. NaHCO_3 -Lösung, Wasser (3x) sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt.

AAV 4: Peptidknüpfung *via* Pentafluorphenolester^[47]

Zur Herstellung des Pentafluorphenolesters wurden ein Äquivalent *N*-Methyl-(*R*)-pipecolinsäure und 1.1 Äq. Pentafluorphenol in absolutem DCM gelöst (10 ml/mmol). Nach der Zugabe von 1.1 Äq. DCC wurde die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt.

Der ausgefallene Harnstoff wurde unter Stickstoffatmosphäre abfiltriert und das Filtrat zusammen mit 0.5 Äq. des freien Amins erneut über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit DCM verdünnt und nacheinander mit ges. NaHCO_3 -Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt.

AAV 5: Esterverseifung mit NaOH

Eine Lösung von einem Äquivalent des Esters (n mmol) in $10 n$ ml Dioxan bzw. MeOH wurde bei 0°C mit 1.1 Äq. einer 1 M NaOH-Lösung versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde mit

1 M HCl bzw. TFA auf pH 1 gebracht und mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die Säure wurde entweder roh weiterverarbeitet oder säulenchromatographisch gereinigt.

AAV 6: Boc-Entschützung mit HCl in Dioxan

Ein Äquivalent der Boc-geschützten Aminosäure wurde bei 0°C mit 10 Äq. einer 4 M HCl-Lösung in Dioxan versetzt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle) wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Hydrochlorid im Hochvakuum getrocknet.

AAV 7: Cbz-Entschützung mittels katalytischer Hydrierung

Ein Äquivalent des Substrats (n mmol) wurde in 5 n ml Methanol gelöst, mit 10 Gew% Palladium auf Aktivkohle (10%) versetzt und unter Wasserstoffatmosphäre bis zur vollständigen Entschützung gerührt (DC-Kontrolle). Der Katalysator wurde über Celite abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingengt. Das freie Amin wurde im Hochvakuum getrocknet und ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

AAV 8: Cbz-Entschützung mit HBr/AcOH

Zu einem Äquivalent des Cbz-geschützten Peptids wurden bei 0°C 10 Äquivalente einer Lösung von HBr in Eisessig (33 Gew%) gegeben und die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Entschützung gerührt (DC-Kontrolle). Anschließend wurde Diethylether zum Reaktionsgemisch gegeben, wobei das entstandene Hydrobromid als gelber Feststoff ausfiel. Der Ether wurde abdekantiert und der Rückstand mehrfach mit Ether gewaschen. Um das freie Amin in weiteren Reaktionen einsetzen zu können, wurde das Hydrobromid mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung versetzt und die wässrige Phase mehrfach mit DCM extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Das freie Amin wurde im Hochvakuum getrocknet und ohne weitere Reinigung in Folgereaktionen eingesetzt.

AAV 9: Fmoc-Entschützung mit *tris*(2-Aminoethyl)amin

Ein Äquivalent des Fmoc-geschützten Peptides wurde bei Raumtemperatur mit 14 Äq. *tris*(2-Aminoethyl)amin (TRIS) versetzt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle) wurde die Reaktionsmischung mit Essigsäureethylester verdünnt, zweimal mit ges. NaHCO_3 -Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösemittel

wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das freie Amin im Hochvakuum getrocknet.

AAV 10: Reduktive Aminierung

Ein Äquivalent des Peptids (n mmol) wurden in $10 n$ ml MeOH gelöst und mit 1.0 Äq. Paraformaldehyd 3–4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.05 Äq. Natriumcyanoborhydrid zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand mit ges. NaHCO_3 -Lösung versetzt und mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels wurde der Rückstand der säulenchromatographisch gereinigt.

AAV 11: Methylierung von NH-Boc

Ein Äquivalent der Boc-geschützten Aminosäure (n mmol) wurde in $8 n$ ml absolutem DMF gelöst und mit 4 Äq. Methyljodid versetzt. Anschließend wurden bei 0°C vorsichtig 2.3 Äq. NaH (60% in Mineralöl) zugegeben und die Suspension über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit ges. NH_4Cl -Lösung gequenchet und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser (3x), 5%iger Na_2SO_3 -Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und Rückstand säulenchromatographisch gereinigt.

AAV 12: Synthese der Triazole *via Click-Chemie*^{[102][123]}

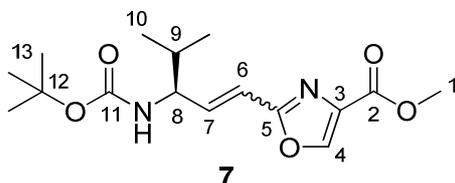
Ein Äquivalent des Azids (n mmol) und 1.5 Äq. des entsprechenden Alkins wurden in $10 n$ mmol *tert*-Butanol bzw. DMSO gelöst und langsam mit der gleichen Menge Wasser versetzt. Nach der Zugabe von $0.2 n$ mmol 1 M CuSO_4 -Lösung und $0.2 n$ mmol 1 M Natriumascorbat-Lösung (frisch zubereitet) wurde die Reaktionsmischung bis zum vollständigen Umsatz kräftig gerührt (DC-Kontrolle, 1–3 Tage). Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit Wasser gequenchet und mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde dreimal mit Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt.

5.3 Synthese der Verbindungen

(*E,S*)-2-(3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-4-methylpent-1-enyl)oxazol-4-carbonsäuremethylester (**7**)

Zu einer Lösung von 292 mg (1.26 mmol) Boc-Valinmethylester **6** in 3 ml absolutem DCM wurden bei -78°C innerhalb von 30 min 2.52 ml (2.52 mmol) Di-*iso*-butylaluminiumhydrid-Lösung (DibalH, 1 M in Hexan) zugetropft und die klare Lösung zwei Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden 668 mg (1.39 mmol) Wittigsalz **5**^[73] und 153 mg (1.36 mmol) Kalium-*tert*-butanolat zugegeben und das tiefrote Reaktionsgemisch über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung in 30 ml 10%ige Weinsäure-Lösung gegossen und 10 min kräftig gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels im Vakuum wurde der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 7:3), wobei **7** (266 mg, 0.82 mmol, 65%, 94% *E*) als farbloses Öl erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 7:3, $R_f(\mathbf{7}) = 0.19$]



(*E*)-Isomer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.94$ (d, $^3J_{10,9} = 6.9$ Hz, 3 H, 10-H), 0.96 (d, $^3J_{10',9} = 6.8$ Hz, 3 H, 10-H'), 1.89 (m, 1 H, 9-H), 1.45 (s, 9 H, 13-H), 3.92 (s, 3 H, 1-H), 4.22 (bs, 1 H, 8-H), 4.58 (d, $^3J_{\text{NH},8} = 6.4$ Hz, 1 H, NH), 6.43 (dd, $^3J_{6,7} = 16.1$ Hz, $^4J_{6,8} = 1.5$ Hz, 1 H, 6-H), 6.78 (dd, $^3J_{7,6} = 16.0$ Hz, $^3J_{7,8} = 5.4$ Hz, 1 H, 7-H), 8.15 (s, 1 H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 18.0$ (q, C-10), 18.8 (q, C-10'), 28.3 (q, C-13), 32.3 (d, C-9), 52.2 (q, C-1), 57.1 (d, C-8), 79.7 (s, C-12), 115.8 (d, C-6), 134.0 (s, C-3), 140.8 (d, C-7), 143.3 (d, C-4), 155.3 (s, C-11), 161.4, 161.6 (2 s, C-2, C-5).

(*Z*)-Isomer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 6.37$ (dd, $^3J_{6,7} = 12.1$ Hz, $^4J_{6,8} = 0.7$ Hz, 1 H, 6-H), 8.20 (s, 1 H, 4-H).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -30.1^{\circ}$ ($c = 0.8$, 94% *E*, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₂ H ₁₇ N ₂ O ₅ [M–C ₄ H ₈ +H] ⁺	269.1137	269.1167

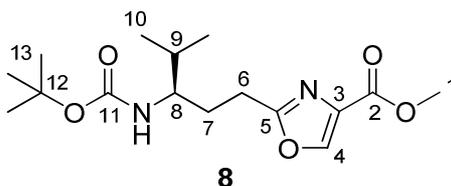
Elementaranalyse:

C ₁₆ H ₂₄ N ₂ O ₅	ber.	C 59.24	H 7.46	N 8.64
(324.37)	gef.	C 58.84	H 7.33	N 8.39

(R)-2-(3-(tert-Butoxycarbonylamino)-4-methylpentyl)oxazol-4-carbonsäuremethylester (8)

73 mg (0.23 mmol) **7** wurden in 2 ml Methanol gelöst, mit 8 mg Palladium auf Aktivkohle (5%) versetzt und unter Wasserstoffatmosphäre bis zur vollständigen Entschützung gerührt (DC-Kontrolle, 4 h). Der Katalysator wurde über Celite abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 7:3), wobei Oxazol **8** (70 mg, 0.21 mmol, 95%, >99% ee) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 94–95°C erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 7:3, R_f(**8**) = 0.12]



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.89 (d, ³J_{10,9} = 6.8 Hz, 3 H, 10-H), 0.91 (d, ³J_{10',9} = 6.8 Hz, 3 H, 10'-H), 1.42 (s, 9 H, 13-H), 1.68 (m, 1 H, 9-H), 1.81 (m, 1 H, 7-H_a), 2.03 (m, 1 H, 7-H_b), 2.87 (m, 2 H, 6-H), 3.49 (m, 1 H, 8-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 4.31 (d, ³J_{NH,8} = 9.2 Hz, 1 H, NH), 8.13 (s, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 17.7 (q, C-10), 19.0 (q, C-10'), 25.4 (t, C-6), 28.3 (q, C-13), 29.9 (t, C-7), 32.4 (d, C-9), 52.1 (d, C-1), 55.3 (q, C-8), 79.1 (s, C-12), 133.1 (s, C-3), 143.7 (s, C-4), 155.9 (s, C-11), 161.7 (s, C-2), 165.7 (s, C-5).

HPLC (Reprosil, Hexan/iso-Propanol = 98:2, 1 ml/min):

(R)-**8**: t_R = 18.96 min

(S)-**8**: t_R = 20.45 min

Optische Drehung: [α]_D²⁰ = –15.4° (c = 1.0, >99% ee, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₆ H ₂₇ N ₂ O ₅ [M+H] ⁺	327.1920	327.1962

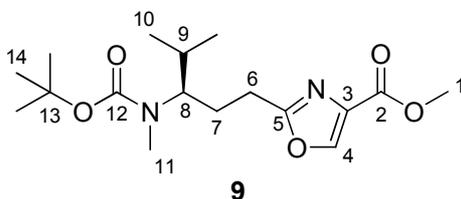
Elementaranalyse:

C ₁₆ H ₂₄ N ₂ O ₅	ber.	C 59.24	H 7.46	N 8.64
(326.38)	gef.	C 58.95	H 7.85	N 8.28

2-[(*R*)-3-(*tert*-Butoxycarbonyl-methyl-amino)-4-methyl-pentyl]-oxazol-4-carbonsäuremethylester (9**)**

Gemäß **AAV 11** wurden 197 mg (0.60 mmol) Oxazol **8**, 150 μ l (2.41 mmol) Methyljodid und 64 mg (1.60 mmol) NaH (60% in Mineralöl) umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 1:1) wurde Oxazoltubuvalin **9** (197 mg, 0.58 mmol, 97%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: Hexan/EE = 1:1, R_f(**9**) = 0.29]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.95 (d, ³J_{10,9} = 6.3 Hz, 3 H, 10-H), 0.97 (d, ³J_{10',9} = 6.3 Hz, 3 H, 10'-H), 1.45 (s, 9 H, 14-H), 1.69 (m, 1 H, 9-H), 1.82 (m, 1 H, 7-H_a), 2.14 (m, 1 H, 7-H_b), 2.67 (s, 3 H, 11-H), 2.73 (m, 2 H, 6-H), 3.81 (m, 1 H, 8-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 8.14 (s, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 20.0 (q, C-10), 20.1 (q, C-10'), 25.2 (t, C-6), 26.7 (t, C-7), 27.9 (t, C-11), 28.3 (q, C-14), 30.4 (d, C-9), 51.9 (d, C-1), 60.2 (d, C-8), 79.1 (s, C-13), 133.0 (s, C-3), 143.6 (s, C-4), 156.3 (s, C-12), 161.6 (s, C-2), 165.4 (s, C-5).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.84 (d, ³J_{10,9} = 6.6 Hz, 3 H, 10-H), 1.43 (s, 9 H, 14-H), 2.67 (s, 3 H, 11-H), 3.60 (bs, 1 H, 8-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 8.13 (s, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.5 (q, C-10), 19.8 (q, C-10'), 26.8 (t, C-7), 30.6 (d, C-9), 52.0 (q, C-1), 61.5 (d, C-8), 79.4 (s, C-13), 133.1 (s, C-3), 156.5 (s, C-12), 161.6 (s, C-2), 165.6 (s, C-5).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -11.7$ (c = 0.9, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₇ H ₂₉ N ₂ O ₅ [M+H] ⁺	341.2076	341.2067

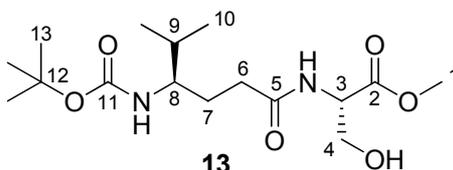
Elementaranalyse:

C ₁₇ H ₂₈ N ₂ O ₅	ber.	C 59.98	H 8.29	N 8.23
(340.41)	gef.	C 59.57	H 8.07	N 7.99

(S)-2-((R)-4-(tert-Butoxycarbonylamino)-5-methylhexanamido)-3-hydroxypropansäuremethylester (13**)**

Gemäß **AAV 1** wurden 2.38 g (9.70 mmol) (*R*)-4-*tert*-Butoxycarbonylamino-5-methylhexansäure **12**, 1.67 g (10.7 mmol) (*S*)-Serinmethylester-Hydrochlorid, 3.30 ml (23.7 mmol) Triethylamin und 1.40 ml (10.7 mmol) IBCF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, EE) wurde Dipeptid **13** (3.23 g, 9.32 mmol, 96%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 128–130°C erhalten.

[DC: Ethylacetat, R_f(**13**) = 0.19]


Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.91 (d, ³J_{10,9} = 6.8 Hz, 3 H, 10-H), 0.94 (d, ³J_{10',9} = 6.8 Hz, 3 H, 10'-H), 1.45 (s, 9 H, 13-H), 1.62 (m, 1 H, 7-H_a), 1.75 (m, 1 H, 9-H), 1.89 (m, 1 H, 7-H_b), 2.33 (t, ³J_{6,7} = 6.9 Hz, 2 H, 6-H), 3.60 (m, 1 H, 8-H), 3.80 (s, 3 H, 1-H), 3.99 (m, 2 H, 4-H), 4.47 (d, ³J_{NH,8} = 9.3 Hz, 1 H, NH), 4.60 (m, 1 H, 3-H), 7.12 (d, ³J_{NH,3} = 7.1 Hz, 1 H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 17.7 (q, C-10), 19.1 (q, C-10'), 28.4 (q, C-13), 28.5 (t, C-7), 32.5 (d, C-9), 33.4 (t, C-6), 52.5 (q, C-1), 55.0 (d, C-3), 55.2 (d, C-8), 63.0 (t, C-4), 79.6 (s, C-12), 156.8 (s, C-11), 170.9, 173.4 (2 s, C-2, C-5).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.32 (bs, 1 H, 8-H), 6.50 (bs, 1 H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 17.8 (q, C-10), 19.2 (q, C-10'), 27.3 (t, C-7), 33.8 (t, C-6), 52.6 (q, C-1), 55.6 (d, C-3), 58.3 (d, C-8), 62.3 (t, C-4), 80.5 (s, C-12), 157.2 (s, C-11), 171.1, 173.3 (2 s, C-2, C-5).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +21.7^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₆ H ₃₁ N ₂ O ₆ [M+H] ⁺	347.2182	347.2180

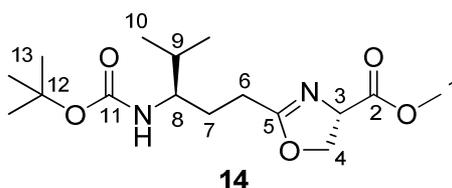
Elementaranalyse:

C ₁₆ H ₃₀ N ₂ O ₆	ber.	C 55.47	H 8.73	N 8.09
(346.42)	gef.	C 55.52	H 8.48	N 7.96

(S)-2-((R)-3-tert-Butoxycarbonylamino-4-methyl-pentyl)-4,5-dihydro-oxazol-4-carbonsäuremethylester (14)

1.40 ml (3.30 mmol) Deoxo-Fluor (50% in THF) wurden bei -20°C langsam zu einer Suspension von 1.00 g (2.94 mmol) Dipeptid **13** in 30 ml absolutem DCM getropft. Nach einer Stunde Rühren bei dieser Temperatur wurde die gelbe Lösung mit ges. NaHCO₃-Lösung gequenchet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit DCM extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und anschließend das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 3:7), wobei Oxazolin **14** (892 mg, 2.72 mmol, 92%) als gelblicher Feststoff mit einem Schmelzpunkt von $64\text{--}65^{\circ}\text{C}$ erhalten wurde.

[DC: Hexan:EE = 3:7, R_f(**14**) = 0.22]



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.88 (d, $^3J_{10,9}$ = 6.8 Hz, 3 H, 10-H), 0.90 (d, $^3J_{10',9}$ = 6.8 Hz, 3 H, 10'-H), 1.42 (s, 9 H, 13-H), 1.59 (m, 1 H, 7-H_a), 1.71 (m, 1 H, 9-H), 1.89 (m, 1 H, 7-H_b), 2.38 (m, 2 H, 6-H), 3.45 (m, 1 H, 8-H), 3.78 (s, 3 H, 1-H), 4.34 (d, $^3J_{\text{NH},8}$ = 9.2 Hz, 1 H, NH), 4.39 (dd, $^3J_{4a,3}$ = 10.6 Hz, $^3J_{4a,4b}$ = 8.7 Hz, 1 H, 4-H_a), 4.47 (dd, $^3J_{4b,4a}$ = 8.4 Hz, $^3J_{4b,3}$ = 8.2 Hz, 1 H, 4-H_b), 4.72 (dd, $^3J_{3,4a}$ = 10.4 Hz, $^3J_{3,4b}$ = 8.1 Hz, 1 H, 3-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 17.7 (q, C-10), 19.0 (q, C-10'), 25.2 (t, C-6), 28.4 (q, C-13), 28.8 (t, C-7), 32.4 (d, C-9), 52.6 (d, C-1), 55.5 (q, C-8), 68.0 (d, C-3), 69.3 (t, C-4), 79.0 (s, C-12), 155.9 (s, C-11), 170.8 (s, C-2), 171.7 (s, C-5).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +59.3^{\circ}$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₆ H ₂₉ N ₂ O ₅ [M+H] ⁺	329.2076	329.2131

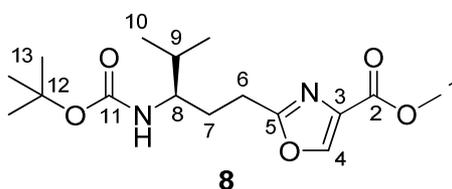
Elementaranalyse:

C ₁₆ H ₂₈ N ₂ O ₅	ber.	C 58.52	H 8.59	N 8.53
(328.40)	gef.	C 58.06	H 8.35	N 8.20

(R)-2-(3-(tert-Butoxycarbonylamino)-4-methylpentyl)oxazol-4-carbonsäuremethylester (8)

2.40 g (7.30 mmol) Oxazolin **14** wurden in 60 ml absolutem DCM gelöst und auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurden 4.40 ml (19.5 mmol) DBU und 2.90 ml (29.2 mmol) BrCCl₃ zugetropft. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch 8 Stunden bei 0°C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit ges. NH₄Cl-Lösung gequenchet und dreimal mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 7:3), wobei Oxazol **8** (70 mg, 0.21 mmol, 95%, >99% ee) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 94–95°C erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 7:3, R_f(**8**) = 0.12]



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.89 (d, ³J_{10,9} = 6.8 Hz, 3 H, 10-H), 0.91 (d, ³J_{10',9} = 6.8 Hz, 3 H, 10'-H), 1.42 (s, 9 H, 13-H), 1.68 (m, 1 H, 9-H), 1.81 (m, 1 H, 7-H_a), 2.03 (m, 1 H, 7-H_b), 2.87 (m, 2 H, 6-H), 3.49 (m, 1 H, 8-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 4.31 (d, ³J_{NH,8} = 9.2 Hz, 1 H, NH), 8.13 (s, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 17.7 (q, C-10), 19.0 (q, C-10'), 25.4 (t, C-6), 28.3 (q, C-13), 29.9 (t, C-7), 32.4 (d, C-9), 52.1 (d, C-1), 55.3 (q, C-8), 79.1 (s, C-12), 133.1 (s, C-3), 143.7 (s, C-4), 155.9 (s, C-11), 161.7 (s, C-2), 165.7 (s, C-5).

HPLC (Reprosil, Hexan/*iso*-Propanol = 98:2, 1 ml/min):

(*R*)-**8**: t_R = 18.96 min

(*S*)-**8**: t_R = 20.45 min

Optische Drehung: [α]_D²⁰ = -15.4° (c = 1.0, >99% ee, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₆ H ₂₇ N ₂ O ₅ [M+H] ⁺	327.1920	347.1962

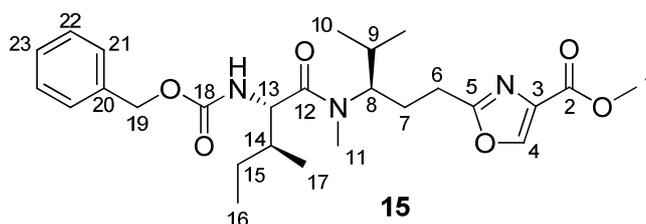
Elementaranalyse:

C ₁₆ H ₂₄ N ₂ O ₅	ber.	C 59.24	H 7.46	N 8.64
(326.38)	gef.	C 58.95	H 7.85	N 8.28

2-((R)-3-(((2S,3S)-2-Benzoyloxycarbonylamino-3-methyl-pentanoyl)-methyl-amino)-4-methyl-pentyl)-oxazol-4-carbonsäuremethylester (15)

Gemäß **AAV 6** wurden 191 mg (0.56 mmol) **9** mit 1.00 ml (4.00 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und anschließend mit 167 mg (0.62 mmol) Cbz-geschütztem (S,S)-Isoleucin, 170 mg (0.62 mmol) BEP und 290 μ l (1.70 mmol) DIPEA nach **AAV 2** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 1:1) wurde Dipeptid **15** (231 mg, 0.44 mmol, 80%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: Hexan/EE = 1:1, $R_f(\mathbf{15}) = 0.20$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.76$ (d, $^3J_{10,9} = 6.6$ Hz, 3 H, 10-H), 0.88 (t, $^3J_{16,15} = 7.4$ Hz, 3 H, 16-H), 0.96 ($^3J_{17,14} = 6.0$ Hz, 3 H, 17-H), 0.98 (d, $^3J_{10',9} = 6.3$ Hz, 3 H, 10'-H), 1.39 (m, 1 H, 15-H_a), 1.58 (m, 1 H, 15-H_b), 1.65–1.77 (sh, 2 H, 9-H, 14-H), 1.84 (m, 1 H, 7-H_a), 2.19 (m, 1 H, 7-H_b), 2.59 (m, 1 H, 6-H_a), 2.64 (m, 1 H, 6-H_b), 2.93 (s, 3 H, 11-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 4.31 (m, 1 H, 8-H), 4.53 (dd, $^3J_{13,\text{NH}} = 9.5$ Hz, $^3J_{13,14} = 7.0$ Hz, 1 H, 13-H), 5.06 (d, $^2J_{19,19'} = 12.6$ Hz, 1 H, 19-H), 5.10 (d, $^2J_{19',19} = 12.5$ Hz, 1 H, 19'-H), 5.42 (d, 5.06 (d, $^3J_{\text{NH},13} = 9.4$ Hz, 1 H, NH), 7.24–7.36 (sh, 5 H, 21-H, 22-H, 23-H), 8.13 (s, 1 H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.2$ (q, C-16), 16.0 (q, C-17), 19.5 (q, C-10), 19.9 (q, C-10'), 23.4 (t, C-15), 25.3 (t, C-6), 26.5 (t, C-7), 29.2 (q, C-11), 30.1 (d, C-9), 37.5 (d, C-14), 52.1 (q, C-1), 55.7 (d, C-13), 59.0 (d, C-8), 66.8 (t, C-19), 127.8, 128.0, 128.4 (3 d, C-21, C-2, C-23), 133.2 (s, C-3), 136.4 (s, C-20), 143.7 (d, C-4), 156.4 (s, C-18), 161.7 (s, C-2), 165.1 (s, C-5), 173.4 (s, C-12).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.06$ (d, $^3J_{10,9} = 6.5$ Hz, 3 H, 10-H), 2.74 (s, 3 H, 11-H), 3.59 (m, 1 H, 8-H), 3.88 (s, 3 H, 1-H), 8.07 (s, 1 H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-16), 16.2 (q, C-17), 20.2 (q, C-10), 27.2 (q, C-11), 37.5 (d, C-14), 66.8 (t, C-19), 156.2 (s, C-18).

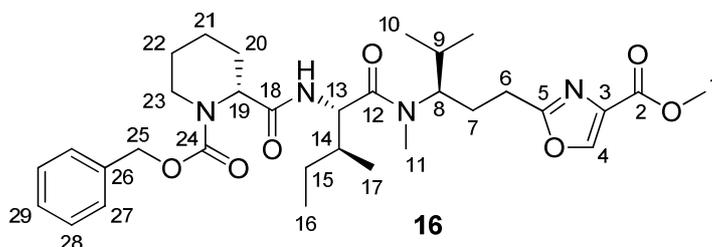
Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -24.0^\circ$ (c = 0.9, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₂₆ H ₃₈ N ₃ O ₆ [M+H] ⁺	488.2760	488.2762

(R)-2-[(1S,2S)-1-({(R)-1-[2-(4-Methoxycarbonyl-oxazol-2-yl)-ethyl]-2-methyl-propyl)-methyl-carbamoyl]-2-methyl-butylcarbamoyl]-piperidin-1-carbonsäure-benzylester (16)

Gemäß **AAV 7** wurden 183 mg (0.38 mmol) Dipeptid **15** mit 20 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 109 mg (0.41 mmol) Cbz-geschützter (R)-Pipicolinsäure, 46 µl (0.42 mmol) NMM und 55 µl (0.41 mmol) IBCF nach **AAV 1** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 3:7) wurde Tripeptid **16** (200 mg, 0.33 mmol, 88%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 70–72°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 1:1, R_f(**16**) = 0.20]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.76 (d, ³J_{10,9} = 6.6 Hz, 3 H, 10-H), 0.85 (m, 3 H, 16-H), 0.93 (t, 3 H, ³J_{17,14} = 6.6 Hz, 3 H, 17-H), 0.98 (d, ³J_{10',9} = 6.6 Hz, 3 H, 10'-H), 1.08 (m, 1 H, 15-H_a), 1.30–1.46 (sh, 2 H, 21-H_{ax}, 22-H_{ax}), 1.46–1.63 (sh, 4 H, 15-H_b, 20-H_{ax}, 21-H_{eq}, 22-H_{eq}), 1.69 (m, 1 H, 9-H), 1.72–1.87 (sh, 2 H, 7-H_a, 14-H), 2.20 (m, 1 H, 7-H_b), 2.29 (d, ²J_{20eq,20ax} = 12.7 Hz, 1 H, 20-H_{eq}), 2.64 (m, 2 H, 6-H), 2.87 (bs, 1 H, 23-H_{ax}), 2.97 (s, 3 H, 11-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 4.08 (bs, 1 H, 23-H_{eq}), 4.32 (m, 1 H, 8-H), 4.79 (dd, ³J_{13,NH} = 9.2 Hz, ³J_{13,14} = 7.7 Hz, 1 H, 13-H), 4.88 (bs, 1 H, 19-H), 5.14 (m, 2 H, 25-H), 6.81 (bs, 1 H, NH), 7.26–7.33 (sh, 27-H, 28-H, 29-H), 8.12 (s, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.0 (q, C-16), 16.0 (q, C-17), 19.5 (q, C-10), 19.9 (q, C-10'), 20.4 (t, C-21), 24.2 (t, C-15), 24.6 (t, C-22), 25.4 (t, C-6), 25.7 (t, C-20), 26.6 (t, C-7), 29.2 (q, C-11), 30.1 (d, C-9), 37.0 (d, C-14), 42.3 (t, C-23), 52.1 (q, C 1), 53.7 (d, C-13), 54.9 (d, C-19), 59.0 (d, C-8), 67.7 (t, C-25), 127.8, 128.1, 128.5 (3 d, C-27, C-28, C-29), 133.2 (s, C-3), 136.3 (s, C-26), 143.8 (d, C-4), 156.5 (s, C-24), 161.9 (s, C-2), 165.1 (s, C-5), 170.8 (s, C-18), 173.5 (s, C-12).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.07 (d, ³J_{10,9} = 6.6 Hz, 3 H, 10-H), 2.74 (s, 3 H, 11-H), 3.62 (bs, 1 H, 8-H), 3.88 (s, 3 H, 1-H), 4.20 (bs, 1 H, 23-H_{eq}), 4.93 (m, 1 H, 13-H), 6.5 (bs, 1 H, NH), 8.10 (s, 1 H, 4-H).

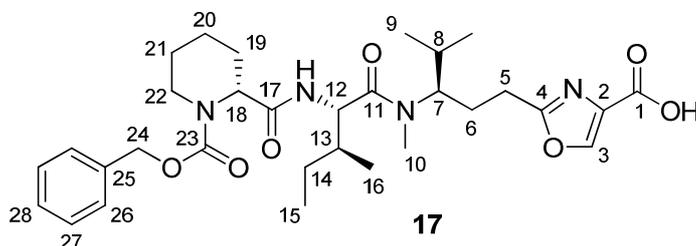
¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-16), 16.2 (q, C-17), 20.3 (q, C-10), 27.3 (q, C-11), 37.8 (d, C-14), , 52.1 (q, C-1), 53.1 (d, C-13), 62.6 (d, C-8), 67.6 (t, C-25).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +2.1^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₂ H ₄₇ N ₄ O ₇ [M+H] ⁺	599.3444	599.3465

(R)-2-[(1S,2S)-1-((R)-1-[2-(4-Carboxy-oxazol-2-yl)-ethyl]-2-methyl-propyl)-methyl-carbamoyl]-2-methyl-butylcarbamoyl]-piperidin-1-carbonsäurebenzyl-ester (17)

Gemäß **AAV 5** wurden 244 mg (0.41 mmol) Tripeptid **16** mit 0.61 ml (0.61 mmol) 1 M NaOH-Lösung entschützt (MeOH, 16 h). Nach der Aufarbeitung (angesäuert mit 1 M HCl) wurde die Säure **17** (231 mg, 0.40 mmol, 98%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 58–60°C erhalten.


Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.73 (m, 3 H, 9-H), 0.82 (m, 3 H, 15-H), 0.91 (m, 3 H, 16-H), 0.95 (d, ³J_{9',8} = 6.5 Hz, 3 H, 9'-H), 1.07 (m, 1 H, 14-H_a), 1.26–1.39 (sh, 2 H, 20-H_{ax}, 21-H_{ax}), 1.45–1.74 (sh, 5 H, 8-H, 14-H_b, 19-H_{ax}, 20-H_{eq}, 21-H_{eq}), 1.74–1.93 (sh, 2 H, 6-H_a, 13-H), 2.18 (m, 1 H, 6-H_b), 2.28 (d, ²J_{19eq,19ax} = 13.0 Hz, 1 H, 19-H_{eq}), 2.63 (m, 2 H, 5-H), 2.84 (bs, 1 H, 22-H_{ax}), 3.00 (s, 3 H, 10-H), 4.07 (bs, 1 H, 22-H_{eq}), 4.31 (m, 1 H, 7-H), 4.80 (dd, ³J_{12,NH} = ³J_{13,14} = 8.8 Hz, 1 H, 12-H), 4.90 (bs, 1 H, 18-H), 5.11 (d, ²J_{24a,24b} = 12.4 Hz, 1 H, 24-H_a), 5.17 (d, ²J_{24b,24a} = 12.4 Hz, 1 H, 24-H_b), 7.14 (bs, 1 H, NH), 7.25–7.34 (sh, 5 H, 26-H, 27-H, 28-H), 8.14 (s, 1 H, 3-H), 9.40 (bs, 1 H, OH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 10.7 (q, C-15), 15.8 (q, C-16), 19.5 (q, C-9), 19.9 (q, C-9'), 20.4 (t, C-20), 24.3 (t, C-14), 24.8 (t, C-21), 25.3 (t, C-5), 25.8 (t, C-19), 26.4 (t, C-5), 29.4 (q, C-10), 30.1 (d, C-8), 36.4 (d, C-13), 42.2 (t, C-22), 54.9 (d, C-12), 55.2

(d, C-18), 59.3 (d, C-7), 67.5 (t, C-24), 127.7, 127.9, 128.4 (3 d, C-26, C-27, C-28), 133.1 (s, C-2), 136.4 (s, C-25), 144.4 (d, C-3), 156.3 (s, C-23), 163.8 (s, C-4), 164.9 (s, C-1), 170.9 (s, C-17), 174.1 (s, C-11).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.04 (d, ³J_{9,8} = 6.4 Hz, 3 H, 9-H), 2.72 (s, 3 H, 10-H), 3.69 (m, 1 H, 7-H), 4.98 (dd, ³J_{12,NH} = ³J_{12,13} = 8.8 Hz, 1 H, 12-H), 4.98 (dd, ³J_{12,NH} = 9.2 Hz, ³J_{12,13} = 6.9 Hz, 1 H, 12-H), 8.09 (s, 1 H, 3-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.0 (q, C-15), 16.1 (q, C-16), 20.1 (q, C-9), 27.5 (q, C-10).

Optische Drehung: [α]_D²⁰ = -1.8° (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₀ H ₄₅ N ₄ O ₅ [M-CO ₂ +H] ⁺	541.3390	541.3362

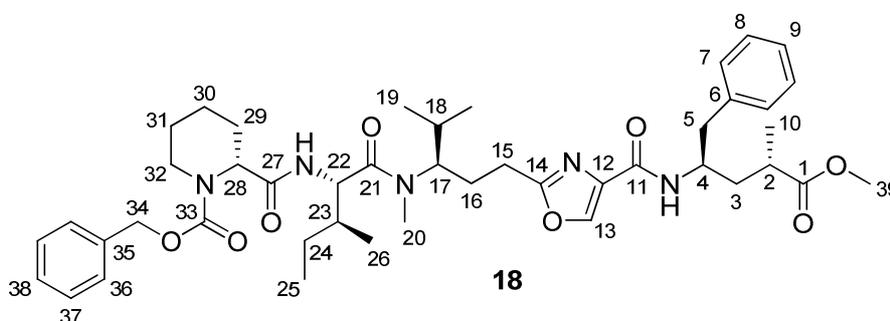
Elementaranalyse:

C ₃₁ H ₄₄ N ₄ O ₇	ber.	C 63.68	H 7.58	N 9.58
(584.70)	gef.	C 63.30	H 7.50	N 9.36

(R)-2-((1S,2S)-1-(((R)-1-{2-[4-((3R,5S)-3-Benzyl-5-methoxycarbonyl-hexanoyl)-oxazol-2-yl]-ethyl}-2-methyl-propyl)-methyl-carbamoyl]-2-methyl-butylcarbamoyl)-piperidin-1-carbonsäurebenzylester (18)

Gemäß **AAV 1** wurden 154 mg (0.26 mmol) Säure **17** mit 75 mg (0.29 mmol) Tubuphenylalaninmethylester-Hydrochlorid^[22], 64 µl (0.58 mmol) NMM und 38 µl (0.29 mmol) IBCF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 4:6) wurde Tetrapeptid **18** (182 mg, 0.23 mmol, 88%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 58–60°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 4:6, R_f(**18**) = 0.30]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.78 (d, ³J_{19,18} = 6.6 Hz, 3 H, 19-H), 0.85 (m, 3 H, 25-H), 0.94 (m, 3 H, 26-H), 1.01 (d, ³J_{19,18} = 6.6 Hz, 3 H, 19-H), 1.07 (m, 1 H, 24-H),

1.15 (d, $^3J_{19',18} = 6.6$ Hz, 3 H, 19'-H), 1.32–1.45 (sh, 2 H, 30-H_{ax}, 31-H_{ax}), 1.52–1.64 (sh, 5 H, 3-H_a, 24-H_b, 29-H_{ax}, 30-H_{eq}, 31-H_{eq}), 1.70–1.85 (sh, 3 H, 16-H_a, 18-H, 23-H), 2.0 (m, 1 H, 3-H_b), 2.16 (m, 1 H, 16-H_b), 2.31 (d, $^2J_{29eq,29ax} = 13.0$ Hz, 1 H, 29-H_{eq}), 2.50–2.68 (sh, 3 H, 2-H, 15-H), 2.83–2.94 (sh, 3 H, 5-H, 32-H_{ax}), 2.98 (s, 3 H, 20-H), 3.65 (s, 3 H, 39-H), 4.10 (bs, 1 H, 32-H_{eq}), 4.28–4.42 (sh, 2 H, 4-H, 17-H), 4.81 (dd, $^3J_{22,NH} = 8.4$ Hz, $^3J_{22,23} = 8.4$ Hz, 2 H, 22-H), 4.90 (bs, 1 H, 28-H), 5.15 (d, $^2J_{34a,34b} = 12.4$ Hz, 1 H, 34-H_a), 5.19 (d, $^2J_{34b,34a} = 12.4$ Hz, 1 H, 34-H_b), 6.60 (bs, 1 H, NH), 6.69 (d, $^3J_{NH,4} = 9.3$ Hz, 1 H, NH), 7.19–7.24 (sh, 3 H, 7-H, 9-H), 7.28–7.35 (sh, 7 H, 8-H, 36-H, 37-H, 38-H), 8.03 (s, 1 H, 13-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 11.0$ (q, C-25), 15.9 (q, C-26), 17.7 (q, C-10), 19.5 (q, C-19), 19.9 (q, C-19'), 20.3 (t, C-30), 24.3 (t, C-24), 24.6 (t, C-31), 25.2 (t, C-15), 26.1 (t, C-29), 26.5 (t, C-16), 29.4 (q, C-20), 30.0 (t, C-18), 36.5 (d, C-2), 36.8 (d, C-23), 37.9 (t, C-3), 41.2 (t, C-5), 42.3 (t, C-32), 48.2 (d, C-4), 51.8 (q, C-39), 54.0 (d, C-22), 54.9 (d, C-28), 59.3 (d, C-17), 67.9 (t, C-34), 126.5 (d, C-9), 127.9, 128.1, 128.4, 128.5, 129.5 (5 d, C-7, C-8, C-36, C-37, C-38), 135.8, 136.2 (2 s, C-6, C-35), 137.4 (s, C-12), 140.8 (d, C-13), 156.8 (s, C-33), 160.3 (s, C-11), 163.8 (s, C-14), 170.4 (s, C-27), 173.9 (s, C-21), 176.8 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 1.07$ (d, $^3J_{19,18} = 6.5$ Hz, 1 H, 19-H), 2.77 (s, 3 H, 20-H), 3.64 (s, 3 H, 39-H), 4.20 (bs, 1 H, 32-H_{eq}), 5.00 (m, 1 H, 22-H), 6.53 (bs, 1 H, NH), 6.99 (bs, 1 H, NH), 7.99 (s, 1 H, 13-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 16.3$ (q, C-10), 126.4 (d, C-9), 137.7 (s, C-12).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +31.8^\circ$ (c = 0.9, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₄₃ H ₅₈ N ₅ O ₇ [M-CH ₃ O] ⁺	756.4336	756.4309

Elementaranalyse:

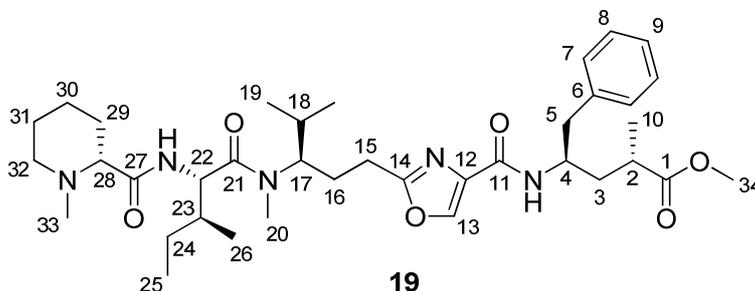
C ₄₄ H ₅₈ N ₅ O ₈	ber.	C 67.07	H 7.80	N 8.89
(787.98)	gef.	C 67.60	H 8.06	N 8.60

(2S,4R)-4-Benzyl-2-methyl-6-{2-[(R)-4-methyl-3-(methyl-((2S,3S)-3-methyl-2-[[[(R)-1-methyl-piperidin-2-carbonyl]-amino]-pentanoyl]-amino)-pentyl]-oxazol-4-yl]-6-oxo-hexansäuremethylester (19)

Gemäß **AAV 7** wurden 166 mg (0.21 mmol) Tetrapeptid **18** mit 19 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 21 mg (0.22 mmol) Paraformaldehyd und 14 mg (0.22 mmol) Natriumcyanoborhydrid nach **AAV 10** umgesetzt. Nach Aufarbeitung

und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 9:1) wurde **19** (122 mg, 0.17 mmol, 80%) als farbloses Harz erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, $R_f(\mathbf{19}) = 0.43$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.77$ (d, $^3J_{19,18} = 6.6$ Hz, 3 H, 19-H), 0.91 (t, $^3J_{25,24} = 7.4$ Hz, 3 H, 25-H), 0.97 (d, $^3J_{26,23} = 6.8$ Hz, 3 H, 26-H), 1.00 (d, $^3J_{19',18} = 6.6$ Hz, 3 H, 19'-H), 1.15 (d, $^3J_{10,2} = 7.1$ Hz, 3 H, 10-H), 1.26–1.81 (sh, 2 H, 24- H_a , 30- H_{ax}), 1.35 (m 1 H, 29- H_{ax}), 1.46–1.75 (sh, 6 H, 3- H_a , 18-H, 24- H_b , 30- H_{eq} , 31-H), 1.78–1.92 (sh, 3 H, 16- H_a , 23-H, 29- H_{eq}), 1.97–2.05 (sh, 2 H, 3- H_b , 32- H_{ax}), 2.16 (m, 1 H, 16- H_b), 2.23 (s, 3 H, 33-H), 2.49 (dd, $^3J_{28,29eq} = 11.0$ Hz, $^3J_{28,29ax} = 3.4$ Hz, 1 H, 28-H), 2.53–2.70 (sh, 2-H, 15-H), 2.82–2.96 (sh, 3 H, 5-H, 32- H_{eq}), 3.00 (s, 3 H, 20-H), 3.65 (s, 3 H, 34-H), 4.29–4.41 (sh, 2 H, 4-H, 17-H), 4.77 (dd, $^3J_{22,NH} = 9.5$ Hz, $^3J_{22,23} = 8.3$ Hz, 1 H, 22-H), 6.72 (d, $^3J_{NH,4} = 9.3$ Hz, 1 H, NH), 7.03 (d, $^3J_{NH,22} = 9.5$ Hz, 1 H, NH), 7.20–7.23 (sh, 3 H, 7-H, 9-H), 7.28 (m, 2 H, 8-H), 8.04 (s, 1 H, 13-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 10.9$ (q, C-25), 15.9 (q, C-26), 17.7 (q, C-10), 19.5 (q, C-19), 20.0 (q, C-19'), 23.2 (t, C-30), 24.5 (t, C-24), 25.0 (t, C-31), 25.2 (t, C-15), 26.4 (t, C-16), 29.3 (q, C-20), 30.0 (t, C-18), 30.3 (t, C-29), 36.3 (d, C-2), 36.9 (d, C-23), 37.7 (t, C-3), 41.1 (t, C-5), 44.8 (t, C-33), 48.0 (d, C-4), 51.6 (q, C-34), 52.9 (d, C-22), 55.3 (t, C-32), 58.8 (d, C-17), 69.6 (d, C-28), 126.4 (d, C-9), 128.3 (d, C-8), 129.4 (d, C-7), 135.9 (s, C-6), 137.4 (s, C-12), 140.5 (d, C-13), 160.1 (s, C-11), 163.8 (s, C-14), 173.2 (s, C-21), 174.2 (s, C-27), 176.4 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.08$ (d, $^3J_{19,18} = 6.6$ Hz, 3 H, 19-H), 2.23 (s, 3 H, 33-H), 2.78 (s, 3 H, 20-H), 6.64 (s, 3 H, 34-H), 4.96 (dd, $^3J_{22,NH} = 9.7$ Hz, $^3J_{22,23} = 6.0$ Hz, 1 H, 22-H), 6.83 (d, $^3J_{NH,4} = 9.3$ Hz, 1 H, NH), 7.15 (d, $^3J_{NH,22} = 9.7$ Hz, 1 H, NH), 7.99 (s, 1 H, 13-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-25), 16.5 (q, C-26), 17.7 (q, C-10), 20.2 (q, C-19), 20.5 (q, C-19'), 27.2 (q, C-20), 44.9 (t, C-33), 48.1 (d, C-4), 52.1 (d, C-22), 55.4 (t, C-32), 69.7 (d, C-28), 126.3 (d, C-9), 137.5 (s, C-12), 160.1 (s, C-11), 163.6 (s, C-14), 172.8 (s, C-21), 173.9 (s, C-27).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +16.5^\circ$ ($c = 0.7$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{37}\text{H}_{58}\text{N}_5\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	668.4387	668.4406

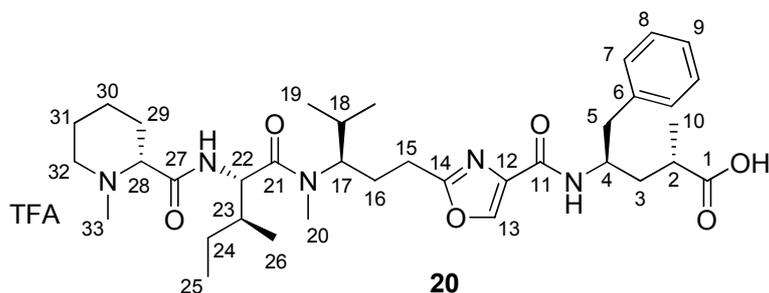
Elementaranalyse:

$\text{C}_{37}\text{H}_{57}\text{N}_5\text{O}_6$	ber.	C 66.54	H 8.60	N 10.49
(667.61)	gef.	C 66.60	H 8.26	N 10.54

(2S,4R)-4-Benzyl-2-methyl-6-{2-[(R)-4-methyl-3-(methyl-((2S,3S)-3-methyl-2-[[[(R)-1-methyl-piperidin-2-carbonyl]-amino]-pentanoyl]-amino)-pentyl]-oxazol-4-yl)-6-oxo-hexansäure-TFA-Salz (20)

Gemäß **AAV 5** wurden 59 mg (88 μmol) **19** mit 175 μl (175 μmol) 1 M NaOH-Lösung bei 80°C entschützt (Dioxan, 4 h). Nach Aufarbeitung (angesäuert mit TFA) und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 9:1) wurde Oxazolprätabulysin **20** (63 mg, 82 μmol , 93%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 118–120°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, $R_f(\mathbf{20}) = 0.20$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 400 MHz): $\delta = 0.80$ (d, $^3J_{19,18} = 6.5$ Hz, 3 H, 19-H), 0.93 (t, $^3J_{25,24} = 7.3$ Hz, 3 H, 25-H), 1.00 (d, $^3J_{26,23} = 6.2$ Hz, 3 H, 26-H), 1.01 (d, $^3J_{19',18} = 5.9$ Hz, 3 H, 19'-H), 1.14 (d, $^3J_{10,2} = 6.6$ Hz, 3 H, 10-H), 1.24 (m 2 H, 24- H_a), 1.43–1.76 (sh, 6 H, 3- H_a , 18-H, 24- H_b , 29- H_{ax} , 30- H_{ax} , 31- H_{ax}), 1.81–2.01 (sh, 6 H, 3- H_b , 16- H_a , 23-H, 29- H_{eq} , 30- H_{eq} , 31- H_{eq}), 2.32 (m, 1 H, 16- H_b), 2.46 (bs, 1 H, 2-H), 2.53 (s, 3 H, 33-H), 2.60–2.76 (sh, 3 H, 15-H, 32- H_{ax}), 2.86 (m, 2 H, 5-H), 3.07 (s, 3 H, 20-H), 3.27 (m, 1 H, 32- H_{eq}), 3.33 (m, 1 H, 28-H), 4.24 (m, 1 H, 17-H), 4.38 (m, 1 H, 4-H), 4.70 (d, $^3J_{22,23} = 8.2$ Hz, 1 H, 22-H), 7.14 (m, 1 H, 9-H), 7.21–7.22 (sh, 4 H, 7-H, 8-H), 8.17 (s, 1 H, 13-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 100 MHz): $\delta = 11.2$ (q, C-25), 16.1 (q, C-26), 19.1 (q, C-10), 20.3 (q, C-19), 20.5 (q, C-19'), 23.0 (t, C-30), 24.7 (t, C-31), 25.6 (t, C-24), 26.1 (t, C-15), 27.3 (t, C-16), 30.2 (q, C-20), 30.7 (t, C-29), 30.8 (d, C-18), 37.6 (d, C-23), 39.5 (d,

C-2), 40.3 (t, C-3), 42.4 (t, C-5), 43.5 (q, C-33), 50.6 (d, C-4), 55.7 (d, C-22), 56.3 (t, C-32), 60.9 (d, C-17), 68.9 (d, C-28), 118.2 (q, $^2J_{C,F} = 292$ Hz, $\underline{C}F_3COOH$), 127.3 (d, C-9), 129.3, 130.5 (2 d, C-7, C-8), 137.1 (s, C-6), 139.6 (s, C-12), 142.6 (d, C-13), 162.7 (s, C-11), 165.8 (s, C-14), 171,3 (s, C-27), 174.8 (s, C-21).

Das Signal von C-1 war im ^{13}C -NMR nicht erkennbar.

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

1H -NMR (MeOD, 400 MHz): $\delta = 2.57$ (s, 3 H, 33-H), 2.76 (s, 3 H, 20-H), 3.43 (m, 1 H, 4-H), 3.61 (m, 1 H, 2-H), 3.70 (m 1 H, 17-H), 4.94 (d, $^3J_{22,23} = 5.4$ Hz, 1 H, 22-H).

^{13}C -NMR (MeOD, 100 MHz): $\delta = 11.7$ (q, C-25), 19.1 (q, C-26), 23.0 (q, C-19), 42.3 (t, C-5), 43.7 (q, C-33), 68.8 (d, C-28), 139.7 (s, C-12).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -13.7^\circ$ (c = 1.0, MeOH)

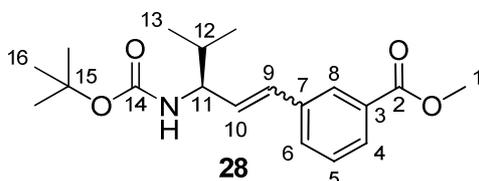
HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$C_{36}H_{56}N_5O_6$ [M+H] ⁺	654.4230	654.4256

(S,E)-3-(3-(tert-Butoxycarbonylamino)-4-methylpent-1-enyl)benzoesäuremethylester (E-28)

(S,Z)-3-(3-(tert-Butoxycarbonylamino)-4-methylpent-1-enyl)benzoesäuremethylester (Z-28)

Zu einer Lösung von 1.02 g (4.41 mmol) Boc-Valinmethylester **6** in 25 ml absolutem DCM wurden bei $-78^\circ C$ innerhalb von 30 min 9.00 ml (9.00 mmol) DibalH-Lösung (1 M in Hexan) zugetropft und die klare Lösung 2 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden 2.38 g (4.84 mmol) Wittigsalz **27**^[80] und 544 mg (4.85 mg) KO^tBu zugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung in 100 ml 10%ige Weinsäure-Lösung gegossen und 30 min kräftig gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels im Vakuum wurde der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 9:1), wobei **28** (1.18 mg, 3.54 mmol, 80%, E:Z = 4:1) als farbloses Öl erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 8:2, R_f(**28**) = 0.29]



(E)-Isomer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.96 (d, $^3J_{13,12}$ = 6.8 Hz, 3 H, 13-H), 0.97 (d, $^3J_{13',12}$ = 6.8 Hz, 3 H, 13'-H), 1.47 (s, 9 H, 16-H), 1.87 (m, 1 H, 12-H), 3.93 (s, 3 H, 1-H), 4.15 (bs, 1 H, 4-H), 4.63 (bs, 1 H, NH), 6.17 (dd, $^3J_{10,9}$ = 15.9 Hz, $^3J_{10,11}$ = 6.5 Hz, 1 H, 10-H), 6.53 (d, $^3J_{9,10}$ = 15.9 Hz, 1 H, 9-H), 7.38 (dd, $^3J_{5,6}$ = $^3J_{5,4}$ = 7.7 Hz, 1 H, 5-H), 7.53 (d, $^3J_{4,5}$ = 7.8 Hz, 1 H, 4-H), 7.89 (d, $^3J_{6,5}$ = 7.8 Hz, 1 H, 6-H), 8.05 (s, 1 H, 8-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 18.3 (q, C-13), 18.8 (q, C-13'), 28.4 (q, C-16), 32.7 (d, C-12), 52.1 (q, C-1), 57.7 (d, C-11), 79.4 (s, C-15), 127.2 (d, C-8), 128.4 (d, C-6), 128.6 (d, C-5), 129.7 (d, C-9), 130.4 (s, C-3), 130.6 (d, C-10), 130.8 (s, C-4), 137.3 (s, C-7), 155.5 (s, C-14), 167.0 (s, C-2).

(Z)-Isomer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.88 (d, $^3J_{13,12}$ = 6.6 Hz, 6 H, 13-H), 1.42 (s, 9 H, 16-H), 1.78 (m, 1 H, 12-H), 3.91 (s, 3 H, 1-H), 4.40 (bs, 1 H, 4-H), 4.53 (bs, 1 H, NH), 5.55 (dd, $^3J_{10,9}$ = 11.8 Hz, $^3J_{10,11}$ = 6.5 Hz, 1 H, 10-H), 6.54 (d, $^3J_{9,10}$ = 9.6 Hz, 1 H, 9-H), 7.41 (dd, $^3J_{5,6}$ = $^3J_{5,4}$ = 7.7 Hz, 1 H, 5-H), 7.64 (bs, 1 H, 4-H), 7.91 (d, $^3J_{6,5}$ = 7.8 Hz, 1 H, 6-H), 7.94 (s, 1 H, 8-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 18.2 (q, C-13), 18.4 (q, C-13'), 28.3 (q, C-16), 33.4 (d, C-12), 52.1 (q, C-1), 53.4 (d, C-11), 79.1 (s, C-15), 128.1 (d, C-6), 128.5 (d, C-5), 129.9 (d, C-4), 130.1 (d, C-9), 130.2 (s, C-3), 132.1 (d, C-10), 133.0 (s, C-8), 137.0 (s, C-7), 155.2 (s, C-14), 167.0 (s, C-2).

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₅ H ₂₀ NO ₄ [M-C ₄ H ₇] ⁺	278.1392	278.1380

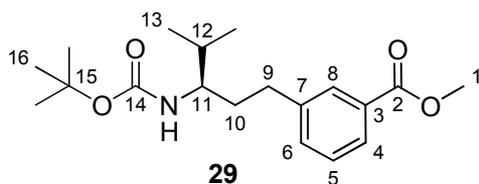
Elementaranalyse:

C ₁₉ H ₂₇ NO ₄	ber.	C 68.44	H 8.16	N 4.20
(333.42)	gef.	C 68.43	H 8.54	N 4.20

(R)-3-(3-(tert-Butoxycarbonylamino)-4-methylpentyl)benzoesäuremethylester (29)

513 mg (1.53 mmol) **28** wurden in 7 ml Methanol gelöst, mit 50 mg Palladium auf Aktivkohle (5%) versetzt und unter Wasserstoffatmosphäre bis zur vollständigen Entschützung gerührt (DC-Kontrolle, 3 h). Der Katalysator wurde über Celite abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 8:2), wobei **29** (470 mg, 1.40 mmol, 92%, 99% ee) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 72–73°C erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 8:2, R_f(**29**) = 0.31]



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 0.87 (d, $^3J_{13,12}$ = 6.8 Hz, 3 H, 13-H), 0.90 (d, $^3J_{13',12}$ = 6.8 Hz, 3 H, 13'-H), 1.45 (s, 9 H, 16-H), 1.56 (m, 1 H, 10- H_a), 1.69–1.83 (sh, 2 H, 10- H_b , 12-H), 2.67 (m, 1 H, 9- H_a), 2.75 (m, 1 H, 9- H_b), 3.50 (m, 1 H, 11-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 4.35 (d, $^3J_{\text{NH},11}$ = 9.4 Hz, 1 H, NH), 7.32–7.39 (sh, 2 H, 5-H, 6-H), 7.84–7.86 (sh, 2 H, 4-H, 8-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 17.6 (q, C-13), 19.1 (q, C-13'), 28.4 (q, C-16), 32.4 (d, C-12), 32.6 (t, C-9), 34.7 (t, C-10), 52.0 (q, C-1), 55.4, (d, C-11), 79.0 (s, C-15), 127.1 (d, C-4), 128.4 (d, C-5), 129.4 (d, C-8), 130.2 (s, C-3), 133.1 (d, C-6), 142.5 (s, C-7), 156.0 (s, C-14), 167.2 (s, C-2).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -7.6^\circ$ ($c = 1.0$, 99% ee, CHCl_3)

HPLC (*Chiracel OD-H*, Hexan/*iso*-Propanol = 95:5, 1 ml/min):

(*R*)-**29**: $t_{\text{R}} = 6.61$ min

(*S*)-**29**: $t_{\text{R}} = 8.19$ min

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	336.2175	336.2169

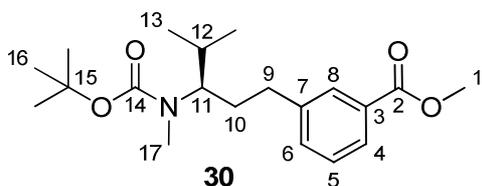
Elementaranalyse:

$\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{NO}_4$	ber.	C 68.03	H 8.71	N 4.18
(335.44)	gef.	C 68.02	H 8.63	N 4.20

(*R*)-3-(3-(*tert*-Butoxycarbonyl(methyl)amino)-4-methylpentyl)benzoesäuremethylester (30**)**

Gemäß **AAV 11** wurden 373 mg (1.11 mmol) **29**, 280 μl (4.50 mmol) Methyljodid und 102 mg (2.55 mmol) NaH (60% in Mineralöl) umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 8:2) wurde Phenyltubuvalin **30** (380 mg, 1.09 mmol, 98%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: Hexan/EE = 8:2, R_{f} (**30**) = 0.33]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.83 (d, ³J_{13,12} = 6.6 Hz, 3 H, 13-H), 0.90 (d, ³J_{13',12} = 6.6 Hz, 3 H, 13'-H), 1.43 (s, 9 H, 16-H), 1.57–1.67 (sh, 2 H, 10-H_a, 12-H), 1.91 (m, 1 H, 10-H_b), 2.55 (m, 2 H, 9-H), 2.65 (s, 3 H, 17-H), 3.82 (m, 1 H, 11-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 7.31–7.38 (sh, 2 H, 5-H, 6-H), 7.83–7.87 (sh, 2 H, 4-H, 8-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 20.1 (q, C-13), 20.3 (q, C-13'), 28.1 (q, C-17), 28.4 (q, C-1), 30.6 (d, C-12), 31.7 (t, C-10), 32.7 (t, C-9), 52.0 (q, C-1), 60.5 (d, C-11), 79.3 (s, C-15), 127.1 (d, C-4), 128.4 (d, C-5), 129.0 (d, C-8), 130.2 (s, C-3), 133.1 (d, C-6), 142.7 (s, C-7), 156.6 (s, C-14), 167.2 (s, C-2).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.84 (d, ³J_{13,12} = 6.7 Hz, 3 H, 13-H), 0.92 (d, ³J_{13',12} = 6.6 Hz, 3 H, 13'-H), 1.47 (s, 9 H, 16-H), 2.72 (s, 3 H, 17-H), 3.59 (bs, 1 H, 11-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.6 (q, C-13), 19.9 (q, C-13'), 28.5 (q, C-1), 30.9 (d, C-12), 31.5 (t, C-10), 32.5 (t, C-9), 52.0 (q, C-1), 79.0 (s, C-15), 127.1 (d, C-4), 128.3 (d, C-5), 130.1 (s, C-3), 133.0 (d, C-6), 142.4 (s, C-7), 167.2 (s, C-2).

Optische Dehung: $[\alpha]_D^{21} = -7.5^\circ$ (c = 0.9, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₂₀ H ₃₂ NO ₄ [M+H] ⁺	350.2331	350.2378

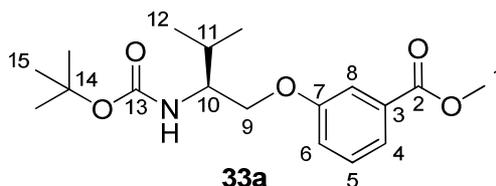
Elementaranalyse:

C ₂₀ H ₃₁ NO ₄	ber.	C 68.74	H 8.94	N 4.01
(349.46)	gef.	C 68.46	H 8.97	N 4.32

(S)-3-(2-(tert-Butoxycarbonylamino)-3-methylbutoxy)benzoesäuremethylester (33a)

116 mg (0.57 mmol) Boc-geschütztes Valinol **31**, 81 mg (0.53 mmol) 3-Hydroxybenzoesäuremethylester **32** and 140 mg (0.53 mmol) Triphenylphosphin wurden in 2 ml absolutem THF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Nach der Zugabe von 112 μ l (0.53 mmol) DIAD (94% Reinheit) wurde das Reaktionsgemisch ein Tag bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO₂, Hexan/EE = 9:1, 8:2) gereinigt, wobei **33a** (90 mg, 0.27 mmol, 51%, 99% ee) als farbloses Öl erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 8:2, R_f(**33a**) = 0.32]



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.98 (d, $^3J_{12,11}$ = 6.8 Hz, 3 H, 12-H), 0.99 (d, $^3J_{12',11}$ = 6.8 Hz, 3 H, 12'-H), 1.45 (s, 9 H, 15-H), 2.02 (m, 1 H, 11-H), 3.74 (bs, 1 H, 10-H), 3.99 (s, 3 H, 1-H), 4.06 (dd, $^2J_{9a,9b}$ = 9.3 Hz, $^3J_{9a,10}$ = 3.2 Hz, 1 H, 9-H_a), 4.10 (dd, $^2J_{9b,9a}$ = 9.3 Hz, $^3J_{9b,10}$ = 4.0 Hz, 1 H, 9-H_b), 4.79 (d, $^3J_{NH,10}$ = 9.0 Hz, 1 H, NH), 7.09 (ddd, $^3J_{6,5}$ = 8.2 Hz, $^4J_{6,8}$ = 2.6 Hz, $^4J_{6,4}$ = 0.8 Hz, 1 H, 6-H), 7.34 (dd, $^3J_{5,6}$ = $^3J_{5,4}$ = 8.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.54 (dd, $^4J_{8,6}$ = 2.2 Hz, $^4J_{8,4}$ = 1.5 Hz, 1 H, 8-H), 7.63 (ddd, $^3J_{4,5}$ = 7.8 Hz, $^4J_{4,6}$ = $^4J_{4,8}$ = 1.1 Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 18.7 (q, C-12), 19.6 (q, C-12'), 28.4 (q, C-15), 29.5 (d, C-11), 52.2 (q, C-1), 55.2 (d, C-10), 68.4 (t, C-9), 79.3 (s, C-14), 114.8 (d, C-8), 119.7 (d, C-6), 122.2 (d, C-4), 129.4 (d, C-5), 131.5 (s, C-3), 155.7 (s, C-13), 158.7 (s, C-7), 166.9 (s, C-2).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -60.7^\circ$ (c = 0.7, 99% ee, CHCl₃)

HPLC (Chiracel OD-H, Hexan/Ethanol = 99:1, 1 ml/min):

(*R*)-**33a**: $t_R = 11.55$ min

(*S*)-**33a**: $t_R = 12.64$ min

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₈ H ₂₈ NO ₅ [M+H] ⁺	338.1967	338.1962

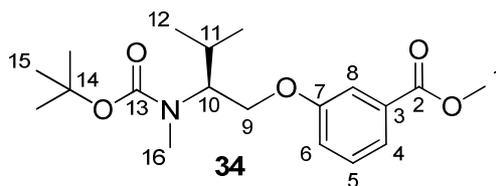
Elementaranalyse:

C ₁₈ H ₂₇ NO ₅	ber.	C 64.07	H 8.07	N 4.15
(337.41)	gef.	C 64.01	H 7.81	N 3.75

(S)-3-(2-(tert-Butoxycarbonyl(methyl)amino)-3-methylbutoxy)benzoesäuremethylester (34)

Gemäß **AAV 11** wurden 551 mg (1.63 mmol) **33a**, 410 μ l (6.59 mmol) Methyljodid und 170 mg (4.25 mmol) NaH (60% in Mineralöl) umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 8:2) wurde Phenoxytubuvalin **34** (542 mg, 1.54 mmol, 95%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: Hexan/EE = 8:2, R_f(34) = 0.35]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.93 (d, $^3J_{12,11}$ = 6.6 Hz, 6 H, 12-H), 1.41 (s, 9 H, 15-H), 1.98 (m, 1 H, 11-H), 2.80 (s, 3 H, 16-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 4.06–4.15 (sh, 3 H, 9-H, 10-H), 7.06 (d, $^3J_{6,5}$ = 8.2 Hz, 1 H, 6-H), 7.32 (dd, $^3J_{5,6}$ = $^3J_{5,4}$ = 8.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.53 (s, 1 H, 8-H), 7.62 (d, $^3J_{4,5}$ = 7.6 Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.9 (q, C-12), 27.0 (d, C-11), 28.4 (q, C-15), 30.4 (q, C-16), 52.1 (q, C-1), 60.3 (d, C-10), 67.5 (t, C-9), 79.3 (s, C-14), 114.6 (d, C-8), 119.9 (d, C-6), 122.1 (d, C-4), 129.4 (d, C-5), 131.4 (s, C-3), 156.3 (s, C-13), 158.6 (s, C-7), 166.9 (s, C-2).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.01 (d, $^3J_{12,11}$ = 6.4 Hz, 3 H, 12-H), 1.02 (d, $^3J_{12',11}$ = 6.4 Hz, 3 H, 12'-H), 1.46 (s, 9 H, 15-H), 2.09 (m, 1 H, 11-H), 2.81 (s, 3 H, 16-H), 3.90 (m, 1 H, 10-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.8 (q, C-12), 20.1 (q, C-12'), 27.8 (d, C-11), 61.6 (d, C-10), 68.3 (t, C-9), 79.5 (s, C-14), 114.9 (d, C-8), 120.1 (d, C-6), 122.2 (d, C-4), 129.4 (d, C-5), 156.4 (s, C-13), 158.8 (s, C-7).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -49.0^\circ$ (c = 1.2, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₉ H ₃₀ NO ₅ [M+H] ⁺	352.2124	352.2135

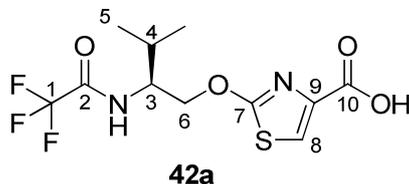
Elementaranalyse:

C ₁₉ H ₂₉ NO ₅	ber.	C 64.93	H 8.32	N 3.99
(351.44)	gef.	C 64.90	H 8.09	N 4.22

(S)-2-(3-Methyl-2-(2,2,2-trifluoroacetamido)butoxy)thiazol-4-carbonsäure (42a)

1.00 g (4.81 mmol) Säure **39**^[85] und 1.90 mg (9.54 mmol) TFA-Valinol **41**^[87] wurden in 30 ml absolutem DMF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wurden vorsichtig 962 mg (24.1 mmol) NaH (60% in Mineralöl) zugesetzt (starke H₂-Entwicklung) und die Suspension ein Tag bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde mit 1 M KHSO₄-Lösung gequench und mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde dreimal mit Wasser gewaschen und anschließend dreimal mit ges. NaHCO₃-Lösung extrahiert. Die wässrige Phase wurde wiederum

mit 1 M KHSO₄-Lösung angesäuert (pH = 1) und erneut dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt, wobei Säure **42a** (1.10 g, 3.38 mmol, 70%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 177–179°C erhalten wurde.



¹H-NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ = 0.89 (³J_{5,4} = 6.8 Hz, 3 H, 5-H), 0.94 (d, ³J_{5',4} = 6.8 Hz, 3 H, 5'-H), 1.94 (m, 1 H, 4-H), 4.03 (m, 1 H, 3-H), 4.47 (dd, ²J_{6a,6b} = 16.3 Hz, ³J_{6a,3} = 8.6 Hz, 1 H, 6-H_a), 4.57 (dd, ²J_{6b,6a} = 16.3 Hz, ³J_{6b,3} = 8.6 Hz, 1 H, 6-H_b), 7.86 (s, 1 H, 8-H), 9.40 (d, ³J_{NH,3} = 8.8 Hz, 1 H, NH), 13.0 (bs, 1 H, OH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 100 MHz): δ = 18.4 (q, C-5), 19.0 (q, C-5'), 28.7 (d, C-4), 54.2 (d, C-3), 71.1 (t, C-6), 115.9 (q, ²J_{C,F} = 287 Hz, C-F₃COOH), 121.8 (d, C-8), 141.0 (s, C-9), 156.5 (q, ³J_{C,F} = 35.9 Hz, CF₃C=O), 161.6 (s, C-10), 172.6 (s, C-7).

¹³F-NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ = -74.1 (s, CF₃),

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -22.8^\circ$ (c = 1.0, DMF)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₁ H ₁₄ F ₃ N ₂ O ₄ S [M+H] ⁺	327.0626	327.0610

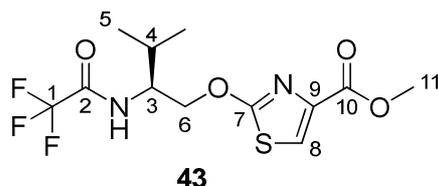
Elementaranalyse:

C ₁₁ H ₁₃ F ₃ N ₂ O ₄ S	ber.	C	H	N
(326.29)	gef.	40.10	3.97	8.50
		40.49	4.02	8.59

(S)-2-(3-Methyl-2-(2,2,2-trifluoroacetamido)butoxy)thiazol-4-carbonsäuremethylester (43)

Zu einer Lösung aus 854 mg (2.62 mmol) Säure **42a** und 530 ml (8.51 mmol) Methyljodid in 15 ml absolutem DMF wurden bei Raumtemperatur 483 mg (3.49 mmol) K₂CO₃ gegeben und die Suspension 2.5 Stunden gerührt. Zur Aufarbeitung wurde mit Wasser gequenchet und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde nacheinander mit Wasser (3x), 5% Na₂SO₃-Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels im Vakuum wurde der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 9:1, 8:2, 1:1), wobei Methylester **43** (819 mg, 2.41 mmol, 92%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 89–90°C erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 8:2, R_f(**43**) = 0.16]



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.98 (³J_{5,4} = 6.8 Hz, 3 H, 5-H), 1.02 (d, ³J_{5',4} = 6.8 Hz, 3 H, 5'-H), 1.91 (m, 1 H, 4-H), 3.87 (s, 3 H, 11-H), 4.13 (m, 1 H, 3-H), 4.55 (dd, ²J_{6a,6b} = 11.5 Hz, ³J_{6a,3} = 3.2 Hz, 1 H, 6-H_a), 4.70 (dd, ²J_{6b,6a} = 11.5 Hz, ³J_{6b,3} = 6.4 Hz, 1 H, 6-H_b), 7.11 (d, ³J_{NH,3} = 8.8 Hz, 1 H, NH), 7.86 (s, 1 H, 8-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 18.6 (q, C-5), 19.2 (q, C-5'), 29.4 (d, C-4), 52.3 (q, C-11), 54.9 (d, C-3), 71.7 (t, C-6), 117.3 (q, ²J_{C,F} = 286 Hz, CF₃COOH), 121.2 (d, C-8), 140.5 (s, C-9), 157.2 (q, ³J_{C,F} = 36.8 Hz, CF₃COOH), 161.3 (s, C-10), 173.6 (s, C-7).

¹⁹F-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = -75.8 (s, CF₃).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -83.9^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₂ H ₁₆ F ₃ N ₂ O ₄ S [M+H] ⁺	341.0783	341.0784

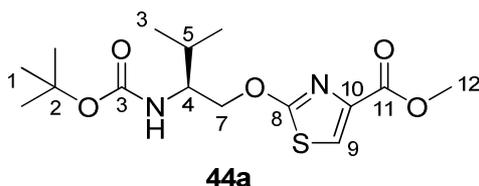
Elementaranalyse:

C ₁₂ H ₁₅ F ₃ N ₂ O ₄ S ber.	C 42.35	H 4.44	N 8.23
(340.32) gef.	C 42.77	H 4.45	N 7.98

(S)-2-(2-(tert-Butoxycarbonylamino)-3-methylbutoxy)thiazol-4-carbonsäuremethylester (44a)

Zu einer Lösung aus 664 mg (1.94 mmol) Säure **46** und 380 ml (6.10 mmol) Methyljodid in 10 ml absolutem DMF wurden bei Raumtemperatur 345 mg (2.50 mmol) K₂CO₃ gegeben und die Suspension 15 Stunden gerührt. Zur Aufarbeitung wurde mit Wasser gequenchet und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde nacheinander mit Wasser (3x), 5% Na₂SO₃-Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels im Vakuum wurde der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 9:1, 7:3), wobei Methylester **44a** (585 mg, 1.70 mmol, 88%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 70–71°C erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 7:3, R_f(**44a**) = 0.32]



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.96 (³J_{6,5} = 6.8 Hz, 3 H, 6-H), 0.98 (d, ³J_{6',5} = 6.8 Hz, 3 H, 6'-H), 1.42 (s, 9 H, 1-H), 1.90 (m, 1 H, 5-H), 3.77 (m, 1 H, 4-H), 3.88 (s, 3 H, 12-H), 4.47 (dd, ²J_{7a,7b} = 10.5 Hz, ³J_{7a,4} = 4.2 Hz, 1 H, 7-H_a), 4.55 (dd, ²J_{7b,7a} = 10.5 Hz, ³J_{7b,4} = 5.2 Hz, 1 H, 7-H_b), 4.69 (d, ³J_{NH,3} = 8.9 Hz, 1 H, NH), 7.60 (s, 1 H, 9-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 18.5 (q, C-6), 19.5 (q, C-6'), 28.4 (q, C-1), 29.7 (d, C-5), 52.4 (q, C-12), 54.9 (d, C-4), 72.8 (t, C-7), 79.5 (s, C-2), 120.8 (d, C-9), 140.8 (s, C-10), 155.7 (s, C-3), 161.7 (s, C-11), 173.8 (s, C-8).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -48.1^\circ$ (c = 0.9, CHCl₃)

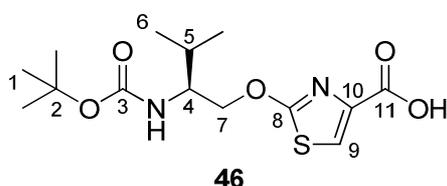
HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₅ H ₂₅ N ₂ O ₅ S [M+H] ⁺	345.1484	345.1424

Elementaranalyse:

C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O ₅ S	ber.	C 53.31	H 7.02	N 8.13
(340.32)	gef.	C 51.83	H 6.75	N 7.78

(S)-2-(2-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-3-methylbutoxy)thiazol-4-carbonsäure (46)

88 mg (0.27 mmol) Methylester **43** wurden in 3 ml Dioxan gelöst, bei 0°C mit 0.60 ml (0.60 mmol) 1 M NaOH-Lösung versetzt und 8 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus 42 mg (0.19 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat in 1 ml Dioxan zugetropft und die Reaktionsmischung erneut 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Lösemittel weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat gewaschen (verworfen) und mit 1 M HCl angesäuert (pH = 1). Die ausgefallene Säure wurde mit Ethylacetat extrahiert und die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels im Vakuum wurde Säure **46** (94 mg, 0.28 mmol, 97%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 147–148°C (Zersetzung) erhalten.



¹H-NMR (DMSO-d⁶, 400 MHz): δ = 0.87 (³J_{6,5} = 6.9 Hz, 3 H, 6-H), 0.89 (d, ³J_{6',5} = 6.9 Hz, 3 H, 6'-H), 1.38 (s, 9 H, 1-H), 1.78 (m, 1 H, 5-H), 3.65 (m, 1 H, 4-H), 4.29 (dd, ²J_{7a,7b} = 10.0 Hz, ³J_{7a,4} = 8.3 Hz, 1 H, 7-H_a), 4.57 (dd, ²J_{7b,7a} = 10.4 Hz, ³J_{7b,4} = 4.1 Hz, 1 H, 7-H_b), 6.89 (d, ³J_{NH,3} = 9.2 Hz, 1 H, NH), 7.86 (s, 1 H, 9-H), 12.8 (bs, 1 H, OH).

¹³C-NMR (DMSO-d⁶, 100 MHz): δ = 18.2 (q, C-6), 19.1 (q, C-6'), 28.1 (q, C-1), 29.1 (d, C-5), 54.2 (d, C-4), 72.2 (t, C-7), 77.5 (s, C-2), 121.5 (d, C-9), 141.0 (s, C-10), 155.6 (s, C-3), 161.7 (s, C-11), 172.8 (s, C-8).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -13.6^\circ$ (c = 0.8, DMF)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₄ H ₂₃ N ₂ O ₅ S [M+H] ⁺	331.1327	331.1363

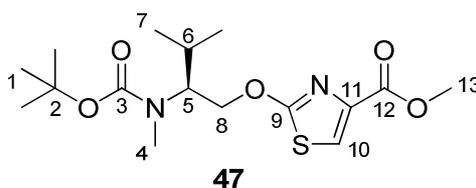
Elementaranalyse:

C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₅ S	ber.	C 50.89	H 6.71	N 8.48
(330.40)	gef.	C 50.42	H 6.58	N 7.60

(S)-2-(2-(tert-Butoxycarbonyl(methyl)amino)-3-methylbutoxy)thiazol-4-carbonsäuremethylester (47)

Gemäß **AAV 11** wurden 50 mg (0.15 mmol) Oxythiazol **44a**, 36 μ l (0.58 mmol) Methyljodid und 14 mg (0.35 mmol) NaH (60% in Mineralöl) umgesetzt (22 Stunden bei 0 °C). Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 8:2) wurde Oxythiazoltubovalin **47** (46 mg, 0.13 mmol, 89%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: Hexan/EE = 8:2, R_f(**47**) = 0.14]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.91 (³J_{7,6} = 6.6 Hz, 3 H, 7-H), 1.02 (d, ³J_{7',6} = 6.6 Hz, 3 H, 7'-H), 1.42 (s, 9 H, 1-H), 1.90 (m, 1 H, 6-H), 2.73 (s, 3 H, 4-H), 3.89 (s, 3 H, 13-H), 3.94 (m, 1 H, 5-H), 4.55 (dd, ²J_{8a,8b} = 11.0 Hz, ³J_{8a,5} = 9.2 Hz, 1 H, 8-H_a), 4.65 (dd, ²J_{8b,8a} = 11.1 Hz, ³J_{8b,5} = 3.7 Hz, 1 H, 8-H_b), 7.59 (s, 1 H, 10-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.5 (q, C-7), 19.8 (q, C-7'), 27.2 (d, C-6), 28.4 (q, C-1), 29.6 (q, C-4), 52.2 (q, C-13), 60.0 (d, C-5), 71.0 (t, C-8), 79.3 (s, C-2), 120.7 (d, C-10), 140.6 (s, C-11), 156.1 (s, C-3), 161.5 (s, C-12), 173.5 (s, C-9).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.44 (s, 9 H, 1-H), 2.77 (s, 3 H, 4-H), 4.16 (m, 1 H, 5-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.9 (q, C-7), 20.0 (q, C-7'), 27.6 (d, C-6), 60.8 (d, C-5), 71.3 (t, C-8), 79.6 (s, C-2), 156.3 (s, C-3), 161.6 (s, C-12), 173.7 (s, C-9).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -37.1^\circ$ (c = 1.3, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₆ H ₂₇ N ₂ O ₅ S [M+H] ⁺	359.1640	359.1650

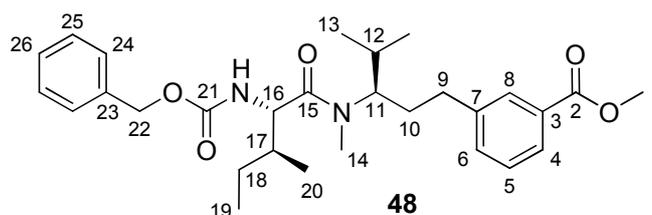
Elementaranalyse:

C ₁₆ H ₂₆ N ₂ O ₅ S	ber.	C 53.61	H 7.31	N 7.82
(358.45)	gef.	C 53.07	H 7.07	N 7.67

3-((*R*)-3-((2*S*,3*S*)-2-(Benzyloxycarbonylamino)-*N*,3-dimethylpentanamido)-4-methylpentyl)benzoesäuremethylester (**48**)

Gemäß **AAV 6** wurden 357 mg (1.02 mmol) **30** mit 2.50 ml (10.0 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und anschließend mit 320 mg (1.21 mmol) Cbz-geschütztem (*S,S*)-Isoleucin, 310 mg (1.13 mmol) BEP und 520 μ l (3.06 mmol) DIPEA nach **AAV 2** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 7:3) wurde Dipeptid **48** (472 mg, 0.95 mmol, 92%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: Hexan/EE = 7:3, R_f(**48**) = 0.25]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.77 (d, ³J_{13,12} = 6.6 Hz, 3 H, 13-H), 0.89 (t, ³J_{19,18} = 7.40 Hz, 3 H, 19-H), 0.94 (d, ³J_{13',12} = 6.5 Hz, 3 H, 13'-H), 1.01 (d, ³J_{20,17} = 6.7 Hz, 3 H, 20-H), 1.15 (m, 1 H, 18-H_a), 1.52–1.72 (sh, 3 H, 10-H_a, 12-H, 18-H_b), 1.80 (m, 1 H, 17-H), 1.94 (m, 1 H, 10-H_b), 2.50 (m, 2 H, 9-H), 2.98 (s, 3 H, 14-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 4.34 (m, 1 H, 11-H), 4.58 (dd, ³J_{16,NH} = 9.3 Hz, ³J_{16,17} = 6.8 Hz, 1 H, 16-H), 5.09 (m, 2 H, 22-H), 5.51 (d, ³J_{NH,16} = 9.4 Hz, 1 H, NH), 7.25–7.34 (sh, 7 H, 5-H, 6-H, 24-H, 25-H, 26-H), 7.83 (s, 1 H, 8-H), 7.86 (m, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.2 (q, C-19), 16.0 (q, C-20), 19.5 (q, C-13), 20.0 (q, C-13'), 23.8 (t, C-18), 29.2 (q, C-14), 30.2 (d, C-12), 31.4 (t, C-10), 32.7 (t, C-9), 37.5 (d, C-17), 52.0 (q, C-1), 55.8 (d, C-16), 59.3 (d, C-11), 66.7 (t, C-22), 127.2 (d, C-4), 127.8, 128.0, 128.4, 128.5 (4 d, C-5, C-24, C-25, C-26), 129.1 (d, C-8), 130.3 (s, C-3), 132.9 (d, C-6), 136.4 (s, C-23), 142.2 (s, C-7), 156.4 (s, C-21), 167.1 (s, C-2), 173.1 (s, C-15).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.04 (d, ³J_{20,17} = 6.6 Hz, 3 H, 20-H), 1.87 (m, 1 H, 17-H), 2.01 (m, 1 H, 10-H), 2.35 (dt, ²J_{9a,9b} = 13.2 Hz, ³J_{9,10} = 4.3 Hz, 1 H, 9-H_a), 2.91 (s, 3 H, 14-H), 3.60 (m, 1 H, 11-H), 3.89 (s, 3 H, 1 H), 4.67 (dd, ³J_{16,NH} = 9.7 Hz, ³J_{16,17} = 6.4 Hz, 1 H, 16-H), 7.80 (s, 1 H, 8-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-19), 16.1 (q, C-20), 20.3 (q, C-13), 20.5 (q, C-13'), 23.6 (t, C-18), 27.2 (q, C-14), 38.0 (d, C-17), 55.2 (d, C-16), 63.1 (d, C-11), 66.8 (t, C-22), 132.9 (d, C-6), 136.3 (s, C-23), 141.9 (s, C-7), 156.1 (s, C-21), 167.1 (s, C-2), 172.8 (s, C-15).

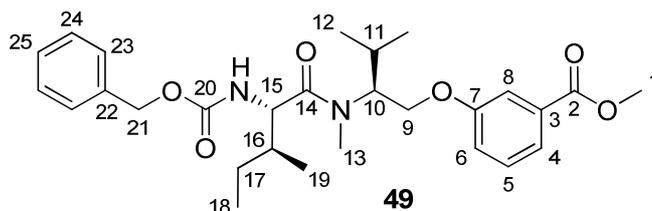
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -15.6^\circ$ (c = 1.4, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₂₉ H ₄₁ N ₂ O ₅ [M+H] ⁺	497.3015	497.3005

3-((S)-2-((2S,3S)-2-(Benzyloxycarbonylamino)-N,3-dimethylpentanamido)-3-methylbutoxy)benzoesäuremethylester (49)

Gemäß **AAV 6** wurden 512 mg (1.48 mmol) **34** mit 3.80 ml (15.0 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und anschließend mit 429 mg (1.62 mmol) Cbz-geschütztem (S,S)-Isoleucin, 448 mg (1.64 mmol) BEP und 750 μ l (4.41 mmol) DIPEA nach **AAV 2** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 7:3) wurde Dipeptid **49** (693 mg, 1.39 mmol, 94%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: Hexan/EE = 7:3, R_f(**49**) = 0.21]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.84–0.90 (sh, 6 H, 12-H, 18-H), 0.98 (d, ³J_{19,16} = 6.7 Hz, 3 H, 19-H), 1.01 (d, ³J_{12',11} = 6.9 Hz, 3 H, 12'-H), 1.15 (m, 1 H, 17-H_a), 1.60 (m, 1 H, 17-H_b), 1.77 (m, 1 H, 16-H), 2.03 (m, 1 H, 11-H), 3.06 (s, 3 H, 13-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 4.10 (m, 2 H, 9-H), 4.56 (dd, ³J_{15,NH} = 9.0 Hz, ³J_{15,16} = 7.5 Hz, 1 H, 15-H), 4.65 (bs, 1 H, 10-H), 5.09 (s, 2 H, 21-H), 5.51 (d, ³J_{NH,15} = 9.3 Hz, 1 H, NH), 7.03 (dd, ³J_{6,5} = 8.3 Hz, ⁴J_{6,4} = 2.0 Hz, 1 H, 6-H), 7.27–7.34 (sh, 6 H, 5-H, 23-H, 24-H, 25-H), 7.51 (s, 1 H, 8-H), 7.63 (d, ³J_{4,5} = 7.8 Hz, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.2 (q, C-18), 15.5 (q, C-19), 19.5 (q, C-12), 19.8 (q, C-12'), 24.0 (t, C-17), 27.0 (d, C-11), 30.5 (q, C-13), 37.7 (d, C-16), 52.1 (q, C-1), 55.5 (d, C-15), 58.3 (d, C-10), 66.7 (d, C-21), 67.0 (t, C-9), 114.5 (d, C-8), 119.7 (d, C-6), 122.3 (d, C-4), 127.8, 127.9, 128.4 (3 d, C-23, C-24, C-25), 129.4 (d, C-5), 131.5 (s, C-3), 136.4 (s, C-22), 156.4 (s, C-20), 158.5 (s, C-7), 166.7 (s, C-2), 173.2 (s, C-14).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.01 (d, ³J_{12,11} = 6.9 Hz, 3 H, 12-H), 1.12 (d, ³J_{12',11} = 6.6 Hz, 3 H, 12'-H), 1.86 (m, 1 H, 16-H), 2.82 (s, 3 H, 13-H), 3.87 (s, 3 H, 1-H), 3.94–4.01 (sh, 3 H, 9-H, 10-H), 4.78 (dd, ³J_{15,NH} = 9.4 Hz, ³J_{15,16} = 6.3 Hz, 1 H, 15-H), 5.00 (d, ²J_{21a,21b} = 12.3 Hz, 1 H, 21-H_a), 5.60 (d, ³J_{NH,15} = 9.5 Hz, 1 H, NH), 7.00 (m, 1 H, 6-H), 7.20 (dd, ³J_{5,6} = ³J_{5,4} = 8.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.48 (s, 1 H, 8-H), 7.61 (m, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.4 (q, C-18), 16.1 (q, C-19), 20.2 (q, C-12), 23.6 (t, C-17), 37.9 (d, C-16), 37.9 (d, C-16'), 52.1 (q, C-1), 62.1 (d, C-10), 66.6 (d, C-21), 114.0 (d, C-8), 120.3 (d, C-6), 122.3 (d, C-4), 127.9, 128.0, 128.4 (3 d, C-23, C-24, C-25), 129.4 (d, C-5), 131.2 (s, C-3), 156.2 (s, C-20), 158.3 (s, C-7), 173.4 (s, C-14).

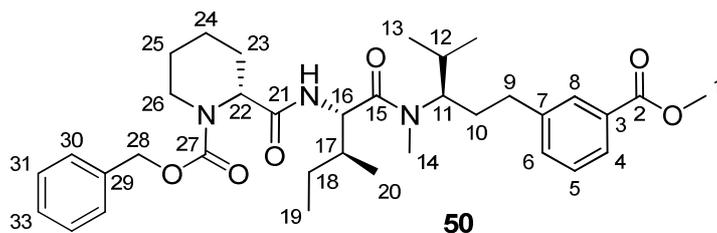
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -38.0^\circ$ (c = 1.3, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₂₈ H ₃₉ N ₂ O ₆ [M+H] ⁺	499.2808	499.2804

3-((R)-3-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-(3-phenylpropanoyl)piperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)benzoesäuremethylester (50)

Gemäß **AAV 7** wurden 214 mg (0.43 mmol) Dipeptid **48** mit 24 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 125 mg (0.43 mmol) Cbz-geschützter (R)-Pipicolinsäure, 53 μ l (0.48 mmol) NMM und 63 μ l (0.47 mmol) IBCF nach **AAV 1** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 6:4) wurde Tripeptid **50** (230 mg, 0.38 mmol, 88%) als farbloses Harz erhalten.

[DC: Hexan/EE = 6:4, R_f(**50**) = 0.22]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.76 (d, $^3J_{13,12}$ = 6.6 Hz, 3 H, 13-H), 0.85 (bs, 3 H, 19-H), 0.94 (d, $^3J_{13',12}$ = 6.5 Hz, 3 H, 13'-H), 0.97 (bs, 3 H, 20-H), 1.09 (m, 1 H, 18-H_a), 1.25–1.71 (sh, 8 H, 10-H_a, 12-H, 18-H_b, 23-H_{ax}, 24-H, 25-H), 1.81 (m, 1 H, 17-H), 1.95 (m, 1 H, 10-H_b), 2.31 (m, 2 H, 23-H_{eq}), 2.49 (m, 2 H, 9-H), 2.89 (bs, 1 H, 26-H_{ax}), 3.01 (s, 3 H, 14-H), 3.90 (s, 3 H, 1-H), 4.08 (bs, 1 H, 26-H_{eq}), 3.34 (m, 1 H, 11-H), 4.84 (dd, $^3J_{16,NH}$ = 8.7 Hz, $^3J_{16,17}$ = 7.9 Hz, 1 H, 16-H), 4.91 (bs, 1 H, 22-H), 5.17 (m, 2 H, 28-H), 6.70 (bs, 1 H, NH), 7.27–7.40 (sh, 7 H, 5-H, 6-H, 30-H, 31-H, 32-H), 7.82 (s, 1 H, 8-H), 7.87 (m, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.1 (q, C-19), 15.9 (q, C-20), 19.6 (q, C-13), 20.0 (q, C'-13), 20.4 (t, C-25), 24.1 (t, C-18), 24.8 (t, C-24), 25.6 (t, C-23), 29.2 (q, C-14), 30.2 (d, C-12), 31.4 (t, C-10), 32.8 (t, C-9), 37.2 (d, C-17), 42.3 (t, C-26), 52.1 (q, C-1), 53.7 (d, C-16), 55.0 (d, C-22), 59.3 (d, C-11), 67.6 (t, C-28), 127.3 (d, C-4), 127.8, 128.0, 128.5 (4 d, C-5, C-30, C-31, C-32), 129.1 (d, C-8), 130.3 (s, C-3), 132.9 (d, C-6), 136.4 (s, C-29), 142.2 (s, C-7), 156.4 (s, C-21), 167.2 (s, C-2), 170.5 (s, C-21), 173.1 (s, C-15).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.04 (d, $^3J_{20,17}$ = 6.5 Hz, 3 H, 20-H), 2.01 (m, 1 H, 10-H_b), 2.26 (m, 1 H, 23-H_{eq}), 2.64 (m, 2 H, 9-H), 2.81 (s, 3 H, 14-H), 2.63 (m, 1 H, 11-H), 3.88 (s, 3 H, 1-H), 4.20 (bs, 1 H, 26-H_{eq}), 4.34 (m, 1 H, 11-H), 5.05–5.07 (sh, 2 H, 16-H, 28-H_a), 6.58 (bs, 1 H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-19), 16.2 (q, C-20), 20.3 (q, C-13), 20.6 (t, C-25), 23.6 (t, C-18), 24.6 (t, C-24), 26.1 (t, C-23), 27.3 (q, C-14), 31.3 (d, C-12), 32.2 (t, C-10), 33.2 (t, C-9), 38.2 (d, C-17), 52.0 (q, C-1), 53.0 (d, C-16), 55.4 (d, C-22), 63.3 (d, C-11), 67.5 (t, C-28), 155.5 (s, C-21).

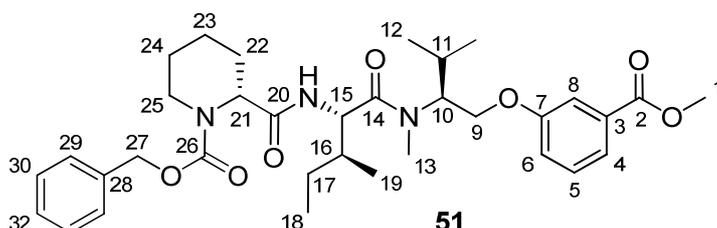
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -7.2^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₅ H ₅₀ N ₃ O ₆ [M+H] ⁺	608.3699	608.3729

3-((S)-2-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-(3-phenylpropanoyl)piperidin-2-carboxamido)pentanamido)-3-methylbutoxy)benzoesäuremethylester (51)

Gemäß **AAV 7** wurden 629 mg (1.26 mmol) Dipeptid **49** mit 60 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 366 mg (1.39 mmol) Cbz-geschützter (R)-Pipicolinsäure, 155 μ l (1.41 mmol) NMM und 185 μ l (1.39 mmol) IBCF nach **AAV 1** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 7:3) wurde Tripeptid **51** (680 mg, 1.12 mmol, 89%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 38–40°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 7:3, $R_f(\mathbf{51}) = 0.13$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.79\text{--}0.88$ (sh, 6 H, 12-H, 18-H), 0.95 (d, $^3J_{19,16} = 5.5$ Hz, 3 H, 19-H), 1.04 (d, $^3J_{12',11} = 6.5$ Hz, 3 H, 12'-H), 1.09 (m, 1 H, 17- H_a), 1.26–1.44 (sh, 2 H, 23- H_{ax} , 24- H_{ax}), 1.45–1.66 (sh, 4 H, 17- H_b , 22- H_{ax} , 23- H_{eq} , 24- H_{eq}), 1.80 (m, 1 H, 16-H), 2.00 (m, 1 H, 11-H), 2.30 (m, 1 H, 22- H_{eq}), 2.88 (m, 1 H, 25- H_{ax}), 3.09 (s, 3 H, 13-H), 3.91 (s, 3 H, 1-H), 4.02–4.12 (sh, 3 H, 9-H, 25- H_{eq}), 4.67 (bs, 1 H, 10-H), 4.80 (dd, $^3J_{15,NH} = ^3J_{15,16} = 8.5$ Hz, 1 H, 15-H), 4.91 (bs, 1 H, 21-H), 5.17 (m, 2 H, 27-H), 6.59 (bs, 1 H, NH), 7.02 (dd, $^3J_{6,5} = 8.1$ Hz, $^4J_{6,4} = 1.6$ Hz, 1 H, 6-H), 7.25–7.40 (sh, 6 H, 5-H, 29-H, 30-H, 31-H), 7.50 (s, 1 H, 8-H), 7.63 (d, $^3J_{4,6} = 7.8$ Hz, 1 H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.0$ (q, C-18), 15.4 (q, C-19), 19.5 (q, C-12), 19.8 (q, C-12'), 20.4 (t, C-23), 24.4 (t, C-17), 24.8 (t, C-24), 25.7 (t, C-22), 26.7 (d, C-11), 27.3 (q, C-13), 37.2 (d, C-16), 42.3 (t, C-25), 52.1 (q, C-1), 53.5 (d, C-15), 55.0 (C-21), 58.3 (d, C-10), 66.9 (t, C-9), 67.6 (t, C-27), 114.4 (d, C-8), 119.7 (d, C-6), 122.3 (d, C-4), 127.8, 128.0, 128.5 (3 d, C-29, C-30, C-31), 129.4 (d, C-5), 131.5 (s, C-3), 136.4 (s, C-28), 156.4 (s, C-26), 158.5 (s, C-7), 166.8 (s, C-2), 170.6 (s, C-20), 173.3 (s, C-14).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.01$ (d, $^3J_{12,11} = 6.7$ Hz, 3 H, 12-H), 1.11 (d, $^3J_{12',11} = 6.5$ Hz, 3 H, 12'-H), 2.11 (m, 1 H, 11-H), 2.36 (m, 1 H, 22- H_{eq}), 2.85 (s, 3 H, 13-H), 2.98 (m, 1 H, 25- H_{ax}), 3.89 (s, 3 H, 1-H), 4.20 (bs, 1 H, 25- H_{eq}), 6.77 (d, $^3J_{NH,13} = 9.2$ Hz, 1 H, NH), 7.10 (m, 1 H, 6-H), 7.48 (s, 1 H, 8-H), 7.61 (m, 1 H, 4-H).

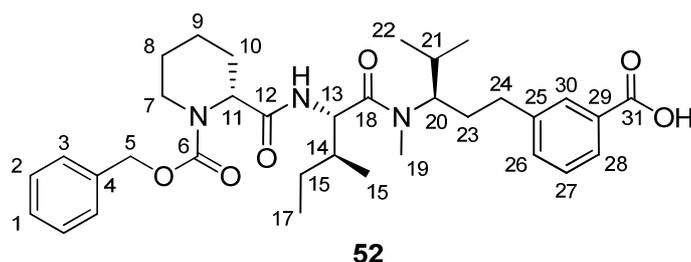
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.4$ (q, C-18), 16.1 (q, C-19), 20.1 (q, C-12), 20.3 (q, C-12'), 26.1 (t, C-22), 30.5 (q, C-13), 37.7 (d, C-16), 52.1 (q, C-1), 55.4 (C-21), 62.1 (d, C-10), 67.2 (t, C-9), 67.5 (t, C-27), 113.0 (d, C-8), 120.7 (d, C-6), 122.6 (d, C-4), 131.3 (s, C-3), 158.4 (s, C-7), 170.1 (s, C-20).

Optical rotation: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7.2^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	610.3492	610.3454

3-((*R*)-3-((2*S*,3*S*)-2-((*R*)-1-(Benzyloxycarbonyl)piperidin-2-carboxamido)-*N*,3-dimethylpentanamido)-4-methylpentyl)benzoesäure (**52**)

Gemäß **AAV 5** wurden 405 mg (0.67 mmol) Tripeptid **50** mit 1.00 ml (1.00 mmol) 1 M NaOH-Lösung bei 60°C entschützt (MeOH, 4 h). Nach der Aufarbeitung (angesäuert mit 1 M HCl) wurde die Säure **52** (394 mg, 0.66 mmol, 99%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 66–68°C erhalten.



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.76$ (d, $^3J_{22,21} = 6.4$ Hz, 3 H, 22-H), 0.85 (m, 3 H, 17-H), 0.93 (d, $^3J_{22',21} = 6.6$ Hz, 3 H, 22'-H), 0.98 (m, 3 H, 15-H), 1.10 (m, 1 H, 16-H_a), 1.30–1.45 (sh, 2 H, 8-H_{ax}, 9-H_{ax}), 1.47–1.75 (sh, 6 H, 8-H_{eq}, 9-H_{eq}, 10-H_{ax}, 16-H_b, 21-H, 23-H_a), 1.83–1.99 (sh, 2 H, 14-H, 23-H_b), 2.33 (m, 1 H, 10-H_{eq}), 2.54 (m, 2 H, 24-H), 2.89 (m, 1 H, 7-H_{ax}), 3.05 (s, 3 H, 19-H), 4.09 (m, 1 H, 7-H_{eq}), 4.36 (m, 1 H, 20-H), 4.87 (dd, $^3J_{13,\text{NH}} = ^3J_{13,14} = 8.6$ Hz, 1 H, 13-H), 4.94 (m, 1 H, 11-H), 5.13 (d, $^2J_{5a,5b} = 12.4$ Hz, 1 H, 5-H_a), 5.13 (d, $^2J_{5b,5a} = 12.4$ Hz, 1 H, 5-H_b), 7.03 (m, 1 H, NH), 7.27–7.41 (sh, 7 H, 1-H, 2-H, 3-H, 26-H, 27-H), 7.89–7.96 (sh, 2 H, 28-H, 30-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 10.8$ (q, C-17), 15.8 (q, C-15), 19.5 (q, C-22), 19.9 (q, C-22'), 20.4 (t, C-8), 24.4 (t, C-16), 24.4 (t, C-9), 25.9 (t, C-10), 29.4 (q, C-19), 30.2 (d, C-21), 31.5 (t, C-23), 32.8 (t, C-24), 36.6 (d, C-14), 41.9 (t, C-7), 53.8 (d, C-13), 55.1 (d, C-11), 59.5 (d, C-20), 67.5 (t, C-5), 127.6, 127.7, 128.4, 128.5 (5 d, C-1, C-2, C-3, C-27, C-28), 129.6 (d, C-30), 130.1 (d, C-29), 133.3 (d, C-26), 136.5 (s, C-4), 142.0 (s, C-25), 155.5 (s, C-6), 170.3 (s, C-31), 170.9 (s, C-12), 173.9 (s, C-18).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.05 (d, ³J_{15,14} = 6.5 Hz, 3 H, 15-H), 2.83 (s, 3 H, 19-H), 4.17 (m, 1 H, 7-H_{eq}).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.2 (q, C-17), 16.1 (q, C-15), 20.2 (q, C-22), 20.7 (q, C-22'), 23.7 (t, C-16), 26.4 (t, C-10), 27.5 (q, C-19), 31.4 (t, C-23), 33.2 (t, C-24), 36.6 (d, C-14), 42.3 (t, C-7), 53.0 (d, C-13), 55.4 (d, C-11), 63.4 (d, C-20), 65.2 (t, C-5), 156.3 (s, C-6).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +4.2^\circ$ (c = 0.9, CHCl₃)

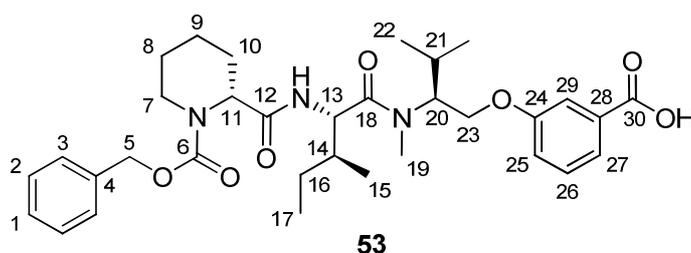
HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₄ H ₄₈ N ₃ O ₆ [M+H] ⁺	594.3543	594.3555

Elementaranalyse:

C ₃₄ H ₄₇ N ₃ O ₆	ber.	C 68.78	H 7.98	N 7.08
(593.75)	gef.	C 68.16	H 8.21	N 6.93

3-((S)-2-((2S,3S)-2-((R)-1-(Benzyloxycarbonyl)piperidin-2-carboxamido)-N,3-dimethylpentanamido)-3-methylbutoxy)benzoesäure (53)

Gemäß **AAV 5** wurden 610 mg (1.00 mmol) Tripeptid **51** mit 1.50 ml (1.50 mmol) 1 M NaOH-Lösung bei 70°C entschützt (MeOH, 4 h). Nach der Aufarbeitung (angesäuert mit 1 M HCl) wurde die Säure **53** (590 mg, 0.99 mmol, 99%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 68–70°C erhalten.



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.80–0.90 (sh, 6 H, 17-H, 22-H), 0.99 (d, ³J_{15,14} = 6.5 Hz, 3 H, 15-H), 1.06 (d, ³J_{22',21} = 6.5 Hz, 3 H, 22'-H), 1.15 (m, 1 H, 16-H_a), 1.30–1.48 (sh, 2 H, 8-H_{ax}, 9-H_{ax}), 1.50–1.70 (sh, 4 H, 8-H_{eq}, 9-H_{eq}, 10-H_{ax}, 16-H_b), 1.86–2.04 (sh, 2 H, 14-H, 21-H), 2.34 (m, 1 H, 10-H_{eq}), 2.92 (m, 1 H, 7-H_{ax}), 3.16 (s, 19-H), 4.03–4.17 (sh, 3 H, 7-H_{eq}, 23-H), 4.74 (m, 1 H, 20-H), 4.85 (dd, ³J_{13,NH} = ³J_{13,14} = 8.9 Hz, 1 H, 13-H), 4.96 (m, 1 H, 11-H), 5.12 (m, 1 H, 5-H_a), 5.23 (d, ²J_{5b,5a} = 12.4 Hz, 1 H, 5-H_b), 7.07 (dd, ³J_{25,26} = 8.1 Hz, ⁴J_{25,29} = 2.0 Hz, 1 H, 25-H), 7.24–7.40 (sh, 7 H, 1-H, 2-H, 3-H, 26-H, NH), 7.61 (s, 1 H, 29-H), 7.72 (d, ³J_{27,26} = 7.7 Hz, 1 H, 27-H), 10.01 (bs, 1 H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 10.8$ (q, C-17), 15.3 (q, C-15), 19.4 (q, C-22), 19.8 (q, C-22'), 20.5 (t, C-9), 24.6 (t, C-16), 24.9 (t, C-8), 25.9 (t, C-10), 26.8 (d, C-21), 30.5 (q, C-19), 36.7 (d, C-14), 42.0 (t, C-7), 53.7 (d, C-13), 54.9 (d, C-11), 58.3 (d, C-20), 66.8 (t, C-23), 67.4 (t, C-5), 114.7 (d, C-29), 120.3 (d, C-25), 122.9 (d, C-27), 127.6, 127.9, 128.4 (3 d, C-1, C-2, C-3), 129.4 (d, C-26), 131.3 (s, C-4), 155.5 (s, C-6), 158.3 (s, C-24), 170.0 (s, C-30), 171.0 (s, C-12), 174.2 (s, C-18).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.12$ (d, $^3J_{22,21} = 6.5$ Hz), 2.40 (m, 1 H, 10- H_{eq}), 2.88 (s, 3 H, 19-H), 7.68 (d, $^3J_{27,26} = 7.9$ Hz, 1 H, 27-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-17), 16.1 (q, C-15), 20.1 (q, C-22), 26.4 (t, C-10), 28.3 (q, C-19), 36.6 (d, C-14), 42.3 (t, C-7), 53.6 (d, C-13), 55.4 (d, C-11), 62.2 (d, C-20), 156.4 (s, C-6), 158.4 (s, C-24), 170.5 (s, C-30), 171.2 (s, C-12), 173.4 (s, C-18).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4.2^\circ$ ($c = 0.9$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{33}\text{H}_{46}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	596.3336	596.3349

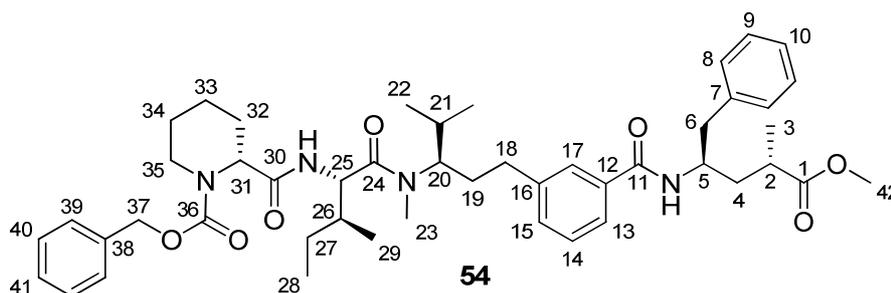
Elementaranalyse:

$\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_7$	ber.	C 66.53	H 7.61	N 7.05
(595.72)	gef.	C 65.77	H 7.45	N 6.72

(R)-2-((2S,3S)-1-(((R)-1-(3-((2R,4S)-5-Methoxy-4-methyl-5-oxo-1-phenylpentan-2-ylcarbonyl)phenyl)-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbonyl)piperidin-1-carbonsäurebenzylester (54)

Gemäß **AAV 1** wurden 169 mg (0.28 mmol) Säure **52** mit 78 mg (0.30 mmol) Tubuphenylalaninmethylester-Hydrochlorid^[22], 78 μl (0.71 mmol) NMM und 39 μl (0.30 mmol) IBCF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 1:1) wurde Tetrapeptid **54** (165 mg, 0.21 mmol, 74%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 59–61°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 1:1, $R_f(\mathbf{54}) = 0.23$]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.74 (d, $^3J_{22,21}$ = 6.6 Hz, 3 H, 22-H), 0.84 (m, 3 H, 28-H), 0.89 (d, $^3J_{22',21}$ = 6.5 Hz, 3 H, 22'-H), 0.93–1.03 (sh, 4 H, 27-H_a, 29-H), 1.16 (d, $^3J_{3,2}$ = 7.1 Hz, 3 H, 3-H), 1.28–1.48 (sh, 2 H, 33-H_{ax}, 34-H_{ax}), 1.48–1.76 (sh, 7 H, 4-H_a, 19-H_a, 21-H, 27-H_b, 32-H_{ax}, 33-H_{eq}, 34-H_{eq}), 1.76–1.92 (sh, 2 H, 19-H_b, 26-H), 1.98 (m, 1 H, 4-H_b), 2.27 (m, 1 H, 32-H_{eq}), 2.50 (m, 1 H, 18-H), 2.64 (m, 1 H, 2-H), 2.88 (dd, $^2J_{6a,6b}$ = 13.6 Hz, $^3J_{6a,5}$ = 6.8 Hz, 3 H, 1 H, 6-H_a), 2.82–3.08 (sh, 6-H_b, 23-H, 35-H_{ax}), 3.60 (s, 3 H, 42-H), 4.06 (m, 1 H, 35-H_{eq}), 4.31 (m, 1-H, 20-H), 4.41 (m, 1 H, 5-H), 4.76–4.91 (sh, 2 H, 25-H, 31-H), 5.11 (d, $^2J_{37a,37b}$ = 12.5 Hz, 1 H, 37-H_a), 5.18 (d, $^3J_{37b,37a}$ = 12.5 Hz, 1 H, 37-H_b), 6.41 (bs, 1 H, NH), 6.78 (bs, 1 H, NH), 7.18–7.36 (sh, 12 H, 8-H, 9-H, 10-H, 14-H, 15-H, 39-H, 40-H, 41-H), 7.46 (m, 1 H, 13-H), 7.58 (m, 1 H, 17-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.0 (q, C-28), 15.8 (q, C-29), 17.3 (q, C-3), 19.5 (C-22), 19.9 (q, C-22'), 20.2 (t, C-33), 24.2 (t, C-27), 24.6 (t, C-34), 25.9 (t, C-32), 29.4 (q, C-23), 30.2 (d, C-21), 31.3 (t, C-19), 32.6 (t, C-18), 36.4 (d, C-2), 37.0, 37.1 (d, t, C-4, C-26), 40.7 (t, C-6), 42.2 (t, C-35), 49.0 (d, C-5), 51.8 (q, C-42), 53.8 (d, C-25), 54.9 (d, C-31), 58.9 (d, C-20), 67.7 (t, C-37), 124.1 (d, C-13), 126.5, 127.8, 127.7, 128.0, 128.3, 128.4, 128.6, 129.4 (s, 8 d, C-8, C-9, C-10, C-12, C-14, C-17, C-39, C-40, C-41), 131.4 (s, C-15), 136.2 (s, C-38), 137.7 (s, C-7), 142.1 (s, C-16), 155.6 (s, C-36), 167.0 (s, C-11), 170.4 (s, C-30), 173.5 (s, C-24), 177.0 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.02 (d, $^3J_{22,11}$ = 6.5 Hz, 3 H, 22-H), 2.78 (s, 3 H, 23-H), 3.57 (m, 1 H, 20-H), 4.20 (m, 1 H, 35-H_{eq}), 4.97–5.05 (sh, 3 H, 25-H, 37-H), 7.50–7.52 (sh, 2 H, 13-H, 17-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.2 (q, C-28), 16.2 (q, C-29), 17.5 (q, C-3), 20.3 (C-22), 20.5 (q, C-22'), 27.4 (q, C-23), 31.3 (d, C-21), 32.0 (t, C-19), 32.9 (t, C-18), 63.2 (d, C-20), 67.5 (t, C-37), 137.9 (s, C-7), 141.7 (s, C-16), 155.5 (s, C-36), 176.9 (s, C-1).

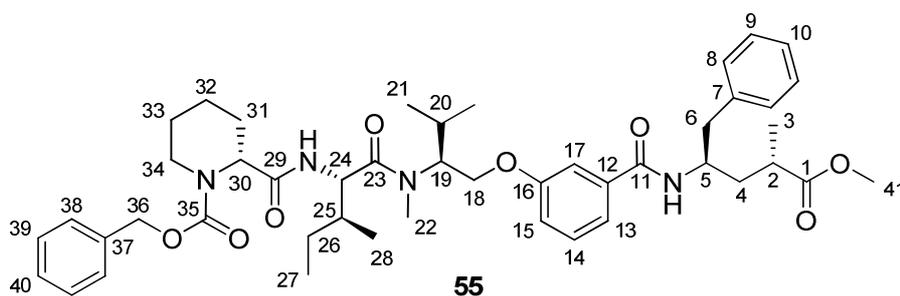
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +23.1^\circ$ (c = 0.9, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₄₇ H ₆₆ N ₄ O ₇ [M+2H] ²⁺	798.4931	798.4973

(R)-2-((2S,3S)-1-(((S)-1-(3-((2R,4S)-5-Methoxy-4-methyl-5-oxo-1-phenylpentan-2-ylcarbamoyl)phenoxy)-3-methylbutan-2-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbamoyl)piperidin-1-carbonsäurebenzylester (55)

Nach **AAV 1** wurden 395 mg (0.66 mmol) Säure **53** mit 190 mg (0.74 mmol) Tubu-phenylalaninmethylester-Hydrochlorid^[22], 175 μ l (1.59 mmol) NMM und 92 μ l (0.69 mmol) IBCF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 1:1) wurde Tetrapeptid **55** (366 mg, 0.46 mmol, 74%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 58–60°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 1:1, R_f (**55**) = 0.20]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.78–0.88 (sh, 6 H, 21-H, 27-H), 0.94 (d, $^3J_{28,25}$ = 6.5 Hz, 3 H, 28-H), 1.04 (d, $^3J_{21',20}$ = 6.5 Hz, 3 H, 21'-H), 1.10 (m, 1 H, 26-H_a), 1.18 (d, $^3J_{3,2}$ = 7.15 Hz, 3 H, 3-H), 1.32–1.45 (sh, 2 H, 32-H_{ax}, 33-H_{ax}), 1.45–1.65 (sh, 4 H, 26-H_b, 31-H_{ax}, 32-H_{eq}, 33-H_{eq}), 1.69 (ddd, $^2J_{4a,4b}$ = 14.2 Hz, $^3J_{4,2}$ = 9.7 Hz, $^3J_{4,5}$ = 4.2 Hz, 1 H, 4-H_a), 1.81 (m, 1 H, 25-H_a), 1.93–2.05 (sh, 2 H, 4-H_b, 20-H), 2.28 (m, 1 H, 31-H_{eq}), 2.66 (m, 1 H, 2-H), 2.89 (dd, $^2J_{6a,6b}$ = 13.8 Hz, $^3J_{6a,5}$ = 6.8 Hz, 1 H, 6-H_a), 2.93 (m, 1 H, 34-H_{ax}), 2.98 (dd, $^2J_{6b,6a}$ = 13.6 Hz, $^3J_{6b,5}$ = 5.9 Hz, 1 H, 6-H_b), 3.08 (s, 3 H, 22-H), 3.63 (s, 3 H, 41-H), 4.00–4.25 (sh, 3 H, 18-H, 34-H_{eq}), 4.41 (m, 1 H, 5-H), 4.69 (m, 1 H, 19-H), 4.78 (m, 1 H, 24-H), 4.87 (m, 1 H, 30-H), 5.15 (d, $^2J_{36a,36b}$ = 12.6 Hz, 1 H, 36-H_a), 5.20 (d, $^2J_{36b,36a}$ = 12.5 Hz, 1 H, 36-H_b), 6.23 (bs, 1 H, NH), 6.79 (bs, 1 H, NH), 6.94 (d, $^3J_{15,14}$ = 7.8 Hz, 1 H, 15-H), 7.16 (d, $^3J_{13,14}$ = 7.7 Hz, 1 H, 13-H), 7.19–7.26 (sh, 3 H, 8-H, 10-H), 7.27–7.38 (sh, 9 H, 9-H, 14-H, 17-H, 38-H, 39-H, 40-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.0 (q, C-27), 15.4 (q, C-28), 17.3 (q, C-3), 19.4 (q, C-21), 19.7 (q, C-21'), 20.3 (t, C-32), 24.4 (t, C-26), 24.6 (t, C-33), 25.8 (t, C-31), 26.8 (d, C-20), 30.4 (d, C-20), 30.4 (d, C-2), 37.0 (t, C-4), 37.1 (d, C-25), 40.7 (t, C-6), 42.3 (t, C-34), 49.0 (d, C-5), 51.8 (q, C-41), 53.7 (d, C-24), 54.9 (d, C-30), 58.2 (d, C-19), 66.5 (t, C-18), 67.7 (t, C-36), 112.6 (d, C-17), 118.4 (d, C-15), 118.7 (d, C-13), 126.5, 127.8, 128.0, 128.4, 128.5, 129.4, 129.5 (7 d, C-8, C-9, C-10, C-14, C-38,

C-39, C-40), 136.0 (s, C-12), 136.3 (s, C-37), 137.6 (s, C-7), 156.6 (s, C-35), 158.7 (s, C-16), 166.5 (s, C-11), 170.2 (s, C-29), 173.5 (s, C-23), 177.0 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.01 (d, $^3J_{21,20}$ = 6.7 Hz, 3 H, 21-H), 1.11 (d, $^3J_{21',20}$ = 6.4 Hz, 3 H, 21'-H), 2.09 (m, 1 H, 20-H), 2.84 (s, 3 H, 22-H), 3.61 (s, 3 H, 41-H), 3.89 (m, 1 H, 19-H), 6.55 (bs, 1 H, NH), 7.01 (m, 1 H, 15-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.4 (q, C-27), 16.1 (q, C-28), 17.4 (q, C-3), 20.0 (q, C-21), 26.1 (t, C-31), 36.4 (d, C-20), 40.8 (t, C-6), 42.0 (t, C-34), 49.1 (d, C-5), 51.7 (q, C-41), 55.4 (d, C-30), 62.3 (d, C-19), 67.5 (t, C-36), 137.8 (s, C-7), 155.4 (s, C-35), 158.6 (s, C-16), 166.5 (s, C-11), 173.0 (s, C-23), 176.9 (s, C-1).

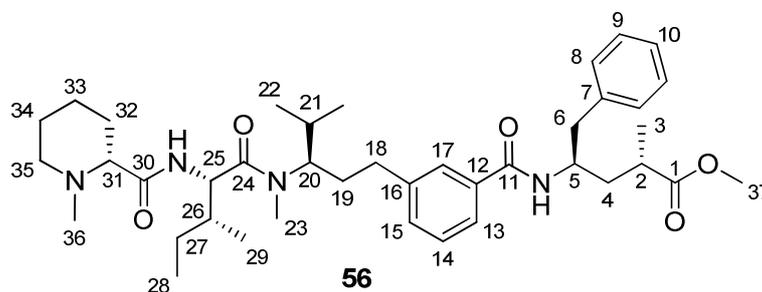
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20}$ = +1.2° (c = 1.4, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₉ H ₅₅ N ₄ O ₇ [M-C ₇ H ₇ O] ⁺	691.4071	691.4100

(2*S*,4*R*)-4-(3-((*R*)-3-((2*S*,3*S*)-*N*,3-Dimethyl-2-((*R*)-1-methylpiperidin-2-carbox-amido)pentanamido)-4-methylpentyl)benzamido)-2-methyl-5-phenylpentan-säuremethylester (56**)**

Gemäß **AAV 7** wurden 253 mg (0.32 mmol) Tetrapeptid **54** mit 27 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 29 mg (0.32 mmol) Paraformaldehyd und 22 mg (0.32 mmol) Natriumcyanoborhydrid nach **AAV 10** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 97:3, 95:5) wurde **56** (168 mg, 0.25 mmol, 78%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 45–47°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 95:5, R_f(**56**) = 0.26]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.73 (d, $^3J_{22,21}$ = 6.6 Hz, 3 H, 22-H), 0.86 (d, $^3J_{22',21}$ = 6.4 Hz, 3 H, 22'-H), 0.89 (t, $^3J_{28,27}$ = 7.4 Hz, 3 H, 28-H), 0.99 (d, $^3J_{29,26}$ = 6.8 Hz, 3 H, 29-H), 1.16 (d, $^3J_{3,2}$ = 7.2 Hz, 3 H, 3-H), 1.15–1.25 (sh, 2 H, 27-H_a, 33-H_{ax}), 1.36 (m, 1 H, 32-H_{ax}), 1.45–1.74 (sh, 7 H, 4-H_a, 19-H_a, 21-H, 27-H_b, 33-H_{eq}, 34-H), 1.79–1.92

(sh, 3 H, 19-H_b, 26-H, 32-H_{eq}), 1.97–2.04 (sh, 2 H, 4-H_b, 35-H_{ax}), 2.24 (s, 3 H, 36-H), 2.40–2.50 (m, 2 H, 18-H_a, 31-H), 2.55 (m, 1 H, 18-H_b), 2.65 (m, 1 H, 2-H), 2.84–2.93 (sh, 2 H, 6-H_a, 35-H_{eq}), 2.95–3.04 (sh, 4 H, 6-H_b, 23-H), 3.60 (s, 3 H, 37-H), 4.28 (bs, 1 H, 20-H), 4.41 (m, 1 H, 5-H), 4.81 (dd, $^3J_{25,26} = ^3J_{25,NH} = 8.9$ Hz, 1 H, 25-H), 6.60 (d, $^3J_{NH,5} = 8.2$ Hz, 1 H, NH), 7.06 (d, $^3J_{NH,25} = 9.5$ Hz, 1 H, NH), 7.18–7.33 (sh, 7 H, 8-H, 9-H, 10-H, 14-H, 15-H), 7.51–7.56 (sh, 2 H, 13-H, 17-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 10.9$ (q, C-28), 15.9 (q, C-29), 17.6 (q, C-3), 19.6 (q, C-22), 20.0 (q, C-22'), 23.2 (t, C-33), 24.7 (t, C-27), 25.1 (t, C-34), 29.5 (q, C-23), 30.2 (d, C-21), 30.4 (t, C-32), 31.4 (t, C-19), 32.6 (t, C-18), 36.4 (d, C-2), 37.2, 37.3 (d, t, C-4, C-26), 41.2 (t, C-6), 44.9 (q, C-36), 49.1 (d, C-5), 51.7 (q, C-37), 53.0 (d, C-25), 55.4 (t, C-35), 68.4 (d, C-20), 69.6 (d, C-31), 124.6 (d, C-13), 126.4 (d, C-10), 127.1 (d, C-17), 128.6 (d, C-14), 128.4, 129.4 (2 d, C-8, C-9), 131.2 (d, C-15), 134.5 (s, C-12), 137.9 (s, C-7), 142.0 (s, C-16), 166.9 (s, C-11), 173.3 (s, C-30), 174.2 (s, C-24), 176.9 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 0.91$ – 0.95 (sh, 6 H, 22-H, 29-H), 2.22 (s, 3 H, 36-H), 2.79 (s, 3 H, 23-H), 3.56 (m, 1 H, 20-H), 3.61 (s, 3 H, 37-H), 5.01 (dd, $^3J_{25,NH} = 9.7$ Hz, $^3J_{25,26} = 5.6$ Hz, 1 H, 25-H), 6.53 (d, $^3J_{NH,5} = 8.4$ Hz, 1 H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 11.4$ (q, C-28), 16.5 (q, C-29), 20.3 (q, C-22), 20.6 (q, C-22'), 23.9 (t, C-33), 31.9 (t, C-19), 40.9 (t, C-6), 49.1 (q, C-36), 49.0 (d, C-5), 69.8 (d, C-31).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = +35.2^\circ$ (c = 1.2, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₄₀ H ₆₁ N ₄ O ₅ [M+H] ⁺	677.4643	677.4634

Elementaranalyse:

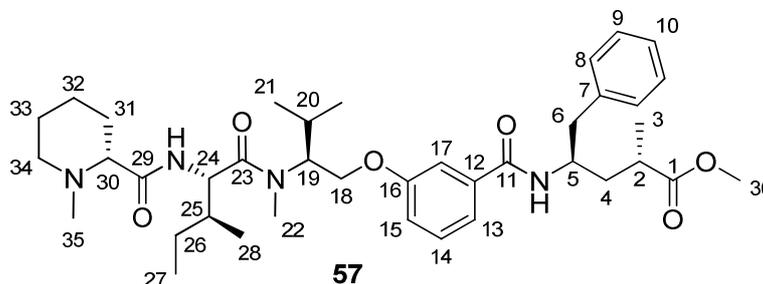
C ₄₀ H ₆₀ N ₄ O ₅	ber.	C 70.97	H 8.93	N 8.28
(676.93)	gef.	C 70.10	H 8.67	N 7.92

(2S,4R)-4-(3-((S)-2-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-3-methylbutoxy)benzamido)-2-methyl-5-phenylpentansäuremethylester (57)

Gemäß **AAV 7** wurden 282 mg (0.35 mmol) Tetrapeptid **57** mit 33 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 31 mg (0.34 mmol) Paraformaldehyd und 24 mg (0.38 mmol) Natriumcyanoborhydrid nach **AAV 10** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 9:1) wurde **57**

(177 mg, 0.26 mmol, 76%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 56–58°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, R_f (**57**) = 0.29]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 0.84 (d, $^3J_{21,20}$ = 6.6 Hz, 3 H, 21-H), 0.88 (t, $^3J_{27,26}$ = 7.4 Hz, 3 H, 27-H), 0.96 (d, $^3J_{28,25}$ = 6.7 Hz, 3 H, 28-H), 1.02 (d, $^3J_{21',20}$ = 6.3 Hz, 3 H, 21'-H), 1.17 (d, $^3J_{3,2}$ = 7.2 Hz, 3 H, 3-H), 1.12–1.25 (sh, 2 H, 26- H_a , 32- H_{ax}), 1.36 (m, 1 H, 31- H_{ax}), 1.42–1.72 (sh, 5 H, 4- H_a , 26- H_b , 32- H_{eq} , 33-H), 1.77 (m, 1 H, 31- H_{eq}), 1.87 (m, 1 H, 25-H), 1.93–2.04 (sh, 3 H, 4- H_b , 20-H, 34- H_{ax}), 2.21 (s, 3 H, 35-H), 2.45 (dd, $^3J_{30,31eq}$ = 10.7 Hz, $^3J_{30,31ax}$ = 2.1 Hz, 1 H, 30-H), 2.65 (m, 1 H, 2-H), 2.86–2.91 (sh, 2 H, 6- H_a , 34- H_{eq}), 2.97 (dd, $^2J_{6b,6a}$ = 13.7 Hz, $^3J_{6b,5}$ = 5.9 Hz, 1 H, 6- H_b), 3.08 (s, 3 H, 22-H), 3.62 (s, 3 H, 36-H), 4.08 (m, 2 H, 18-H), 4.40 (m, 1 H, 5-H), 4.65 (bs, 1 H, 19-H), 4.74 (dd, $^3J_{24,NH}$ = $^3J_{24,25}$ = 9.0 Hz, 1 H, 24-H), 6.21 (d, $^3J_{NH,5}$ = 7.3 Hz, 1 H, NH), 6.94 (dd, $^3J_{15,14}$ = 8.2 Hz, $^4J_{15,13}$ = 2.2 Hz, 1 H, 15-H), 7.01 (d, $^3J_{NH,24}$ = 9.3 Hz, 1 H, NH), 7.15–7.35 (sh, 8 H, 8-H, 9-H, 10-H, 13-H, 14-H, 17-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 10.9 (q, C-27), 15.5 (q, C-28), 17.3 (q, C-3), 19.5 (q, C-21), 19.8 (q, C-21'), 23.2 (t, C-34), 24.8 (t, C-26), 25.1 (t, C-33), 26.9 (d, C-20), 30.3 (t, C-31), 30.7 (q, C-22), 36.4 (d, C-2), 37.0 (t, C-4), 37.2 (d, C-25), 40.7 (t, C-6), 44.8 (q, C-35), 48.9 (d, C-59), 51.8 (q, C-36), 52.8 (d, C-24), 55.4 (t, C-34), 58.1 (d, C-19), 67.1 (t, C-18), 69.7 (d, C-30), 112.5 (d, C-17), 118.3 (d, C-15), 118.7 (d, C-13), 126.5 (d, C-10), 128.4, 129.4 (2 d, C-8, C-9), 129.5 (d, C-14), 136.1 (s, C-12), 137.6 (s, C-7), 158.8 (s, C-16), 166.5 (s, C-11), 173.2, 174.4 (2 s, C-7, C-13), 177.0 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 1.10 (d, $^3J_{21,20}$ = 6.5 Hz, 3 H, 21-H), 1.14 (d, $^3J_{3,2}$ = 7.3 Hz, 3 H, 3-H), 2.05 (m, 1 H, 20-H), 2.25 (s, 3 H, 35-H), 2.45 (m, 1 H, 30-H), 2.78 (dd, $^2J_{6a,6b}$ = 13.5 Hz, $^3J_{6a,5}$ = 7.7 Hz, 1 H, 6- H_a), 2.84 (s, 3 H, 22-H), 3.03 (dd, $^2J_{6b,6a}$ = 13.8 Hz, $^3J_{6b,5}$ = 5.7 Hz, 1 H, 6- H_b), 3.58 (s, 3 H, 36-H), 3.85 (m, 1 H, 19-H), 5.22 (dd, $^3J_{24,NH}$ = 9.5 Hz, $^3J_{24,25}$ = 4.4 Hz, 1 H, 24-H), 6.75 (d, $^3J_{NH,5}$ = 8.4 Hz, 1 H, NH), 7.48 (s, 1 H, 17-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.6$ (q, C-27), 16.5 (q, C-28), 17.6 (q, C-3), 20.0 (q, C-21), 20.4 (q, C-21'), 23.5 (t, C-34), 27.4 (d, C-20), 27.8 (q, C-22), 36.4 (d, C-2), 41.4 (t, C-6), 45.1 (q, C-35), 49.4 (d, C-59), 51.7 (q, C-36), 53.3 (d, C-24), 55.5 (t, C-34), 62.4 (d, C-19), 66.9 (t, C-18), 70.2 (d, C-30), 113.8 (d, C-17), 117.3 (d, C-15), 119.8 (d, C-13), 126.4 (d, C-10), 135.6 (s, C-12), 138.0 (s, C-7), 158.5 (s, C-16), 166.2 (s, C-11), 173.0, 174.2 (2 s, C-7, C-13), 176.8 (s, C-1).

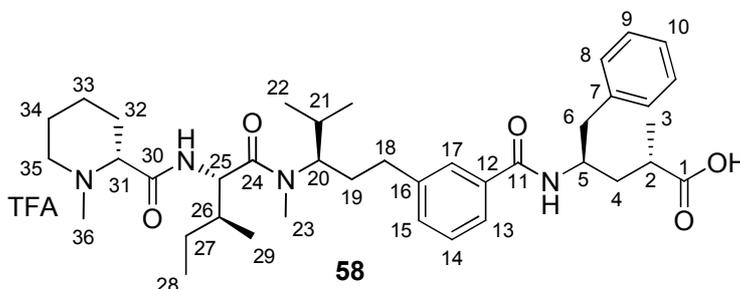
Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +6.8^\circ$ ($c = 1.4$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{39}\text{H}_{59}\text{N}_4\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	679.4434	679.4454

(2*S*,4*R*)-4-(3-((*R*)-3-((2*S*,3*S*)-*N*,3-Dimethyl-2-((*R*)-1-methylpiperidin-2-carbox-amido)pentanamido)-4-methylpentyl)benzamido)-2-methyl-5-phenylpentan-säure-TFA-Salz (58**)**

Gemäß **AAV 5** wurden 66 mg (97 μmol) **56** mit 200 μl (200 μmol) 1 M NaOH-Lösung bei 80°C entschützt (Dioxan, 4 h). Nach Aufarbeitung (angesäuert mit TFA) und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 9:1) wurde Phenylprätubulysin **58** (68 mg, 88 μmol , 91%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 110–112°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, $R_f(\mathbf{58}) = 0.30$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 400 MHz): $\delta = 0.80$ (d, $^3J_{22,21} = 6.4$ Hz, 3 H, 22-H), 0.89–1.00 (sh, 6 H, 28-H, 29-H), 1.05 (d, $^3J_{22',21} = 6.7$ Hz, 3 H, 22'-H), 1.18 (d, $^3J_{3,2} = 7.0$ Hz, 3 H, 3-H), 1.26 (m, 1 H, 27-H_a), 1.51–1.73 (sh, 3 H, 4-H_a, 27-H_b, 33-H_{ax}), 1.73–1.88 (sh, 4 H, 4-H_b, 19-H_a, 32-H_{ax}, 34-H_{ax}), 1.88–2.03 (sh, 5 H, 19-H_b, 21-H, 26-H, 33-H_{eq}, 34-H_{eq}), 2.15 (m, 1 H, 32-H_{eq}), 2.48 (m, 1 H, 18-H_a), 2.51–2.62 (sh, 2 H, 2-H, 18-H_b), 2.73 (s, 3 H, 36-H), 2.89 (d, $^3J_{6,5} = 6.9$ Hz, 2 H, 6-H), 3.06 (m, 1 H, 35-H_{ax}), 3.13 (s, 3 H, 23-H), 3.49 (m, 1 H, 35-H_{eq}), 3.78 (dd, $^3J_{31,32\text{eq}} = 11.8$ Hz, $^3J_{31,32\text{ax}} = 2.4$ Hz, 1 H, 31-H), 4.18 (bs, 1 H, 20-H), 4.39 (m, 1 H, 5-H), 4.71 (d, $^3J_{25,26} = 7.9$ Hz, 1 H, 25-H), 7.16 (m, 1 H, 10-H), 7.20–7.28 (sh, 4 H, 8-H, 9-H), 7.31–7.36 (sh, 2 H, 14-H, 15-H), 7.50–7.58 (sh, 13-H, 17-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-28), 16.2 (q, C-29), 18.6 (q, C-3), 20.3 (q, C-22), 20.6 (q, C-22'), 22.3 (t, C-33), 24.0 (t, C-34), 25.5 (t, C-27), 30.2 (t, C-32), 30.5 (q, C-23), 31.3 (d, C-21), 32.6 (t, C-19), 34.1 (t, C-18), 37.5 (d, C-26), 38.0 (d, C-2), 39.2 (t, C-4), 42.4 (q, C-36), 42.9 (t, C-6), 51.1 (d, C-5), 56.2 (t, C-35), 56.3 (d, C-25), 61.7 (d, C-20), 68.1 (d, C-31), 118.3 (q, $^2J_{C,F}$ = 293 Hz, $\underline{C}F_3COOH$), 125.9 (d, C-13), 127.4 (d, C-10), 128.3 (d, C-17), 129.3 (d, C-8), 129.6 (d, C-14), 130.5 (d, C-9), 132.5 (d, C-15), 136.2 (s, C-12), 139.9 (s, C-7), 143.6 (s, C-16), 163.0 (q, $^3J_{C,F}$ = 32.9 Hz, $CF_3\underline{C}OOH$), 169.3 (s, C-11), 170.3 (s, C-30), 174.5 (s, C-24), 180.2 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): δ = 1.09 (d, $^3J_{22,21}$ = 6.7 Hz, 3 H, 22-H), 1.36 (d, $^3J_{3,2}$ = 6.4 Hz, 3 H, 3-H), 2.21 (m, 1 H, 32- H_{eq}), 2.73 (s, 3 H, 36-H), 3.13 (s, 3 H, 23-H), 3.49 (m, 1 H, 35- H_{eq}), 3.85 (dd, $^3J_{31,32eq}$ = 11.8 Hz, $^3J_{31,32ax}$ = 2.4 Hz, 1 H, 31-H), 5.05 (d, $^3J_{25,26}$ = 5.5 Hz, 1 H, 25-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): δ = 11.7 (q, C-28), 16.5 (q, C-29), 21.1 (q, C-22), 28.4 (q, C-23), 43.0 (t, C-6), 51.2 (d, C-2), 55.4 (d, C-25), 65.1 (d, C-20), 125.7 (d, C-13), 128.6 (d, C-17), 132.3 (d, C-15), 143.4 (s, C-16), 173.7 (s, C-24).

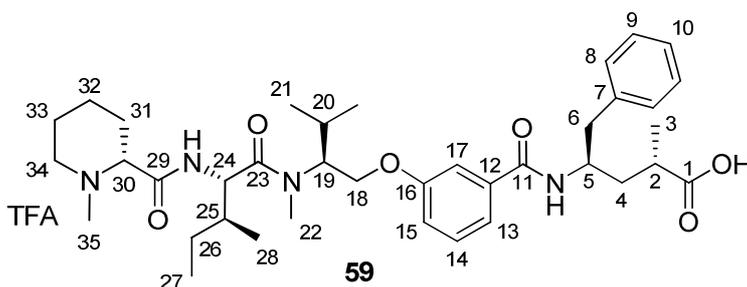
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -21.3^\circ$ (c = 1.1, MeOH)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₉ H ₅₉ N ₄ O ₅ [M+H] ⁺	663.4485	663.4474

(2S,4R)-4-(3-((S)-2-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carbox-amido) pentanamido)-3-methylbutoxy)benzamido)-2-methyl-5-phenylpentan-säure-TFA-Salz (59)

Gemäß **AAV 5** wurden 103 mg (150 μ mol) **57** mit 300 μ l (300 μ mol) 1 M NaOH-Lösung bei 80°C entschützt (Dioxan, 4 h). Nach Aufarbeitung (angesäuert mit TFA) und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 9:1) wurde Phenoxyprätubulysin **59** (112 mg, 140 μ mol, 94%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 116–118°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, R_f(**59**) = 0.19]



Hauptrotamer

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): δ = 0.88 (d, $^3J_{21,20}$ = 6.5 Hz, 3 H, 21-H), 0.92 (t, $^3J_{27,26}$ = 7.6 Hz, 3 H, 27-H), 1.02 (d, $^3J_{28,25}$ = 6.5 Hz, 3 H, 28-H), 1.07 (d, $^3J_{21,20}$ = 6.3 Hz, 3 H, 21-H), 1.18 (d, $^3J_{3,2}$ = 7.0 Hz, 3 H, 3-H), 1.22 (m, 1 H, 26-H_a), 1.56–1.71 (sh, 3 H, 4-H_a, 26-H_a, 32-H_{ax}), 1.76–1.82 (sh, 2 H, 31-H_{ax}, 33-H_{ax}), 1.84–1.94 (sh, 3 H, 25-H, 32-H_{eq}, 33-H_{eq}), 1.96–2.08 (sh, 4-H_b, 20-H), 2.13 (m, 1 H, 31-H_{eq}), 2.57 (m, 1 H, 2-H), 2.72 (s, 3 H, 35-H), 2.88 (d, $^3J_{6,5}$ = 6.8 Hz, 2 H, 6-H), 3.07 (ddd, $^2J_{34ax,34eq}$ = $^3J_{34ax,33ax}$ = 12.8 Hz, $^3J_{34ax,33eq}$ = 2.6 Hz, 1 H, 34-H_{ax}), 3.15 (s, 3 H, 22-H), 3.48 (m, 1 H, 34-H_{eq}), 3.75 (dd, $^3J_{30,31eq}$ = 12.0 Hz, $^3J_{30,31ax}$ = 2.8 Hz, 1 H, 30-H), 4.17 (m, 1 H, 5-H), 4.61–4.63 (sh, 2 H, 19-H, 24-H), 7.03 (d, $^3J_{15,14}$ = 7.2 Hz, 1 H, 15-H), 7.16 (m, 1 H, 10-H), 7.20–7.35 (sh, 7 H, 9-H, 13-H, 14-H, 17-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): δ = 11.2 (q, C-27), 15.6 (q, C-28), 18.5 (q, C-3), 20.1 (q, C-21), 20.4 (C-21'), 22.3 (t, C-32), 24.1 (t, C-33), 26.0 (t, C-26), 28.1 (d, C-20), 30.1 (t, C-31), 31.2* (q, C-22), 37.7 (d, C-25), 37.9 (d, C-2), 39.2 (t, C-4), 42.3 (t, C-6), 42.8 (q, C-35), 51.1 (d, C-5), 56.0 (d, C-24), 56.2 (t, C-34), 60.5 (d, C-19), 67.6 (t, C-18), 68.1 (d, C-30), 114.0 (d, C-17), 119.0 (d, C-15), 120.8 (d, C-13), 127.4 (d, C-10), 129.3, 130.5 (2 d, C-8, C-9), 130.6 (d, C-14), 137.7 (s, C-12), 139.9 (s, C-7), 160.0 (s, C-16), 169.2, 169.8 (2 s, C-11, C-29), 175.0 (s, C-23), 180.0 (s, C-1).

* aus C-H-Cosy bestimmt

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): δ = 1.14 (d, $^3J_{21,20}$ = 6.9 Hz, 3 H, 21-H), 2.54 (s, 3 H, 35-H), 2.78 (s, 3 H, 22-H), 2.97 ($^2J_{34ax,34eq}$ = $^3J_{34ax,33ax}$ = 12.7 Hz, $^3J_{34ax,33eq}$ = 2.9 Hz, 1 H, 34-H_{ax}), 3.42 (m, 1 H, 34-H_{eq}), 3.81 (dd, $^3J_{30,31eq}$ = 11.9 Hz, $^3J_{30,31ax}$ = 3.1 Hz, 1 H, 30-H), 4.06–4.08 (sh, 2 H, 18-H_a, 19-H), 4.26 (m, 1 H, 18-H_b), 7.10 (d, $^3J_{15,14}$ = 7.2 Hz, 1 H, 15-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): δ = 11.5 (q, C-27), 16.4 (q, C-28), 20.3 (q, C-21), 20.8 (C-21'), 39.3 (t, C-4), 42.4 (t, C-6), 43.0 (q, C-35), 55.3 (d, C-5), 64.0 (d, C-19), 120.7 (d, C-13), 137.5 (s, C-12), 139.9 (s, C-7), 168.8, 169.5 (2 s, C-11, C-29), 174.5 (s, C-23).

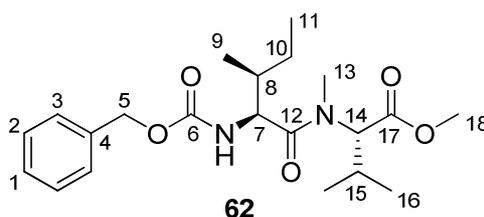
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -32.5^\circ$ (c = 1.0, MeOH)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₈ H ₅₇ N ₄ O ₆ [M+H] ⁺	665.4278	665.4251

(S)-2-((2S,3S)-2-(Benzyloxycarbonylamino)-N,3-dimethylpentanamido)-3-methylbutansäuremethylester (62)

Gemäß **AAV 2** wurden 331 mg (1.25 mmol) Cbz-geschütztes (S,S)-Isoleucin, 200 mg (1.10 mmol) *N*-Methylvalinmethylester-Hydrochlorid **61**, 341 mg (1.25 mmol) BEP und 560 μ l (3.29 mmol) DIPEA umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 8:2) wurde Dipeptid **62** (343 mg, 0.87 mmol, 79%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: Hexan/EE = 8:2, $R_f(\mathbf{62}) = 0.20$]

*Hauptrotamer*

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.82$ (d, $^3J_{16,15} = 6.7$ Hz, 3 H, 16-H), 0.87 (t, $^3J_{11,10} = 7.4$ Hz, 3 H, 11-H), 0.93 (d, $^3J_{9,8} = 6.7$ Hz, 3 H, 9-H), 1.00 (d, $^3J_{16',15} = 6.5$ Hz, 3 H, 16'-H), 1.12 (m, 1 H, 10-H_a), 1.57 (m, 1 H, 10-H_b), 1.75 (m, 1 H, 8-H), 2.21 (m, 1 H, 15-H), 3.06 (s, 3 H, 13-H), 3.68 (s, 3 H, 18-H), 4.53 (dd, $^3J_{7,\text{NH}} = 9.2$ Hz, $^3J_{7,8} = 7.6$ Hz, 1 H, 7-H), 4.93 (d, $^3J_{14,15} = 10.5$ Hz, 1 H, 14-H), 5.08 (s, 2 H, 5-H), 5.43 (d, $^3J_{\text{NH},7} = 9.4$ Hz, 1 H, NH), 7.28 – 7.36 (sh, 5 H, 1-H, 2-H, 3-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.1$ (q, C-11), 15.3 (q, C-9), 18.6 (q, C-16), 19.7 (q, C-16'), 24.1 (t, C-10), 27.0 (d, C-15), 31.3 (q, C-13), 37.8 (d, C-8), 51.8 (q, C-18), 55.1 (d, C-7), 61.4 (d, C-14), 66.8 (t, C-5), 127.8 , 128.0 , 128.4 (3 d, C-1, C-2, C-3), 136.3 (s, C-4), 156.4 (s, C-6), 172.0 (s, C-17), 173.3 (s, C-12).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.03$ (d, $^3J_{16,15} = 6.5$ Hz, 3 H, 16-H), 2.33 (m, 1 H, 15-H), 2.87 (s, 3 H, 13-H), 3.60 (s, 3 H, 18-H), 4.65 (dd, $^3J_{7,\text{NH}} = 9.4$ Hz, $^3J_{7,8} = 6.6$ Hz, 1 H, 7-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.4$ (q, C-17), 16.0 (q, C-9), 19.0 (q, C-16), 23.5 (t, C-10), 27.5 (d, C-15), 28.9 (q, C-13), 38.1 (d, C-8), 52.1 (q, C-18), 55.3 (d, C-7), 156.0 (s, C-6).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -96.2^\circ$ ($c = 0.9$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	392.2389	393.2403

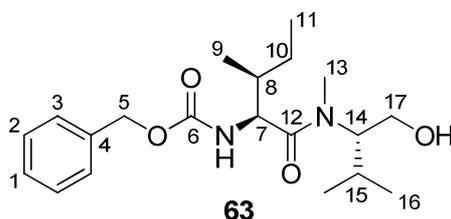
Elementaranalyse:

C ₂₁ H ₃₂ N ₂ O ₅	ber.	C 64.26	H 8.22	N 7.14
(392.52)	gef.	C 63.76	H 7.64	N 6.92

Benzyl-(2S,3S)-1-(((S)-1-hydroxy-3-methylbutan-2-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbamat (63**)**

1.49 g (3.78 mmol) Dipeptid **62** wurden in 5 ml absolutem THF gelöst. Anschließend wurden nacheinander 336 mg (7.93 mmol) wasserfreies Lithiumchlorid, 300 mg (7.93 mmol) Natriumborhydrid sowie 10 ml absolutes Ethanol zugegeben und die Suspension kräftig 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Niederschlag wurde mit 10%iger Zitronensäure-Lösung aufgelöst und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde mit Wasser versetzt und die wässrige Phase mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (SiO₂, Hexan/EE = 1:1) gereinigt, wobei **63** (900 mg, 2.47 mmol, 84%) als farbloses Harz erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 1:1, R_f(**63**) = 0.17]


Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.83 (d, ³J_{16,15} = 6.6 Hz, 3 H, 16-H), 0.87 (t, ³J_{11,10} = 7.4 Hz, 3 H, 11-H), 0.96–0.98 (sh, 6 H, 9-H, 16'-H), 1.11 (m, 1 H, 10-H_a), 1.57 (m, 1 H, 10-H_b), 1.79 (m, 1 H, 8-H), 1.93 (m, 1 H, 15-H), 2.53 (bs, 1 H, OH), 3.04 (s, 3 H, 13-H), 3.65 (m, 1 H, 17-H_a), 3.84 (m, 1 H, 17-H_b), 4.00 (m, 1 H, 14-H), 4.53 (dd, ³J_{7,NH} = 9.2 Hz, ³J_{7,8} = 7.2 Hz, 1 H, 7-H), 5.09 (s, 2 H, 5-H), 5.55 (d, ³J_{NH,7} = 9.1 Hz, 1 H, NH), 7.27–7.36 (sh, 5 H, 1-H, 2-H, 3-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.1 (q, C-11), 15.7 (q, C-9), 18.6 (q, C-16), 24.0 (t, C-10), 26.6 (d, C-15), 32.3 (q, C-13), 37.4 (d, C-8), 55.8 (d, C-7), 61.6 (t, C-17), 64.1 (d, C-14), 66.8 (t, C-5), 127.9, 128.0, 128.5 (3 d, C-1, C-2, C-3), 136.4 (s, C-4), 156.5 (s, C-6), 174.0 (s, C-12).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.91–0.93 (sh, 6 H, 9-H, 17-H), 1.02 (d, ³J_{9',8} = 6.5 Hz, 3 H, 9'-H), 2.78 (s, 3 H, 13-H), 2.92 (bs, 1 H, OH), 3.45 (1 H, 14-H), 4.57 (dd, ³J_{7,NH} = 9.2 Hz, ³J_{7,8} = 7.7 Hz, 1 H, 7-H), 5.02 (d, ²J_{5a,5b} = 12.2 Hz, 1 H, 5-H_a), 5.10 (d, ²J_{5b,5a} = 12.2 Hz, 1 H, 5-H_b), 5.60 (d, ³J_{NH,7} = 8.7 Hz, 1 H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.2 (q, C-11), 16.2 (q, C-9), 20.2 (q, C-16), 20.7 (q, C-16'), 24.1 (t, C-10), 27.4 (d, C-13), 28.2 (q, C-15), 37.6 (d, C-8), 55.0 (d, C-7), 61.3 (d, C-1), 65.2 (d, C-14), 67.2 (t, C-5), 136.1 (s, C-4), 157.3 (s, C-6), 173.6 (s, C-12).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -20.5^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

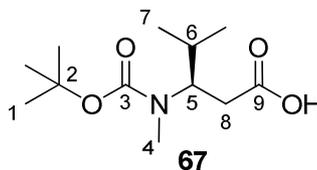
HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₂₀ H ₃₃ N ₂ O ₄ [M+H] ⁺	365.2440	365.2442

Elementaranalyse:

C ₂₀ H ₃₂ N ₂ O ₄	ber.	C 65.91	H 8.85	N 7.69
(364.48)	gef.	C 65.30	H 8.51	N 7.65

(R)-3-(tert-Butoxycarbonyl(methyl)amino)-4-methylpentansäure (67)

440 mg (1.90 mmol) Boc-β-L-Valin **66** und 0.90 ml (14.5 mmol) Methyljodid wurden in 60 ml absolutem THF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wurden vorsichtig 230 mg (5.75 mmol) NaH (60% in Mineralöl) eingetragen (starke H₂-Entwicklung), und die resultierende gelbe Suspension wurde einen Tag bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Wasser gequench, mit Diethylether verdünnt und dreimal mit ges. NaHCO₃-Lösung extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit 1 M HCl angesäuert (pH = 1) und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde nacheinander mit Wasser, 5%iger Na₂S₂O₃-Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, wobei die Säure **67** (431 mg, 1.80 mmol, 95%) als farbloses Harz erhalten wurde.


Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.86 (d, ³J_{7,6} = 6.6 Hz, 3 H, 7-H), 0.92 (d, ³J_{7',6} = 6.6 Hz, 3 H, 7'-H), 1.43 (s, 9 H, 1-H), 1.80 (m, 1 H, 6-H), 2.50 (m, 1 H, 8-H_a), 2.62 (m, 1 H, 8-H_b), 2.74 (s, 3 H, 4-H), 4.01 (m, 1 H, 5-H), 10.38 (bs, 1 H, OH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.6 (q, C-7), 20.1 (q, C-7'), 28.3 (q, C-1), 30.5 (q, C-4), 30.9 (d, C-6), 36.2 (t, C-8), 59.3 (d, C-5), 79.8 (s, C-2), 156.0 (s, C-3), 177.3 (s, C-9).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 2.71 (s, 3 H, 4-H), 3.92 (bs, 1 H, 5-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.5 (q, C-7), 19.9 (q, C-7'), 30.5 (d, C-6), 35.9 (t, C-8), 60.0 (d, C-5), 79.5 (s, C-2), 156.1 (s, C-3), 177.1 (s, C-9).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -6.0^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₂ H ₂₄ NO ₄ [M+H] ⁺	246.1705	246.1714

Elementaranalyse:

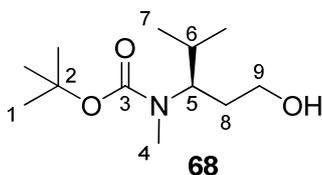
C ₁₂ H ₂₃ NO ₄	ber.	C 58.75	H 9.45	N 5.71
(245.31)	gef.	C 58.33	H 9.10	N 5.78

(R)-tert-Butyl-1-hydroxy-4-methylpentan-3-yl(methyl)carbamate (68)^[49]

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 290 mg (1.18 mmol) Säure **67** in 6 ml absolutem THF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurden nacheinander 182 µl (1.31 mmol) Triethylamin und 125 µl (1.31 mmol) Ethylchloroformiat langsam zuge-
tropft und 15 min bei 0°C gerührt.

In einem Dreihalskolben wurden 73 mg (1.93 mmol) Natriumborhydrid in 3 ml Wasser gelöst und auf 0°C gekühlt. Die aktivierte Säure wurde unter Stickstoff filtriert und das Filtrat langsam zur Natriumborhydridlösung getropft. Es wurde eine Stunde bei 0°C und weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit 1 M HCl hydrolysiert und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden nacheinander mit ges. NaHCO₃-Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer wurde der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Hexan/EE = 1:1) gereinigt, wobei Alkohol **68** (290 mg, 1.25 mmol, 78%) als farbloses Öl erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 1:1, R_f(**68**) = 0.27]



Hauptrotamer

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.88 (d, ³J_{7,6} = 6.4 Hz, 3 H, 7-H), 0.96 (d, ³J_{7',6} = 6.8 Hz, 3 H, 7'-H), 1.33 (m, 1 H, 8-H_a), 1.46 (s, 9 H, 1-H), 1.67 (m, 1 H, 6-H), 1.92 (m, 1 H, 8-H_b), 2.61 (s, 3 H, 4-H), 3.35 (ddd, ³J_{9a,8a} = ³J_{9a,8b} = 11.6 Hz, ²J_{9a,9b} = 2.8 Hz, 1 H, 9-H_a), 3.48–3.70 (sh, 2 H, 9-H_b, OH), 3.83 (ddd, ³J_{5,8a} = 12.0 Hz, ³J_{5,6} = 10.8 Hz, ³J_{5,8b} = 1 H, 5-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 20.2 (q, C-7), 27.9 (q, C-4), 28.4 (q, C-1), 30.0 (d, C-6), 31.7 (t, C-8), 57.3 (d, C-5), 59.8 (t, C-9), 80.0 (s, C-2), 158.0 (s, C-3).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.86 (d, ³J_{7,6} = 6.4 Hz, 3 H, 7-H), 0.94 (d, ³J_{7',6} = 6.4 Hz, 3 H, 7'-H), 2.66 (s, 3 H, 9-H).

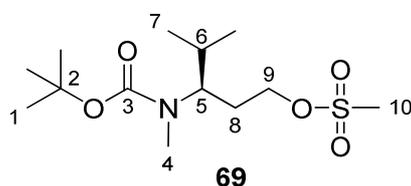
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 20.1 (q, C-7), 28.5 (q, C-1), 30.5 (d, C-6), 32.1 (t, C-8), 59.8 (d, C-5), 80.1 (s, C-2), 156.2 (s, C-3).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -20.3^\circ$ (c = 1.3, CHCl₃)

(R)-3-(tert-Butoxycarbonyl(methyl)amino)-4-methylpentyl-methansulfonat (69)

Zu einer Lösung aus 268 mg (1.16 mmol) Alkohol **68** und 0.50 ml (3.60 mmol) Triethylamin in 6 ml absolutem DCM wurden bei 0°C 135 μ l (1.74 mmol) Methansulfonsäurechlorid getropft und die resultierende gelbe Lösung weitere 3 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit DCM verdünnt und mit 1 M KHSO₄-Lösung, ges. NaHCO₃-Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösemittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Hexan/EE = 7:3) gereinigt, wobei Mesylat **69** (290 mg, 0.94 mmol, 81%) als farbloses Öl erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 7:3, R_f(**69**) = 0.14]


Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.85 (d, ³J_{7,6} = 6.6 Hz, 3 H, 7-H), 0.95 (d, ³J_{7',6} = 6.6 Hz, 3 H, 7'-H), 1.45 (s, 9 H, 1-H), 1.70 (m, 1 H, 6-H), 1.80 (m, 1 H, 8-H_a), 2.07 (m, 1 H, 8-H_b), 2.65 (s, 3 H, 4-H), 3.01 (s, 3 H, 10-H), 3.82 (ddd, ³J_{5,6} = ³J_{5,8a} = 11.0 Hz, ³J_{5,8b} = 3.0 Hz, 1 H, 5-H), 4.10 (m, 1 H, 9-H_a), 4.19 (m, 1 H, 9-H_b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 19.5$ (q, C-7), 19.7 (q, C-7'), 28.4 (q, C-1), 28.8 (q, C-4), 28.9 (t, C-8) 30.4 (d, C-6), 37.3 (q, C-10), 57.8 (d, C-5), 67.5 (t, C-9), 79.5 (s, C-2), 156.5 (s, C-3).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.86$ (d, $^3J_{7,6} = 6.5$ Hz, 3 H, 7-H), 0.94 (d, $^3J_{7',6} = 6.5$ Hz, 3 H, 7'-H), 1.46 (s, 9 H, 1-H), 2.69 (s, 3 H, 4-H), 2.99 (s, 3 H, 10-H), 3.65 (bs, 1 H, 5-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 20.0$ (q, C-7), 20.2 (q, C-7'), 28.4 (q, C-1), 29.5 (t, C 8), 30.7 (d, C-6), 37.3 (q, C-10), 67.6 (t, C-9), 79.9 (s, C-2), 156.3 (s, C-3).

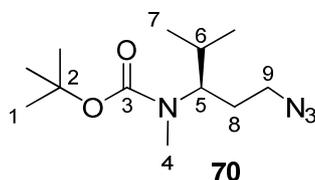
Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +6.1^\circ$ ($c = 1.5$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{13}\text{H}_{28}\text{NO}_5\text{S} [\text{M}+\text{H}]^+$	310.1688	310.1690

(*R*)-*tert*-Butyl-1-azido-4-methylpentan-3-yl(methyl)carbamat (**70**)

Eine Suspension von 280 mg (0.91 mmol) Mesylat **69** und 454 mg (7.01 mmol) Natriumazid in 9 ml absolutem DMF wurde 20 h bei 60°C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die weiße Suspension in eine gut gerührte Emulsion aus 20 ml Wasser und 20 ml Ethylacetat gegossen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit Wasser (3x) und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösemittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Hexan/EE = 8:2) gereinigt, wobei Azid **70** (218 mg, 0.85 mmol, 94%) als farbloses Öl erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 8:2, $R_f(\mathbf{70}) = 0.36$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.85$ (d, $^3J_{7,6} = 6.6$ Hz, 3 H, 7-H), 0.93 (d, $^3J_{7',6} = 6.6$ Hz, 3 H, 7'-H), 1.46 (s, 9 H, 1-H), 1.57–1.73 (sh, 2 H, 6-H, 8- H_a), 1.84 (m, 1 H, 8- H_b), 2.64 (s, 3 H, 4-H), 3.20 (m, 2 H, 9-H), 3.76 (ddd, $^3J_{5,6} = ^3J_{5,8a} = 11.0$ Hz, $^3J_{5,8b} = 2.9$ Hz, 1 H, 5-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 20.1$ (q, C-7), 20.2 (q, C-7'), 28.4 (2 q, C-1, C-4), 28.9 (d, C-6), 30.6 (t, C-8), 48.7 (t, C-9), 59.0 (d, C-5), 79.7 (s, C-2), 156.4, (s, C-3).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.84 (d, $^3J_{7,6}$ = 6.6 Hz, 3 H, 7-H), 0.95 (d, $^3J_{7',6}$ = 6.6 Hz, 3 H, 7'-H), 1.45 (s, 9 H, 1-H), 2.67 (s, 3 H, 4-H), 3.13 (m, 1 H, 9-H_a), 3.31 (m, 1 H, 9-H_b), 3.62 (bs, 1 H, 5-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.5 (q, C-7), 19.8 (q, C-7'), 28.8 (d, C-6), 30.7 (t, C-8), 49.1 (t, C-9), 79.3 (s, C-2).

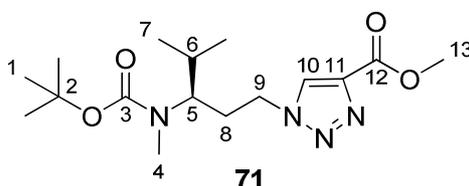
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -3.4^\circ$ (c = 1.3, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₂ H ₂₅ N ₄ O ₂ [M+H] ⁺	257.1977	257.2000

(R)-1-(3-(*tert*-Butoxycarbonyl(methyl)amino)-4-methylpentyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonsäuremethylester (71)

Gemäß **AAV 12** wurden 386 mg (1.51 mmol) Azid **70**, 203 μ l (2.27 mmol) Propiolsäuremethylester, 151 μ l (151 μ mol) 1 M CuSO₄-Lösung und 151 μ l (151 μ mol) 1 M Natriumascorbat-Lösung umgesetzt (*tert*-Butanol/Wasser). Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 1:1) wurde Triazol-tubuvalin **71** (510 mg, 1.49 mmol, 99%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: Hexan/EE = 1:1, R_f(**71**) = 0.19]


Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.84 (d, $^3J_{7,6}$ = 6.6 Hz, 3 H, 7-H), 0.90 (d, $^3J_{7',6}$ = 6.6 Hz, 3 H, 7'-H), 1.49 (s, 9 H, 1-H), 1.70 (m, 1 H, 6-H), 2.01 (m, 1 H, 8-H_a), 2.24 (m, 1 H, 8-H_b), 2.62 (s, 3 H, 4-H), 3.78 (ddd, $^3J_{5,6} = ^3J_{5,8a} = 11.1$ Hz, $^3J_{5,8b} = 2.9$ Hz, 1 H, 5-H), 3.95 (s, 3 H, 13-H), 4.27 (m, 1 H, 9-H_a), 4.41 (m, 1 H, 9-H_b), 8.22 (s, 1 H, 10-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.4 (q, C-7), 20.0 (q, C-7'), 28.2 (q, C-4), 28.4 (q, C-1), 30.1 (t, C-8), 30.7 (d, C-6), 48.3 (t, C-9), 52.1 (q, C-13), 58.6 (d, C-5), 80.4 (s, C-2), 128.3 (d, C-10), 139.6 (s, C-11), 156.7 (s, C-3), 161.1 (s, C-12).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.85 (d, $^3J_{7,6}$ = 6.6 Hz, 3 H, 7-H), 0.91 (d, $^3J_{7',6}$ = 6.6 Hz, 3 H, 7'-H), 1.46 (s, 9 H, 1-H), 2.35 (m, 1 H, 8-H_a), 2.73 (s, 3 H, 4-H), 3.53 (bs, 1 H, 5-H), 3.96 (s, 3 H, 13-H), 8.09 (s, 1 H, 10-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 19.7 (q, C-7), 20.0 (q, C-7'), 30.2 (t, C-8), 47.9 (t, C-9), 52.1 (q, C-13), 79.8 (s, C-2), 127.9 (d, C-10), 139.7 (s, C-11), 156.2 (s, C-3), 161.1 (s, C-12).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +9.4^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₆ H ₂₉ N ₄ O ₄ [M+H] ⁺	341.2189	341.2183

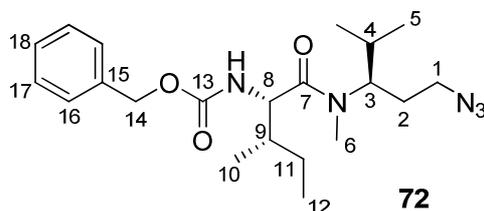
Elementaranalyse:

C ₁₆ H ₂₈ N ₄ O ₄	ber.	C 56.45	H 8.29	N 16.46
(340.41)	gef.	C 56.33	H 8.10	N 15.84

Benzyl-(2S,3S)-1-(((R)-1-azido-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbammat (72)

Gemäß **AAV 6** wurden 645 mg (2.52 mmol) Azid **70** mit 6.30 ml (25.2 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und anschließend mit 738 mg (2.78 mmol) Cbz-geschütztem (S,S)-Isoleucin, 762 mg (2.78 mmol) BEP und 1.30 ml (7.64 mmol) DIPEA nach **AAV 2** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 8:2) wurde Azid **72** (902 mg, 2.24 mmol, 89%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: PE/EE = 8:2, R_f(**72**) = 0.18]


Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.77 (d, $^3J_{5,4}$ = 6.6 Hz, 3 H, 5-H), 0.89 (t, $^3J_{12,11}$ = 7.4 Hz, 3 H, 12-H), 0.95–0.97 (sh, 6 H, 5'-H, 10-H), 1.11 (m, 1 H, 11-H_a), 1.55 (m, 1 H, 11-H_b), 1.62–1.77 (sh, 3 H, 2-H_a, 4-H, 9-H), 1.93 (m, 1 H, 2-H_b), 2.92 (s, 3 H, 6-H), 3.15 (m, 2 H, 1-H), 4.51 (dd, $^3J_{8,NH}$ = 9.4 Hz, $^3J_{8,9}$ = 6.0 Hz, 1 H, 8-H), 5.08 (m, 2 H, 5-H), 5.44 (d, $^3J_{NH,8}$ = 9.3 Hz, 1 H, NH), 7.27–7.36 (sh, 5 H, 1-H, 2-H, 3-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.2$ (q, C-12), 15.9 (q, C-10), 19.4 (q, C-5), 20.0 (q, C-5), 23.8 (t, C-11), 28.5 (t, C-2), 29.9 (q, C-6), 30.0 (d, C-4), 37.4 (d, C-9), 48.8 (t, C-1), 55.7 (d, C-8), 57.7 (d, C-3), 66.8 (t, C-14), 127.8, 128.0, 128.4 (3 d, C-16, C-17, C-18), 136.4 (s, C-15), 156.4 (s, C-13), 173.1 (s, C-7).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.85$ (t, $^3J_{12,11} = 7.4$ Hz, 3 H, 12-H), 1.04 (d, $^3J_{5,4} = 6.5$ Hz, 3 H, 5-H), 1.81 (m, 1 H, 9-H), 2.74 (s, 3 H, 6-H), 3.51 (m, 1 H, 3-H), 4.60 (dd, $^3J_{8,\text{NH}} = 9.5$ Hz, $^3J_{8,9} = 6.0$ Hz, 1 H, 8-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.4$ (q, C-12), 16.2 (q, C-10), 20.2 (q, C-5), 23.4 (t, C-11), 27.4 (q, C-6), 29.6 (t, C-2), 31.3 (d, C-4), 37.8 (d, C-9), 48.0 (t, C-1), 55.3 (d, C-8), 60.5 (d, C-3), 67.0 (t, C-14), 136.3 (s, C-15), 156.2 (s, C-13), 173.3 (s, C-7).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +16.4^\circ$ ($c = 1.1$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{N}_5\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	404.2667	404.2661

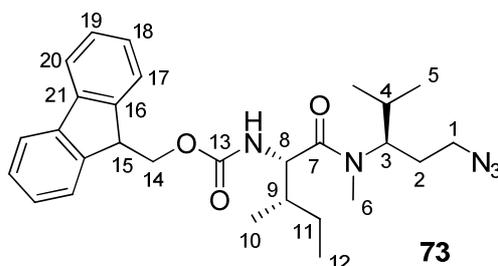
Elementaranalyse:

$\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_3$	ber.	C 62.51	H 8.24	N 17.36
(403.52)	gef.	C 62.16	H 8.24	N 17.67

(9*H*-Fluoren-9-yl)methyl(2*S*,3*S*)-1-(((*R*)-1-azido-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbammat (73**)**

Gemäß **AAV 6** wurden 492 mg (1.92 mmol) Azid **70** mit 5.00 ml (20.0 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und anschließend mit 732 mg (2.07 mmol) Fmoc-geschütztem (*S,S*)-Isoleucin, 567 mg (2.07 mmol) BEP und 1.00 ml (5.64 mmol) DIPEA nach **AAV 2** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 9:1, 8:2) wurde Azid **73** (803 mg, 1.64 mmol, 87%) als farbloses Harz erhalten.

[DC: PE/EE = 8:2, $R_f(\mathbf{73}) = 0.20$]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.79 (d, $^3J_{5,4}$ = 6.6 Hz, 3 H, 5-H), 0.93 (t, $^3J_{12,11}$ = 7.4 Hz, 3 H, 12-H), 0.94–1.02 (sh, 6 H, 5'-H, 10-H), 1.15 (m, 1 H, 11-H_a), 1.58 (m, 1 H, 11-H_b), 1.64–1.86 (sh, 3 H, 2-H_a, 4-H, 9-H), 1.94 (m, 1 H, 2-H_b), 2.92 (s, 3 H, 6-H), 3.17 (t, $^3J_{1,2}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1-H), 4.21 (t, $^3J_{15,14}$ = 6.9 Hz, 1 H, 15-H), 4.27 (m, 1 H, 3-H), 4.36 (dd, $^2J_{14a,14b}$ = 6.6 Hz, $^3J_{14,15}$ = 5.4 Hz, 2 H, 14-H), 4.53 (dd, $^3J_{8,NH}$ = 9.4 Hz, $^3J_{8,9}$ = 7.0 Hz, 1 H, 8-H), 5.48 (d, $^3J_{NH,8}$ = 9.1 Hz, 1 H, NH), 7.30 (dd, $^3J_{18,17}$ = $^3J_{18,17}$ = 7.4 Hz, 2 H, 18-H), 7.39 (dd, $^3J_{19,18}$ = $^3J_{19,20}$ = 7.4 Hz, 2 H, 19-H), 7.58 (d, $^3J_{17,18}$ = 7.5 Hz, 2 H, 17-H), 7.76 (d, $^3J_{20,19}$ = 7.5 Hz, 2 H, 20-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.1 (q, C-12), 15.8 (q, C-10), 19.4 (q, C-5), 19.9 (q, C-5'), 23.7 (t, C-11), 28.3 (t, C-2), 29.7 (q, C-6), 29.9 (d, C-4), 37.4 (d, C-9), 47.1 (d, C-15), 48.7 (t, C-1), 55.6 (d, C-8), 57.5 (d, C-3), 66.8 (t, C-14), 119.8 (d, C-20), 125.0 (d, C-17), 126.9 (d, C-18), 127.5 (d, C-19), 141.1 (s, C-21), 143.6 (s, C-16), 156.3 (s, C-13), 173.0 (s, C-7).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.88 (t, $^3J_{12,11}$ = 7.4 Hz, 3 H, 12-H), 1.05 (d, $^3J_{5,4}$ = 6.6 Hz, 3 H, 5-H), 2.76 (s, 3 H, 6-H), 3.03 (m, 1 H, 1-H_a), 3.23 (1 H, 1-H_b), 3.53 (m, 1 H, 3-H), 4.63 (dd, $^3J_{8,NH}$ = 9.5 Hz, $^3J_{8,9}$ = 6.0 Hz, 1 H, 8-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-12), 16.1 (q, C-10), 20.1 (q, C-5), 23.3 (t, C-11), 27.4 (q, C-6), 29.5 (t, C-2), 31.2 (d, C-4), 37.8 (d, C-9), 47.1 (d, C-15), 47.9 (t, C-1), 55.2 (d, C-8), 60.4 (d, C-3), 119.8 (d, C-20), 141.2 (s, C-21), 143.8 (s, C-16), 172.5 (s, C-7).

Optische Drehung $[\alpha]_D^{21} = -22.0^\circ$ (c = 1.1, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₂₈ H ₃₈ N ₅ O ₃ [M+H] ⁺	492.2974	492.3001

Elementaranalyse:

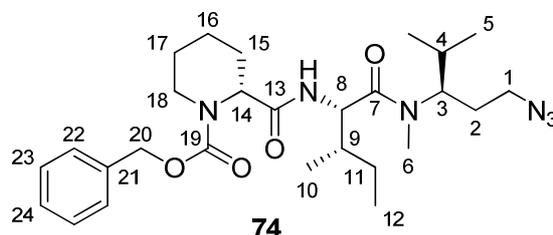
C ₂₈ H ₃₇ N ₅ O ₃	ber.	C 68.41	H 7.59	N 14.25
(491.63)	gef.	C 68.51	H 7.69	N 14.48

(R)-2-((2S,3S)-1-(((R)-1-Azido-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbonyl)piperidin-1-carbonsäurebenzylester (74)

Gemäß **AAV 9** wurden 1.10 g (2.24 mmol) Azid **73** mit 4.60 ml (31.0 mmol) TRIS entschützt und anschließend mit 653 mg (2.47 mmol) Cbz-geschützter (R)-Pipicolinsäure, 0.28 ml (2.54 mmol) NMM und 0.33 ml (2.48 mmol) IBCF nach **AAV 1** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel,

PE/EE = 8:2, 7:3) wurde Azid **74** (986 mg, 1.92 mmol, 86%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 57–58°C erhalten.

[DC: PE/EE = 7:3, $R_f(\mathbf{74}) = 0.18$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.75$ (d, $^3J_{5,4} = 6.6$ Hz, 3 H, 5-H), 0.85 (bs, 3 H, 12-H), 0.92 (m, 3 H, 10-H), 0.96 (d, $^3J_{5',4} = 6.6$ Hz, 3 H, 5'-H), 1.03 (m, 1 H, 11- H_a), 1.28–1.44 (sh, 2 H, 16- H_{ax} , 17- H_{ax}), 1.44–1.58 (sh, 2 H, 11- H_b , 15- H_{ax}), 1.58–1.84 (sh, 5 H, 2- H_a , 4-H, 9-H, 16- H_{eq} , 17- H_{eq}), 1.93 (m, 1 H, 2- H_b), 2.30 (m, 1 H, 15- H_{eq}), 2.86 (m, 1 H, 18- H_{ax}), 2.94 (s, 3 H, 6-H), 3.15 (t, $^3J_{1,2} = 7.2$ Hz, 2 H, 1-H), 4.09 (m, 1 H, 18- H_{eq}), 4.27 (m, 1 H, 3-H), 4.77 (m, 1 H, 8-H), 4.88 (m, 1 H, 14-H), 5.17 (m, 2 H, 20-H), 6.61 (bs, 1 H, NH), 7.28–7.43 (sh, 5 H, 22-H, 23-H, 24-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.0$ (q, C-12), 16.1 (q, C-10), 19.4 (q, C-5), 19.8 (q, C-5'), 20.3 (t, C-16), 24.0 (t, C-2), 24.7 (2 t, C-11, C-17), 25.5 (t, C-15), 28.4 (t, C-16), 29.6 (q, C-6), 29.9 (d, C-4), 37.0 (d, C-9), 42.2 (t, C-18), 48.8 (t, C-1), 53.5 (d, C-8), 54.9 (d, C-14), 57.3 (d, C-3), 67.5 (t, C-20), 127.8, 128.0, 128.4 (3 d, C-22, C-23, C-24), 136.3 (s, C-21), 156.3 (s, C-19), 170.4 (s, C-13), 173.0 (s, C-7).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.90$ (d, $^3J_{5,4} = 7.1$ Hz, 3 H, 5-H), (d, $^3J_{5',4} = 6.5$ Hz, 3 H, 5'-H), 2.74 (s, 3 H, 6-H), 3.51 (m, 1 H, 3-H), 6.50 (bs, 1 H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-12), 15.8 (q, C-10), 20.2 (q, C-5), 20.2 (q, C-5'), 23.2 (t, C-2), 26.1 (t, C-15), 27.4 (q, C-6), 31.2 (d, C-4), 37.6 (d, C-9), 41.9 (t, C-18), 47.9 (t, C-1), 53.2 (d, C-8), 55.3 (d, C-14), 60.5 (d, C-3), 67.5 (t, C-20), 155.3 (s, C-19)

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = +14.1^\circ$ ($c = 1.1$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{N}_6\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	515.3346	515.3361

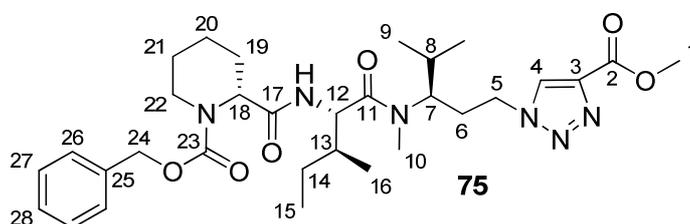
Elementaranalyse:

$\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_4$	ber.	C 63.01	H 8.23	N 16.33
(514.66)	gef.	C 62.80	H 8.20	N 16.58

(R)-2-((2S,3S)-1-(((R)-1-(4-(Methoxycarbonyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbonyl)piperidin-1-carbonsäurebenzylester (75)

Gemäß **AAV 12** wurden 100 mg (0.19 mmol) Azid **74**, 26 μ l (0.29 mmol) Propiolsäuremethylester, 19 μ l (19 μ mol) 1 M CuSO₄-Lösung und 19 μ l (19 μ mol) 1 M Natriumascorbat-Lösung umgesetzt (*tert*-Butanol/Wasser). Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 3:7) wurde Tripeptid **75** (98 mg, 0.16 mmol, 85%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 56–59°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 3:7, R_f(**75**) = 0.22]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.75 (d, ³J_{9,8} = 6.5 Hz, 3 H, 9-H), 0.80–0.98 (sh, 9 H, 9'-H, 15-H, 16-H), 1.15 (m, 1 H, 14-H_a), 1.31–1.48 (sh, 2 H, 20-H_{ax}, 21-H_{ax}), 1.50–1.67 (sh, 4 H, 14-H_b, 19-H_{ax}, 20-H_{eq}, 21-H_{eq}), 1.74 (m, 1 H, 8-H), 1.83 (m, 1 H, 13-H), 2.05 (m, 1 H, 6-H_a), 2.13–2.60 (sh, 2 H, 6-H_b, 19-H_{eq}), 2.90–3.10 (sh, 4 H, 10-H, 22-H_{ax}), 3.91 (s, 3 H, 1-H), 4.01 (m, 1 H, 22-H_{eq}), 4.08–4.24 (sh, 5-H_a, 7-H), 4.31 (m, 1 H, 5-H_b), 4.75 (m, 1 H, 12-H), 4.82 (m, 1 H, 18-H), 5.14 (m, 2 H, 24-H), 6.98 (bs, 1 H, NH), 7.23–7.35 (sh, 5 H, 26-H, 27-H, 28-H), 8.19 (s, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 10.9 (q, C-16), 16.0 (q, C-17), 19.4 (q, C-9), 19.8 (q, C-9'), 20.1 (t, C-20), 24.4 (t, C-15), 24.6 (t, C-21), 26.0 (t, C-19), 29.7 (d, C-8), 30.3 (t, q, C-6, C-10), 36.6 (d, C-14), 42.3 (t, C-22), 48.0 (t, C-5), 52.1 (s, C-1), 53.9 (d, C-12), 54.7 (d, C-18), 58.3 (d, C-7), 67.8 (t, C-24), 127.9 (d, C-4), 128.1 (d, C-28), 128.2 (d, C-27), 128.5 (d, C-26), 136.1 (C-25), 139.8 (s, C-3), 156.7 (s, C-23), 161.1 (s, C-2), 171.6 (s, C-11), 174.2 (s, C-17).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.01 (d, ³J_{16,13} = 6.5 Hz, 3 H, 16-H), 2.37 (m, 1 H, 8-H), 2.74 (s, 3 H, 10-H), 2.82 (m, 1 H, 22-H_{eq}), 3.65 (m, 1 H, 7-H), 3.88 (s, 3 H, 1-H), 4.50 (m, 1 H, 5-H_b), 5.06 (m, 2 H, 24-H), 6.49 (bs, 1 H, NH), 8.40 (s, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-16), 16.2 (q, C-17), 20.1 (q, C-9), 20.2 (q, C-9'), 27.5 (q, C-10), 37.1 (d, C-14), 47.3 (t, C-5), 52.0 (s, C-1), 60.9 (d, C-7), 67.5 (t, C-24), 136.2 (s, C-25), 155.4 (s, C-23), 170.4 (s, C-11), 173.7 (s, C-17).

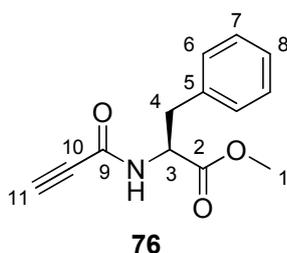
Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -8.2^\circ$ ($c = 0.9$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{N}_6\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	599.3557	599.3517

(S)-3-Phenyl-2-propiolamidopropansäuremethylester (76)^{[139]17}

Zu einer Lösung von 2.85 g (15.9 mmol) (S)-Phenylalaninmethylester **84** und 1.10 ml (17.4 mmol) Propiolsäure in 80 ml absolutem DCM wurden 3.59 g (17.4 mmol) DCC gegeben und das Reaktionsgemisch drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde der ausgefallene Harnstoff abfiltriert und das Filtrat nacheinander mit 1 HCl, ges. NaHCO_3 -Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösemittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, PE/EE = 7:3) gereinigt, wobei Alkin **76** (3.65 g, 15.8 mmol, 99%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 78–80°C erhalten wurde.

[DC: PE/EE = 7:3, $R_f(\mathbf{45}) = 0.17$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 2.83$ (s, 1 H, 11-H), 3.14 (dd, $^2J_{4a,4b} = 14.0$ Hz, $^3J_{4a,3} = 5.6$ Hz, 1 H, 4- H_a), 3.20 (dd, $^2J_{4b,4a} = 13.9$ Hz, $^3J_{4b,3} = 5.8$ Hz, 1 H, 4- H_b), 3.76 (s, 3 H, 1-H), 4.93 (dt, $^3J_{3,\text{NH}} = 7.9$ Hz, $^3J_{3,4} = 5.7$ Hz, 1 H, 3-H), 6.41 (d, $^3J_{\text{NH},3} = 6.8$ Hz, 1 H, NH), 7.14 (m, 2 H, 7-H), 7.26–7.35 (sh, 3 H, 6-H, 8-H).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 3.07$ (s, 1 H, 11-H), 3.78 (s, 3 H, 1-H), 4.85 (ddd, $^3J_{3,\text{NH}} = 9.7$ Hz, $^3J_{3,4a} = 6.6$ Hz, $^3J_{3,4b} = 5.6$ Hz, 1 H, 3-H), 6.14 (d, $^3J_{\text{NH},3} = 10.0$ Hz, 1 H, NH).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 37.5$ (t, C-4), 52.5 (q, C-1), 53.4 (d, C-3), 74.0 (d, C-11), 79.3 (s, C-10), 127.3 (d, C-8), 128.6 (d, C-6), 129.2 (d, C-7), 135.2 (s, C-5), 151.4 (s, C-9), 171.0 (s, C-2).

¹⁷ Die Verbindung ist zwar literaturbekannt, wurde aber bisher nicht vollständig charakterisiert.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 39.6$ (t, C-4), 52.6 (q, C-1), 57.1 (d, C-3), 74.5 (d, C-11), 76.7 (s, C-10), 127.5 (d, C-8), 128.8 (d, C-6), 129.4 (d, C-7).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +121.7^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	232.0973	232.0972

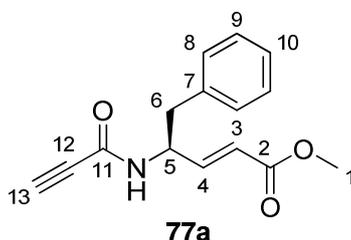
Elementaranalyse:

$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_3$	ber.	C 67.52	H 5.67	N 6.06
(231.25)	gef.	C 68.24	H 5.83	N 5.98

(S,E)-5-Phenyl-4-propiolamidopent-2-ensäuremethylester (77a)

Gemäß **AAV 6** wurden 198 mg (0.65 mmol) **86** mit 1.63 ml (6.52 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und das Amin mit ges. NaHCO_3 -Lösung freigeschüttelt (vgl. **AAV 8**). Anschließend wurde das freie Amin mit 41 μl (0.65 mmol) Propiolsäure, 0.58 ml (0.97 mmol) T3P (50% in EE) und 0.12 ml (0.71 mmol) DIPEA nach **AAV 3** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 1:1) wurde Alkin **77a** (144 mg, 0.56 mmol, 86%) als beiger Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 152–154°C erhalten.

[DC: PE/EE = 1:1, $R_f(\mathbf{77a}) = 0.33$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 2.79$ (s, 1 H, 13-H), 2.95 (d, $^3J_{6,5} = 6.7$ Hz, 2 H, 6-H), 3.73 (s, 3 H, 1-H), 4.97 (m, 1 H, 5-H), 5.87 (dd, $^3J_{3,4} = 15.7$ Hz, $^4J_{3,5} = 1.6$ Hz, 1 H, 3-H), 5.94 (d, $^3J_{\text{NH},5} = 8.0$ Hz, 1 H, NH), 6.88 (dd, $^3J_{4,3} = 15.7$ Hz, $^4J_{4,5} = 5.4$ Hz, 1 H, 4-H), 7.17 (m, 2 H, 7-H), 7.26–7.34 (sh, 3 H, 6-H, 8-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 40.1$ (t, C-6), 51.2 (d, C-5), 51.7 (q, C-1), 73.9 (d, C-13), 76.8 (s, C-12), 121.7 (d, C-3), 127.2 (d, C-10), 128.8 (d, C-8), 129.3 (d, C-9), 135.5 (s, C-7), 145.6 (d, C-4), 151.3 (s, C-11), 166.2 (s, C-2).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 2.99$ (d, $^3J_{6,5} = 6.7$ Hz, 2 H, 6-H), 3.01 (s, 1 H, 13-H), 3.75 (s, 3 H, 1-H), 4.88 (m, 1 H, 5-H), 6.95 (dd, $^3J_{4,3} = 15.8$ Hz, $^4J_{4,5} = 5.0$ Hz, 1 H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 121.8$ (d, C-3), 128.9 (d, C-8), 129.4 (d, C-9).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +2.1^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	258.1130	258.1129

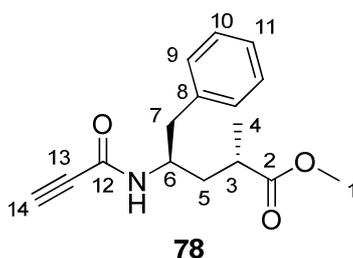
Elementaranalyse:

$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NO}_3$	ber.	C 70.02	H 5.88	N 5.44
(257.29)	gef.	C 69.44	H 5.84	N 5.12

(2S,4R)-2-Methyl-5-phenyl-4-propiolamidopentansäuremethylester (78)

Gemäß **AAV 3** wurden 395 mg (1.53 mmol) Tubuphenylalaninmethylester-Hydrochlorid^[22], 97 μl (1.53 mmol) Propiolsäure, 1.40 ml (2.35 mmol) T3P (50% in EE) und 0.58 ml (3.41 mmol) DIPEA umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 7:3) wurde Alkin **78** (403 mg, 1.31 mmol, 86%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 81–83°C erhalten.

[DC: PE/EE = 7:3, $R_f(\mathbf{78}) = 0.13$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.15$ (d, $^3J_{4,3} = 7.1$ Hz, 1 H, 4-H), 1.53 (ddd, $^2J_{5a,5b} = 14.2$ Hz, $^3J_{5a,3/6} = 9.9$ Hz, $^3J_{5a,6/3} = 4.2$ Hz, 1 H, 5- H_a), 1.92 (ddd, $^2J_{5b,5a} = 13.8$ Hz, $^3J_{5b,3/6} = 9.8$ Hz, $^3J_{5b,6/3} = 4.0$ Hz, 1 H, 5- H_b), 2.58 (m, 1 H, 3-H), 2.74 (s, 3 H, 14-H), 2.80 (dd, $^2J_{7a,7b} = 14.2$ Hz, $^3J_{7a,6} = 6.8$ Hz, 1 H, 7- H_a), 2.85 (dd, $^2J_{7b,7a} = 14.0$ Hz, $^3J_{7b,6} = 6.5$ Hz, 1 H, 7- H_b), 3.67 (s, 3 H, 1-H), 4.24 (m, 1 H, 6-H), 5.93 (d, $^3J_{\text{NH},6} = 8.7$ Hz, 1 H, NH), 7.16 (m, 2 H, 10-H), 7.22 (m, 1 H, 11-H), 7.30 (m, 2 H, 9-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 17.5$ (q, C-4), 36.2 (d, C-3), 37.1 (t, C-5), 40.5 (t, C-7), 49.1 (d, C-6), 51.8 (q, C-1), 73.0 (d, C-14), 77.3 (s, C-13), 126.7 (d, C-11), 128.5 (d, C-9), 129.3 (d, C-10), 137.0 (s, C-8), 151.6 (s, C-12), 176.5 (s, C-2).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.17$ (d, $^3J_{4,3} = 7.3$ Hz, 1 H, 4-H), 1.45 (ddd, $^2J_{5a,5b} = 14.3$ Hz, $^3J_{5a,3/6} = 10.5$ Hz, $^3J_{5a,6/3} = 3.9$ Hz, 1 H, 5- H_a), 1.99 (ddd, $^2J_{5b,5a} = 14.0$ Hz,

$^3J_{5b,3/6} = 10.3$ Hz, $^3J_{5b,6/3} = 3.5$ Hz, 1 H, 5-H_b), 2.98 (s, 3 H, 14-H), 3.65 (s, 3 H, 1-H), 4.15 (m, 1 H, 6-H), 6.12 (d, $^3J_{NH,6} = 10.5$ Hz, 1 H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 17.9$ (q, C-4), 36.0 (d, C-3), 38.5 (t, C-5), 42.9 (t, C-7), 51.7 (d, C-1), 53.6 (q, C-6), 74.9 (d, C-14), 78.8 (s, C-13), 126.8 (d, C-11), 128.5 (d, C-9), 129.5 (d, C-10), 136.6 (s, C-8), 154.5 (s, C-12), 176.3 (s, C-2).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = +30.5^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₆ H ₁₉ NO ₃ [M+H] ⁺	274.1443	274.1470

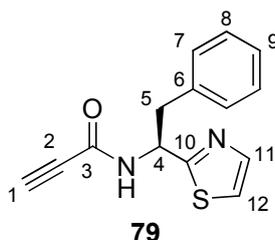
Elementaranalyse:

C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	ber.	C 70.31	H 7.01	N 5.12
(273.32)	gef.	C 70.15	H 6.94	N 5.06

(S)-N-(2-Phenyl-1-(thiazol-2-yl)ethyl)propiolamid (79)

Gemäß **AAV 6** wurden 335 mg (1.10 mmol) Boc-Dolaphenin **94** mit 3.25 ml (13.0 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und das Amin mit ges. NaHCO₃-Lösung freigeschüttelt (vgl. **AAV 8**). Anschließend wurde das freie Amin mit 70 μ l (1.10 mmol) Propiolsäure, 0.98 ml (1.65 mmol) T3P (50% in EE) und 0.19 ml (1.10 mmol) DIPEA nach **AAV 3** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 1:1) wurde Alkin **79** (246 mg, 0.96 mmol, 87%) als gelblicher Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 106–108°C erhalten.

[DC: PE/EE = 1:1, R_f(**79**) = 0.30]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 2.78$ (s, 1 H, 1-H), 3.27 (dd, $^2J_{5a,5b} = 13.6$ Hz, $^3J_{5a,4} = 7.4$ Hz, 1 H, 5-H_a), 3.34 (dd, $^2J_{5b,5a} = 13.7$ Hz, $^3J_{5b,4} = 6.4$ Hz, 1 H, 5-H_b), 5.63 (m, 1 H, 4-H), 7.07 (m, 2 H, 8-H), 7.19–7.29 (sh, 5 H, 7-H, 9-H, 12-H), 7.72 (d, $^3J_{11,12} = 3.3$ Hz, 1 H, 11-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 41.7$ (t, C-5), 52.5 (d, C-4), 74.1 (d, C-1), 76.8 (s, C-2), 119.3 (d, C-12), 127.1 (d, C-9), 128.6 (d, C-7), 129.4 (d, C-8), 135.9 (s, C-6), 142.4 (d, C-11), 151.4 (s, C-3), 168.6 (s, C-10).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.27 (s, 1 H, 1-H), 3.44 (dd, ²J_{5b,5a} = 13.8 Hz, ³J_{5b,4} = 6.0 Hz, 1 H, 5-H_b), 5.63 (m, 1 H, 4-H), 7.80 (d, ³J_{11,12} = 3.3 Hz, 1 H, 11-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 42.6 (t, C-5), 56.9 (d, C-4), 74.6 (d, C-1), 79.8 (s, C-2), 119.4 (d, C-12), 127.3 (d, C-9), 128.7 (d, C-7), 129.6 (d, C-8), 135.5 (s, C-6), 143.1 (d, C-11).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -35.7^\circ$ (c = 0.9, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₁₄ H ₁₃ N ₂ OS [M+H] ⁺	257.0748	257.0752

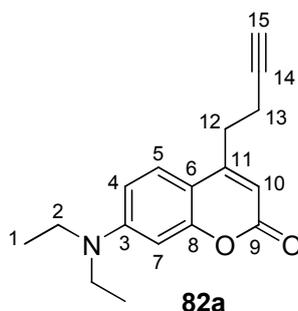
Elementaranalyse:

C ₁₄ H ₁₂ N ₂ OS	ber.	C 65.50	H 4.72	N 10.93
(256.32)	gef.	C 65.58	H 4.58	N 10.84

4-(But-3-ynyl)-7-(diethylamino)-2H-chromen-2-on (82a)

1.65 g (10.0 mmol) 2-Diethylaminophenol und 1.59 g (10.3 mmol) β -Ketoester **99**^[140] wurden in 30 ml absolutem Toluol gelöst und mit 20.0 ml (20.0 mmol) Chlor-*tris*-isopropoxytitanium-Lösung (1 M in Hexan) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 18 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Gemisch mit Dichlormethan verdünnt, in eine ges. Na-/K-Tatrat-Lösung gegossen und bis zur Phasentrennung gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, DCM, DCM/MeOH = 9:1), wobei Cumarin **82a** (682 mg, 2.53 mmol, 25%) als roter Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 74–76°C erhalten wurde.

[DC: DCM, R_f(**82a**) = 0.18]



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.20 (t, ³J_{1,2} = 7.1 Hz, 6 H, 1-H), 2.04 (t, ⁴J_{15,14} = 2.6 Hz, 1 H, 15-H), 2.57 (dt, ³J_{13,15} = 7.5 Hz, ⁴J_{13,15} = 2.6 Hz, 2 H, 13-H), 2.92 (t, ³J_{12,13} = 7.3 Hz, 2 H, 12-H), 3.41 (q, ³J_{2,1} = 7.1 Hz, 4 H, 2-H), 5.99 (s, 1 H, 10-H), 6.50

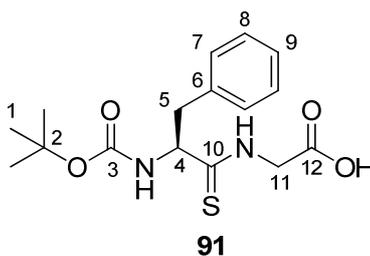
(d, $^4J_{7,4} = 2.6$ Hz, 1 H, 7-H), 6.58 (dd, $^3J_{4,5} = 9.0$ Hz, $^4J_{4,7} = 2.6$ Hz, 1 H, 4-H), 7.38 (d, $^3J_{5,4} = 9.0$ Hz, 1 H, 5-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 12.4$ (q, C-1), 17.6 (t, C-13), 30.4 (t, C-12), 44.6 (t, C-2), 70.0 (d, C-15), 82.2 (s, C-14), 97.8 (d, C-7), 107.7 (d, C-10), 107.9 (s, C-6), 108.4 (d, C-4), 124.9 (d, C-5), 150.4 (s, C-3), 154.0 (s, C-9), 156.2 (s, C-11), 162.0 (s, C-8).

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ [M]	269.1416	269.1434

(S)-2-(2-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-3-phenylpropanthioamido)essigsäure (91)

Gemäß **AAV 5** wurden 879 mg (2.49 mmol) Thiopeptid **90**^[115] mit 2.70 ml (2.70 mmol) 1 M NaOH-Lösung entschützt. Nach der Aufarbeitung (angesäuert mit 1 M HCl) wurde Säure **91** (810 mg, 2.39 mmol, 96%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 49–52°C erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.36$ (s, 9 H, 1-H), 3.07 (m, 2 H, 5-H), 4.05 (d, $^2J_{11a,11b} = 19.5$ Hz, 1 H, 11- H_a), 4.34 (d, $^2J_{11b,11a} = 19.2$ Hz, 1 H, 11- H_b), 5.33 (m, 1 H, 4-H), 5.75 (d, $^3J_{\text{NH},4} = 9.2$ Hz, 1 H, NH), 7.24–7.31 (sh, 5 H, 7-H, 8-H, 9-H), 8.64 (s, 1 H, NH), 10.11 (bs, 1 H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 28.2$ (q, C-1), 43.5 (t, C-5), 46.9 (t, C-11), 60.3 (d, C-4), 81.3 (s, C-2), 126.8 (d, C-9), 128.4 (d, C-7), 129.3 (d, C-8), 136.5 (s, C-6), 155.7 (s, C-3), 170.9 (s, C-12), 203.3 (s, C-10).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = +28.2^\circ$ (c = 1.1, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [M+H] ⁺	339.1378	339.1372

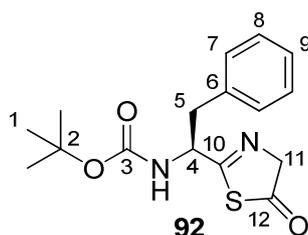
Elementaranalyse:

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	ber.	C 56.78	H 6.55	N 8.28
(338.42)	gef.	C 56.57	H 6.41	N 7.80

(S)-tert-Butyl-1-(5-oxo-4,5-dihydrothiazol-2-yl)-2-phenylethylcarbamate (92)

Eine Lösung aus 89 mg (0.26 mmol) Säure **91** in 2 ml absolutem THF wurde mit 54 mg (0.26 mmol) DCC versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Der Harnstoff wurde abfiltriert und das Filtrat eingengt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, PE/EE = 8:2), wobei Thiazolon **92** (67 mg, 0.21 mmol, 80%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 128–130°C erhalten wurde.

[DC: PE/EE = 8:2, $R_f(\mathbf{92}) = 0.19$]



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.42$ (s, 9 H, 1-H), 3.10 (dd, $^2J_{5a,5b} = 13.9$ Hz, $^3J_{5a,4} = 7.2$ Hz, 1 H, 5- H_a), 3.28 (dd, $^2J_{5b,5a} = 14.0$ Hz, $^3J_{5b,4} = 5.7$ Hz, 1 H, 5- H_b), 4.64 (d, $^2J_{11a,11b} = ^2J_{11b,11a} = 2.0$ Hz, 2 H, 11-H), 4.91 (m, 1 H, 4-H), 5.15 (d, $^2J_{\text{NH},4} = 6.9$ Hz, 1 H, NH), 7.21 (m, 2 H, 8-H), 7.26–7.35 (sh, 3 H, 7-H, 9-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 28.2$ (q, C-1), 38.6 (t, C-5), 55.8 (d, C-4), 72.3 (t, C-11), 80.3 (s, C-2), 127.1 (d, C-9), 128.6 (d, C-7), 129.3 (d, C-8), 135.9 (s, C-6), 154.9 (s, C-3), 172.6 (s, C-10), 206.0 (s, C-12).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -30.2^\circ$ ($c = 1.1$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} [\text{M}+\text{H}]^+$	321.1273	321.1241

Elementaranalyse:

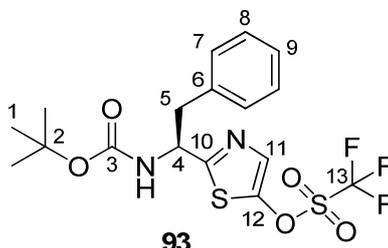
$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$	ber.	C 59.98	H 6.29	N 8.74
(320.40)	gef.	C 59.79	H 6.34	N 8.70

(S)-2-(1-(tert-Butoxycarbonylamino)-2-phenylethyl)thiazol-5-yltrifluoromethansulfonat (93)

500 mg (1.48 mmol) Säure **91** wurden in 15 ml absolutem DCM gelöst und mit 0.82 ml (7.44 mmol) NMM versetzt. Nach Abkühlen auf 0°C wurden langsam 0.49 ml (2.95 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid zugetropft und die resultierende gelbe Lösung 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Das Lösemittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, PE/EE =

9:1) gereinigt, wobei Triflat **93** (632 mg, 1.40 mmol, 95%) als gelber Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 80–82°C erhalten wurde.

[DC: PE/EE = 9:1, $R_f(\mathbf{93}) = 0.24$]



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.42$ (s, 9 H, 1-H), 3.26 (m, 1 H, 5- H_a), 3.32 (dd, $^2J_{5b,5a} = 13.8$ Hz, $^3J_{5b,4} = 5.8$ Hz, 1 H, 5- H_b), 4.94–5.28 (sh, 2 H, 4-H, NH), 7.11 (m, 2 H, 8-H), 7.25–7.33 (sh, 3 H, 7-H, 9-H), 7.60 (s, 2 H, 11-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 28.2$ (q, C-1), 40.8 (t, C-5), 54.2 (d, C-4), 80.6 (s, C-2), 118.6 (q, $^2J_{13,F} = 320$ Hz, C-13), 127.2 (d, C-9), 128.7 (d, C-7), 129.3 (d, C-8), 133.5 (s, C-11), 135.7 (s, C-6), 146.0 (s, C-12), 154.8 (s, C-3), 169.2 (s, C-10).

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = -71.2$ (q, $\underline{\text{CF}}_3$).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -18.6^\circ$ ($c = 1.2$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{F}_3\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	453.0765	453.0740

Elementaranalyse:

$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$	ber.	C 45.13	H 4.23	N 6.19
(452.47)	gef.	C 45.43	H 4.13	N 5.90

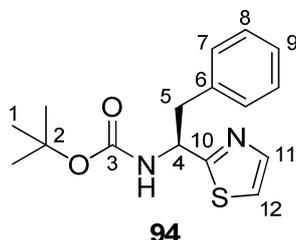
(S)-tert-Butyl-2-phenyl-1-(thiazol-2-yl)ethylcarbamate (**94**)^{[108]18}

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 916 mg (203 mmol) Triflat **93**, 35 mg (0.16 mmol) Palladium(II)-acetat und 168 mg (0.64 mmol) Triphenylphosphin in 10 ml absolutem THF gelöst und auf 60°C erwärmt. Bei dieser Temperatur wurde eine Lösung von 0.57 ml (4.10 mmol) Triethylamin und 0.16 ml (4.10 mmol) Ameisensäure in 10 ml absolutem THF langsam zugetropft und die Reaktionsmischung 4 Stunden bei 60°C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung mit Ethylacetat verdünnt und nacheinander mit 1 M KHSO_4 -Lösung, ges. NaHCO_3 -Lösung, Wasser sowie ges. NaCl -Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, PE/EE = 8:2) gereinigt, wobei Boc-Dolaphenin **94** (543 mg,

¹⁸ Neuartige Synthese des literaturbekannten Boc-Dolaphenin.

1.78 mmol, 88%, 93% ee) als gelblicher Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 78–80°C erhalten wurde.

[DC: PE/EE = 8:2, $R_f(\mathbf{94}) = 0.17$]



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.42$ (s, 9 H, 1-H), 3.33 (m, 2 H, 5-H), 5.24–5.30 (sh, 2 H, 4-H, NH), 7.11 (m, 2 H, 8-H), 7.22–7.28 (sh, 4 H, 7-H, 9-H, 12-H), 7.77 (d, $^3J_{11,12} = 3.6$ Hz, 1 H, 11-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 28.2$ (q, C-1), 41.9 (t, C-5), 53.6 (d, C-4), 79.9 (s, C-2), 118.7 (d, C-12), 126.8 (d, C-9), 128.4 (d, C-7), 129.4 (d, C-8), 136.5 (s, C-6), 142.6 (s, C-11), 154.9 (s, C-3), 171.7 (s, C-10).

HPLC (*Chiralcel OD-H*, Hexan:*iso*-Propanol = 98:2, 1 ml/min):

(*S*)-**94**: $t_R = 14.16$ min

(*R*)-**94**: $t_R = 17.40$ min

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -25.5^\circ$ ($c = 1.1$, CHCl_3 , 93% ee)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ [M+H] ⁺	305.1323	305.1311

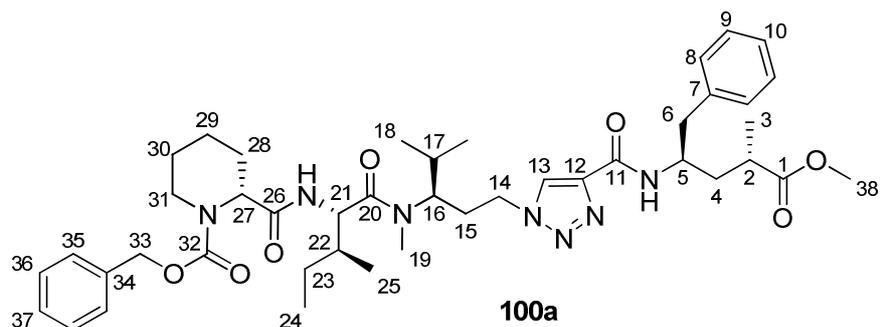
Elementaranalyse:

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	ber.	C 63.13	H 6.62	N 9.20
(304.41)	gef.	C 63.47	H 7.27	N 9.12

(*R*)-2-((2*S*,3*S*)-1-(((*R*)-1-(4-((2*R*,4*S*)-5-Methoxy-4-methyl-5-oxo-1-phenylpentan-2-ylcarbamoyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbamoyl)piperidin-1-carbonsäurebenzylester (100a**)**

Gemäß **AAV 12** wurden 213 mg (0.41 mmol) Azid **74**, 165 mg (0.60 mmol) Alkin **78**, 120 μl (120 μmol) 1 M CuSO_4 -Lösung und 120 μl (120 μmol) 1 M Natriumascorbat-Lösung umgesetzt (*tert*-Butanol/Wasser). Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 3:7) wurde Triazol **100a** (310 mg, 0.39 mmol, 96%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 92–94°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 3:7, $R_f(\mathbf{100a}) = 0.19$]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.78 (d, $^3J_{18,17}$ = 6.6 Hz, 3 H, 18-H), 0.87 (m, 3 H, 24-H), 0.94–0.97 (sh, 6 H, 18'-H, 25-H), 1.08 (m, 1 H, 23-H_a), 1.16 (d, $^3J_{3,2}$ = 7.1 Hz, 3 H, 3-H), 1.38–1.49 (sh, 2 H, 29-H_{ax}, 30-H_{ax}), 1.49–1.70 (sh, 5 H, 4-H_a, 23-H_b, 28-H_{ax}, 29-H_{eq}, 30-H_{eq}), 1.70–1.87 (sh, 2 H, 4-H_b, 15-H_a), 2.23–2.34 (sh, 2 H, 15-H_b, 28-H_{eq}), 2.62 (m, 1 H, 2-H), 2.86–2.96 (sh, 3 H, 29-H, 31-H_{ax}), 3.04 (s, 3 H, 19-H), 3.06 (s, 3 H, 38-H), 4.09 (m, 1 H, 31-H_{eq}), 4.18–4.31 (sh, 3 H, 14-H, 16-H), 4.43 (m, 1 H, 5-H), 4.79 (dd, $^3J_{21,22}$ = $^3J_{21,NH}$ = 8.3 Hz, 1 H, 21-H), 4.87 (m, 1 H, 27-H), 5.21 (d, $^2J_{33a,33b}$ = 12.3 Hz, 1 H, 33-H_a), 5.16 (d, $^2J_{33b,33a}$ = 12.5 Hz, 1 H, 33-H_b), 6.66 (bs, 1 H, NH), 6.96 (d, $^3J_{NH,5}$ = 9.2 Hz, 1 H, NH), 7.19–7.24 (sh, 3 H, 8-H, 10-H), 7.27–7.40 (sh, 7 H, 9-H, 35-H, 36-H, 37-H), 8.11 (s, 1 H, 13-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 10.9 (q, C-24), 15.9 (q, C-25), 17.7 (q, C-3), 19.3 (q, C-18), 19.7 (q, C-18'), 29.0 (t, C-29), 24.4 (t, C-30), 24.5 (t, C-23), 26.1 (t, C-28), 29.6 (q, C-19), 29.8 (d, C-17), 30.4 (t, C-15), 36.5 (2 d, C-2, C-22), 37.0 (t, C-4), 41.3 (t, C-6), 42.3 (t, C-31), 48.1 (t, C-14), 51.9 (q, C-38), 54.0 (d, C-21), 54.7 (d, C-27), 57.8 (d, C-16), 67.9 (t, C-33), 125.8 (d, C-13), 126.5 (d, C-10), 127.9, 128.1, 128.4, 128.5, 129.4 (5 d, C-8, C-9, C-35, C-36, C-37), 136.1 (s, C-34), 137.3 (s, C-7), 143.0 (s, C-12), 159.7 (s, C-11), 171.1 (s, C-20), 174.3 (s, C-26), 176.7 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.05 (d, $^3J_{18,17}$ = 6.5 Hz, 3 H, 18-H), 3.65 (s, 3 H, 38-H), 3.73 (m, 1 H, 31-H_{ax}), 6.51 (bs, 1 H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.2 (q, C-24), 14.1 (q, C-25), 16.1 (q, C-3), 60.3 (d, C-16), 67.5 (t, C-33).

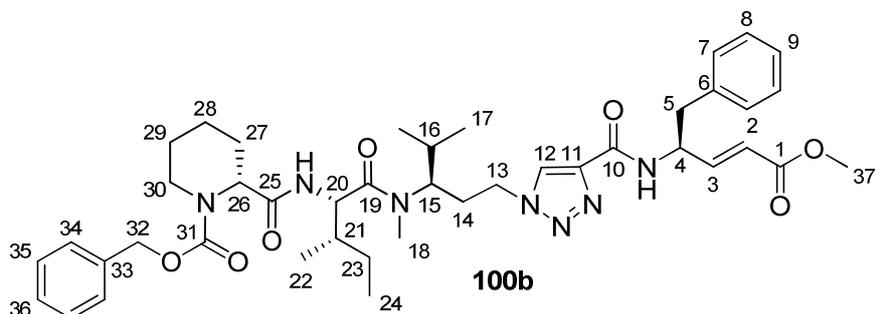
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +14.5^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₄₃ H ₆₂ N ₇ O ₇ [M+H] ⁺	788.4710	788.4730

(R)-2-((2S,3S)-1-(((R)-1-(4-((S,E)-5-Methoxy-5-oxo-1-phenylpent-3-en-2-ylcarbamoyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbamoyl)piperidin-1-carbonsäurebenzylester (100b)

Gemäß **AAV 12** wurden 165 mg (0.32 mmol) Azid **74**, 124 mg (0.48 mmol) Alkin **77**, 80 µl (80 µmol) 1 M CuSO₄-Lösung und 80 µl (80 µmol) 1 M Natriumascorbat-Lösung umgesetzt (DMSO/Wasser). Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 4:6, 3:7) wurde Triazol **100b** (197 mg, 0.26 mmol, 81%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 132–134°C erhalten.

[DC: PE/EE = 3:7, R_f(**100b**) = 0.30]



Hauptrotamer

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): δ = 0.60 (m, 3 H, 17-H), 0.72–0.82 (sh, 6 H, 17'-H, 24-H), 0.86 (d, ³J_{22,21} = 6.7 Hz, 3 H, 22-H), 1.04 (m, 1 H, 23-H_a), 1.22–1.34 (sh, 2 H, 28-H_{ax}, 29-H_{ax}), 1.40–1.55 (sh, 5 H, 16-H, 23-H_b, 27-H_{ax}, 28-H_{eq}, 29-H_{eq}), 1.83 (m, 1 H, 21-H), 1.97 (m, 1 H, 14-H_a), 2.08 (m, 1 H, 27-H_{eq}), 2.18 (m, 1 H, 14-H_b), 2.88–3.06 (sh, 5 H, 5-H, 18-H, 30-H_{ax}), 3.58 (s, 3 H, 37-H), 3.86–4.08 (sh, 2 H, 15-H, 30-H_{eq}), 4.17 (m, 2 H, 13-H), 4.64 (d, ³J_{20,21} = 8.9 Hz, 1 H, 20-H), 4.07 (m, 1 H, 26-H), 4.92 (m, 1 H, 4-H), 4.99 (m, 2 H, 32-H), 5.83 (dd, ³J_{2,3} = 15.7 Hz, ⁴J_{2,4} = 1.5 Hz, 1 H, 2-H), 6.92 (dd, ³J_{3,2} = 15.7 Hz, ³J_{3,4} = 5.7 Hz, 1 H, 3-H), 7.02–7.22 (sh, 10 H, 7-H, 8-H, 9-H, 34-H, 35-H, 36-H), 8.27 (s, 1 H, 12-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): δ = 11.1 (q, C-24), 16.3 (q, C-22), 20.2 (q, C-17), 20.4 (q, C-17'), 21.2 (t, C-28), 25.6 (2 t, C-23, C-29), 28.0 (t, C-27), 30.7, 31.1 (t, d, q, C-14, C-16, C-18), 37.4 (d, C-21), 40.9 (t, C-5), 43.3 (t, C-30), 49.2 (t, C-13), 52.2 (q, C-37), 53.1 (d, C-4), 55.5 (d, C-20), 56.2 (d, C-26), 59.1 (d, C-15), 68.5 (t, C-32), 122.1 (d, C-2), 127.8 (d, C-12), 128.7, 129.1, 129.5, 129.6, 130.4 (6 d, C-7, C-8, C-9, C-34, C-35, C-36), 138.0, 138.6 (2 s, C-6, C-33), 143.5 (s, C-11), 148.6 (d, C-3), 158.1 (s, C-31), 162.0 (s, C-10), 168.2 (s, C-1), 173.2 (s, C-19), 175.1 (s, C-25).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): δ = 0.92 (d, ³J_{17,16} = 6.5 Hz, 3 H, 17-H), 2.65 (s, 3 H, 18-H), 3.79 (m, 1 H, 15-H), 4.82 (m, 2 H, 32-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 100 MHz): $\delta = 11.2$ (q, C-24), 16.7 (q, C-22), 20.3 (q, C-17), 21.0 (q, C-17'), 21.1 (t, C-28), 28.4 (t, C-27), 29.1 (q, C-18), 32.4, 32.5 (t, d, C-14, C-16), 38.6 (d, C-21), 53.0 (d, C-4), 54.3 (d, C-20), 62.0 (d, C-15), 127.6 (d, C-12), 157.6 (s, C-31).

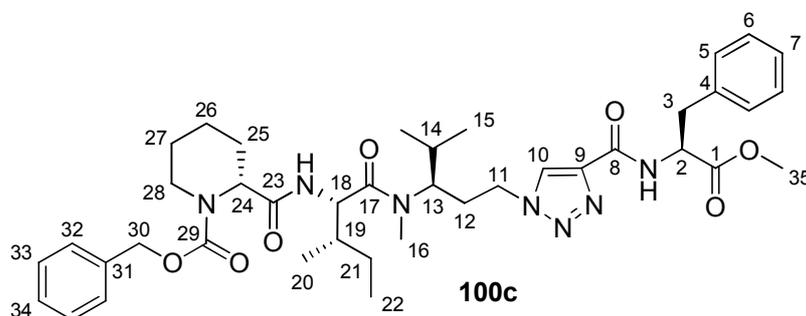
Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -28.1^\circ$ ($c = 0.8$, MeOH)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{42}\text{H}_{58}\text{N}_7\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	772.4397	772.4348

(R)-2-((2S,3S)-1-(((R)-1-(4-((S)-1-Methoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-ylcarbamoyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbamoyl)piperidin-1-carbonsäurebenzylester (100c)

Gemäß **AAV 12** wurden 200 mg (0.39 mmol) Azid **74**, 136 mg (0.59 mmol) Alkin **76**, 80 μl (80 μmol) 1 M CuSO_4 -Lösung und 80 μl (80 μmol) 1 M Natriumascorbat-Lösung umgesetzt (*tert*-Butanol/Wasser). Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 4:6) wurde Triazol **100c** (270 mg, 0.36 mmol, 93%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 94–96°C erhalten.

[DC: PE/EE = 4:6, $R_f(\mathbf{54}) = 0.16$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.76$ (d, $^3J_{15,14} = 6.4$ Hz, 3 H, 15-H), 0.80–0.98 (sh, 9 H, 15'-H, 20-H, 22-H), 1.18 (m, 1 H, 21- H_a), 1.32–1.78 (sh, 7 H, 14-H, 21- H_b , 25- H_{ax} , 26-H, 27-H), 1.84 (m, 1 H, 19-H), 2.00 (m, 1 H, 12- H_a), 2.08–2.38 (sh, 2 H, 12- H_b , 25- H_{eq}), 3.05 (s, 3 H, 16-H), 3.12–3.38 (sh, 3 H, 3-H, 28- H_{ax}), 3.71 (s, 3 H, 35-H), 3.97 (m, 1 H, 28- H_{eq}), 4.12–4.34 (3 H, 11-H, 13-H), 4.64 (m, 1 H, 18-H), 4.78 (m, 1 H, 24-H), 4.98–5.18 (sh, 3 H, 2-H, 30-H), 7.12–7.30 (sh, 11 H, 5-H, 6-H, 7-H, 32-H, 33-H, 34-H, NH), 7.60 (m, 1 H, NH), 8.21 (s, 1 H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 10.8$ (q, C-22), 15.8 (q, C-20), 19.2 (q, C-15), 19.5 (q, C-15'), 20.0 (t, C-26), 24.4 (t, C-27), 24.5 (t, C-21), 26.3 (t, C-25), 29.8 (d, C-14), 30.2 (q, C-16), 30.6 (t, C-12), 36.2 (d, C-19), 38.0 (t, C-3), 42.2 (t, C-28), 48.1 (t, C-11), 50.6 (q, C-35), 53.0 (d, C-2), 54.2 (d, C-18), 54.5 (d, C-24), 58.2 (d, C-13),

67.9 (t, C-30), 126.3 (d, C-10), 127.0 (d, C-7), 127.8, 128.1, 128.4, 128.6, 129.1 (5 d, C-5, C-6, C-32, C-33, C-34), 135.6, 135.8 (2 s, C-4, C-31), 156.8 (s, C-29), 159.8 (s, C-8), 171.3 (s, C-1), 172.5 (s, C-17), 174.6 (s, C-23).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.02 (d, ³J_{15,14} = 6.3 Hz, 3 H, 15-H), 2.58 (s, 3 H, 16-H), 2.86 (m, 1 H, 28-H_{ax}), 3.67 (s, 3 H, 35-H), 3.75 (m, 1 H, 13-H), 4.46 (m, 1 H, 11-H), 6.62 (bs, 1 H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.1 (q, C-22), 16.1 (q, C-20), 20.1 (q, C-15), 20.0 (t, C-26), 27.4 (q, C-16), 31.2 (d, C-14), 42.0 (t, C-28), 47.4 (t, C-11), 53.1 (d, C-2), 61.3 (d, C-13), 67.5 (t, C-30), 157.2 (s, C-29), 160.0 (s, C-8).

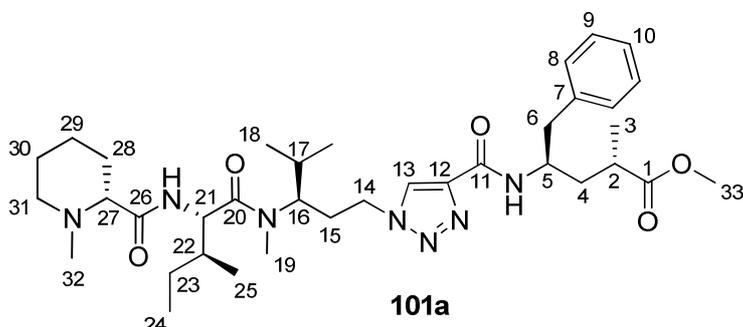
Optische Drehung: [α]_D²⁰ = +19.7° (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₄₀ H ₅₅ N ₇ O ₇ [M+H] ⁺	745.4163	745.4163

(2*S*,4*R*)-4-(1-((*R*)-3-((2*S*,3*S*)-*N*,3-Dimethyl-2-((*R*)-1-methylpiperidin-2-carbox-amido)pentanamido)-4-methylpentyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentansäuremethylester (101a**)**

Gemäß **AAV 7** wurden 193 mg (0.25 mmol) Tetrapeptid **100a** mit 27 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 22 mg (0.25 mmol) Paraformaldehyd und 17 mg (0.26 mmol) Natriumcyanoborhydrid nach **AAV 10** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 97:3, 93:7) wurde **101a** (168 mg, 0.25 mmol, 78%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 56–58°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 95:5, R_f(**101a**) = 0.20]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.78 (d, ³J_{18,17} = 6.6 Hz, 3 H, 18-H), 0.89–0.96 (sh, 6 H, 18ⁱ-H, 24-H), 1.00 (d, ³J_{25,22} = 6.7 Hz, 3 H, 25-H), 1.16 (d, ³J_{3,2} = 7.1 Hz, 3 H, 3-H), 1.19–1.26 (sh, 2 H, 23-H_a, 29-H_{ax}), 1.35 (m, 1 H, 28-H_{ax}), 1.48–1.84 (sh, 7 H,

4-H_a, 17-H, 23-H_b, 28-H_{eq}, 29-H_{eq}, 30-H), 1.91 (m, 1 H, 22-H), 1.96–2.08 (sh, 3 H, 4-H_b, 15-H_a, 31-H_{ax}), 2.20–2.32 (sh, 4 H, 15-H_b, 32-H), 2.49 (m, 1 H, 27-H), 2.62 (m, 1 H, 2-H), 2.86–2.96 (sh, 3 H, 6-H, 31-H_{eq}), 3.05 (s, 3 H, 19-H), 3.65 (s, 3 H, 33-H), 4.19–4.30 (sh, 3 H, 14-H, 16-H), 4.43 (m, 1 H, 5-H), 4.77 (dd, $^3J_{21,22} = ^3J_{21,NH} = 8.8$ Hz, 1 H, 21-H), 6.96 (d, $^3J_{NH,5} = 9.2$ Hz, 1 H, NH), 7.04 (d, $^3J_{NH,21} = 7.7$ Hz, 1 H, NH), 7.19–7.23 (sh, 3 H, 8-H, 10-H), 7.28 (m, 2 H, 9-H), 8.13 (s, 1 H, 13-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 10.9$ (q, C-24), 16.0 (q, C-25), 17.7 (q, C-3), 19.4 (q, C-18), 19.8 (q, C-18'), 23.2 (t, C-29), 24.6 (t, C-23), 25.0 (t, C-30), 29.7 (d, C-16), 29.9 (q, C-19), 30.2 (t, C-15), 30.3 (t, C-28), 36.3 (d, C-2), 36.8 (d, C-22), 37.9 (t, C-4), 41.4 (t, C-6), 44.8 (q, C-32), 48.1 (t, C-14), 48.2 (d, C-5), 51.7 (d, C-33), 53.0 (d, C-21), 55.3 (t, C-31), 57.4 (d, C-16), 69.5 (d, C-27), 125.6 (d, C-13), 126.4 (d, C-10), 128.4 (d, C-8), 129.4 (d, C-9), 137.4 (s, C-7), 143.2 (s, C-12), 159.5 (s, C-11), 173.6 (s, C-20), 174.3 (s, C-26), 176.4 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 1.05$ (d, $^3J_{18,17} = 6.6$ Hz, 3 H, 18-H), 2.83 (s, 3 H, 19-H), 3.75 (m, 1 H, 16-H), 4.09 (m, 3 H, 14-H), 4.86 (m, 1 H, 21-H), 8.06 (s, 1 H, 13-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-24), 16.5 (q, C-25), 20.1 (q, C-18), 20.4 (q, C-18'), 27.3 (q, C-19).

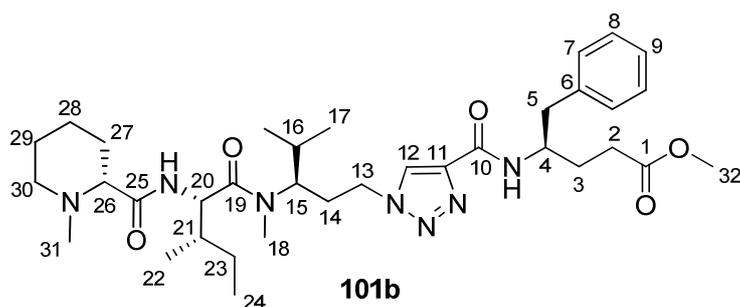
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +19.8^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₆ H ₅₈ N ₇ O ₅ [M+H] ⁺	668.4499	668.4489

(S,E)-4-(1-((R)-3-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-5-phenylpentensäuremethylester (101b)

Gemäß **AAV 7** wurden 43 mg (56 μ mol) Tetrapeptid **100b** mit 18 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 6 mg (64 μ mol) Paraformaldehyd und 4 mg (60 μ mol) Natriumcyanoborhydrid nach **AAV 10** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 93:7) wurde **101b** (28 mg, 43 μ mol, 77%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 62–64°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 93:7, R_f(**101b**) = 0.19]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.78 (d, $^3J_{17,16}$ = 6.5 Hz, 3 H, 17-H), 0.87–0.94 (sh, 6 H, 17'-H, 24-H), 1.00 (d, $^3J_{22,21}$ = 6.7 Hz, 3 H, 22-H), 1.13–1.25 (sh, 2 H, 23-H_a, 28-H_{ax}), 1.35 (m, 1 H, 27-H_{ax}), 1.53–1.84 (sh, 7 H, 3-H_a, 16-H, 23-H_b, 27-H_{eq}, 28-H_{eq}, 29-H), 1.95 (m, 1 H, 21-H), 1.97–2.10 (sh, 3 H, 3-H_b, 14-H_a, 30-H_{ax}), 2.24 (s, 3 H, 31-H), 2.30 (m, 1 H, 14-H_b), 2.41 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.5 Hz, 2 H, 2-H), 2.48 (m, 1 H, 26-H), 2.85–2.99 (sh, 3 H, 5-H, 30-H_{eq}), 3.05 (s, 3 H, 18-H), 3.63 (s, 3 H, 32-H), 4.18–4.32 (sh, 2 H, 15-H, 13-H), 4.41 (m, 1 H, 4-H), 4.77 (dd, $^3J_{20,21}$ = $^3J_{20,NH}$ = 8.8 Hz, 1 H, 20-H), 7.00–7.10 (sh, 2 H, NH, NH), 7.19–7.31 (sh, 5 H, 7-H, 8-H, 9-H), 8.14 (s, 1 H, 12-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 10.6 (q, C-24), 15.8 (q, C-22), 19.2 (q, C-17), 19.7 (q, C-17'), 23.0 (t, C-28), 24.4 (t, C-23), 24.7 (t, C-29), 29.0 (t, C-3), 29.5 (t, C-14), 29.6 (q, C-18), 30.0 (d, C-16), 30.1 (t, C-27), 30.7 (t, C-2), 36.6 (d, C-21), 41.2 (t, C-5), 44.6 (q, C-31), 47.9 (t, C-13), 49.5 (d, C-4), 51.4 (q, C-32), 52.7 (d, C-20), 55.1 (t, C-30), 57.3 (d, C-15), 69.3 (d, C-26), 125.4 (d, C-12), 126.3 (d, C-9), 128.2 (d, C-7), 129.1 (d, C-8), 137.2 (s, C-6), 142.9 (s, C-11), 159.5 (s, C-10), 173.3 (2 s, C-1, C-19), 174.1 (s, C-25).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.05 (d, $^3J_{17,16}$ = 6.6 Hz, 3 H, 17-H), 2.82 (s, 3 H, 18-H), 3.48 (m, 1 H, 4-H), 3.73 (m, 1 H, 15-H), 8.07 (s, 1 H, 12-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.1 (q, C-24), 16.3 (q, C-22), 19.8 (q, C-17), 20.2 (q, C-17'), 41.1 (t, C-5), 135.2 (s, C-6).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -0.8^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₅ H ₅₆ N ₇ O ₅ [M+H] ⁺	654.4343	654.4336

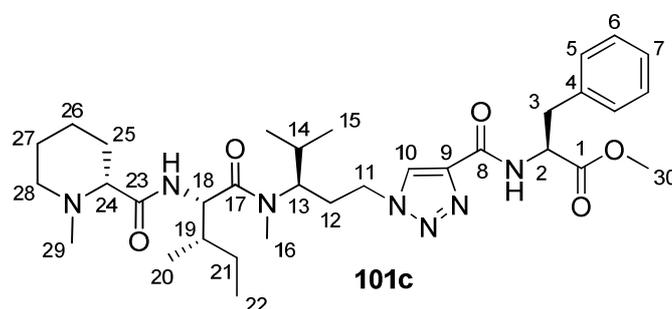
Elementaranalyse:

C ₃₅ H ₅₅ N ₇ O ₅	ber.	C 64.29	H 8.48	N 15.00
(653.85)	gef.	C 64.15	H 8.67	N 14.17

(S)-2-(1-((R)-3-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-3-phenylpropan-säuremethylester (101c)

Gemäß **AAV 7** wurden 168 mg (0.21 mmol) Tetrapeptid **100c** mit 19 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 21 mg (0.22 mmol) Paraformaldehyd und 16 mg (0.24 mmol) Natriumcyanoborhydrid nach **AAV 10** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 93:7) wurde **101c** (106 mg, 0.17 mmol, 79%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 58–60°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 93:7, $R_f(\mathbf{101c}) = 0.19$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.76$ (d, $^3J_{15,14} = 6.6$ Hz, 3 H, 15-H), 0.87–0.94 (sh, 6 H, 15'-H, 22-H), 0.98 (d, $^3J_{20,19} = 6.7$ Hz, 3 H, 20-H), 1.13–1.25 (sh, 2 H, 21-H_a, 26-H_{ax}), 1.35 (m, 1 H, 25-H_{ax}), 1.45–1.79 (sh, 6 H, 14-H, 21-H_b, 25-H_{eq}, 26-H_{eq}, 27-H_{eq}), 1.89 (m, 1 H, 19-H), 1.95–2.05 (sh, 2 H, 12-H_a, 28-H_{ax}), 2.22 (s, 3 H, 29-H), 2.28 (m, 1 H, 12-H_b), 2.48 (m, 1 H, 24-H), 2.89 (m, 1 H, 28-H_{eq}), 3.03 (s, 3 H, 16-H), 3.18 (dd, $^2J_{3a,3b} = 13.9$ Hz, $^3J_{3a,2} = 5.9$ Hz, 1 H, 3-H_a), 3.23 (dd, $^2J_{3b,3a} = 14.0$ Hz, $^3J_{3b,4} = 5.9$ Hz, 1 H, 3-H_b), 3.71 (s, 3 H, 30-H), 4.15–4.30 (sh, 2 H, 11-H, 13-H), 4.75 (dd, $^3J_{18,19} = ^3J_{18,\text{NH}} = 8.9$ Hz, 1 H, 18-H), 5.04 (ddd, $^3J_{2,\text{NH}} = 8.2$ Hz, $^3J_{2,5a} = ^3J_{2,5b} = 6.2$ Hz, 1 H, 2-H), 7.03 (d, $^3J_{\text{NH},18} = 9.1$ Hz, 1 H, NH), 7.17 (m, 2 H, 6-H), 7.20–7.29 (sh, 3 H, 5-H, 7-H), 7.53 (d, $^3J_{\text{NH},2} = 8.2$ Hz, 1 H, NH), 8.16 (s, 1 H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 10.8$ (q, C-22), 16.0 (q, C-20), 19.4 (q, C-15), 19.9 (q, C-15'), 23.1 (t, C-26), 24.6 (t, C-21), 25.0 (t, C-27), 29.6 (t, C-12), 29.8 (q, C-16), 30.2 (d, C-14), 30.3 (t, C-25), 36.8 (d, C-19), 38.1 (t, C-3), 44.8 (q, C-29), 48.0 (t, C-11), 52.2 (q, C-30), 52.9, 53.0 (2 d, C-2, C-18), 55.3 (t, C-28), 57.4 (d, C-13), 69.5 (d, C-24), 125.8 (d, C-10), 127.0 (d, C-7), 128.5 (d, C-5), 129.1 (d, C-6), 135.8 (s, C-4), 142.6 (s, C-9), 159.5 (s, C-8), 171.4 (s, C-1), 173.5 (s, C-179), 174.2 (s, C-23).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.03 (d, $^3J_{15,14}$ = 6.6 Hz, 3 H, 15-H), 2.80 (s, 3 H, 16-H), 4.09 (m, 1 H, 13-H), 4.48 (m, 1 H, 11-H), 4.85 (dd, $^3J_{18,NH}$ = 9.6 Hz, $^3J_{18,19}$ = 6.3 Hz, 1 H, 18-H), 8.09 (s, 1 H, 10-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-22), 16.5 (q, C-20), 20.0 (q, C-15), 20.4 (q, C-15'), 27.2 (q, C-16), 47.5 (t, C-11).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20}$ = +30.2° (c = 0.7, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₃ H ₅₂ N ₇ O ₅ [M+H] ⁺	626.4030	626.4060

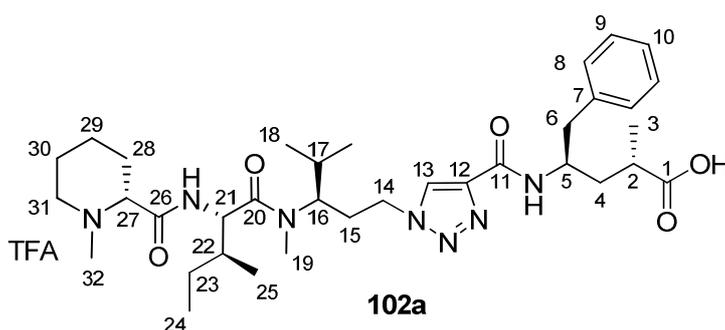
Elementaranalyse:

C ₃₃ H ₅₁ N ₇ O ₅	ber.	C 63.34	H 8.21	N 15.67
(625.80)	gef.	C 63.09	H 8.34	N 15.29

(2S,4R)-4-(1-((R)-3-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-Methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentansäure-TFA-Salz (102a)

Gemäß **AAV 5** wurden 57 mg (85 μ mol) **101a** mit 200 μ l (200 μ mol) 1 M NaOH-Lösung bei 80°C entschützt (Dioxan, 4 h). Nach Aufarbeitung (angesäuert mit TFA) und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 9:1) wurde Triazolprätabulysin **102a** (63 mg, 82 μ mol, 97%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 100–102°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, R_f(**102a**) = 0.16]


Hauptrotamer

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): δ = 0.79 (d, $^3J_{18,17}$ = 6.5 Hz, 3 H, 18-H), 0.92–0.97 (sh, 6 H, 18'-H, 24-H), 1.04 (d, $^3J_{25,23}$ = 6.7 Hz, 3 H, 25-H), 1.17 (d, $^3J_{3,2}$ = 7.0 Hz, 3 H, 3-H), 1.25 (m, 1 H, 23-H_a), 1.52–1.70 (sh, 3 H, 4-H_a, 23-H_b, 29-H_{ax}), 1.72–1.87 (sh, 3 H, 17-H, 28-H_{ax}, 30-H_{ax}), 1.88–2.04 (sh, 4 H, 4-H_b, 22-H, 29-H_{eq}, 30-H_{eq}), 2.08–2.20 (sh, 2 H, 15-H_a, 28-H_{eq}), 2.33 (m, 1 H, 15-H_b), 2.56 (m, 1 H, 2-H), 2.73 (s, 3 H, 32-H),

2.88 (d, $^3J_{6,5} = 6.7$ Hz, 2 H, 6-H), 3.02–3.14 (sh, 4 H, 19-H, 31-H_{ax}), 3.49 (m, 1 H, 31-H_{eq}), 3.77 (dd, $^3J_{27,28eq} = 11.8$ Hz, $^3J_{27,28ax} = 2.4$ Hz, 1 H, 27-H), 4.11 (m, 1 H, 16-H), 4.26–4.47 (sh, 3 H, 5-H, 14-H), 4.69 (d, $^3J_{21,22} = 7.8$ Hz, 1 H, 21-H), 7.15 (m, 1 H, 10-H), 7.18–7.28 (sh, 3 H, 8-H, 9-H), 8.32 (s, 1 H, 13-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-24), 16.2 (q, C-25), 18.6 (q, C-3), 20.2 (q, C-18), 20.4 (q, C-18'), 22.3 (t, C-29), 24.0 (t, C-30), 25.5 (t, C-23), 30.2 (d, C-17), 30.9 (t, C-28), 31.0 (t, q, C-15, C-19), 37.4 (d, C-22), 37.8 (d, C-2), 39.2 (t, C-3), 42.4 (q, C-32), 42.9 (t, C-6), 49.2 (t, C-14), 50.5 (d, C-5), 56.1 (t, C-31), 56.2 (d, C-21), 59.7 (d, C-16), 68.0 (d, C-27), 118.3 (q, $^2J_{C,F} = 292$ Hz, CF₃COOH), 127.3, 127.4 (2 d, C-10, C-13), 129.3 (d, C-8), 130.5 (d, C-9), 139.6 (s, C-7), 144.0 (s, C-12), 162.1 (s, C-11), 163.0 (q, $^3J_{C,F} = 34.3$ Hz, CF₃COOH), 169.3 (s, C-20), 174.7 (s, C-27), 179.9 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): $\delta = 0.90$ (m, 3 H, 24-H), 0.99 (m, 3 H, 25-H), 1.06 (m, 3 H, 18-H), 1.13 (m, 3 H, 3-H), 2.78 (s, 3 H, 32-H), 3.85 (dd, $^3J_{27,28eq} = 11.9$ Hz, $^3J_{27,28ax} = 2.4$ Hz, 1 H, 27-H), 4.79 (d, $^3J_{21,22} = 4.6$ Hz, 1 H, 21-H), 8.30 (s, 1 H, 13-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): $\delta = 11.6$ (q, C-24), 16.3 (q, C-25), 20.6 (q, C-18), 28.4 (q, C-19), 37.5 (d, C-22), 39.3 (t, C-3), 43.2 (q, C-32), 52.3 (d, C-5), 54.9 (t, C-31), 56.9 (d, C-21), 62.3 (d, C-16), 139.7 (s, C-7), 143.9 (s, C-12), 170.0 (s, C-20), 173.4 (s, C-27), 178.3 (s, C-1).

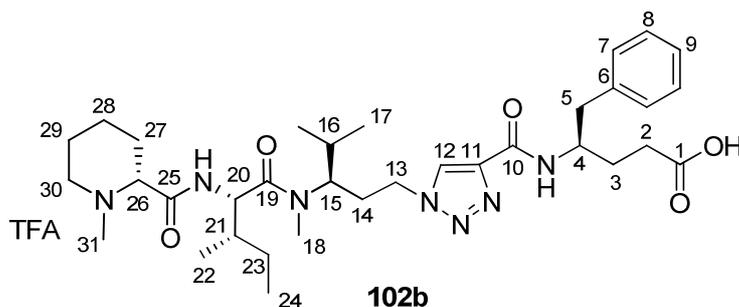
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -19.2^\circ$ (c = 1.1, MeOH)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₅ H ₅₆ N ₇ O ₅ [M+H] ⁺	654.4343	654.4368

(R)-4-(1-((R)-3-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-5-phenylpentansäure-TFA-Salz (102b)

Gemäß **AAV 5** wurden 78 mg (0.12 mmol) **101b** mit 0.24 ml (0.24 mmol) 1 M NaOH-Lösung bei Raumtemperatur entschützt (Dioxan, 16 h). Nach Aufarbeitung (angesäuert mit TFA) und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 85:15) wurde **102b** (93 mg, 0.12 mmol, 99%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 122–124°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 85:15, R_f(**102b**) = 0.33]



Hauptrotamer

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): δ = 0.79 (d, $^3J_{17,16}$ = 6.5 Hz, 3 H, 17-H), 0.89–0.99 (sh, 6 H, 17ⁱ-H, 24-H), 1.04 (d, $^3J_{22,21}$ = 6.8 Hz, 3 H, 22-H), 1.25 (m, 1 H, 23-H_a), 1.54–1.64 (sh, 2 H, 23-H_b, 28-H_{ax}), 1.73–2.03 (sh, 8 H, 3-H, 16-H, 21-H, 27-H_{ax}, 28-H_{eq}, 29-H), 2.08–2.20 (sh, 2 H, 14-H_a, 27-H_{eq}), 2.30–2.44 (sh, 3 H, 2-H, 14-H_b), 2.72 (s, 3 H, 31-H), 2.91 (d, $^3J_{5,4}$ = 7.0 Hz, 2 H, 5-H), 3.08 (m, 1 H, 30-H_{ax}), 3.11 (s, 3 H, 18-H), 3.49 (m, 1 H, 30-H_{eq}), 3.78 (m, 1 H, 26-H), 4.11 (m, 1 H, 15-H), 4.26–4.47 (sh, 3 H, 4-H, 13-H), 4.69 (d, $^3J_{20,21}$ = 7.9 Hz, 1 H, 20-H), 7.13–7.28 (sh, 5 H, 7-H, 8-H, 9-H), 8.34 (s, 1 H, 12-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-24), 16.2 (q, C-22), 20.2 (q, C-17), 20.4 (q, C-17'), 22.3 (t, C-28), 24.0 (t, C-29), 25.5 (t, C-23), 30.2 (t, C-3), 30.7 (t, C-14), 30.8 (q, C-18), 30.9 (d, C-16), 31.0 (t, C-27), 31.9 (t, C-2), 37.4 (d, C-21), 42.1 (t, C-5), 42.9 (q, C-31), 49.2 (t, C-13), 51.8 (d, C-4), 56.1 (d, C-20), 56.2 (t, C-30), 59.6 (d, C-15), 68.1 (d, C-26), 118.3 (q, $^2J_{C,F}$ = 296 Hz, CF₃COOH), 127.3 (d, C-12), 127.4 (d, C-9), 129.4 (d, C-7), 130.4 (d, C-8), 139.7 (s, C-6), 143.9 (s, C-11), 162.3 (s, C-10), 163.0 (q, $^3J_{C,F}$ = 34.0 Hz, CF₃COOH), 169.3 (s, C-19), 174.7 (s, C-25), 176.7 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): δ = 2.72 (s, 3 H, 31-H), 2.79 (s, 3 H, 18-H), 4.79 (d, $^3J_{20,21}$ = 4.6 Hz, 1 H, 20-H), 8.32 (s, 1 H, 12-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-24), 16.3 (q, C-22), 20.6 (q, C-17), 28.4 (q, C-18), 62.3 (d, C-15), 143.9 (s, C-11), 169.9 (s, C-19), 173.4 (s, C-25).

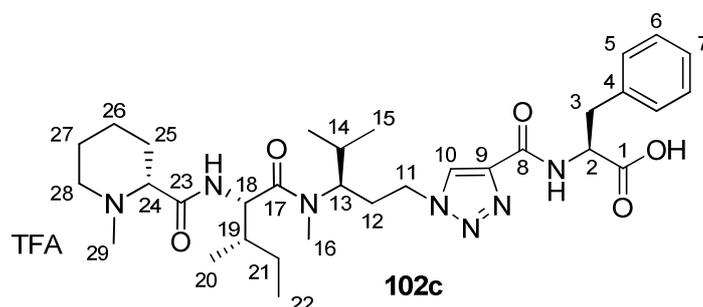
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -27.4^\circ$ (c = 1.0, MeOH)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₄ H ₅₄ N ₇ O ₅ [M+H] ⁺	640.4186	640.4193

(S)-2-(1-((R)-3-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-3-phenylpropan-säure-TFA-Salz (102c)

Gemäß **AAV 5** wurden 83 mg (0.13 mmol) **101c** mit 0.27 ml (0.27 mmol) 1 M NaOH-Lösung bei Raumtemperatur entschützt (Dioxan, 16 h). Nach Aufarbeitung (angesäuert mit TFA) und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 85:15) wurde **102c** (86 mg, 0.12 mmol, 89%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 128–130°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 85:15, $R_f(\mathbf{102c}) = 0.13$]



Hauptrotamer

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): $\delta = 0.78$ (d, $^3J_{15,14} = 6.5$ Hz, 3 H, 15-H), 0.88–0.99 (sh, 6 H, 15'-H, 22-H), 1.03 (d, $^3J_{20,19} = 6.7$ Hz, 3 H, 20-H), 1.24 (m, 1 H, 21-H_a), 1.52–1.68 (sh, 2 H, 21-H_b, 26-H_{ax}), 1.73–1.96 (sh, 6 H, 14-H, 19-H, 25-H_{ax}, 26-H_{eq}, 27-H), 2.08–2.20 (sh, 2 H, 12-H_a, 25-H_{eq}), 2.33 (m, 1 H, 12-H_b), 2.73 (s, 3 H, 29-H), 3.08 (m, 1 H, 28-H_{ax}), 3.10 (s, 3 H, 16-H), 3.17 (dd, $^2J_{3a,3b} = 13.9$ Hz, $^3J_{3a,2} = 8.2$ Hz, 1 H, 3-H_a), 3.35 (m, 1 H, 3-H_b), 3.49 (m, 1 H, 28-H_{eq}), 3.78 (m, 1 H, 24-H), 4.11 (m, 1 H, 13-H), 4.32 (m, 2 H, 11-H), 4.69 (d, $^3J_{18,19} = 7.8$ Hz, 1 H, 18-H), 4.88 (m, 1 H, 2-H), 7.13–7.38 (sh, 5 H, 5-H, 6-H, 7-H), 8.39 (s, 1 H, 10-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-22), 16.2 (q, C-20), 20.2 (q, C-15), 20.4 (q, C-15'), 22.3 (t, C-26), 24.0 (t, C-27), 25.5 (t, C-21), 30.2 (d, C-14), 30.9 (t, C-25), 31.0 (t, q, C-12, C-16), 37.4 (d, C-19), 38.4 (q, C-29), 49.3 (t, C-11), 54.8 (d, C-2), 56.1 (d, C-18), 56.2 (t, C-28), 59.6 (d, C-13), 68.1 (d, C-24), 118.3 (q, $^2J_{C,F} = 289$ Hz, CF₃COOH), 127.5 (d, C-10), 127.9 (d, C-7), 129.5 (d, C-5), 130.4 (d, C-6), 138.2 (s, C-4), 143.5 (s, C-9), 162.0 (s, C-8), 163.0 (q, $^3J_{C,F} = 34.0$ Hz, CF₃COOH), 169.2 (s, C-17), 174.3 (s, C-23), 174.7 (s, C-1).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): $\delta = 2.77$ (s, 3 H, 16-H), 4.78 (d, $^3J_{18,19} = 4.5$ Hz, 1 H, 18-H), 8.38 (s, 1 H, 10-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 100 MHz): $\delta = 11.9$ (q, C-22), 16.3 (q, C-20), 20.6 (q, C-15), 24.1 (t, C-27), 28.4 (d, C-14), 37.5 (t, C-19), 43.3 (q, C-29), 62.3 (d, C-13), 169.9 (s, C-17), 173.3 (s, C-23).

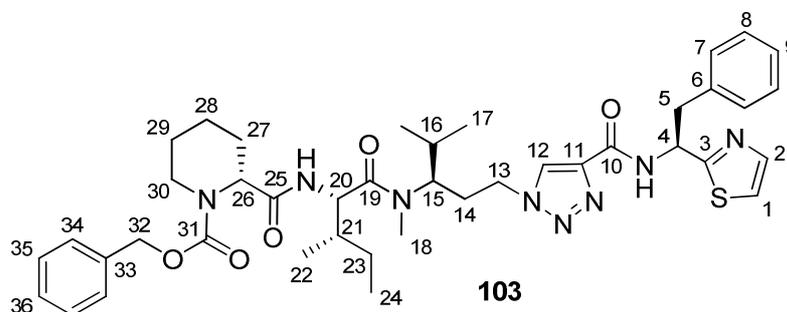
Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -6.1^\circ$ ($c = 1.1$, MeOH)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{N}_7\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	612.3873	612.3884

(R)-2-((2S,3S)-3-Methyl-1-(methyl((R)-4-methyl-1-(4-((S)-2-phenyl-1-(thiazol-2-yl)ethylcarbamoyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)pentan-3-yl)amino)-1-oxopentan-2-yl-carbamoyl)piperidin-1-carbonsäurebenzylester (103)

Gemäß **AAV 12** wurden 215 mg (0.42 mmol) Azid **74**, 161 mg (0.63 mmol, 93% ee) Alkin **79**, 130 μl (130 μmol) 1 M CuSO_4 -Lösung und 130 μl (130 μmol) 1 M Natriumascorbat-Lösung umgesetzt (*tert*-Butanol/Wasser). Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 2:8) wurde Triazol **103** (320 mg, 0.42 mmol, 99%, >95% ds) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 150–152°C erhalten.

[DC: PE/EE = 2:8, $R_f(\mathbf{103}) = 0.18$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 400 MHz): $\delta = 0.70$ (m, 3 H, 17-H), 0.82–0.93 (sh, 6 H, 17'-H, 24-H), 0.96 (d, $^3J_{22,21} = 6.6$ Hz, 3 H, 22-H), 1.14 (m, 1 H, 23- H_a), 1.33–1.44 (sh, 2 H, 28- H_{ax} , 29- H_{ax}), 1.50–1.80 (sh, 5 H, 16 H, 23- H_b , 27- H_{ax} , 28- H_{eq} , 29- H_{eq}), 1.94 (m, 1 H, 21-H), 2.09 (m, 1 H, 14- H_a), 2.18 (m, 1 H, 27- H_{eq}), 2.28 (m, 1 H, 14- H_b), 3.04 (s, 3 H, 18-H), 3.13 (m, 1 H, 30- H_{ax}), 3.34 (dd, $^2J_{5a,5b} = 14.0$ Hz, $^3J_{5a,4} = 9.2$ Hz, 1 H, 5- H_a), 3.50 (dd, $^2J_{5b,5a} = 13.8$ Hz, $^3J_{5b,4} = 5.7$ Hz, 1 H, 5- H_b), 3.96–4.14 (sh, 15-H, 30- H_{eq}), 4.27 (m, 2 H, 13-H), 4.73 (d, $^3J_{20,21} = 8.9$ Hz, 1 H, 20-H), 4.80 (bs, 1 H, 26-H), 5.10 (m, 2 H, 32-H), 5.75 (dd, $^3J_{4,5a} = 9.1$ Hz, $^3J_{4,5b} = 5.7$ Hz, 1 H, 4-H), 7.11–7.32 (sh, 10 H, 7-H, 8-H, 9-H, 34-H, 35-H, 36-H), 7.50 (d, $^3J_{1,2} = 3.2$ Hz, 1 H, 1-H), 7.77 (d, $^3J_{2,1} = 3.2$ Hz, 1 H, 2-H), 8.41 (s, 1 H, 12-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): δ = 11.0 (q, C-24), 16.2 (q, C-22), 20.3 (q, C-17), 21.2 (t, C-28), 25.6 (2 t, C-23, C-29), 28.1 (t, C-27), 30.7, 31.0 (t, d, q, C-14, C-16, C-18), 37.4 (d, C-21), 41.8 (t, C-5), 43.4 (t, C-30), 54.0 (d, C-4), 55.6 (d, C-20), 56.2 (d, C-26), 62.1 (d, C-15), 68.5 (t, C-32), 120.9 (d, C-1), 127.9 (d, C-12), 128.7, 129.1, 129.5, 129.6 130.4 (6 d, C-7, C-8, C-9, C-34, C-35, C-36), 137.9 (s, C-33), 138.4 (s, C-6), 143.0 (s, C-11), 143.4 (d, C-2), 162.1 (s, C-10), 173.4 (2 s, C-3, C-19), 175.1 (s, C-25).

Das Signal von C-31 ist im NMR nicht erkennbar.

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): δ = 1.03 (d, $^3J_{17,16}$ = 6.5 Hz, 3 H, 17-H), 2.74 (s, 3 H, 18-H), 4.92 (s, 2 H, 32-H), 7.47 (m, 1 H, 1-H), 8.37 (s, 1 H, 12-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): δ = 11.2 (q, C-24), 16.7 (q, C-22), 20.1 (q, C-17), 20.9 (q, C-17'), 21.1 (t, C-28), 29.0 (q, C-18), 32.3, 32.4 (t, d, C-14, C-16), 54.3 (d, C-4), 55.5 (d, C-20), 56.1 (d, C-26), 68.2 (t, C-32), 127.7 (d, C-12).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -21.9^\circ$ (c = 1.0, MeOD, >95% ds)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₄ H ₄₇ N ₈ O ₄ S [M+H] ⁺	663.3441	663.3430

(R)-1-Methyl-N-((2S,3S)-3-methyl-1-(methyl((R)-4-methyl-1-(4-((S)-2-phenyl-1-thiazol-2-yl)ethylcarbamoyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)pentan-3-yl)amino)-1-oxo-pentan-2-yl)piperidin-2-carboxamide (4S-104)

(R)-1-Methyl-N-((2S,3S)-3-methyl-1-(methyl((R)-4-methyl-1-(4-((R)-2-phenyl-1-thiazol-2-yl)ethylcarbamoyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)pentan-3-yl)amino)-1-oxo-pentan-2-yl)piperidin-2-carboxamide (4R-104)

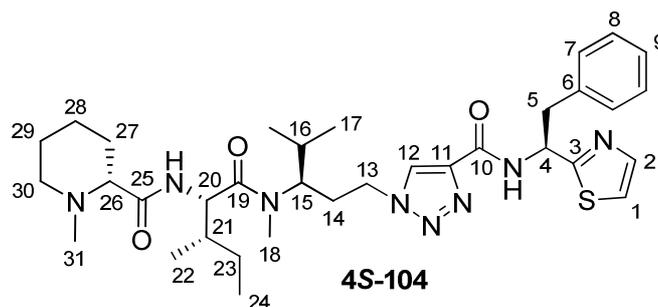
Gemäß **AAV 8** wurden 193 mg (0.25 mmol) Tetrapeptid **103** mit 0.46 ml (2.66 mmol) HBr (33 Gew% in Eisessig) entschützt und anschließend mit 26 mg (0.28 mmol) Paraformaldehyd und 19 mg (0.29 mmol) Natriumcyanoborhydrid nach **AAV 10** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 95:5) wurde **104** als Diastereomerenmischung erhalten:

Fraktion 1: 74 mg (114 μ mol, 46%, 78% ds) weißer Feststoff

Fraktion 2: 22 mg (34 μ mol, 14%, >95% ds) weißer Feststoff (Smp.: 70–72°C)

[DC: DCM/MeOH = 9:1, R_f(**4S-104**) = 0.14]

[DC: DCM/MeOH = 9:1, R_f(**4R-104**) = 0.19]



Hauptrotamer

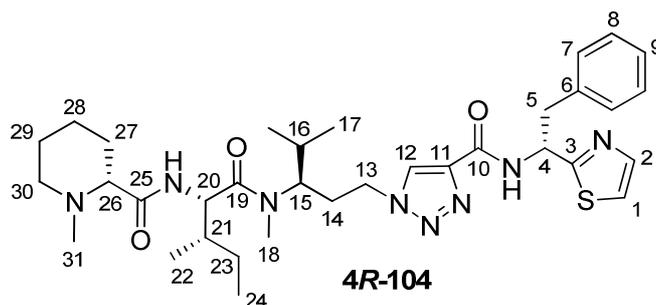
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.76$ (d, $^3J_{17,16} = 6.6$ Hz, 3 H, 17-H), 0.88–0.92 (sh, 6 H, 17ⁱ-H, 24-H), 0.97 (d, $^3J_{22,21} = 6.7$ Hz, 3 H, 22-H), 1.13–1.25 (sh, 2 H, 23-H_a, 28-H_{ax}), 1.33 (m, 1 H, 27-H_{ax}), 1.64–1.79 (sh, 6 H, 16-H, 23-H_b, 27-H_{eq}, 28-H_{eq}, 29-H), 1.88 (m, 1 H, 21-H), 1.94–2.03 (sh, 2 H, 14-H_a, 30-H_{ax}), 2.22 (s, 3 H, 31-H), 2.26 (m, 1 H, 14-H_b), 2.47 (dd, $^3J_{26,27\text{eq}} = 10.9$ Hz, $^3J_{26,27\text{ax}} = 2.6$ Hz, 1 H, 26-H), 2.89 (m, 1 H, 30-H_{eq}), 3.03 (s, 3 H, 18-H), 3.42 (dd, $^3J_{5a,5b} = ^3J_{5,4} = 6.6$ Hz, 2 H, 5-H), 4.15–4.31 (sh, 3 H, 13-H, 15-H), 4.75 (dd, $^3J_{20,21} = ^3J_{20,\text{NH}} = 8.9$ Hz, 1 H, 20-H), 5.79 (m, 1 H, 4-H), 7.02 (d, $^3J_{\text{NH},20} = 9.3$ Hz, 1 H, NH), 7.11–7.25 (sh, 6 H, 1-H, 7-H, 8-H, 9-H), 7.77 (d, $^3J_{2,1} = 3.2$ Hz, 1 H, 2-H), 7.82 (d, $^3J_{\text{NH},4} = 8.6$ Hz, 1 H, NH), 8.15 (s, 1 H, 12-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 10.9$ (q, C-24), 16.0 (q, C-22), 19.4 (q, C-17), 19.9 (q, C-17'), 23.2 (t, C-28), 24.6 (t, C-23), 25.0 (t, C-27), 29.7 (t, C-14), 29.9 (q, C-18), 30.2 (d, C-16), 30.4 (t, C-27), 36.8 (d, C-21), 41.6 (t, C-5), 44.9 (q, C-31), 48.1 (t, C-13), 51.9 (d, C-4), 53.0 (d, C-20), 55.3 (t, C-30), 57.5 (d, C-15), 69.5 (d, C-26), 118.9 (d, C-1), 126.0 (d, C-12), 126.8 (d, C-9), 128.5 (d, C-7), 129.4 (d, C-8), 136.4 (s, C-6), 143.0 (d, C-2), 159.4 (s, C-10), 170.2 (s, C-3), 173.6 (s, C-19), 174.4 (s, C-25).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.03$ (d, $^3J_{17,16} = 6.5$ Hz, 3 H, 17-H), 3.03 (s, 3 H, 18-H), 3.39 (m, 1 H, 5-H_a), 3.45 (m, 1 H, 5-H_b), 3.73 (m, 1 H, 15-H), 4.09 (m, 1 H, 13-H_a), 4.48 (m, 1 H, 13-H_b), 8.08 (s, 1 H, 12-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.2$ (q, C-24), 16.5 (q, C-22), 20.0 (q, C-17), 20.3 (q, C-17'), 37.6 (d, C-21), 44.8 (q, C-31), 47.5 (t, C-13), 60.7 (d, C-15), 69.3 (d, C-26), 142.4 (d, C-2), 159.3 (s, C-10).



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 2.09$ (s, 3 H, 31-H), 8.13 (s, 1 H, 12-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 10.9$ (q, C-24), 19.4 (q, C-17), 37.1 (d, C-21), 44.5 (q, C-31), 52.7 (d, C-20), 55.3 (t, C-30), 69.7 (d, C-26), 172.4 (s, C-19), 174.4 (s, C-25).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 2.77$ (s, 3 H, 18-H), 8.09 (s, 1 H, 12-H).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -22.5^\circ$ ($c = 0.9$, CHCl_3 , >95% ds)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{N}_8\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	651.3805	651.3769

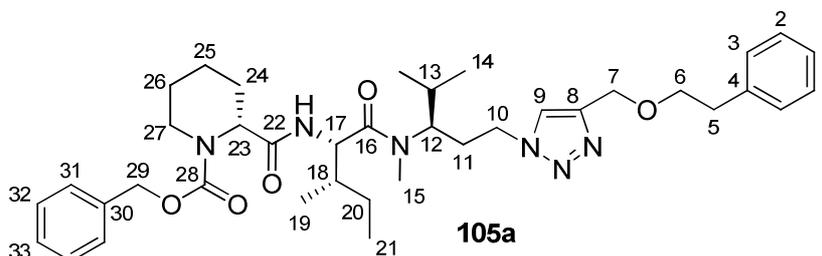
Elementaranalyse:

$\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{N}_8\text{O}_3\text{S}$	ber.	C 62.74	H 7.74	N 17.22
(650.88)	gef.	C 62.68	H 7.63	N 17.08

(R)-2-((2S,3S)-3-Methyl-1-(methyl((R)-4-methyl-1-(4-(phenoxymethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)pentan-3-yl)amino)-1-oxopentan-2-ylcarbamoyl)piperidin-1-carbonsäurebenzylester (105a)

Gemäß **AAV 12** wurden 99 mg (0.19 mmol) Azid **74**, 54 mg (0.34 mmol) Alkin **80**^[118], 38 μl (38 μmol) 1 M CuSO_4 -Lösung und 38 μl (38 μmol) 1 M Natriumascorbat-Lösung umgesetzt (*tert*-Butanol/Wasser). Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 4:6, 3:7) wurde Triazol **105a** (109 mg, 0.16 mmol, 85%) als farbloses Harz erhalten.

[DC: PE/EE = 4:6, $R_f(\mathbf{105a}) = 0.12$]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.69 (d, $^3J_{14,13}$ = 6.5 Hz, 3 H, 14-H), 0.79 (m, 3 H, 21-H), 0.84 (d, $^3J_{14',13}$ = 6.5 Hz, 3 H, 14'-H), 0.88 (m, 3 H, 19-H), 1.00 (m, 1 H, 20-H_a), 1.24–1.60 (sh, 6 H, 20-H_b, 24-H_{ax}, 25-H, 26-H), 1.66 (m, 1 H, 13-H), 1.74 (m, 1 H, 18-H), 1.92 (m, 1 H, 11-H_a), 2.15 (m, 1 H, 11-H_b), 2.23 (m, 1 H, 24-H_{eq}), 2.78 (m, 1 H, 27-H_{ax}), 2.83 (t, $^3J_{5,6}$ = 7.1 Hz, 2 H, 5-H), 2.95 (s, 3 H, 15-H), 3.67 (t, $^3J_{6,5}$ = 7.1 Hz, 2 H, 6-H), 3.98–4.05 (sh, 2 H, 10-H_a, 27-H_{eq}), 4.13–4.22 (sh, 2 H, 10-H_b, 12-H), 4.57 (s, 2 H, 7-H), 4.74 (dd, $^3J_{17,NH}$ = $^3J_{17,18}$ = 8.4 Hz, 1 H, 17-H), 4.81 (m, 1 H, 23-H), 5.07 (d, $^2J_{29a,29b}$ = 12.3 Hz, 1 H, 29-H_a), 5.12 (d, $^2J_{29b,29a}$ = 12.3 Hz, 1 H, 29-H_b), 6.48 (m, 1 H, NH), 7.11–7.14 (sh, 2 H, 1-H, 3-H), 7.18–7.34 (sh, 7 H, 2-H, 31-H, 32-H, 33-H), 7.42 (s, 1 H, 9-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 10.9 (q, C-21), 15.9 (q, C-19), 19.4 (q, C-14), 19.8 (q, C-14'), 20.4 (t, C-25), 24.2 (t, C-26), 24.7 (t, C-20), 25.6 (t, C-24), 29.6 (q, C-15), 29.8 (d, C-13), 30.2 (t, C-11), 36.1 (t, C-5), 36.9 (d, C-18), 42.2 (t, C-27), 47.6 (t, C-10), 53.5 (d, C-17), 54.9 (d, C-23), 57.5 (d, C-12), 64.3 (t, C-7), 67.6 (t, C-29), 71.4 (t, C-6), 122.7 (d, C-9), 126.1 (d, C-1), 127.8, 128.1, 128.2, 128.5, 128.8 (5 d, C-2, C-3, C-31, C-32, C-33), 136.3 (s, C-30), 138.7 (s, C-4), 145.2 (s, C-8), 156.1 (s, C-28), 170.5 (s, C-16), 173.5 (s, C-22).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 2.71 (s, 3 H, 15-H), 3.63 (m, 2 H, 6-H), 4.53 (s, 2 H, 7-H), 5.01 (d, $^2J_{29a,29b}$ = 5.7 Hz, 1 H, 29-H_a), 6.94 (m, 1 H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.1 (q, C-21), 16.2 (q, C-19), 20.1 (t, C-14), 24.5 (t, C-20), 26.0 (t, C-24), 27.4 (q, C-15), 42.0 (t, C-27), 47.0 (t, C-19), 55.3 (d, C-23), 60.8 (d, C-12).

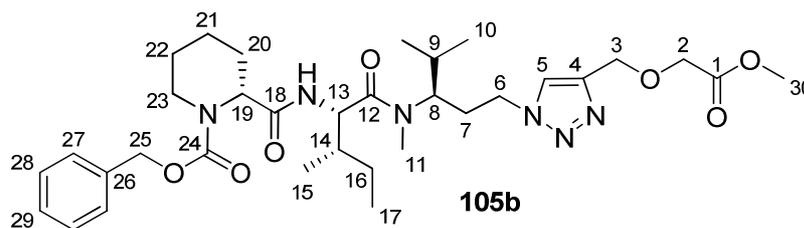
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +6.2^\circ$ (c = 0.6, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₈ H ₅₅ N ₆ O ₅ [M+H] ⁺	675.4234	675.4219

(R)-2-((2S,3S)-1-(((R)-1-(4-((2-Methoxy-2-oxoethoxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-yl)carbonyl) piperidin-1-carbonsäurebenzylester (105b)

Gemäß **AAV 12** wurden 203 mg (0.39 mmol) Azid **74**, 117 mg (0.91 mmol) Alkin **81**^[119], 80 μ l (80 μ mol) 1 M CuSO₄-Lösung und 80 μ l (80 μ mol) 1 M Natriumascorbat-Lösung umgesetzt (*tert*-Butanol/Wasser). Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 2:8) wurde Triazol **105b** (209 mg, 0.33 mmol, 85%) als farbloses Harz erhalten.

[DC: PE/EE = 2:8, $R_f(\mathbf{105b}) = 0.15$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.75$ (d, $^3J_{10,9} = 6.6$ Hz, 3 H, 10-H), 0.84 (m, 3 H, 17-H), 0.89 (d, $^3J_{10',9} = 6.5$ Hz, 3 H, 10'-H), 0.93 (m, 3 H, 15-H), 1.06 (m, 1 H, 16-H_a), 1.30–1.66 (sh, 6 H, 16-H_b, 20-H_{ax}, 21-H, 22-H), 1.72 (m, 1 H, 9-H), 1.80 (m, 1 H, 14-H), 2.01 (m, 1 H, 7-H_a), 2.23 (m, 1 H, 7-H_b), 2.28 (m, 1 H, 20-H_{eq}), 2.82 (m, 1 H, 23-H_{ax}), 3.01 (s, 3 H, 11-H), 3.74 (s, 3 H, 30-H), 4.05–4.14 (sh, 2 H, 6-H_a, 23-H_{eq}), 4.17 (s, 2 H, 2-H), 4.22–4.28 (sh, 2 H, 6-H_b, 8-H), 4.74 (s, 2 H, 3-H), 4.80 (dd, $^3J_{13,\text{NH}} = ^3J_{13,14} = 8.6$ Hz, 1 H, 13-H), 4.87 (m, 1 H, 19-H), 5.13 (d, $^2J_{25a,25b} = 12.2$ Hz, 1 H, 25-H_a), 5.18 (d, $^2J_{25b,25a} = 12.2$ Hz, 1 H, 25-H_b), 7.27–7.38 (sh, 5 H, 27-H, 28-H, 29-H), 7.69 (s, 1 H, 5-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 10.9$ (q, C-17), 15.9 (q, C-15), 19.4 (q, C-10), 19.8 (q, C-10'), 20.4 (t, C-21), 24.2 (t, C-22), 24.8 (t, C-16), 25.6 (t, C-20), 29.7 (q, C-11), 29.8 (d, C-9), 30.2 (t, C-7), 36.9 (d, C-14), 42.3 (t, C-23), 47.6 (t, C-6), 51.8 (q, C-30), 53.5 (d, C-13), 54.9 (d, C-19), 57.5 (d, C-8), 64.5 (t, C-3), 67.2 (t, C-2), 67.6 (t, C-25), 123.4 (d, C-5), 127.8, 128.1, 128.5 (3 d, C-27, C-28, C-29), 136.3 (s, C-26), 144.1 (s, C-8), 156.4 (s, C-24), 170.5, 170.5 (2 s, C-1, C-12), 173.5 (s, C-18).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 2.75$ (s, 3 H, 11-H), 3.72 (s, 3 H, 30-H), 4.70 (s, 2 H, 3-H), 5.08 (d, $^2J_{25a,25b} = 4.2$ Hz, 1 H, 25-H_a).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 16.2$ (q, C-15), 20.8 (t, C-10), 24.5 (t, C-16), 26.0 (t, C-20), 27.4 (q, C-11), 42.0 (t, C-23), 47.1 (t, C-6), 55.4 (d, C-19), 60.8 (d, C-8), 64.4 (t, C-3), 67.0 (t, C-2), 67.4 (t, C-25).

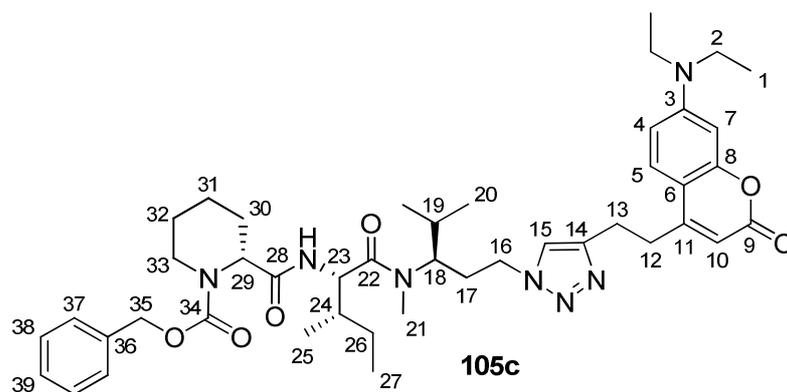
Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +8.0^\circ$ ($c = 0.6$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{33}\text{H}_{51}\text{N}_6\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	643.3819	643.3813

(R)-2-((2S,3S)-1-(((R)-1-(4-(2-(7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromen-4-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-ylcarbamoyl)piperidin-1-carbonsäurebenzylester (105c)

Gemäß **AAV 12** wurden 126 mg (0.24 mmol) Azid **74**, 97 mg (0.36 mmol) Alkin **82**, 50 μ l (50 μ mol) 1 M CuSO₄-Lösung und 50 μ l (50 μ mol) 1 M Natriumascorbat-Lösung umgesetzt (*tert*-Butanol/Wasser). Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 2:8, EE) wurde Triazol **105c** (181 mg, 0.23 mmol, 99%) als gelber Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 82–84°C erhalten.

[DC: PE/EE = 2:8, R_f(**105c**) = 0.11]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.74 (d, ³J_{20,19} = 6.5 Hz, 3 H, 20-H), 0.83 (m, 3 H, 27-H), 0.88 (d, ³J_{20',19} = 6.5 Hz, 3 H, 20'-H), 0.93 (m, 3 H, 25-H), 1.05 (m, 1 H, 26-H_a), 1.17 (t, ³J_{1,2} = 7.1 Hz, 3 H, 1-H), 1.30–1.40 (sh, 2 H, 31-H_{ax}, 32-H_{ax}), 1.46–1.64 (sh, 4 H, 20-H_a, 26-H_b, 31-H_{eq}, 32-H_{eq}), 1.71 (m 1 H, 19-H), 1.79 (m, 1 H, 24-H), 1.96 (m, 1 H, 17-H_a), 2.20 (m, 1 H, 17-H_b), 2.28 (m, 1 H, 30-H_{eq}), 2.83 (m, 33-H_{ax}), 3.00 (s, 3 H, 21-H), 3.04–3.10 (sh, 4 H, 12-H, 13-H), 3.38 (q, ³J_{2,1} = 7.0 Hz, 4 H, 2-H), 4.01–4.08 (sh, 2 H, 16-H_a, 33-H_{eq}), 4.14–4.27 (sh, 2 H, 16-H_b, 18-H), 4.79 (dd, ³J_{23,NH} = ³J_{23,24} = 8.6 Hz, 1 H, 23-H), 4.86 (m, 1 H, 29-H), 5.12 (d, ²J_{35a,35b} = 12.8 Hz, 1 H, 35-H_a), 5.16 (²J_{35b,35a} = 12.2 Hz, 1 H, 35-H_b), 5.89 (s, 1 H, 10-H), 6.46 (d, ⁴J_{7,4} = 2.4 Hz, 1 H, 7-H), 6.55 (dd, ³J_{4,5} = 9.0 Hz, ⁴J_{4,7} = 2.3 Hz, 1 H, 4-H), 6.58 (bs, 1 H, NH), 7.28–7.36 (sh, 5 H, 36-H, 37-H, 38-H), 7.41 (s, 1 H, 15-H), 7.44 (d, ³J_{5,4} = 9.0 Hz, 1 H, 5-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 10.9 (q, C-27), 12.4 (q, C-1), 15.9 (q, C-25), 19.4 (q, C-20), 19.8 (q, C-20'), 20.3 (t, C-31), 24.2 (t, C-26), 24.4 (d, C-19), 24.8 (t, C-32), 25.5 (t, C-30), 29.6 (q, C-21), 29.7 (d, C-19), 30.2 (t, C-17), 31.1 (t, C-12), 36.9 (d, C-24), 42.2 (t, C-33), 44.6 (t, C-2), 47.4 (t, C-16), 53.5 (d, C-23), 54.9 (d, C-29), 57.6 (d, C-18), 67.6 (t, C-35), 97.7 (d, C-7), 107.6 (d, C-10), 107.9 (s, C-6), 108.4 (d, C-4), 121.6 (d, C-15), 125.2 (d, C-5), 127.7, 128.0, 128.4 (3 d, C-37, C-38, C-39), 136.3 (s,

C-36), 146.0 (s, C-14), 150.3 (s, C-3), 155.3 (s, C-9), 155.4 (s, C-34), 156.2 (s, C-11), 162.1 (s, C-8), 170.5 (s, C-22), 173.4 (s, C-28).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.01 (d, ³J_{25,24} = 6.5 Hz, 3 H, 25-H), 2.71 (s, 3 H, 21-H), 5.04 (s, 2 H, 35-H), 5.92 (s, 1 H, 10-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.1 (q, C-27), 16.2 (q, C-25), 20.1 (q, C-20), 31.3 (t, C-12), 55.3 (d, C-29), 60.8 (d, C-18).

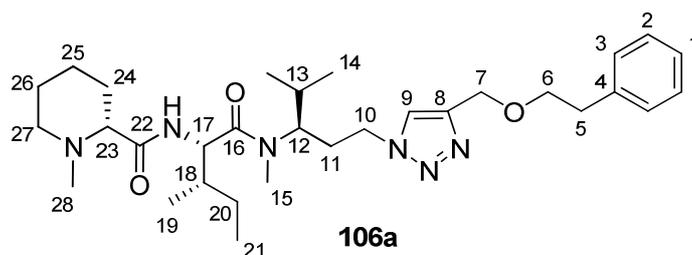
Optische Drehung: [α]_D²⁰ = +9.0° (c = 1.2, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₄₄ H ₆₂ N ₇ O ₆ [M+H] ⁺	784.4761	784.4790

(R)-1-Methyl-N-((2S,3S)-3-methyl-1-(methyl((R)-4-methyl-1-(4-(phenethoxy-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)pentan-3-yl)amino)-1-oxopentan-2-yl)piperidin-2-carboxamid (106a)

Gemäß **AAV 7** wurden 74 mg (0.11 mmol) Tetrapeptid **105a** mit 10 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 12 mg (0.12 mmol) Paraformaldehyd und 9 mg (0.13 mmol) Natriumcyanoborhydrid nach **AAV 10** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 9:1) wurde **106a** (56 mg, 0.10 mmol, 87%) als farbloses Harz erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, R_f(**106a**) = 0.32]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.69 (d, ³J_{14,13} = 6.6 Hz, 3 H, 14-H), 0.83 (d, ³J_{14',13} = 6.6 Hz, 3 H, 14'-H), 0.85 (t, ³J_{21,20} = 7.5 Hz, 3 H, 21-H), 0.91 (d, ³J_{19,18} = 6.8 Hz, 3 H, 19-H), 1.08–1.18 (sh, 2 H, 20-H_a, 25-H_{ax}), 1.28 (m, 1 H, 24-H_{ax}), 1.34–1.68 (sh, 5 H, 20-H_b, 24-H_{eq}, 25-H_{eq}, 26-H), 1.72 (m, 1 H, 13-H), 1.84 (m, 1 H, 18-H), 1.89–1.98 (sh, 2 H, 11-H_a, 27-H_{ax}), 2.11–2.19 (sh, 4 H, 11-H_b, 28-H), 2.41 (dd, ³J_{23,24eq} = 10.7 Hz, ³J_{23,24ax} = 2.2 Hz, 1 H, 23-H), 2.81 (m, 1 H, 27-H_{eq}), 2.84 (t, ³J_{5,6} = 2.84 Hz, 2 H, 5-H), 2.96 (s, 3 H, 15-H), 3.67 (t, ³J_{6,5} = 7.2 Hz, 2 H, 6-H), 4.02 (dt, ²J_{10a,10b} = 13.8 Hz, ³J_{10,11} = 7.9 Hz, 1 H, 10-H_a), 4.16–4.23 (sh, 2 H, 10-H_b, 12-H), 4.57 (s, 2 H, 7-H), 4.81

(dd, $^3J_{17,\text{NH}} = ^3J_{17,18} = 8.9$ Hz, 1 H, 17-H), 6.96 (d, $^3J_{\text{NH},17} = 9.1$ Hz, 1 H, NH), 7.11–7.17 (sh, 3 H, 1-H, 3-H), 7.21 (m, 2 H, 2-H), 7.46 (s, 1 H, 9-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 10.8$ (q, C-21), 16.0 (q, C-19), 19.4 (q, C-14), 19.9 (q, C-14'), 23.2 (t, C-25), 24.6 (t, C-20), 25.0 (t, C-26), 29.7 (t, q, C-11, C-15), 30.3, 30.4 (d, t, C-13, C-24), 36.1 (t, C-5), 36.8 (d, C-18), 44.8 (q, C-28), 47.6 (t, C-10), 52.9 (d, C-17), 55.3 (t, C-27), 57.4 (d, C-12), 64.3 (t, C-7), 69.5 (d, C-23), 71.4 (t, C-6), 122.8 (d, C-9), 126.1 (d, C-1), 128.2 (d, C-2), 128.9 (d, C-3), 138.7 (s, C-4), 145.1 (s, C-8), 173.5 (s, C-16), 174.3 (s, C-22).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.96$ (d, $^3J_{19,18} = 6.6$ Hz, 3 H, 19-H), 2.72 (s, 3 H, 15-H), 3.64 (t, $^3J_{6,5} = 7.3$ Hz, 2 H, 6-H), 4.55 (s, 2 H, 7-H), 4.81 (dd, $^3J_{17,\text{NH}} = 9.7$ Hz, $^3J_{17,18} = 5.9$ Hz, 1 H, 17-H), 7.44 (s, 1 H, 9-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-21), 16.5 (q, C-19), 20.3 (q, C-14), 47.0 (t, C-10).

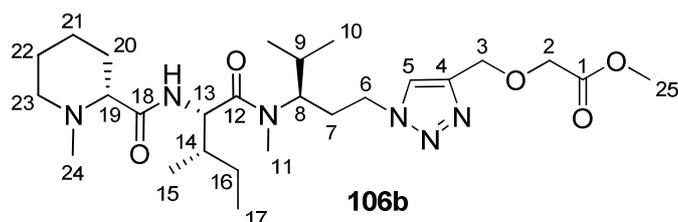
Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +9.2^\circ$ (c = 0.8, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{31}\text{H}_{51}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	555.4022	555.4015

2-(((1-((R)-3-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)essigsäuremethyl-ester (106b)

Gemäß **AAV 7** wurden 170 mg (0.26 mmol) Tetrapeptid **105b** mit 20 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 25 mg (0.27 mmol) Paraformaldehyd und 18 mg (0.27 mmol) Natriumcyanoborhydrid nach **AAV 10** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 95:5) wurde **106b** (91 mg, 0.18 mmol, 69%) als farbloses Harz erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, $R_f(\mathbf{106b}) = 0.23$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.74$ (d, $^3J_{10,9} = 6.6$ Hz, 3 H, 10-H), 0.88 (d, $^3J_{10',9} = 6.6$ Hz, 3 H, 10'-H), 0.90 (t, $^3J_{17,16} = 7.5$ Hz, 3 H, 17-H), 0.96 (d, $^3J_{15,14} = 6.8$ Hz, 3 H,

15-H), 1.12–1.23 (sh, 2 H, 16-H_a, 21-H_{ax}), 1.32 (m, 1 H, 20-H_{ax}), 1.44–1.80 (sh, 6 H, 9-H, 16-H_b, 20-H_{eq}, 21-H_{eq}, 22-H), 1.72 (m, 1 H, 13-H), 1.88 (m, 1 H, 14-H), 1.94–2.05 (sh, 2 H, 7-H_a, 23-H_{ax}), 2.18–2.27 (sh, 4 H, 7-H_b, 24-H), 2.46 (dd, $^3J_{19,20eq} = 10.9$ Hz, $^3J_{19,20ax} = 2.6$ Hz, 1 H, 19-H), 2.88 (m, 1 H, 23-H_{eq}), 3.02 (s, 3 H, 11-H), 3.74 (s, 3 H, 25-H), 4.10 (m, 1 H, 6-H_a), 4.16 (s, 2 H, 2-H), 4.20–4.30 (sh, 2 H, 6-H_b, 8-H), 4.70–4.76 (sh, 3 H, 3-H, 13-H), 7.00 ($^3J_{NH,13} = 9.3$ Hz, 1 H, NH), 7.72 (s, 1 H, 5-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-17), 16.0 (q, C-15), 19.4 (q, C-10), 19.9 (q, C-10'), 23.2 (t, C-21), 24.6 (t, C-16), 25.0 (t, C-22), 29.7 (t, C-7), 29.8 (q, C-11), 30.4, 30.5 (d, t, C-9, C-20), 36.8 (d, C-14), 44.9 (q, C-24), 47.7 (t, C-6), 51.8 (q, C-25), 53.0 (d, C-13), 55.3 (t, C-23), 57.4 (d, C-8), 64.5 (t, C-3), 67.2 (t, C-2), 69.5 (d, C-19), 123.5 (d, C-5), 144.0 (s, C-4), 170.5 (s, C-1), 173.6 (s, C-12), 174.3 (s, C-18).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 1.01$ (d, $^3J_{10,9} = 6.6$ Hz, 3 H, 10-H), 2.77 (s, 3 H, 11-H), 4.84 (dd, $^3J_{13,NH} = 9.7$ Hz, $^3J_{13,14} = 5.9$ Hz, 1 H, 13-H), 7.12 ($^3J_{NH,13} = 9.8$ Hz, 1 H, NH), 7.66 (s, 1 H, 5-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-17), 16.5 (q, C-15), 20.1 (q, C-10), 20.4 (q, C-10'), 37.6 (d, C-14), 47.1 (t, C-6), 64.4 (t, C-3), 67.1 (t, C-2).

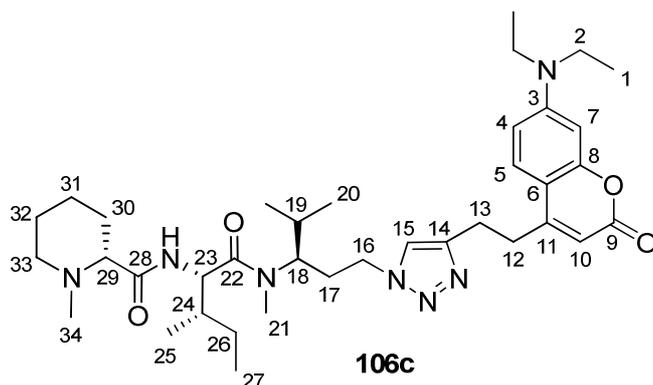
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +5.4^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₂₆ H ₄₇ N ₆ O ₅ [M+H] ⁺	523.3608	523.3607

(R)-N-((2S,3S)-1-(((R)-1-(4-(2-(7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromen-4-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-4-methylpentan-3-yl)(methyl)amino)-3-methyl-1-oxopentan-2-yl)-1-methylpiperidin-2-carboxamid (106c)

Gemäß **AAV 7** wurden 58 mg (74 μ mol) Tetrapeptid **105c** mit 6 mg Pd/C (10%) entschützt und anschließend mit 7 mg (75 μ mol) Paraformaldehyd und 5 mg (82 μ mol) Natriumcyanoborhydrid nach **AAV 10** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 95:5, 9:1) wurde **106c** (35 mg, 53 μ mol, 72%) als gelber Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 81–82°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, R_f(**106c**) = 0.21]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.74$ (d, $^3J_{20,19} = 6.6$ Hz, 3 H, 20-H), 0.88 (d, $^3J_{20',19} = 6.5$ Hz, 3 H, 20'-H), 0.91 (t, $^3J_{27,26} = 7.4$ Hz, 3 H, 27-H), 0.97 (d, $^3J_{25,24} = 6.7$ Hz, 3 H, 25-H), 1.19 (t, $^3J_{1,2} = 7.1$ Hz, 6 H, 1-H), 1.15–1.23 (sh, 2 H, 26- H_a , 31- H_{ax}), 1.34 (m, 1 H, 30- H_{ax}), 1.46–1.79 (sh, 6 H, 19-H, 26- H_b , 30- H_{eq} , 31- H_{eq} , 32-H), 1.89 (m, 1 H, 24-H), 1.95–2.03 (sh, 2 H, 17- H_a , 33- H_{ax}), 2.16–2.25 (sh, 4 H, 17- H_b , 34-H), 2.47 (dd, $^3J_{29,30eq} = 10.9$ Hz, $^3J_{29,30ax} = 2.7$ Hz, 1 H, 29-H), 2.88 (m, 1 H, 33- H_{eq}), 3.02 (s, 3 H, 21-H), 3.04–3.12 (sh, 4 H, 12-H, 13-H), 3.39 (q, $^3J_{2,1} = 7.1$ Hz, 4 H, 2-H), 4.06 (dt, $^2J_{16a,16b} = 13.9$ Hz, $^3J_{16,17} = 7.9$ Hz, 1 H, 16- H_a), 4.19–4.30 (sh, 2 H, 16- H_b , 18-H), 4.75 (dd, $^3J_{23,\text{NH}} = ^3J_{23,24} = 8.9$ Hz, 1 H, 23-H), 5.91 (s, 1 H, 10-H), 6.48 (d, $^4J_{7,4} = 2.5$ Hz, 1 H, 7-H), 6.56 (dd, $^3J_{4,5} = 9.0$ Hz, $^4J_{4,7} = 2.6$ Hz, 1 H, 7-H), 7.02 (d, $^3J_{\text{NH},23} = 9.3$ Hz, 1 H, NH), 7.44 (s, 1 H, 15-H), 7.46 (d, $^3J_{5,4} = 9.3$ Hz, 1 H, 5-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 10.8$ (q, C-27), 12.4 (q, C-1), 16.0 (q, C-25), 19.4 (q, C-20), 19.9 (q, C-20'), 23.2 (t, C-31), 24.5, 24.6 (2 t, C-13, C-26), 25.0 (t, C-32), 29.6 (d, C-19), 29.9 (q, C-21), 30.3, 30.4 (2 t, C-17, C-30), 31.2 (t, C-12), 36.8 (d, C-24), 44.7 (t, C-2), 44.9 (q, C-34), 47.5 (t, C-16), 53.0 (d, C-23), 55.3 (t, C-33), 57.6 (d, C-18), 69.6 (d, C-29), 97.7 (d, C-7), 107.6 (d, C-10), 107.9 (s, C-6), 108.5 (d, C-4), 121.7 (d, C-15), 125.3 (d, C-5), 146.0 (s, C-14), 150.4 (s, C-3), 155.4 (s, C-9), 156.3 (s, C-11), 162.2 (s, C-8), 173.6 (s, C-22), 174.3 (s, C-28).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.97$ (d, $^3J_{25,24} = 6.5$ Hz, 3 H, 25-H), 2.76 (s, 3 H, 21-H), 4.37 (m, 1 H, 16- H_b), 4.85 (dd, $^3J_{23,\text{NH}} = 9.7$ Hz, $^3J_{23,24} = 5.7$ Hz, 1 H, 23-H), 5.90 (s, 1 H, 10-H), 7.14 (d, $^3J_{\text{NH},23} = 9.5$ Hz, 1 H, NH), 7.43 (s, 1 H, 15-H).

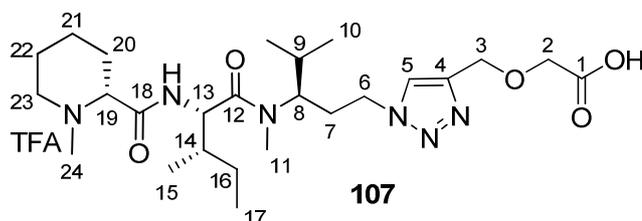
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 11.4$ (q, C-27), 16.5 (q, C-25), 20.1 (q, C-20), 20.3 (q, C-20'), 27.4 (q, C-21), 29.6 (d, C-19), 31.5 (t, C-12), 60.9 (d, C-18), 121.8 (d, C-15).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +14.1^\circ$ ($c = 0.5$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₄₄ H ₆₂ N ₇ O ₆ [M+H] ⁺	664.4550	664.4563

2-((1-((R)-3-((2S,3S)-N,3-Dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)essigsäure-TFA-Salz (107)

Gemäß **AAV 5** wurden 50 mg (96 µmol) **106b** mit 100 µl (100 µl) 1 M NaOH-Lösung bei Raumtemperatur entschützt (Dioxan, 15 h). Zur Aufarbeitung wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 2 ml Wasser gelöst und mit TFA angesäuert. Die klare wässrige Phase wurde dreimal mit Essigsäureethylester gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und anschließend lyophilisiert, wobei **107** (67 mg, 96 µmol, quantitativ¹⁹) als farbloses Harz erhalten wurde.



Hauptrotamer

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): δ = 0.79 (d, ³J_{10,9} = 6.6 Hz, 3 H, 10-H), 0.94 (d, ³J_{10',9} = 6.5 Hz, 3 H, 10'-H), 0.94 (t, ³J_{17,16} = 7.5 Hz, 3 H, 17-H), 0.99 (d, ³J_{15,14} = 6.8 Hz, 3 H, 15-H), 1.25 (m, 1 H, 16-H_a), 1.55–1.67 (sh, 2 H, 16-H_b, 21-H_{ax}), 1.73–1.87 (sh, 3 H, 20-H_{ax}, 21-H_{eq}, 22-H_{ax}), 1.88–1.98 (sh, 3 H, 9-H, 14-H, 22-H_{eq}), 2.09–2.18 (sh, 2 H, 7-H_a, 20-H_{eq}), 2.32 (m, 1 H, 7-H_b), 2.74 (s, 3 H, 24-H), 3.05–3.12 (sh, 4 H, 11-H, 23-H_{ax}), 3.48 (m, 1 H, 23-H_{eq}), 3.80 (dd, ³J_{19,20eq} = 12.1 Hz, ³J_{19,20ax} = 2.6 Hz, 1 H, 19-H), 4.10–4.16 (sh, 3 H, 2-H, 8-H), 4.30 (m, 2 H, 6-H), 4.67–4.72 (sh, 3 H, 3-H, 13-H), 8.07 (s, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-17), 16.2 (q, C-15), 20.2 (q, C-10), 20.4 (q, C-10'), 22.4 (t, C-21), 24.0 (t, C-22), 25.5 (t, C-16), 30.2 (d, C-9), 31.1 (2 t, q, C-7, C-11, C-20), 37.4 (d, C-14), 42.9 (q, C-24), 48.8* (t, C-6), 56.1 (d, C-13), 56.3 (t, C-23), 59.6 (d, C-8), 64.9 (t, C-3), 67.9 (t, C-2), 68.2 (d, C-19), 125.6 (d, C-5), 162.5 (q, ³J_{C,F} = 34.7 Hz, CF₃COOH), 169.3 (s, C-1), 173.8 (s, C-12), 174.7 (s, C-18).

* Signal wurde aus C-H-Cosy bestimmt.

Das Signal C-4 war im ¹³C-NMR nicht detektierbar.

¹⁹ Enthält noch geringe Mengen an Natriumtrifluoracetat.

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (MeOD, 400 MHz): $\delta = 0.89$ (t, $^3J_{17,16} = 7.5$ Hz, 3 H, 17-H), 1.04 (d, $^3J_{15,14} = 6.8$ Hz, 3 H, 15-H), 2.76 (s, 3 H, 11-H), 2.79 (s, 3 H, 24-H), 4.13 (s, 2 H, 2-H).

¹³C-NMR (MeOD, 100 MHz): $\delta = 11.9$ (q, C-17), 16.3 (q, C-15), 20.6 (q, C-10), 20.8 (q, C-10'), 173.4 (s, C-12).

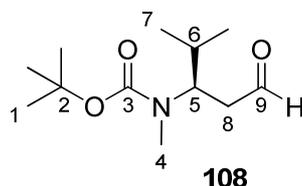
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -14.7^\circ$ (c = 0.6, MeOH)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₂₅ H ₄₅ N ₆ O ₅ [M+H] ⁺	509.3451	509.3428

(R)-tert-Butyl methyl(4-methyl-1-oxopentan-3-yl)carbamate (108)^[49]

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 1.00 g (4.32 mmol) Alkohol **68** und 2.20 g (5.19 mmol) DMP^{[141]²⁰} in 20 ml absolutem DCM gelöst und 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch mit Ether verdünnt und nacheinander mit einer Lösung aus 1 M NaOH und 1 M Na₂S₂O₃ (jeweils 10 ml), Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Kieselgel, Hexan/EE = 8:2) gereinigt, wobei Aldehyd **108** (844 mg, 3.68 mmol, 85%) als farbloses Öl erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE 8:2, R_f(**108**) = 0.19]


Hauptrotamer

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.89$ (d, $^3J_{7,6} = 6.8$ Hz, 3 H, 7-H), 0.95 (d, $^3J_{7',6} = 6.8$ Hz, 3 H, 7'-H), 1.43 (s, 9 H, 1-H), 1.79 (m, 1 H, 6-H), 2.51 (m, 1 H, 8-H_a), 2.65 (s, 3 H, 4-H), 2.66 (m, 1 H, 8-H_b) 4.31 (ddd $^3J_{5,6} = 10.4$ Hz, $^3J_{5,8a} = ^3J_{5,8b} = 4.4$ Hz, 1 H, 5-H), 9.65 (d, $^3J_{9,8} = 4.4$ Hz, 1 H, 9-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 19.3$ (q, C-7), 19.5 (q, C-7'), 28.4 (q, C-1), 29.2 (q, C-4), 30.4 (d, C-6), 44.9 (t, C-8), 56.7 (d, C-5), 79.6 (s, C-2), 156.2 (s, C-3), 201.5 (d, C-9).

²⁰ Reagenz wurde selbst synthetisiert.

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.95 (d, ³J_{7,6} = 6.8 Hz, 3 H, 7-H), 1.46 (s, 9 H, 1-H), 2.71 (s, 3 H, 4-H), 4.08 (ddd, ³J_{5,6} = 10.0 Hz, ³J_{5,8a} = ³J_{5,8b} = 4.4 Hz, 1 H, 5-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 20.0 (q, C-7), 20.1 (q, C-7'), 28.4 (q, C-1), 30.9 (d, C-6), 57.9 (d, C-5), 80.0 (s, C-2), 200.7 (d, C-9).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -78.1^\circ$ (c = 1.2, CHCl₃)

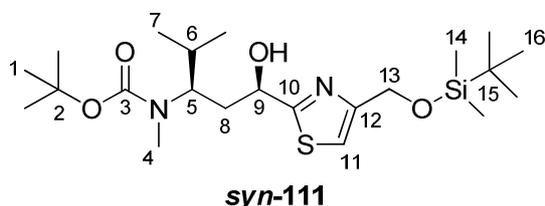
***tert*-Butyl-(1*R*,3*R*)-1-(4-((*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl)thiazol-2-yl)-1-hydroxy-4-methylpentan-3-yl(methyl)carbamat (*syn*-111)^[49]**

***tert*-Butyl-(1*R*,3*S*)-1-(4-((*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl)thiazol-2-yl)-1-hydroxy-4-methylpentan-3-yl(methyl)carbamat (*anti*-111)^[49]**

In einem Zweihalskolben wurden unter Stickstoffatmosphäre 278 mg (0.90 mmol) Bromthiazol **110** in 5 ml absolutem THF gelöst und mittels Kryostat auf 0°C gekühlt. Anschließend wurden 0.45 ml (0.90 mmol) *sec*-Butyl-Magnesiumchlorid-Lösung (2 M in Diethylether) innerhalb von 8 min zugetropft und die resultierende gelbe Lösung 25 min bei 0°C gerührt. Nun wurden 100 mg (0.44 mmol) Aldehyd **108**, gelöst in 2 ml absolutem THF, schnell zugetropft und das Reaktionsgemisch 2.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt (Kältebad entfernt). Zur Aufarbeitung wurde mit ges. NH₄Cl-Lösung hydrolysiert und dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde nacheinander mit 1 M HCl, ges. NaHCO₃-Lösung, Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Kieselgel, Hexan/EE = 9:1, 8:2) gereinigt, wobei ***syn*-111** (68 mg, 0.15 mmol, 35%) und ***anti*-111** (68 mg, 0.15 mmol, 35%) als farblose Öle erhalten wurden.

[DC: Hexan/EE 8:2, R_f(***syn*-111**) = 0.28]

[DC: Hexan/EE 8:2, R_f(***anti*-111**) = 0.10]


Hauptrotamer

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.12 (s, 6 H, 14-H), 0.93 (d, ³J_{7,6} = 6.8 Hz, 3 H, 7-H), 0.96 (s, 9 H, 16-H), 0.98 (d, ³J_{7,6} = 6.8 Hz, 3 H, 7'-H), 1.50 (s, 9 H, 1-H), 1.76 (m, 1 H, 6-H), 1.95 (m, 1 H, 8-H_a), 2.06 (m, 1 H, 8-H_b), 2.75 (s, 3 H, 4-H), 3.98 (ddd, ³J_{5,6} = 10.0 Hz, ³J_{5,8a} = ³J_{5,8b} = 3.2 Hz, 1 H, 5-H), 4.70 (ddd, ³J_{9,8a} = 10.8 Hz, ³J_{9,8b} = ³J_{9,OH} =

3.2 Hz, 1 H, 9-H), 4.85 (d, $^4J_{13,11} = 0.8$ Hz, 2 H, 13-H), 4.96 (d, $^3J_{OH,9} = 3.2$ Hz, 1 H, OH), 7.14 (bs, 1 H, 11-H).

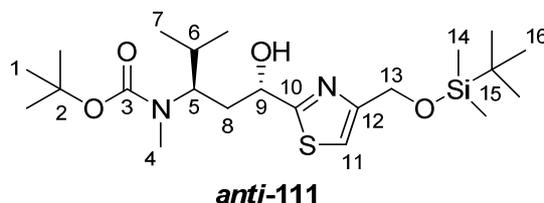
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = -5.3$ (q, C-14), 18.4 (s, C-15), 20.1 (q, C-7), 20.2 (q, C-7'), 25.9 (q, C-16), 28.2 (q, C-4), 28.4 (q, C-1), 29.7 (d, C-6), 37.9 (t, C-8), 57.8 (t, C-5), 62.4 (t, C-13), 69.1 (d, C-9), 80.5 (s, C-2), 113.2 (d, C-11), 156.7 (s, C-3), 158.4 (s, C-12), 174.9 (C-10).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.53$ (s, 9 H, 1-H), 2.78 (s, 3 H, 4-H), 7.15 (s, 1 H, 11-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 28.5$ (C-1), 62.3 (t, C-13), 69.3 (d, C-9), 113.3 (d, C-11).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7.6^\circ$ (c = 1.2, CHCl_3)



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.10$ (s, 6 H, 14-H), 0.83 (d, $^3J_{7,6} = 6.4$ Hz, 3 H, 7-H), 0.94 (s, 9 H, 16-H), 1.00 (d, $^3J_{7',6} = 6.4$ Hz, 3 H, 7'-H), 1.39 (s, 9 H, 1-H), 1.74 (m, 1 H, 6-H), 2.22 (m, 1 H, 8-H_a), 2.34 (m, 1 H, 8-H_b), 2.35 (s, 3 H, 4-H), 3.83 (ddd, $^3J_{5,6} = 10.8$ Hz, $^3J_{5,8a} = ^3J_{5,8b} = 3.2$ Hz, 1 H, 5-H), 4.72 (d, $^3J_{OH,9} = 8.8$ Hz, 1 H, OH), 4.80 (s, 2 H, 13-H), 5.00 (m, 1 H, 9-H), 7.05 (s, 1 H, 11-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = -5.3$ (q, C-14), 18.4 (s, C-15), 19.7 (q, C-7), 20.3 (q, C-7'), 25.9 (q, C-16), 28.5 (q, C-4), 28.7 (q, C-1), 30.3 (d, C-6), 35.8 (t, C-8), 58.1 (t, C-5), 62.3 (t, C-13), 70.8 (d, C-9), 80.1 (s, C-2), 113.2 (d, C-11), 156.8 (s, C-3), 157.6 (s, C-12), 176.4 (C-10).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.42$ (s, 9 H, 1-H), 4.81 (s, 2 H, 13-H), 7.15 (bs, 1 H, 11-H).

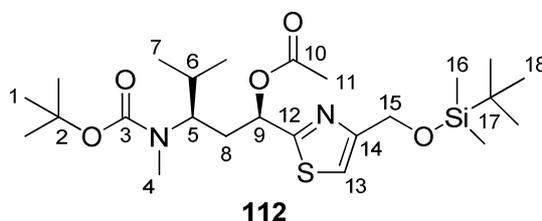
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = -5.3$ (q, C-14), 28.4 (q, C-1), 62.2 (t, C-13), 70.5 (d, C-9), 113.6 (d, C-11).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -54.6^\circ$ (c = 1.1, CHCl_3)

(1*R*,3*R*)-3-(*tert*-Butoxycarbonyl(methyl)amino)-1-(4-((*tert*-butyldimethylsilyloxy)methyl)thiazol-2-yl)-4-methylpentylacetat (112)^{[49]21}

Zu einer mit Eis gekühlten Lösung von 340 mg (0.74 mmol) Alkohol **syn-111** in 8 ml absolutem DCM wurden nacheinander 310 μ l (3.81 mmol) Pyridin, 150 μ l (1.58 mmol) Essigsäureanhydrid und 9 mg (77 μ mol) DMAP^[141] zugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde mit DCM verdünnt, nacheinander mit 1 M KHSO₄-Lösung, Wasser und ges. NaHCO₃-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer wurde der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Hexan/EE = 9:1) gereinigt, wobei Acetat **112** (370 mg, 0.73 mmol, 99%) als farbloses Öl erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE 9:1, R_f(**112**) = 0.16]

*Hauptrotamer*

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.10 (s, 6 H, 16-H), 0.86 (d, ³*J*_{7,6} = 6.4 Hz, 3 H, 7-H), 0.94 (s, 9 H, 18-H), 0.97 (d, ³*J*_{7,5} = 6.4 Hz, 3 H, 7'-H), 1.44 (s, 9 H, 1-H), 1.69 (m, 1 H, 6-H), 2.02 (ddd, ²*J*_{8a,8b} = 14.8 Hz, ³*J*_{8a,5} = 12.0 Hz, ³*J*_{8a,9} = 2.8 Hz, 1 H, 8-H_a), 2.13 (s, 3 H, 11-H), 2.34 (m, 1 H, 8-H_b), 2.68 (s, 3 H, 4-H), 4.07 (ddd, ³*J*_{5,8a} = 12.0 Hz, ³*J*_{5,6} = 10.4 Hz, ³*J*_{5,8b} = 3.6 Hz, 1 H, 5-H), 4.83 (d, ⁴*J*_{15,13} = 1.2 Hz, 2 H, 15-H), 5.83 (dd, ³*J*_{9,8a} = 12.0 Hz, ³*J*_{9,8b} = 2.8 Hz, 1 H, 9-H), 7.12 (t, ⁴*J*_{13,15} = 1.2 Hz, 1 H, 13-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = -5.4 (q, C-16), 18.4 (s, C-17), 19.6 (q, C-7), 20.0 (q, C-7'), 20.9 (q, C-11), 25.9 (q, C-18), 28.4 (q, C-1), 30.4 (d, C-6), 34.9 (t, C-8), 56.4 (t, C-5), 62.3 (t, C-15), 69.3 (d, C-9), 79.3 (s, C-2), 113.6 (d, C-13), 156.3 (s, C-3), 157.3 (s, C-14), 170.0 (s, C-12), 170.2 (s, C-10).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.86 (d, ³*J*_{7,6} = 6.4 Hz, 3 H, 7-H), 0.96 (s, 9 H, 18-H), 2.14 (s, 3 H, 11-H), 2.29 (m, 1 H, 8-H_b), 2.69 (s, 3 H, 4-H), 3.73 (bs, 1 H, 5-H), 4.83 (d, ⁴*J*_{15,13} = 1.2 Hz, 2 H, 15-H), 5.90 (d, ³*J*_{9,8a} = 12.0 Hz, ³*J*_{9,8b} = 2.8 Hz, 1 H, 9-H), 7.13 (t, ⁴*J*_{13,15} = 1.2 Hz, 1 H, 13-H).

²¹ Die Verbindung ist zwar literaturbekannt, wurde aber bisher nicht charakterisiert.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 19.8$ (q, C-7), 20.2 (q, C-7'), 21.1 (q, C-11), 28.4 (q, C-1), 62.3 (t, C-15), 70.2 (d, C-9), 79.5 (s, C-2), 113.8 (d, C-13), 156.1 (s, C-3), 157.5 (s, C-14), 169.2 (s, C-12), 169.6 (s, C-10).

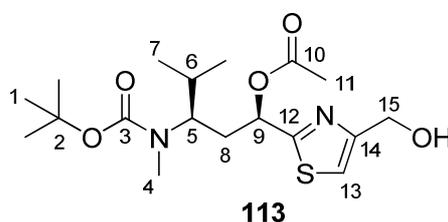
Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +12.1^\circ$ ($c = 1.1$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{24}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_5\text{SiS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	501.2818	501.2750

(1*R*,3*R*)-3-(*tert*-Butoxycarbonyl(methyl)amino)-1-(4-(hydroxymethyl)thiazol-2-yl)-4-methylpentylacetat (113**)^[49]**

173 mg (0.34 mmol) Acetat **112** wurden in 4 ml THF gelöst und mit 160 mg (0.51 mmol) TBAF·3H₂O versetzt. Nach 10 min Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung mit Ethylacetat verdünnt, mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch (Kieselgel, Hexan/EE 9:1) gereinigt, wobei Alkohol **113** (128 mg, 0.33 mmol, 97%) als farbloses Öl erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE 1:1, $R_f(\mathbf{113}) = 0.13$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.86$ (d, $^3J_{7,6} = 6.4$ Hz, 3 H, 7-H), 0.97 (d $^3J_{7',6} = 6.4$ Hz, 3 H, 7'-H), 1.44 (s, 9 H, 1-H), 1.68 (m, 1 H, 6-H), 2.03 (ddd, $^2J_{8a,8b} = 14.8$ Hz, $^3J_{8a,5} = 12.0$ Hz, $^3J_{8a,9} = 2.8$ Hz, 1 H, 8-H_a), 2.13 (s, 3 H, 11-H), 2.20–2.47 (sh, 2 H, 8-H_b, OH), 2.69 (s, 3 H, 4-H), 4.07 (m, 1 H, 5-H), 4.74 (s, 2 H, 15-H), 5.83 (dd, $^3J_{9,8a} = 2.8$ Hz, $^3J_{9,8b} = 11.6$ Hz, 1 H, 9-H), 7.13 (s, 1 H, 13-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 19.6$ (q, C-7), 20.0 (q, C-7'), 20.9 (q, C-11), 28.4 (2 q, C-1, C-4), 30.4 (d, C-6), 34.9 (t, C-8), 56.4 (t, C-5), 61.0 (t, C-15), 69.3 (d, C-9), 79.3 (s, C-2), 114.8 (d, C-13), 156.3 (2 s, C-3, C-14), 170.2, 170.8 (2 s, C-12, C-10).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.85$ (d, $^3J_{7,6} = 6.4$ Hz, 3 H, 7-H), 0.97 (d $^3J_{7',6} = 6.4$ Hz, 3 H, 7'-H), 1.44 (s, 9 H, 1-H), 2.69 (s, 3 H, 4-H), 3.73 (bs, 1 H, 5-H), 4.73 (s, 2 H, 15-H), 5.92 (dd, $^3J_{9,8a} = 11.6$ Hz, $^3J_{9,8a} = 2.8$ Hz, 1 H, 9-H), 7.14 (s, 1 H, 13-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 19.7$ (q, C-7), 20.3 (q, C-7'), 21.1 (q, C-11), 28.4 (q, C-1), 61.0 (t, C-15), 70.5 (d, C-9), 79.7 (s, C-2), 115.0 (d, C-13), 169.6, 169.9 (2 s, C-12, C-10).

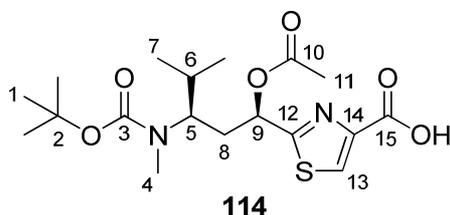
Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +16.4^\circ$ ($c = 1.2$, CHCl_3)

2-((1*R*,3*R*)-1-Acetoxy-3-(*tert*-butoxycarbonyl(methyl)amino)-4-methylpentyl)thiazol-4-carbonsäure (114**)^[49]**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 319 mg (0.83 mmol) Alkohol **113** und 422 mg (0.99 mmol) DMP in 20 ml absolutem DCM gelöst und 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch mit Ether verdünnt und nacheinander mit einer Lösung aus 1 M NaOH und 1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (jeweils 20 ml), Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Aldehyd als farbloses Öl erhalten.

Der Rohaldehyd wurde in 20 ml *tert*-Butanol gelöst. Anschließend wurden 2.00 ml (18.8 mmol) 2-Methyl-2-buten, sowie eine Lösung von 1.10 g (9.73 mmol) NaClO_2 (technisch, 80%) und 1.10 g (7.05 mmol) $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 10 ml Wasser zugegeben. Die gelbe Emulsion wurde über Nacht bei Raumtemperatur kräftig gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Lösemittel weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand mit 1 M HCl angesäuert und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinte etherische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (Kieselgel, DCM/MeOH = 95:5, 1% HOAc) gereinigt, wobei *N*-Desacetyxtubuvalin **114** (310 mg, 0.77 mmol, 93% über zwei Stufen) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 56–58°C erhalten wurde.

[DC: DCM/MeOH = 95:5, 1% HOAc, $R_f(\mathbf{114}) = 0.33$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.85$ (d, $^3J_{7,6} = 6.5$ Hz, 3 H, 7-H), 0.96 (d $^3J_{7,6} = 6.5$ Hz, 3 H, 7'-H), 1.43 (s, 9 H, 1-H), 1.69 (m, 1 H, 6-H), 2.11–2.18 (sh, 4 H, 8- H_a , 11-H), 2.32 (m, 1 H, 8- H_b), 2.69 (s, 3 H, 10-H), 4.08 (m, 1 H, 5-H), 5.88 (dd, $^3J_{9,8a} = 11.5$ Hz, $^3J_{9,8b} = 3.0$ Hz, 1 H, 9-H), 7.23 (s, 1 H, 13-H), 9.08 (bs, 1 H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 19.5$ (q, C-7), 19.9 (q, C-7'), 20.8 (q, C-11), 28.1 (q, C-4), 28.3 (q, C-1), 30.3 (d, C-6), 34.6 (t, C-8), 56.4 (t, C-5), 69.4 (d, C-9), 79.5 (s, C-2), 128.9 (d, C-13), 146.2 (s, C-15), 156.4 (s, C-3), 163.9 (s, C-14), 170.2 (s, C-10), 171.7 (s, C-12).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.43$ (s, 9 H, 1-H), 2.16 (s, 3 H, 6-H), 2.64 (s, 3 H, 4-H), 3.80 (bs, 1 H, 5-H), 5.92 (dd, $^3J_{9,8a} = 11.5$ Hz, $^3J_{9,8b} = 3.0$ Hz, 1 H, 9-H), 7.24 (s, 1 H, 13-H).

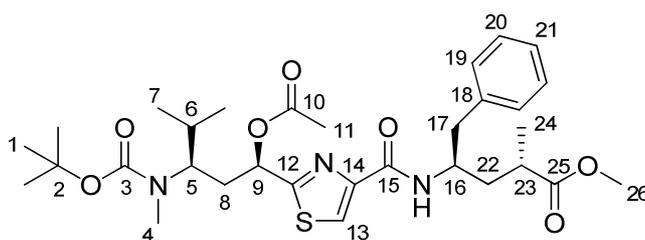
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 19.7$ (q, C-7), 20.2 (q, C-7'), 21.0 (q, C-11), 28.4 (q, C-1), 70.5 (d, C-9), 80.1 (s, C-2), 128.8 (d, C-13), 146.5 (s, C-15), 156.5 (s, C-3), 163.5 (s, C-14), 169.5 (s, C-10), 170.6 (s, C-12).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +8.8^\circ$ (c = 0.9, CHCl_3)

(2*S*,4*R*)-4-(2-((1*R*,3*R*)-1-Acetoxy-3-(*tert*-butoxycarbonyl(methyl)amino)-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentansäuremethyl-ester (115)

Gemäß **AAV 1** wurden 86 mg (0.21 mmol) Säure **114**, 60 mg (0.23 mmol) Tubo-phenylalaninmethylester-Hydrochlorid^[22], 54 μl (0.49 mmol) NMM und 31 μl (0.23 mmol) IBCF umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 6:4) wurde Dipeptid **115** (115 mg, 0.19 mmol, 91%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 57–58°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 6:4, $R_f(\mathbf{115}) = 0.16$]



115

Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.88$ (d, $^3J_{7,6} = 6.5$ Hz, 3 H, 7-H), 1.00 (d, $^3J_{7,6} = 6.5$ Hz, 3 H, 7'-H), 1.15 (d, $^3J_{24,23} = 7.0$ Hz, 3 H, 24-H), 1.44 (s, 9 H, 1-H), 1.60 (m, 1 H, 22-H_a), 1.73 (m, 1 H, 6-H), 1.98–2.04 (sh, 2 H, 8-H_a, 22-H_b), 2.15 (s, 3 H, 11-H), 2.29 (m, 1 H, 8-H_b), 2.60 (m, 1 H, 23-H), 2.71 (s, 3 H, 4-H), 2.87 (dd, $^2J_{17a,17b} = 14.0$ Hz, $^3J_{17a,16} = 7.0$ Hz, 1 H, 17-H_a), 2.94 (dd, $^2J_{17b,17a} = 14.0$ Hz, $^2J_{17b,16} = 7.0$ Hz, 1 H, 17-H_b), 3.63 (s, 3 H, 26-H), 4.07 (m, 1 H, 5-H), 4.41 (m, 1 H, 16-H), 5.80 (dd,

$^3J_{9,8b} = 11.5$ Hz, $^3J_{9,8a} = 2.5$ Hz, 1 H, 9-H), 7.11 (d $^3J_{NH,16} = 9.5$ Hz, 1 H, NH), 7.17–7.28 (sh, 5 H, 19-H, 20-H, 21-H), 8.01 (s, 1 H, 13-H).

^{13}C -NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 17.7$ (q, C-24), 19.6 (q, C-7), 20.0 (q, C-7'), 20.8 (q, C-11), 28.1 (q, C-4), 28.3 (q, C-1), 30.4 (d, C-6), 35.0 (t, C-8), 36.4 (d, C-23), 37.8 (t, C-22), 41.1 (t, C-17), 48.3 (d, C-16), 51.7 (q, C-26), 56.4 (d, C-5), 69.2 (d, C-9), 79.4 (s, C-2), 123.3 (q, C-13), 126.5 (d, C-21), 128.3 (d, C-20), 129.5 (d, C-19), 137.5 (s, C-18), 149.9 (s, C-14), 156.2 (s, C-3), 160.4 (s, C-15), 170.1, 170.4 (2 s, C-10, C-12), 176.6 (s, C-25).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

1H -NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 0.88$ (d, $^3J_{7,6} = 6.5$ Hz, 3 H, 7-H), 0.97 (d, $^3J_{7',5} = 6.5$ Hz, 3 H, 7'-H), 1.44 (s, 9 H, 1-H), 2.16 (s, 3 H, 11-H), 2.66 (s, 3 H, 4-H), 3.63 (s, 3 H, 26-H), 3.79 (bs, 1 H, 5-H), 5.93 (dd, $^3J_{9,8a} = 11.5$ Hz, $^3J_{9,8b} = 2.5$ Hz, 1 H, 9-H), 8.00 (s, 1 H, 13-H).

^{13}C -NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 17.8$ (q, C-24), 19.7 (q, C-7), 20.3 (q, C-7'), 21.1 (q, C-11), 28.4 (q, C-1), 37.9 (t, C-22), 41.3 (t, C-17), 48.4 (d, C-16), 70.8 (d, C-9), 79.7 (s, C-2), 123.1 (q, C-13), 126.4 (d, C-21), 128.3 (d, C-20), 129.4 (d, C-19), 137.7 (s, C-18), 150.1 (s, C-14), 169.4, 170.1 (2 s, C-10, C-12).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +16.3^\circ$ (c = 1.1, CHCl₃)

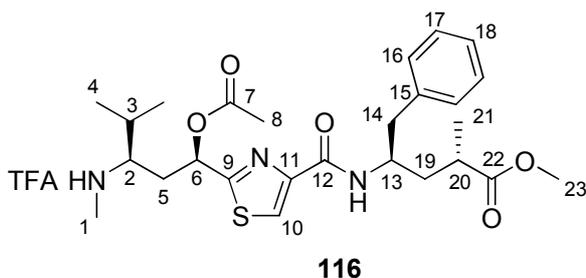
HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₁ H ₄₆ N ₃ O ₇ S [M+H] ⁺	604.3056	604.3036

Elementaranalyse:

C ₃₁ H ₄₅ N ₃ O ₇ S	ber.	C 61.67	H 7.51	N 6.96
(603.77)	gef.	C 61.68	H 7.42	N 6.95

(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-Acetoxy-4-methyl-3-(methylamino)pentyl)thiazol-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentansäuremethylester-TFA-Salz (116)

Eine Lösung aus 51 mg (84 μ mol) Dipeptid **115** in 1 ml absolutem DCM wurde bei Raumtemperatur mit 100 μ l (1.31 mmol) TFA versetzt und 2 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das TFA-Salz im Hochvakuum getrocknet, wobei **116** (52 mg, 84 μ mol, quantitativ) als farbloses Harz erhalten wurde. Für die weitere Umsetzung wurde das Amin mit ges. NaHCO₃-Lösung freigesetzt (vgl. **AAV 8**).



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.06 (d, $^3J_{4,3}$ = 6.5 Hz, 3 H, 4-H), 1.08 (d, $^3J_{4',3}$ = 6.5 Hz, 3 H, 4'-H), 1.16 (d, $^3J_{21,20}$ = 7.1 Hz, 3 H, 21-H), 1.68 (ddd, $^2J_{19a,19b}$ = 14.2 Hz, $^3J_{19a,13/20}$ = 10.0 Hz, $^3J_{19a,20/13}$ = 4.2 Hz, 1 H, 19-H_a), 2.03 (ddd, $^2J_{19b,19a}$ = 13.8 Hz, $^3J_{19b,13/20}$ = 9.7 Hz, $^3J_{19b,20/13}$ = 3.8 Hz, 1 H, 19-H_b), 2.21 (s, 3 H, 8-H), 2.32 (ddd, $^2J_{5a,5b}$ = 15.6 Hz, $^3J_{5a,2/6}$ = 8.4 Hz, $^3J_{5a,6/2}$ = 3.5 Hz, 1 H, 5-H_a), 2.45 (ddd, $^2J_{5b,5a}$ = 15.3 Hz, $^3J_{5b,2/6}$ = 7.6 Hz, $^3J_{5b,6/2}$ = 5.2 Hz, 1 H, 5-H_b), 2.61 (m, 1 H, 20-H), 2.72 (s, 3 H, 1-H), 2.88 (dd, $^2J_{14a,14b}$ = 13.8 Hz, $^3J_{14a,13}$ = 7.1 Hz, 1 H, 14-H_a), 2.99 (dd, $^2J_{14b,14a}$ = 13.8 Hz, $^3J_{14b,13}$ = 6.7 Hz, 1 H, 14-H_b), 3.08 (bs, 1 H, 2-H), 3.62 (s, 3-H, 23-H), 4.43 (m, 1 H, 13-H), 6.21 (dd, $^3J_{6,5a}$ = 8.4 Hz, $^3J_{6,5b}$ = 5.1 Hz, 1 H, 6-H), 7.19–7.30 (sh, 5 H, 16-H, 17-H, 18-H), 7.45 (d, $^3J_{NH,13}$ = 9.2 Hz, 1 H, NH), 8.16 (s, 1 H, 10-H), 9.00 (m, 2 H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 15.9 (q, C-4), 17.6 (q, C-21), 18.6 (q, C-4'), 20.6 (q, C-8), 28.4 (d, C-3), 31.4 (q, C-1), 32.5 (t, C-5), 36.5 (d, C-20), 37.5 (t, C-19), 41.1 (t, C-14), 49.1 (d, C-13), 51.7 (q, C-23), 61.3 (d, C-2), 69.8 (d, C-6), 115.7 (q, $^2J_{C,F}$ = 288 Hz, C₃F₃COOH), 124.7 (d, C-10), 126.5 (d, C-18), 128.4, 129.3 (2 d, C-16, C-17), 137.7 (s, C-15), 150.0 (s, C-11), 160.7 (s, C-12), 161.1 (q, $^3J_{C,F}$ = 37.7 Hz, C₃F₃COOH), 168.4, 170.0 (2 s, C-7, C-9), 176.7 (s, C-22).

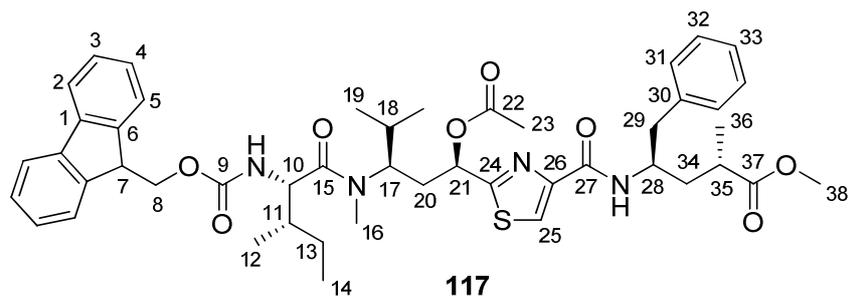
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{23} = +21.3^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₂₆ H ₃₈ N ₃ O ₅ S [M+H] ⁺	504.2532	504.2561

(2S,4R)-4-(2-(((5S,8R,10R)-5-sec-Butyl-1-(9H-fluoren-9-yl)-8-isopropyl-7-methyl-3,6,12-trioxo-2,11-dioxa-4,7-diazatridecan-10-yl)thiazol-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentansäuremethylester (117)

Gemäß **AAV 2** wurden 55 mg (0.15 mmol) Fmoc-geschütztes (S,S)-Isoleucin, 70 mg (0.14 mmol) **116** als freies Amin, 42 mg (0.15 mmol) BEP und 48 μ l (0.28 mmol) DIPEA umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 1:1) wurde Tripeptid **117** (86 mg, 0.10 mmol, 74%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 56–58°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 1:1, R_f(**117**) = 0.20]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.82 (d, $^3J_{19,18}$ = 6.6 Hz, 3 H, 19-H), 0.93 (t, $^3J_{14,13}$ = 7.3 Hz, 3 H, 14-H), 0.99 (d, $^3J_{12,11}$ = 6.7 Hz, 3 H, 12-H), 1.03 (d, $^3J_{19',18}$ = 6.5 Hz, 3 H, 19'-H), 1.13 (m, 1 H, 13-H_a), 1.16 (d, $^3J_{36,35}$ = 7.1 Hz, 3 H, 36-H), 1.58–1.65 (sh, 2 H, 13-H_b, 34-H_a), 1.73–1.79 (sh, 2 H, 11-H, 18-H), 1.99–2.09 (sh, 2 H, 20-H_a, 34-H_b), 2.72 (s, 3 H, 23-H), 2.33 (m, 1 H, 20-H_b), 2.62 (m, 1 H, 35-H), 2.89 (dd, $^2J_{29a,29b}$ = 13.7 Hz, $^3J_{29a,28}$ = 6.6 Hz, 1 H, 29-H_a), 2.96 (dd, $^2J_{29b,29a}$ = 13.7 Hz, $^3J_{29b,28}$ = 5.8 Hz, 1 H, 29-H_b), 2.99 (s, 3 H, 16-H), 3.63 (s, 3 H, 38-H), 4.21 (t, $^3J_{7,8}$ = 7.1 Hz, 1 H, 7-H), 4.32–4.46 (sh, 3 H, 8-H, 28-H), 4.53–4.57 (sh, 2 H, 10-H, 17-H), 5.45 (d, $^3J_{NH,10}$ = 9.6 Hz, 1 H, NH), 5.65 (dd, $^3J_{21,20a}$ = 11.2 Hz, $^3J_{21,20b}$ = 2.1 Hz, 1 H, 21-H), 7.12 (d, $^3J_{NH,28}$ = 9.3 Hz, 1 H, NH), 7.21–7.23 (sh, 3 H, 31-H, 33-H), 7.26–7.32 (sh, 4 H, 3-H, 32-H), 7.39 (dd, $^3J_{4,3}$ = $^3J_{4,5}$ = 7.5 Hz, 2 H, 4-H), 7.58 (d, $^3J_{5,4}$ = 7.4 Hz, 2 H, 5-H), 7.76 (d, $^3J_{2,3}$ = 7.5 Hz, 2 H, 2-H), 8.03 (s, 1 H, 25-H),

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.2 (q, C-14), 16.0 (q, C-12), 17.6 (q, C-36), 19.5 (q, C-19), 20.0 (q, C-19'), 20.7 (q, C-23), 23.8 (t, C-13), 29.6 (q, C-16), 29.9 (d, C-18), 34.6 (t, C-20), 36.4 (d, C-35), 37.3 (d, C-11), 37.7 (t, C-34), 41.0 (t, C-29), 47.2 (d, C-7), 48.2 (d, C-28), 51.7 (q, C-38), 55.7 (d, C-10), 55.8 (d, C-17), 66.9 (d, C-8), 69.5 (d, C-21), 119.9 (d, C-2), 123.5 (d, C-25), 125.0 (d, C-5), 126.5 (d, C-33), 127.0 (d, C-3), 127.6 (d, C-4), 128.3 (d, C-32), 129.5 (d, C-31), 137.4 (s, C-30), 141.2 (s, C-1), 143.7 (s, C-6), 149.9 (s, C-26), 156.3 (s, C-9), 160.3 (s, C-27), 169.9, 170.0 (2 s, C-22, C-24), 173.5 (s, C-15), 176.6 (s, C-37).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.56 (s, 3 H, 38-H), 7.99 (s, 1 H, 25-H).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20}$ = +4.1° (c = 0.8, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₂ H ₄₉ N ₄ O ₆ S [M-C ₁₅ H ₉ O ₂] ⁺	617.3373	617.3345

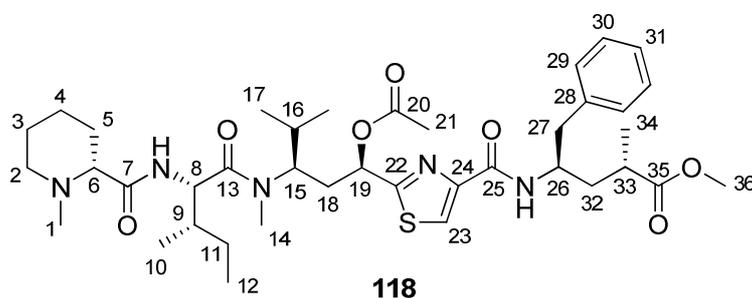
Elementaranalyse:

C ₄₇ H ₅₈ N ₄ O ₈ S	ber.	C 67.28	H 6.97	N 6.68
(839.05)	gef.	C 66.49	H 6.95	N 6.62

(2*S*,4*R*)-4-(2-((1*R*,3*R*)-1-Acetoxy-3-((2*S*,3*S*)-*N*,3-dimethyl-2-((*R*)-1-methyl-piperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentansäuremethylester (118)

Gemäß **AAV 9** wurden 80 mg (95 μ mol) Tripeptid **117** mit 200 μ l (1.34 mmol) TRIS entschützt und anschließend mit 28 mg (0.20 mmol) *N*-Methyl-(*R*)-Pipicolinsäure^[47], 39 mg (0.21 mmol) Pentafluorphenol und 42 mg (0.20 mmol) DCC nach **AAV 4** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 98:2) wurde Tetrapeptid **118** (55 mg, 75 μ mol, 78%) als farbloses Harz erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 98:2, R_f (**118**) = 0.10]



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.80 (d, $^3J_{17,16}$ = 6.6 Hz, 3 H, 17-H), 0.91 (t, $^3J_{12,11}$ = 7.4 Hz, 1 H, 12-H), 0.98 (d, $^3J_{10,9}$ = 6.5 Hz, 3 H, 10-H), 1.02 (d, $^3J_{17',16}$ = 6.5 Hz, 3 H, 17-H'), 1.16 (d, $^3J_{34,33}$ = 7.1 Hz, 3 H, 34-H), 1.09–1.23 (sh, 2 H, 4-H_{ax}, 11-H_a), 1.35 (m, 1 H, 5-H_{ax}), 1.46–1.86 (sh, 8 H, 3-H, 4-H_{eq}, 5-H_{eq}, 9-H, 11-H_b, 16-H, 32-H_a), 1.97–2.08 (sh, 3 H, 2-H_{ax}, 18-H_a, 32-H_b), 2.17 (s, 3 H, 21-H), 2.22 (s, 3 H, 1-H), 2.32 (ddd, $^2J_{32a,32b}$ = 14.7 Hz, $^3J_{32b,26/33}$ = 11.4 Hz, $^3J_{32b,33/26}$ = 3.0 Hz, 1 H, 32-H_b), 2.47 (dd, $^3J_{6,5eq}$ = 11.1 Hz, $^3J_{6,5ax}$ = 3.1 Hz, 1 H, 6-H), 2.61 (m, 1 H, 33-H), 2.86–2.91 (sh, 2 H, 2-H_{eq}, 27-H_a), 2.96 (dd, $^2J_{27b,27a}$ = 13.7 Hz, $^3J_{27b,26}$ = 5.8 Hz, 1 H, 27-H_b), 3.03 (s, 3 H, 14-H), 3.63 (s, 3 H, 36-H), 4.41 (m, 1 H, 26-H), 4.56 (m, 1 H, 15-H), 4.79 (dd, $^3J_{8,NH}$ = 9.5 Hz, $^3J_{8,9}$ = 7.6 Hz, 1 H, 8-H), 5.65 (dd, $^3J_{19,18a}$ = 11.3 Hz, $^3J_{19,18b}$ = 2.3 Hz, 1 H, 19-H), 7.04 (d, $^3J_{NH,8}$ = 9.6 Hz, 1 H, NH), 7.11 (d, $^3J_{NH,26}$ = 9.3 Hz, 1 H, NH), 7.20–7.24 (sh, 3 H, 29-H, 31-H), 7.28 (m, 2 H, 30-H), 8.01 (s, 1 H, 23-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 10.9 (q, C-12), 15.9 (q, C-10), 17.6 (q, C-34), 19.6 (q, C-17), 20.0 (q, C-17'), 20.8 (q, C-21), 23.2 (t, C-4), 24.4 (t, C-11), 25.1 (t, C-3), 29.5 (q, C-14), 29.9 (t, C-5), 30.4 (d, C-16), 34.8 (t, C-18), 36.4 (d, C-33), 36.9 (d, C-9), 37.6 (t, C-32), 41.0 (t, C-27), 44.9 (q, C-1), 48.2 (d, C-26), 51.7 (q, C-36), 52.9 (d, C-8), 55.4 (t, d, C-2, C-15), 69.6, 69.7 (2 d, C-6, C-19), 123.3 (d, C-23), 126.5 (d, C-31), 128.3 (d, C-30), 129.5 (d, C-29), 137.5 (s, C-28), 160.3 (s, C-25), 170.0 (2 s, C-20, C-22), 173.5, 174.2 (2 s, C-6, C-13), 176.5 (s, C-35).

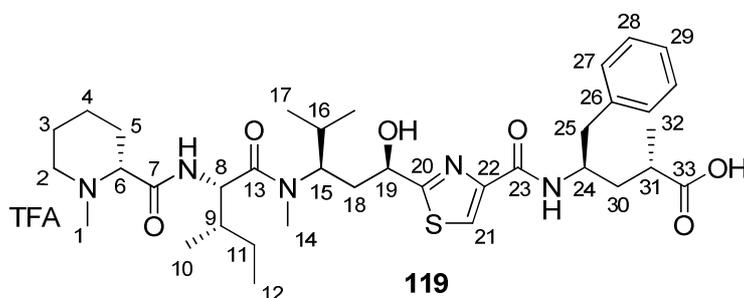
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +17.0^\circ$ (c = 1.1, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₉ H ₅₉ N ₅ O ₇ S [M]	741.4135	741.4172

(2*S*,4*R*)-4-(2-(((1*R*,3*R*)-3-((2*S*,3*S*)-*N*,3-Dimethyl-2-((*R*)-1-methylpiperidin-2-carbox-amido)pentanamido)-1-hydroxy-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)-2-methyl-5-phenylpentansäure-TFA-Salz (119)

Gemäß **AAV 5** wurden 16 mg (22 μ mol) Tetrapeptid **118** mit 88 μ l (88 μ mol) 1 M NaOH-Lösung bei 50°C entschützt (MeOH, 4 h). Nach Aufarbeitung (angesäuert mit TFA) und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 9:1) wurde Hydroxyprätubulylin **119** (15 mg, 19 μ mol, 85%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 180–182°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, R_f(**119**) = 0.18]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.85 (d, $^3J_{17,16}$ = 6.5 Hz, 3 H, 17-H), 0.91 (t, $^3J_{12,11}$ = 7.5 Hz, 1 H, 12-H), 0.98 (d, $^3J_{10,9}$ = 6.8 Hz, 3 H, 10-H), 1.00 (d, $^3J_{17',16}$ = 6.5 Hz, 3 H, 17-H'), 1.12 (d, $^3J_{32,31}$ = 6.8 Hz, 3 H, 32-H), 1.23 (m, 1 H, 11-H_a), 1.45 (m, 1 H, 5-H_{ax}), 1.53–1.72 (sh, 4 H, 3-H_{ax}, 4-H_{ax}, 18-H_a, 30-H_a), 1.76–1.84 (sh, 2 H, 3-H_{eq}, 5-H_{eq}), 1.84–2.06 (sh, 5 H, 4-H_{eq}, 9-H, 11-H_b, 16-H, 30-H_b), 2.25 (m, 1 H, 18-H_b), 2.38–2.44 (sh, 4 H, 1-H, 31-H), 2.54 (m, 1 H, 2-H_{ax}), 2.88 (m, 2 H, 25-H), 3.13–3.20 (sh, 5 H, 2-H_{eq}, 6-H, 14-H), 4.40–4.50 (sh, 2 H, 15-H, 24-H), 4.67 (dd, $^3J_{19,18a}$ = 10.2 Hz, $^3J_{19,18b}$ = 1.9 Hz, 1 H, 19-H), 4.72 (dd, $^3J_{8,9}$ = 8.6 Hz, 1 H, 8-H), 7.11–7.22 (sh, 5 H, 27-H, 28-H, 29-H), 8.08 (s, 1 H, 21-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.2 (q, C-12), 16.0 (q, C-10), 19.3 (q, C-32), 20.4 (q, C-17), 20.6 (q, C-17'), 23.4 (t, C-4), 25.2 (t, C-3), 25.7 (t, C-11), 31.0 (q, C-5), 31.2 (t, C-16), 37.6 (d, C-9), 38.7 (t, C-18), 40.4 (d, C-31), 41.2 (t, C-30), 42.5 (t, C-25), 43.9 (q, C-1), 50.8 (d, C-24), 55.5 (d, C-8), 56.5 (t, C-2), 62.3 (d, C-15), 69.4 (d, C-6), 69.9 (d, C-19), 118.6 (q, $^2J_{C,F}$ = 233 Hz, C-F₃COOH), 125.1 (d, C-21), 127.4 (d, C-29), 129.3 (d, C-28), 130.5 (d, C-27), 139.5 (s, C-26), 150.5 (s, C-22), 163.1 (q, $^3J_{C,F}$ = 27.8 Hz, C-F₃COOH), 163.3 (s, C-23), 172.7, 175.0 (2 s, C-7, C-13), 179.2 (s, C-20), 186.0 (s, C-33).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.78 (m, 1 H, 15-H), 4.77 (m, 1 H, 19-H), 5.12 (d, ³J_{8,9} = 3.8 Hz, 1 H, 8-H), 8.06 (s, 1 H, 21-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 12.1 (q, C-12), 16.6 (q, C-10), 19.3 (q, C-32), 20.7 (q, C-17), 20.8 (q, C-17'), 44.1 (q, C-1), 56.3 (t, C-2), 68.8 (d, C-6), 69.3 (d, C-19), 129.3 (d, C-28), 130.5 (d, C-27), 139.6 (s, C-26), 150.7 (s, C-22), 179.4 (s, C-20).

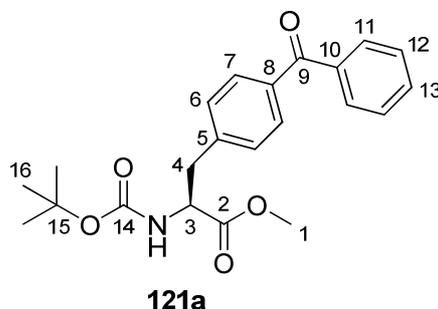
Optische Drehung: [α]_D²⁰ = -5.2° (c = 1.0, MeOH)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₆ H ₅₄ N ₅ O ₅ S [M-OH] ⁺	668.3846	668.3883

(S)-3-(4-Benzoylphenyl)-2-(tert-butoxycarbonylamino)propansäuremethylester (121a)^[130]

785 mg (2.07 mmol) Boc-Iodphenylalaninmethylester **130**^[136], 857 mg (6.21 mmol) K₂CO₃ und 73 mg (0.10 mmol) *bis*(Triphenylphosphin)palladium(II)dichlorid wurden unter CO-Atmosphäre in einem Schlenkkolben vorgelegt. Nach der Zugabe von 10 ml Anisol (mit N₂ entgast) wurde die gelbe Suspension 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus 278 mg (2.28 mmol) Phenylboronsäure in 10 ml Anisol (entgast mit N₂) zugegeben und die resultierende rote Suspension 19 Stunden bei 80°C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das blauschwarze Reaktionsgemisch mit Diethylether verdünnt und mit Wasser sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 9:1, 7:3), wobei **121a** (686 mg, 1.79 mmol, 86%) als gelbliches Öl erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 8:2, R_f(**121a**) = 0.14]



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.42 (s, 9 H, 16-H), 3.11 (dd, ²J_{4a,4b} = 13.5 Hz, ³J_{4a,3} = 6.1 Hz, 1 H, 4-H_a), 3.23 (dd, ²J_{4b,4a} = 13.6 Hz, ³J_{4b,3} = 5.6 Hz, 1 H, 4-H_b), 3.74 (s, 3 H, 1-H), 4.64 (m, 1 H, 3-H), 5.03 (³J_{NH,3} = 7.5 Hz, 1 H, NH), 7.25 (d, ³J_{6,7} = 8.1 Hz, 2 H, 6-H), 7.48 (dd, ³J_{12,11} = ³J_{12,13} = 7.6 Hz, 2 H, 12-H), 7.59 (tt, ³J_{13,12} = 7.4 Hz, ⁴J_{13,11} =

1.3 Hz, 1 H, 13-H), 7.75 (d, $^3J_{7,6} = 8.2$ Hz, 2 H, 7-H), 7.77 (dd, $^3J_{11,12} = 8.4$ Hz, $^4J_{11,13} = 1.4$ Hz, 2 H, 11-H).

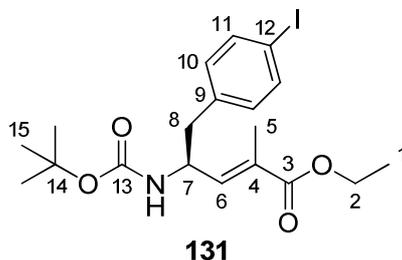
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 28.3$ (q, C-16), 38.4 (t, C-4), 52.4 (q, C-1), 54.2 (d, C-3), 80.1 (s, C-15), 128.3 (d, C-12), 129.3 (d, C-6), 129.9 (d, C-11), 130.3 (d, C-7), 132.4 (d, C-13), 136.3 (s, C-8), 137.6 (s, C-10), 141.1 (s, C-5), 155.0 (s, C-14), 172.0 (s, C-2), 196.3 (s, C-9).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +50.3^\circ$ ($c = 2.0$, CHCl_3)

(S,E)-4-(tert-Butoxycarbonylamino)-5-(4-iodophenyl)-2-methylpent-2-ensäure-ethylester (131)

Zu einer Lösung von 850 mg (2.10 mmol) Boc-Iodphenylalaninmethylester **130** in 12 ml absolutem DCM wurden bei -78°C innerhalb von 10 min 4.20 ml (4.20 mmol) Di-*iso*-butylaluminiumhydrid-Lösung (DibalH, 1 M in Hexan) zugetropft und die klare Lösung 50 min bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden 1.02 g (2.31 mmol) Wittigsalz und 259 mg (2.31 mmol) Kalium-*tert*-butanolat zugegeben und die weiße Suspension über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung in 100 ml 10%ige Weinsäure-Lösung gegossen und 10 min kräftig gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels im Vakuum wurde der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 8:2), wobei **131** (805 mg, 1.75 mmol, 83%, >95% *E*) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von $112\text{--}113^\circ\text{C}$ erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 8:2, $R_f(\mathbf{131}) = 0.28$]



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.28$ (t, $^3J_{1,2} = 7.1$ Hz, 1-H), 1.40 (s, 9 H, 15-H), 1.71 (d, $^4J_{5,6} = 1.3$ Hz, 3 H, 5-H), 2.72 (dd, $^2J_{8a,8b} = 13.5$ Hz, $^3J_{8a,7} = 7.0$ Hz, 1 H, 8-H_a), 2.86 (dd, $^2J_{8b,8a} = 13.3$ Hz, $^3J_{8b,7} = 5.5$ Hz, 1 H, 8-H_b), 4.18 (q, $^3J_{2,1} = 7.1$ Hz, 2 H, 2-H), 4.50–4.66 (sh, 2 H, 7-H, NH), 6.47 (dq, $^3J_{6,7} = 9.0$ Hz, $^4J_{6,5} = 1.4$ Hz, 1 H, 6-H), 6.92 (d, $^3J_{10,11} = 8.2$ Hz, 2 H, 10-H), 7.60 (d, $^3J_{11,10} = 8.2$ Hz, 1 H, 11-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 12.7$ (q, C-5), 14.2 (q, C-1), 28.3 (q, C-15), 40.7 (t, C-8), 49.9 (d, C-7), 60.8 (t, C-2), 79.8 (s, C-14), 92.0 (d, C-12), 129.8 (s, C-4), 131.5

(d, C-19), 136.4 (s, C-9), 137.5 (d, C-11), 139.5 (s, C-6), 154.9 (s, C-13), 167.6 (s, C-3).

Die Signale des *Z*-Isomeren sind im NMR nicht zu erkennen.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = +21.8^\circ$ ($c = 0.9$, >95% *E*, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	460.0985	460.0993

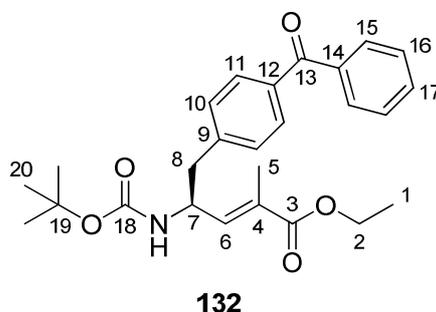
Elementaranalyse:

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{NO}_4$	ber.	C 49.68	H 5.71	N 3.05
(459.32)	gef.	C 50.12	H 5.64	N 2.74

(*S,E*)-5-(4-Benzoylphenyl)-4-(*tert*-butoxycarbonylamino)-2-methylpent-2-ensäureethylester (132**)**

88 mg (0.19 mmol) **131**, 79 mg (0.57 mmol) K_2CO_3 und 7 mg (10 μmol) *bis*(Triphenylphosphin)palladium(II)dichlorid wurden unter CO -Atmosphäre in einem Schlenkcolben vorgelegt. Nach der Zugabe von 1 ml Anisol (mit N_2 entgast) wurde die gelbe Suspension 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus 27 mg (0.22 mmol) Phenylboronsäure in 1 ml Anisol (entgast mit N_2) zugegeben und die resultierende rote Suspension 17 Stunden bei 80°C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das blau-schwarze Reaktionsgemisch mit Diethylether verdünnt und mit Wasser sowie ges. NaCl -Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EE = 8:2), wobei **132** (81 mg, 0.19 mmol, 97%) als rötlicher Feststoff mit einem Schmelzpunkt von $76\text{--}78^\circ\text{C}$ erhalten wurde.

[DC: Hexan/EE = 8:2, $R_f(\mathbf{132}) = 0.13$]



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.28$ (t, $^3J_{1,2} = 7.1$ Hz, 3 H, 1-H), 1.40 (s, 9 H, 15-H), 1.73 (d, $^4J_{5,6} = 1.4$ Hz, 3 H, 5-H), 2.87 (dd, $^2J_{8a,8b} = 13.3$ Hz, $^3J_{8a,7} = 7.0$ Hz, 1 H, 8-H_a), 3.02 (dd, $^2J_{8b,8a} = 13.0$ Hz, $^3J_{8b,7} = 5.7$ Hz, 1 H, 8-H_b), 4.18 (q, $^3J_{2,1} = 7.1$ Hz, 2 H, 2-H), 4.60–4.76 (sh, 2 H, 7-H, NH), 6.53 (dq, $^3J_{6,7} = 9.0$ Hz, $^4J_{6,5} = 1.4$ Hz, 1 H,

6-H), 7.29 (d, $^3J_{10,11} = 8.2$ Hz, 2 H, 10-H), 7.47 (dd, $^3J_{16,15} = ^3J_{16,17} = 7.6$ Hz, 2 H, 16-H), 7.58 (tt, $^3J_{17,16} = 7.4$ Hz, $^4J_{17,15} = 1.3$ Hz, 1 H, 17-H), 7.74 (d, $^3J_{11,10} = 8.2$ Hz, 2 H, 11-H), 7.77 (dd, $^3J_{15,16} = 8.4$ Hz, $^4J_{15,17} = 1.4$ Hz, 2 H, 15-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 12.7$ (q, C-5), 14.2 (q, C-1), 28.3 (q, C-20), 41.3 (t, C-8), 50.0 (d, C-7), 60.8 (t, C-2), 80.0 (s, C-19), 128.2 (d, C-16), 129.5 (d, C-10), 129.9 (s, d, C-4, C-15), 130.3 (d, C-11), 132.3 (d, C-17), 136.0 (s, C-12), 137.6 (s, C-14), 139.5 (s, C-6), 141.8 (s, C-9), 155.0 (s, C-18), 172.0 (s, C-3), 196.3 (s, C-13).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +25.4^\circ$ ($c = 1.1$, CHCl_3)

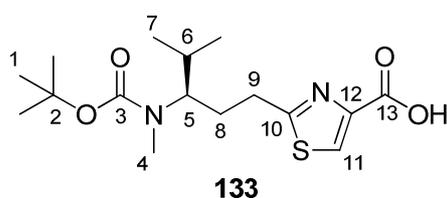
HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{NO}_5$ $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8+\text{H}]^+$	382.1654	382.1667

Elementaranalyse:

$\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{NO}_5$	ber.	C 71.37	H 7.14	N 3.20
(437.53)	gef.	C 70.75	H 7.15	N 2.85

(R)-2-(3-(tert-Butoxycarbonyl(methyl)amino)-4-methylpentyl)thiazol-4-carbonsäure (133)

Gemäß **AAV 5** wurden 2.58 g (6.96 mmol) Boc-Tubuvalinethylester^[22] mit 10.0 ml (10.0 mmol) 1 M NaOH-Lösung entschützt (MeOH, 16 h). Nach der Aufarbeitung (angesäuert mit 1 M HCl) wurde Boc-Tubuvalin **133** (2.26 g, 6.59 mmol, 95%) als gelbliches Harz erhalten.



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.82$ (d, $^3J_{7,6} = 6.6$ Hz, 3 H, 7-H), 0.83 (d, $^3J_{7',6} = 6.6$ Hz, 3 H, 7'-H), 1.40 (s, 9 H, 1-H), 1.66 (m, 1 H, 6-H), 1.83 (m, 1 H, 8-H_a), 2.12 (m, 1 H, 8-H_b), 2.63 (s, 3 H, 4-H), 2.95 (m, 2 H, 9-H), 3.86 (ddd, $^3J_{5,6} = ^3J_{5,8a} = 13.2$ Hz, $^3J_{5,8b} = 3.2$ Hz, 1 H, 5-H), 8.12 (s, 1 H, 11-H), 9.61 (bs, 1 H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 19.5$ (q, C-7), 19.8 (q, C-7'), 28.1 (q, C-4), 28.4 (q, C-1), 29.8 (t, C-8), 30.3 (d, C-6), 30.5 (t, C-9), 60.1 (d, C-5), 79.4 (s, C-2), 128.0 (d, C-11), 146.0 (s, C-12), 156.6 (s, C-3), 164.1 (s, C-10), 171.6 (s, C-13).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.92$ (d, $^3J_{7,6} = 6.6$ Hz, 6 H, 7-H), 1.43 (s, 9 H, 1-H), 2.67 (s, 3 H, 4-H), 3.64 (bs, 1 H, 5-H), 8.14 (s, 1 H, 11-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 20.0$ (q, C-7), 20.2 (q, C-7'), 30.4 (d, C-6), 30.7 (t, C-9), 61.4 (d, C-5), 79.9 (s, C-2), 146.2 (s, C-12), 171.7 (s, C-13).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -5.7^\circ$ ($c = 1.1$, CHCl_3)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
$\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	343.1691	343.1729

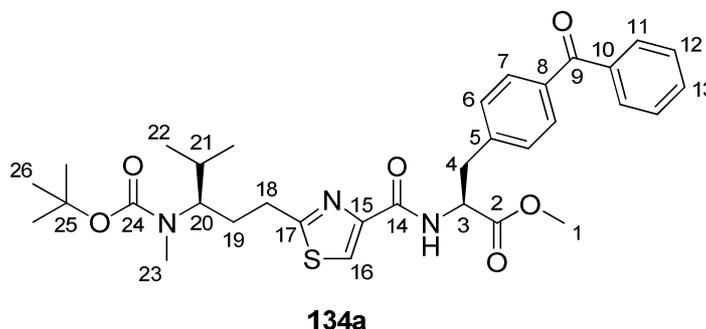
Elementaranalyse:

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	ber.	C 56.12	H 7.65	N 8.18
(342.45)	gef.	C 55.77	H 7.42	N 8.07

(S)-3-(4-Benzoylphenyl)-2-(2-((R)-3-(tert-butoxycarbonyl(methyl)amino)-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)propansäuremethylester (134a)

Gemäß **AAV 6** wurden 196 mg (0.51 mmol) **121a** mit 1.28 ml (5.10 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und anschließend mit 157 mg (0.46 mmol) Boc-Tubuvalin **133**, 127 μl (1.15 mmol) NMM und 68 μl (0.51 mmol) IBCF nach **AAV 1** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 6:4) wurde Dipeptid **134a** (238 mg, 0.39 mmol, 85%) als farbloses Öl erhalten.

[DC: Hexan/EE = 1:1, $R_f(\mathbf{134a}) = 0.25$]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 0.81$ (d, $^3J_{22,21} = 6.5$ Hz, 3 H, 22-H), 0.83 (d, $^3J_{22',21} = 6.5$ Hz, 3 H, 22'-H), 1.38 (s, 9 H, 26-H), 1.65 (m, 1 H, 21-H), 1.78 (m, 1 H, 19-H_a), 2.14 (m, 1 H, 19-H_b), 2.63 (s, 3 H, 23-H), 2.88 (m, 2 H, 18-H), 3.27 (dd, $^2J_{4a,4b} = 13.9$ Hz, $^3J_{4a,3} = 6.4$ Hz, 1 H, 4-H_a), 3.36 (dd, $^2J_{4b,4a} = 13.9$ Hz, $^3J_{4b,3} = 6.4$ Hz, 1 H, 4-H_b), 3.74 (s, 3 H, 1-H), 3.82 (m, 1 H, 20-H), 5.09 (m, 1 H, 3-H), 7.30 (d, $^3J_{6,7} = 8.1$ Hz, 2 H, 6-H), 7.46 (dd, $^3J_{12,11} = ^3J_{12,13} = 7.6$ Hz, 2 H, 12-H), 7.57 (t, $^3J_{13,12} = 7.4$ Hz, 13-H), 7.73 (d, $^3J_{7,6} = 8.3$ Hz, 2 H, 7-H), 7.75 (m, 2 H, 11-H), 7.79 ($^3J_{\text{NH},3} = 8.0$ Hz, 1 H, NH), 7.40 (s, 1 H, 16-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 19.6$ (q, C-22), 19.9 (q, C-22'), 28.2 (q, C-23), 28.4 (q, C-26), 29.5 (t, C-19), 30.1 (t, C-18), 30.5 (d, C-21), 38.1 (t, C-4), 52.4 (q, C-1),

53.0 (d, C-3), 60.3 (d, C-20), 79.2 (s, C-25), 123.1 (d, C-16), 128.2 (d, C-12), 129.2 (d, C-6), 129.9 (d, C-11), 130.4 (d, C-7), 132.3 (d, C-13), 136.2 (s, C-8), 137.6 (s, C-10), 141.1 (s, C-5), 148.7 (s, C-15), 156.4 (s, C-24), 160.6 (s, C-14), 170.8 (s, C-17), 171.4 (s, C-2), 196.2 (s, C-9).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.91 (d, ³J_{22,21} = 6.5 Hz, 3 H, 22-H), 0.93 (d, ³J_{22',21} = 6.5 Hz, 3 H, 22'-H), 1.44 (s, 9 H, 26-H), 2.66 (s, 3 H, 23-H), 3.28 (dd, ²J_{4a,4b} = 13.7 Hz, ³J_{4a,3} = 6.2 Hz, 1 H, 4-H_a), 3.64 (bs, 1 H, 20-H), 7.96 (s, 1 H, 16-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 20.1 (q, C-22), 20.3 (q, C-22'), 28.4 (q, C-23), 29.1 (t, C-19), 30.3 (t, C-18), 30.7 (d, C-21), 38.2 (t, C-4), 53.0 (d, C-3), 79.5 (s, C-25), 129.2 (d, C-6), 129.9 (d, C-11), 136.2 (s, C-8), 141.1 (s, C-5), 148.8 (s, C-15), 156.6 (s, C-24), 160.7 (s, C-14), 171.0 (s, C-17), 171.5 (s, C-2), 196.2 (s, C-9).

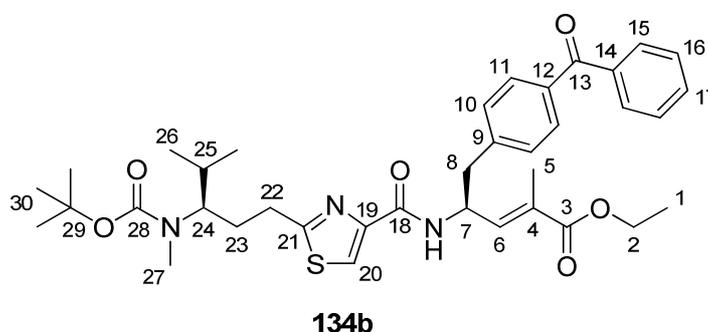
Optische Drehung: [α]²¹_D = +9.4° (c = 0.6, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₃ H ₄₂ N ₃ O ₆ S [M+H] ⁺	608.2794	608.2751

(S,E)-5-(4-Benzoylphenyl)-4-(2-((R)-3-(tert-butoxycarbonyl(methyl)amino)-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)-2-methylpent-2-ensäureethylester (134b)

Gemäß **AAV 6** wurden 284 mg (0.65 mmol) **131** mit 1.63 ml (6.50 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und anschließend mit 223 mg (0.65 mmol) Boc-Tubuvalin **133**, 180 µl (1.63 mmol) NMM und 86 µl (0.65 mmol) IBCF nach **AAV 1** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, PE/EE = 7:3, 6:4) wurde Dipeptid **134b** (394 mg, 0.60 mmol, 92%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 49–52°C erhalten.

[DC: PE/EE = 6:4, R_f(**134b**) = 0.19]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.84 (d, ³J_{26,25} = 6.5 Hz, 6 H, 26-H), 1.27 (t, ³J_{1,2} = 7.1 Hz, 3 H, 1-H), 1.40 (s, 9 H, 30-H), 1.67 (m, 1 H, 25-H), 1.77 (d, ⁴J_{5,6} = 1.1 Hz,

3 H, 5-H), 1.81 (m 1 H, 23-H_a), 2.11 (m, 1 H, 23-H_b), 2.65 (s, 3 H, 27-H), 2.85 (m, 2 H, 22-H), 3.00 (dd, $^2J_{8a,8b} = 13.2$ Hz, $^3J_{8a,7} = 7.8$ Hz, 1 H, 8-H_a), 3.20 (dd, $^2J_{8b,8a} = 13.4$ Hz, $^3J_{8b,7} = 6.2$ Hz, 1 H, 8-H_b), 3.79 (m, 1 H, 24-H), 4.18 (q, $^3J_{2,1} = 7.1$ Hz, 2 H, 2-H), 5.20 (m, 1 H, 7-H), 6.67 (dq, $^3J_{6,7} = 9.0$ Hz, $^4J_{6,5} = 1.4$ Hz, 1 H, 6-H), 7.35 (d, $^3J_{10,11} = 8.1$ Hz, 2 H, 10-H), 7.46 (dd, $^3J_{16,15} = ^3J_{16,17} = 7.6$ Hz, 2 H, 16-H), 7.52 (d $^3J_{NH,7} = 8.2$ Hz, 1 H, NH), 7.57 (t, $^3J_{17,16} = 7.4$ Hz, 1 H, 17-H), 7.73 (d, $^3J_{11,10} = 8.3$ Hz, 2 H, 11-H), 7.75 (d, $^3J_{15,16} = 7.8$ Hz, 2 H, 15-H), 7.92 (s, 1 H, 20-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 12.9$ (q, C-5), 14.2 (q, C-1), 19.6 (q, C-26), 19.9 (q, C-26'), 28.2 (q, C-27), 28.4 (q, C-30), 29.7 (t, C-23), 30.2 (t, C-22), 30.5 (d, C-25), 41.0 (t, C-8), 48.6 (d, C-7), 60.1 (d, C-24), 60.8 (t, C-2), 79.2 (s, C-29), 122.8 (d, C-20), 128.2 (d, C-16), 129.4 (d, C-10), 129.9 (d, C-15), 130.3 (d, C-11), 130.8 (s, C-4), 132.3 (d, C-17), 136.0 (s, C-12), 137.7 (s, C-14), 138.5 (s, C-6), 141.8 (s, C-9), 149.0 (s, C-19), 156.5 (s, C-28), 160.2 (s, C-18), 167.5 (s, C-21), 170.9 (s, C-3), 196.3 (s, C-13).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 0.95$ (d, $^3J_{26,25} = 6.5$ Hz, 6 H, 26-H), = 0.97 (d, $^3J_{26',25} = 6.5$ Hz, 6 H, 26'-H), 1.46 (s, 9 H, 30-H), 1.79 (d, $^4J_{5,6} = 1.1$ Hz, 3 H, 5-H), 3.01 (dd, $^2J_{8a,8b} = 13.2$ Hz, $^3J_{8a,7} = 7.8$ Hz, 1 H, 8-H_a), 3.21 (dd, $^2J_{8b,8a} = 13.4$ Hz, $^3J_{8b,7} = 6.2$ Hz, 1 H, 8-H_b), 3.65 (bs, 1 H, 24-H), 4.19 (q, $^3J_{2,1} = 7.1$ Hz, 2 H, 2-H), 6.68 (dq, $^3J_{6,7} = 9.0$ Hz, $^4J_{6,5} = 1.4$ Hz, 1 H, 6-H), 7.35 (d, $^3J_{10,11} = 8.1$ Hz, 2 H, 10-H), 7.52 (d $^3J_{NH,7} = 8.4$ Hz, 1 H, NH), 7.94 (s, 1 H, 20-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 20.1$ (q, C-26), 20.3 (q, C-26'), 29.4 (t, C-23), 30.2 (t, C-22), 30.7 (d, C-25), 41.0 (t, C-8), 48.7 (d, C-7), 79.5 (s, C-29), 129.4 (d, C-10), 130.8 (s, C-4), 149.2 (s, C-19), 156.6 (s, C-28), 160.3 (s, C-18), 167.6 (s, C-21), 171.1 (s, C-3).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = +8.6^\circ$ (c = 1.1, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₇ H ₄₇ N ₃ O ₆ S [M]	661.3186	661.3233

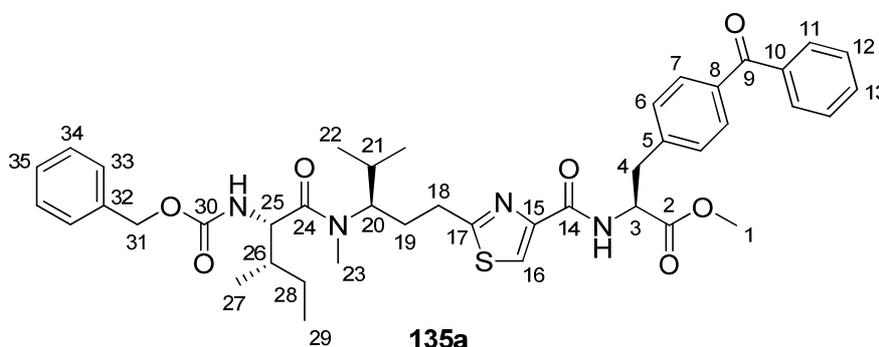
Elementaranalyse:

C ₃₇ H ₄₇ N ₃ O ₆ S	ber.	C 67.14	H 7.16	N 6.35
(661.85)	gef.	C 66.36	H 7.17	N 6.04

(S)-3-(4-Benzoylphenyl)-2-(2-((R)-3-((2S,3S)-2-(benzyloxycarbonylamino)-N,3-dimethylpentanamido)-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)propansäuremethylester (135a)

Gemäß **AAV 6** wurden 182 mg (0.30 mmol) Dipeptid **134a** mit 2.00 ml (8.00 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und anschließend mit 88 mg (0.33 mmol) Cbz-geschütztem (S,S)-Isoleucin, 90 mg (0.33 mmol) BEP und 160 μ l (0.94 mmol) DIPEA nach **AAV 2** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 1:1) wurde Tripeptid **135a** (195 mg, 0.26 mmol, 86%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 58–60°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 1:1, R_f (**135a**) = 0.18]



Hauptrotamer

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 0.75 (d, $^3J_{22,21}$ = 6.6 Hz, 3 H, 22-H), 0.85 (t, $^3J_{29,28}$ = 7.3 Hz, 3 H, 29-H), 0.94 (d, $^3J_{22',21}$ = 6.5 Hz, 3 H, 22'-H), 0.98 (d, $^3J_{27,26}$ = 6.7 Hz, 3 H, 27-H), 1.10 (m, 1 H, 28-H_a), 1.58 (m, 1 H, 28-H_b), 1.67–1.77 (sh, 2 H, 21-H, 26-H), 1.84 (m, 1 H, 19-H_a), 2.12 (m, 1 H, 19-H_b), 2.79 (m, 2 H, 18-H), 2.95 (s, 3 H, 23-H), 3.28 (dd, $^2J_{4a,4b}$ = 13.8 Hz, $^3J_{4a,3}$ = 6.5 Hz, 1 H, 4-H_a), 3.35 (dd, $^2J_{4b,4a}$ = 13.8 Hz, $^3J_{4b,3}$ = 6.1 Hz, 1 H, 4-H_b), 3.72 (s, 3 H, 1-H), 4.31 (m, 1 H, 20-H), 4.55 (dd, $^3J_{25,\text{NH}}$ = 9.3 Hz, $^3J_{25,26}$ = 6.7 Hz, 1 H, 25-H), 5.04–5.11 (sh, 3 H, 3-H, 31-H), 5.52 (d, $^3J_{\text{NH},25}$ = 9.3 Hz, 1 H, NH), 7.20–7.35 (sh, 7 H, 6-H, 33-H, 34-H, 35-H), 7.46 (dd, $^3J_{12,11}$ = $^3J_{12,13}$ = 7.6 Hz, 2 H, 12-H), 7.57 (t, $^3J_{13,12}$ = 7.4 Hz, 1 H, 13-H), 7.72 (d, $^3J_{7,6}$ = 8.2 Hz, 2 H, 7-H), 7.76 (m, 2 H, 11-H), 7.85 ($^3J_{\text{NH},3}$ = 8.1 Hz, 1 H, NH), 7.95 (s, 1 H, 16-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-29), 16.0 (q, C-27), 19.5 (q, C-22), 20.0 (q, C-22'), 23.7 (t, C-28), 29.2 (t, C-19), 29.6 (q, C-23), 30.0 (d, C-21), 30.3 (t, C-18), 37.5 (d, C-26), 38.1 (t, C-4), 52.4 (q, C-1), 53.0 (d, C-3), 55.8 (d, C-25), 58.9 (d, C-20), 66.8 (t, C-32), 123.2 (d, C-16), 127.8, 128.0, 128.3, 128.4 (4 d, C-12, C-33, C-33, C-34), 129.2 (d, C-6), 129.9 (d, C-11), 130.3 (d, C-7), 132.3 (d, C-13), 136.2, 136.4 (2 s, C-8, C-32), 137.5 (s, C-10), 141.1 (s, C-5), 148.8 (s, C-15), 156.4 (s, C-30), 160.6 (s, C-14), 170.2 (s, C-17), 171.5 (s, C-2), 173.2 (s, C-24), 196.2 (s, C-9).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.03 (d, $^3J_{22,21}$ = 6.7 Hz, 3 H, 22-H), 2.70 (s, 3 H, 23-H), 3.58 (m, 1 H, 20-H), 4.63 (dd, $^3J_{25,\text{NH}}$ = 9.5 Hz, $^3J_{25,26}$ = 6.6 Hz, 1 H, 25-H), 5.63 (d, $^3J_{\text{NH},25}$ = 9.7 Hz, 1 H, NH), 7.91 (s, 1 H, 16-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.3 (q, C-29), 16.2 (q, C-27), 20.3 (q, C-22), 20.4 (q, C-22'), 23.5 (t, C-28), 27.4 (q, C-23), 30.3 (t, C-19), 31.3 (t, C-18), 37.9 (d, C-26), 55.2 (d, C-25), 62.8 (d, C-14), 66.8 (t, C-32), 132.3 (d, C-16), 132.3 (d, C-13), 137.6 (s, C-10), 141.3 (s, C-5), 160.7 (s, C-14), 171.5 (s, C-2).

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -1.2^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₄₂ H ₅₁ N ₄ O ₅ S [M+H] ⁺	755.3478	755.3440

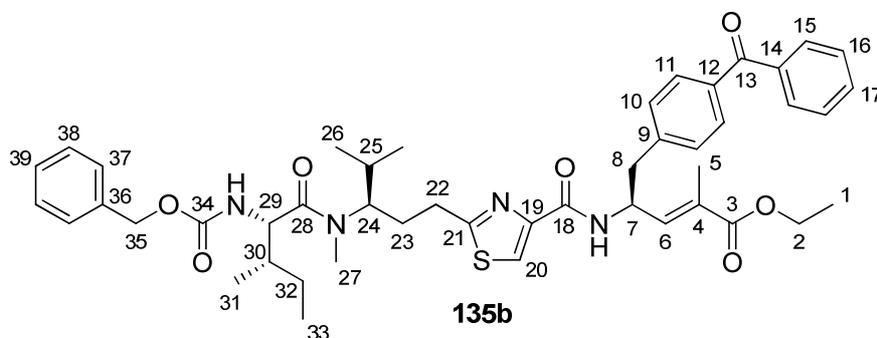
Elementaranalyse:

C ₄₂ H ₅₀ N ₄ O ₇ S	ber.	C 66.82	H 6.68	N 7.42
(754.93)	gef.	C 66.30	H 6.70	N 7.29

(S,E)-5-(4-Benzoylphenyl)-4-(2-((R)-3-((2S,3S)-2-(benzyloxycarbonylamino)-N,3-dimethylpentanamido)-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)-2-methylpent-2-ensäureethylester (135b)

Gemäß **AAV 6** wurden 324 mg (0.49 mmol) Dipeptid **134b** mit 3.00 ml (12.0 mmol) HCl in Dioxan (4 M) entschützt und anschließend mit 155 mg (0.58 mmol) Cbz-geschütztem (S,S)-Isoleucin, 160 mg (0.58 mmol) BEP und 270 μ l (1.59 mmol) DIPEA nach **AAV 2** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, Hexan/EE = 1:1) wurde Tripeptid **135b** (359 mg, 0.44 mmol, 90%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 58–60°C erhalten.

[DC: Hexan/EE = 1:1, R_f(**135b**) = 0.27]


Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.78 (d, $^3J_{26,25}$ = 6.6 Hz, 3 H, 26-H), 0.86 (t, $^3J_{33,32}$ = 7.4 Hz, 3 H, 33-H), 0.96 (d, $^3J_{26',25}$ = 6.5 Hz, 3 H, 26'-H), 0.99 (d, $^3J_{31,30}$ = 6.8 Hz, 3 H,

31-H), 1.13 (m, 1 H, 32-H_a), 1.25 (t, $^3J_{1,2} = 7.0$ Hz, 3 H, 1-H), 1.59 (m, 1 H, 32-H_b), 1.70 (m, 1 H, 25-H), 1.75 (d, $^4J_{5,7} = 1.3$ Hz, 3 H, 5-H), 1.77–1.92 (sh, 2 H, 23-H_a, 30-H), 2.09 (m, 1 H, 23-H_b), 2.81 (t, $^3J_{22,23} = 7.6$ Hz, 2 H, 22-H), 2.98 (s, 3 H, 27-H), 3.01 (dd, $^2J_{8a,8b} = 13.3$ Hz, $^3J_{8a,7} = 7.7$ Hz, 1 H, 8-H_a), 3.20 (dd, $^2J_{8b,8a} = 13.4$ Hz, $^3J_{8b,7} = 5.8$ Hz, 1 H, 8-H_b), 4.16 (q, $^3J_{2,1} = 7.1$ Hz, 2 H, 2-H), 4.39 (m, 1 H, 24-H), 4.56 (dd, $^3J_{29,NH} = 9.4$ Hz, $^3J_{29,30} = 7.1$ Hz, 1 H, 29-H), 5.09 (d, $^2J_{35a,35b} = 12.4$ Hz, 1 H, 35-H_a), 5.11 (d, $^2J_{35b,35a} = 12.4$ Hz, 1 H, 35-H_b), 5.20 (m, 1 H, 7-H), 5.50 (d, $^3J_{NH,29} = 9.4$ Hz, 1 H, NH), 6.73 (dq, $^3J_{6,5} = 9.4$ Hz, $^4J_{6,5} = 1.4$ Hz, 1 H, 6-H), 7.22–7.37 (sh, 7 H, 10-H, 37-H, 38-H, 39-H), 7.47 (dd, $^3J_{16,17} = ^3J_{16,15} = 7.6$ Hz, 2 H, 16-H), 7.57 (t, $^3J_{17,16} = 7.4$ Hz, 1 H, 17-H), 7.66 (d, $^3J_{NH,7} = 8.3$ Hz, 1 H, NH), 7.72 (d, $^3J_{11,10} = 8.2$ Hz, 1 H, 11-H), 7.76 (m, 1 H, 15-H), 7.92 (s, 1 H, 20-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 11.2$ (q, C-33), 12.8 (q, C-5), 14.2 (q, C-1), 15.9 (q, C-31), 19.5 (q, C-26), 20.1 (q, C-26'), 23.9 (t, C-32), 29.4 (t, C-23), 29.6 (q, C-27), 29.9 (t, C-22), 30.2 (d, C-25), 37.6 (d, C-30), 41.0 (t, C-8), 48.7 (d, C-7), 55.8 (d, C-29), 58.6 (d, C-24), 60.8 (t, C-2), 66.8 (t, C-35), 122.7 (d, C-20), 127.8, 128.0, 128.2, 128.4 (4 d, C-16, C-37, C-38, C-38), 129.4 (d, C-10), 129.9 (d, C-15), 130.3 (d, C-11), 130.7 (s, C-4), 132.3 (d, C-17), 136.0 (s, C-12), 136.4 (s, C-36), 137.7 (s, C-14), 138.6 (d, C-6), 141.9 (s, C-9), 149.3 (s, C-19), 156.5 (s, C-34), 160.4 (s, C-18), 167.7 (s, C-21), 169.8 (s, C-28), 173.3 (s, C-3), 196.3 (s, C-13).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 0.91$ (d, $^3J_{26,25} = 6.7$ Hz, 3 H, 26-H), 1.02 (d, $^3J_{26',25} = 6.5$ Hz, 3 H, 26'-H), 1.29 (t, $^3J_{1,2} = 7.6$ Hz, 3 H, 1-H), 2.74 (s, 3 H, 27-H), 2.89 (m, 2 H, 22-H), 3.52 (m, 1 H, 24-H), 4.19 (q, $^3J_{2,1} = 7.0$ Hz, 2 H, 2-H), 4.76 (dd, $^3J_{29,NH} = 9.6$ Hz, $^3J_{29,30} = 5.8$ Hz, 1 H, 29-H), 5.60 (d, $^3J_{NH,29} = 9.6$ Hz, 1 H, NH), 7.82 (d, $^3J_{NH,7} = 8.3$ Hz, 1 H, NH), 7.93 (s, 1 H, 20-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 11.3$ (q, C-33), 12.8 (q, C-5), 14.2 (q, C-1), 16.3 (q, C-31), 20.3 (q, C-26), 20.4 (q, C-26'), 23.3 (t, C-32), 27.6 (q, C-27), 37.9 (d, C-30), 55.4 (d, C-29), 60.8 (t, C-2), 66.9 (t, C-35), 123.2 (d, C-20), 128.2 (d, C-16), 132.3 (d, C-17), 149.4 (s, C-19), 167.6 (s, C-21), 170.2 (s, C-28).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = +11.2^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₄₆ H ₅₈ N ₄ O ₇ S [M+2H] ²⁺	810.4026	810.4061

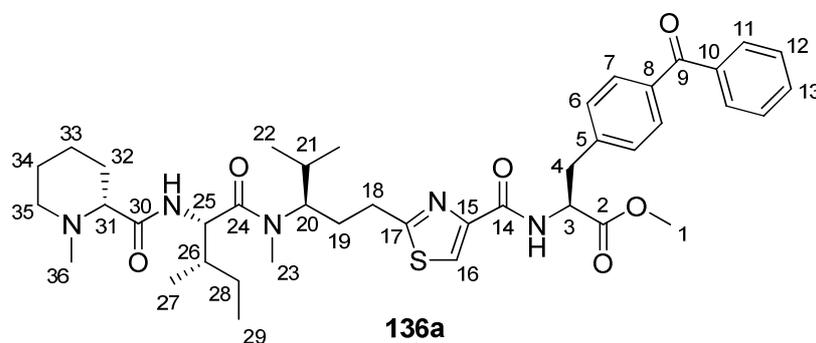
Elementaranalyse:

C ₄₆ H ₅₆ N ₄ O ₇ S	ber.	C 68.29	H 6.98	N 6.93
(809.02)	gef.	C 67.73	H 7.07	N 6.73

(S)-3-(4-Benzoylphenyl)-2-(2-((R)-3-((2S,3S)-N,3-dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)propansäuremethylester (136a)

Gemäß **AAV 8** wurden 52 mg (69 μ mol) Tripeptid **135a** mit 120 μ l (0.70 mmol) HBr (33 Gew% in HOAc) entschützt und anschließend mit 21 mg (0.15 mmol) *N*-Methyl-*(R)*-Pipicolinsäure^[47], 31 mg (0.17 mmol) Pentafluorphenol und 35 mg (0.17 mmol) DCC nach **AAV 4** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 98:2, 95:5) wurde Tetrapeptid **136a** (38 mg, 51 μ mol, 74%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 64–66°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 95:5, R_f (**136a**) = 0.21]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.74 (d, $^3J_{22,21}$ = 6.6 Hz, 3 H, 22-H), 0.88 (t, $^3J_{29,28}$ = 7.4 Hz, 3 H, 29-H), 0.94 (d, $^3J_{22',21}$ = 6.5 Hz, 3 H, 22'-H), 0.96 (d, $^3J_{27,26}$ = 6.7 Hz, 3 H, 27-H), 1.10–1.24 (sh, 2 H, 28-H_a, 33-H_{ax}), 1.34 (m, 1 H, 32-H_{ax}), 1.45–1.73 (sh, 5 H, 21-H, 28-H_b, 33-H_{eq}, 34-H), 1.77–1.90 (sh, 3 H, 19-H_a, 26-H, 32-H_{eq}), 1.99 (ddd, $^2J_{35ax,35eq}$ = 11.7 Hz, $^3J_{35ax,34ax}$ = 11.7 Hz, $^3J_{35ax,34eq}$ = 2.2 Hz, 1 H, 35-H_{ax}), 2.14 (m, 1 H, 19-H_b), 2.21 (s, 3 H, 36-H), 2.46 (dd, $^3J_{31a,32eq}$ = 10.9 Hz, $^3J_{31,32ax}$ = 2.7 Hz, 1 H, 31-H), 2.77–2.92 (sh, 3 H, 18-H, 35-H_{eq}), 2.98 (s, 3 H, 23-H), 3.28 (dd, $^2J_{4a,4b}$ = 13.8 Hz, $^3J_{4a,3}$ = 6.4 Hz, 1 H, 4-H_a), 3.35 (dd, $^2J_{4b,4a}$ = 13.8 Hz, $^3J_{4b,3}$ = 6.0 Hz, 1 H, 4-H_b), 3.74 (s, 3 H, 1-H), 4.33 (m, 1 H, 20-H), 4.76 (dd, $^3J_{25,NH}$ = $^3J_{25,26}$ = 8.8 Hz, 1 H, 25-H), 5.08 (m, 1 H, 3-H), 7.02 (d, $^3J_{NH,25}$ = 9.4 Hz, 1 H, NH), 7.30 (d, $^3J_{6,7}$ = 8.0 Hz, 2 H, 6-H), 7.46 (dd, $^3J_{12,11}$ = $^3J_{12,13}$ = 7.6 Hz, 2 H, 12-H), 7.57 (t, $^3J_{13,12}$ = 7.3 Hz, 1 H, 13-H), 7.72 (d, $^3J_{7,6}$ = 8.1 Hz, 2 H, 7-H), 7.75 (d, $^3J_{11,12}$ = 7.9 Hz, 2 H, 11-H), 7.85 ($^3J_{NH,3}$ = 8.1 Hz, 1 H, NH), 7.94 (s, 1 H, 16-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 10.9 (q, C-29), 15.9 (q, C-27), 19.5 (q, C-22), 20.1 (q, C-22'), 23.2 (t, C-28), 24.5 (t, C-32), 25.0 (t, C-34), 29.2 (t, C-19), 29.6 (q, C-23), 30.0 (d, C-21), 30.2 (t, C-18), 30.4 (t, C-32), 37.0 (d, C-26), 38.1 (t, C-4), 44.8 (q, C-36), 52.4 (q, C-1), 53.0 (2 d, C-3, C-25), 53.0 (t, C-35), 58.7 (d, C-20), 69.6 (d, C-31), 123.2 (d, C-16), 128.2 (d, C-12), 129.2 (d, C-6), 129.9 (d, C-11), 130.3 (d,

C-7), 132.3 (d, C-13), 136.3 (s, C-8), 137.6 (s, C-10), 141.1 (s, C-5), 148.9 (s, C-15), 160.6 (s, C-14), 170.3 (s, C-17), 171.5 (s, C-2), 173.2 (s, C-24), 174.2 (s, C-30), 196.2 (s, C-9).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.96 (d, ³J_{27,26} = 6.4 Hz, 3 H, 27-H), 2.75 (s, 3 H, 23-H), 3.64 (m, 1 H, 20-H), 4.96 (dd, ³J_{25,NH} = 9.4 Hz, ³J_{25,26} = 6.3 Hz, 1 H, 25-H), 7.16 (d, ³J_{NH,25} = 9.7 Hz, 1 H, NH), 7.91 (s, 2 H, 16-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.4 (q, C-29), 16.5 (q, C-27), 20.3 (q, C-22), 20.6 (q, C-22'), 27.3 (q, C-23), 38.4 (d, C-26), 62.8 (d, C-20), 123.3 (d, C-16), 141.2 (s, C-5), 170.1 (s, C-17), 172.9 (s, C-24).

Optische Drehung: [α]_D²¹ = +11.8° (c = 1.0, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₄₁ H ₅₆ N ₅ O ₆ S [M+H] ⁺	746.3951	746.3964

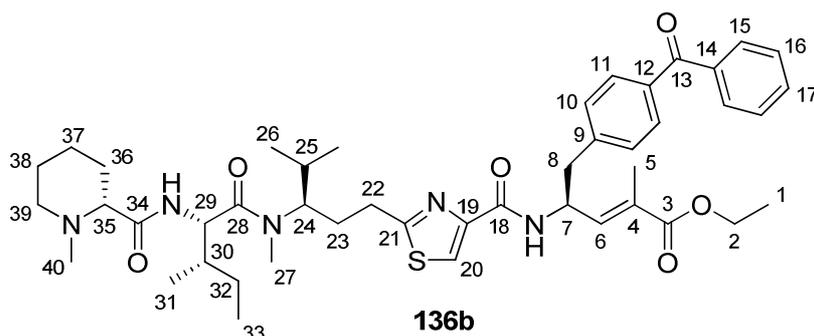
Elementaranalyse:

C ₄₁ H ₅₅ N ₅ O ₆ S	ber.	C 66.01	H 7.43	N 9.39
(745.97)	gef.	C 65.90	H 7.45	N 9.41

(S,E)-5-(4-Benzoylphenyl)-4-(2-((R)-3-((2S,3S)-N,3-dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)-2-methylpent-2-ensäureethylester (136b)

Gemäß **AAV 8** wurden 319 mg (0.39 mmol) Tripeptid **135b** mit 0.70 ml (4.05 mmol) HBr (33 Gew% in HOAc) entschützt und anschließend mit 112 mg (0.78 mmol) *N*-Methyl-(*R*)-Pipicolinsäure^[47], 158 mg (0.86 mmol) Pentafluorphenol und 177 mg (0.86 mmol) DCC nach **AAV 4** umgesetzt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 98:2, 95:5) wurde Tetrapeptid **136b** (196 mg, 0.24 mmol, 66%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 68–70°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 95:5, R_f(**136b**) = 0.18]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.79 (d, $^3J_{26,25}$ = 6.6 Hz, 3 H, 26-H), 0.90 (t, $^3J_{33,32}$ = 7.4 Hz, 3 H, 33-H), 0.98 (d, $^3J_{26',25}$ = 6.6 Hz, 3 H, 26'-H), 1.00 (d, $^3J_{31,30}$ = 6.8 Hz, 3 H, 31-H), 1.13–1.22 (sh, 1 H, 32-H_a, 37-H_{ax}), 1.29 (t, $^3J_{1,2}$ = 7.1 Hz, 3 H, 1-H), 1.39 (m, 1 H, 36-H_{ax}), 1.51–1.75 (sh, 5 H, 25-H, 32-H_b, 37-H_{eq}, 38-H), 1.78 (s, 3 H, 5-H), 1.82–1.92 (sh, 3 H, 23-H_a, 30-H, 36-H_{eq}), 2.05 (m, 1 H, 39-H_{ax}), 2.13 (m, 1 H, 23-H_b), 2.24 (s, 3 H, 40-H), 2.50 (m, 1 H, 35-H), 2.85 (t, $^3J_{22,23}$ = 8.0 Hz, 2 H, 22-H), 2.90 (m, 1 H, 39-H_{eq}), 3.03 (s, 3 H, 27-H), 3.04 (dd, $^2J_{8a,8b}$ = 13.2 Hz, $^3J_{8a,7}$ = 7.8 Hz, 1 H, 8-H_a), 3.25 (dd, $^2J_{8b,8a}$ = 13.4 Hz, $^3J_{8b,7}$ = 6.0 Hz, 1 H, 8-H_b), 4.20 (q, $^3J_{2,1}$ = 7.1 Hz, 2 H, 2-H), 4.23 (m 1 H, 24-H), 4.81 (dd, $^3J_{29,NH}$ = 9.3 Hz, $^3J_{29,30}$ = 8.2 Hz, 1 H, 29-H), 5.23 (m, 1 H, 7-H), 6.74 (d, $^3J_{6,7}$ = 9.3 Hz, 1 H, 6-H), 7.07 (d, $^3J_{NH,29}$ = 9.2 Hz, 1 H, NH), 7.37 (d, $^3J_{10,11}$ = 8.2 Hz, 2 H, 10-H), 7.49 (dd, $^3J_{16,15}$ = $^3J_{16,17}$ = 7.6 Hz, 2 H, 16-H), 7.59 (tt, $^3J_{17,16}$ = 7.4 Hz, $^4J_{17,15}$ = 1.3 Hz, 1 H, 17-H), 7.68 (d, $^3J_{NH,7}$ = 8.4 Hz, 1 H, NH), 7.75 (d, $^3J_{11,10}$ = 8.2 Hz, 2 H, 11-H), 7.77 (m, 2 H, 15-H), 7.94 (s, 1 H, 20-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 10.9 (q, C-33), 12.8 (q, C-5), 14.2 (q, C-1), 15.9 (q, C-31), 19.6 (q, C-26), 20.1 (q, C-26'), 23.2 (t, C-32), 24.6 (t, C-37), 25.0 (t, C-38), 29.4 (t, C-23), 29.6 (q, C-27), 30.0 (t, C-22), 30.2 (d, C-25), 30.4 (t, C-36), 37.1 (d, C-30), 41.0 (t, C-8), 44.8 (q, C-40), 48.6 (d, C-7), 53.0 (d, C-29), 55.4 (t, C-39), 60.8 (t, C-2), 62.7 (d, C-24), 69.6 (d, C-35), 122.7 (d, C-20), 128.2 (d, C-16), 129.4 (d, C-10), 129.9 (d, C-15), 130.3 (d, C-11), 130.5 (s, C-4), 132.3 (d, C-17), 135.9 (s, C-12), 137.6 (s, C-14), 138.7 (d, C-6), 141.9 (s, C-9), 149.3 (s, C-19), 160.4 (s, C-18), 167.7 (s, C-21), 169.9 (s, C-28), 173.2 (s, C-3), 174.2 (s, C-34), 196.3 (s, C-13).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.91 (t, $^3J_{33,32}$ = 7.1 Hz, 3 H, 33-H), 1.06 (d, $^3J_{26,25}$ = 6.5 Hz, 3 H, 26-H), 2.79 (s, 3 H, 27-H), 3.63 (m 1 H, 24-H), 5.08 (dd, $^3J_{29,NH}$ = 9.6 Hz, $^3J_{29,30}$ = 5.7 Hz, 1 H, 29-H), 7.23 (d, $^3J_{NH,29}$ = 9.6 Hz, 1 H, NH), 7.93 (s, 1 H, 20-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.4 (q, C-33), 16.6 (q, C-31), 20.4 (q, C-26), 20.5 (q, C-26'), 27.4 (q, C-27), 38.4 (d, C-30), 44.9 (q, C-40), 58.4 (d, C-24), 60.6 (t, C-2), 123.0 (d, C-22), 135.9 (d, s, C-12), 137.6 (s, C-14), 142.0 (s, C-9), 170.0 (s, C-28), 172.9 (s, C-3).

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = +27.5^\circ$ (c = 0.8, CHCl₃)

HRMS (CI)	berechnet	gefunden
C ₃₁ H ₅₀ N ₅ O ₅ S [M-C ₁₄ H ₁₁ O+H] ⁺	604.3533	604.3530

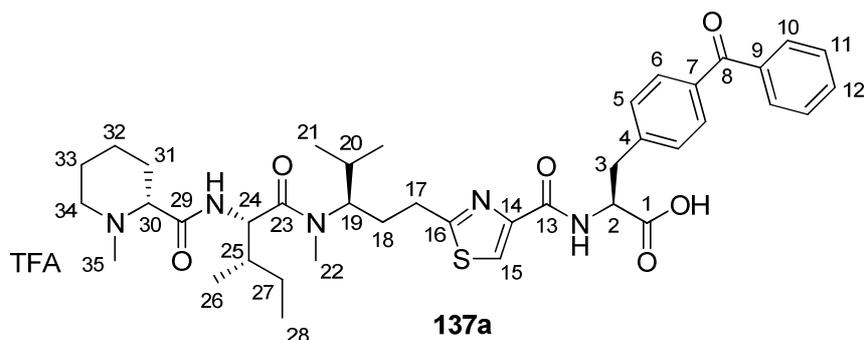
Elementaranalyse:

C ₄₅ H ₆₁ N ₅ O ₆ S	ber.	C 67.56	H 7.68	N 8.44
(800.06)	gef.	C 66.96	H 7.94	N 8.44

(S)-3-(4-Benzoylphenyl)-2-(2-((R)-3-((2S,3S)-N,3-dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)propansäure-TFA-Salz (137a)

Gemäß **AAV 5** wurden 50 mg (67 μ mol) Tetrapeptid **136a** mit 140 μ l (140 μ mol) 1 M NaOH-Lösung bei 80°C entschützt (Dioxan, 6 h). Nach Aufarbeitung (angesäuert mit TFA) und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 9:1) wurde **137a** (52 mg, 61 μ mol, 92%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 186–188°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, R_f(**137a**) = 0.11]


Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.74 (d, ³J_{21,20} = 6.6 Hz, 3 H, 21-H), 0.88 (t, ³J_{28,27} = 7.4 Hz, 3 H, 28-H), 0.91 (d, ³J_{21',20} = 6.3 Hz, 3 H, 21'-H), 0.97 (d, ³J_{26,25} = 6.7 Hz, 3 H, 26-H), 1.18 (m, 1 H, 27-H_a), 1.52 (m, 1 H, 32-H_{ax}), 1.62 (m, 1 H, 27-H_b), 1.68–1.78 (sh, 3 H, 20-H, 32-H_{eq}, 33-H_{ax}), 1.80–1.95 (4 H, 18-H_a, 25-H, 31-H_{ax}, 33-H_{eq}), 2.01 (m, 1 H, 31-H_{eq}), 2.17 (m, 1 H, 18-H_b), 2.54 (s, 3 H, 35-H), 2.73 (m, 1 H, 34-H_{ax}), 2.85 (m, 2 H, 17-H), 3.04 (s, 3 H, 22-H), 3.25–3.30 (sh, 2 H, 3-H_a, 34-H_{eq}), 3.38 (m, 1 H, 30-H), 3.44 (dd, ²J_{3b,3a} = 13.6 Hz, ³J_{3b,2} = 5.1 Hz, 1 H, 3-H_b), 4.17 (bs, 1 H, 19-H), 4.72 (d, ³J_{24,NH} = 7.9 Hz, 1 H, 24-H), 4.77 (t, ³J_{2,3} = 5.7 Hz, 1 H, 2-H), 7.40 (d, ³J_{5,6} = 8.1 Hz, 2 H, 5-H), 7.50 (dd, ³J_{11,10} = ³J_{11,12} = 7.6 Hz, 2 H, 11-H), 7.61–7.64 (sh, 3 H, 6-H, 12-H), 7.71 (d, ³J_{10,11} = 7.7 Hz, 2 H, 10-H), 8.04 (s, 1 H, 15-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.4 (q, C-28), 16.3 (q, C-26), 20.3 (q, C-21), 20.6 (q, C-21'), 23.0 (t, C-27), 24.8 (t, C-32), 25.5 (t, C-33), 30.1 (t, C-18), 30.5 (q, C-22), 30.7 (t, C-31), 31.1 (t, d, C-17, C-20), 37.6 (d, C-25), 39.1 (t, C-3), 43.5 (q, C-35), 55.8 (d, C-24), 56.4 (t, C-34), 56.8 (d, C-19), 69.0 (d, C-30), 124.5 (d, C-15), 129.5 (d, C-11), 130.9 (2 d, C-5, C-10), 131.1 (d, C-6), 133.7 (d, C-12), 136.9 (s, C-7),

139.0 (s, C-9), 145.0 (s, C-4), 150.4 (s, C-14), 162.7 (s, C-13), 171.4 (s, C-16), 172.1 (s, C-23), 174.5 (s, C-29), 177.9 (s, C-1), 198.2 (s, C-8).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.06 (d, ³J_{26,25} = 6.4 Hz, 3 H, 26-H), 2.50 (s, 3 H, 35-H), 2.61 (s, 3 H, 22-H), 3.68 (m, 1 H, 19-H), 4.72 (d, ³J_{24,NH} = 5.4 Hz, 1 H, 24-H), 7.97 (s, 1 H, 16-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 11.8 (q, C-28), 16.7 (q, C-26), 21.0 (q, C-21), 28.3 (q, C-22), 38.0 (d, C-25), 39.3 (t, C-3), 43.5 (q, C-35), 150.5 (s, C-14).

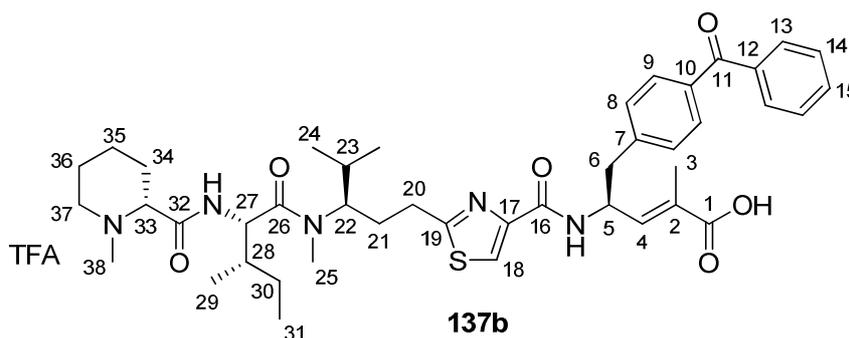
Optische Drehung: [α]²¹_D = +7.9° (c = 0.6, MeOH)

HRMS (ESI)	berechnet	gefunden
C ₄₀ H ₅₄ N ₅ O ₆ S [M+H] ⁺	732.3795	732.3769

(S,E)-5-(4-Benzoylphenyl)-4-(2-((R)-3-((2S,3S)-N,3-dimethyl-2-((R)-1-methylpiperidin-2-carboxamido)pentanamido)-4-methylpentyl)thiazol-4-carboxamido)-2-methylpent-2-ensäure-TFA-Salz (137b**)**

Gemäß **AAV 5** wurden 50 mg (62 μmol) Tetrapeptid **136b** mit 180 μl (180 μmol) 1 M NaOH-Lösung bei 80°C entschützt (Dioxan, 7 h). Nach Aufarbeitung (angesäuert mit TFA) und säulenchromatographischer Reinigung (Kieselgel, DCM/MeOH = 9:1) wurde **137b** (53 mg, 60 μmol, 97%) als weißer Feststoff mit einem Schmelzpunkt von 158–160°C erhalten.

[DC: DCM/MeOH = 9:1, R_f(**137b**) = 0.27]



Hauptrotamer

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 0.65 (d, ³J_{24,23} = 6.6 Hz, 3 H, 24-H), 0.80 (t, ³J_{31,30} = 7.4 Hz, 3 H, 31-H), 0.83 (d, ³J_{24',23} = 6.5 Hz, 3 H, 24'-H), 0.90 (d, ³J_{29,28} = 6.8 Hz, 3 H, 29-H), 1.13 (m, 1 H, 30-H_a), 1.38 (m, 1 H, 35-H_{ax}), 1.48 (m, 1 H, 30-H_b), 1.57–1.76 (sh, 8 H, 3-H, 23-H, 34-H_{ax}, 35-H_{eq}, 36-H), 1.79–1.92 (sh, 3 H, 21-H_a, 28-H, 34-H_{eq}), 2.03 (m, 1 H, 21-H_b), 2.45 (s, 3 H, 38-H), 2.66 (ddd, ²J_{37ax,37eq} = 12.5 Hz, ³J_{37ax,36ax} = 12.5 Hz, ³J_{37ax,36eq} = 2.9 Hz, 1 H, 37-H_{ax}), 2.75 (m, 1 H, 20-H_a), 2.85 (m, 1 H, 20-H_b),

2.94 (dd, $^2J_{6a,6b} = 13.0$ Hz, $^3J_{6a,5} = 7.5$ Hz, 1 H, 6-H_a), 2.98 (s, 3 H, 25-H), 3.09 (dd, $^2J_{6b,6a} = 13.3$ Hz, $^3J_{6b,5} = 6.9$ Hz, 1 H, 6-H_b), 3.19 (m, 1 H, 37-H_{eq}), 3.33 (dd, $^2J_{33,34eq} = 11.5$ Hz, $^3J_{33,34ax} = 2.4$ Hz, 1 H, 33-H), 4.18 (m, 1 H, 22-H), 4.61 (d, $^3J_{27,28} = 8.6$ Hz, 1 H, 27-H), 5.05 (m, 1 H, 5-H), 6.60 (dq, $^3J_{4,5} = 9.2$ Hz, $^4J_{4,3} = 1.0$ Hz, 1 H, 4-H), 7.31 (d, $^3J_{8,9} = 8.1$ Hz, 2 H, 8-H), 7.39 (dd, $^3J_{14,15} = ^3J_{14,13} = 7.6$ Hz, 2 H, 14-H), 7.51 (t, $^3J_{15,14} = 7.5$ Hz, 1 H, 15-H), 7.56 (d, $^3J_{9,8} = 8.2$ Hz, 2 H, 9-H), 7.60 (m, 2 H, 13-H), 7.91 (s, 1 H, 18-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 11.2$ (q, C-31), 13.9 (q, C-29), 16.0 (q, C-3), 20.3 (q, C-24), 20.6 (q, C-24'), 23.0 (t, C-30), 24.7 (t, C-35), 25.7 (t, C-36), 30.3 (q, C-25), 30.5 (t, C-21), 30.6 (t, C-34), 31.0 (t, C-20), 31.4 (d, C-23), 37.7 (d, C-28), 41.9 (t, C-6), 43.4 (q, C-38), 50.8 (d, C-5), 55.6 (d, C-27), 56.3 (t, C-37), 60.2 (d, C-22), 69.0 (d, C-33), 118.2 (q, $^2J_{C,F} = 291$ Hz, CF₃COOH), 124.5 (d, C-18), 129.5 (d, C-14), 130.9 (2 d, C-8, C-13), 130.9 (d, C-9), 133.7 (d, C-15), 137.0, 137.1 (d, s, C-4, C-10), 139.0 (s, C-12), 144.5 (s, C-7), 150.4 (s, C-17), 162.7 (s, C-16), 163.2 (q, $^3J_{C,F} = 34.6$ Hz, CF₃COOH), 171.2 (s, C-19), 171.9 (s, C-26), 174.8 (s, C-32), 175.6 (s, C-19), 198.2 (s, C-11).

Nebenrotamer (ausgewählte Signale)

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 0.98$ (d, $^3J_{24,23} = 6.5$ Hz, 3 H, 24-H), 2.35 (s, 3 H, 38-H), 2.55 (s, 3 H, 25-H), 4.67 (d, $^3J_{27,28} = 8.9$ Hz, 1 H, 27-H), 7.88 (s, 1 H, 18-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 11.9$ (q, C-31), 16.5 (q, C-3), 20.7 (q, C-24), 20.9 (q, C-24'), 28.3 (q, C-25), 38.5 (d, C-28), 43.6 (q, C-38), 64.7 (d, C-22).

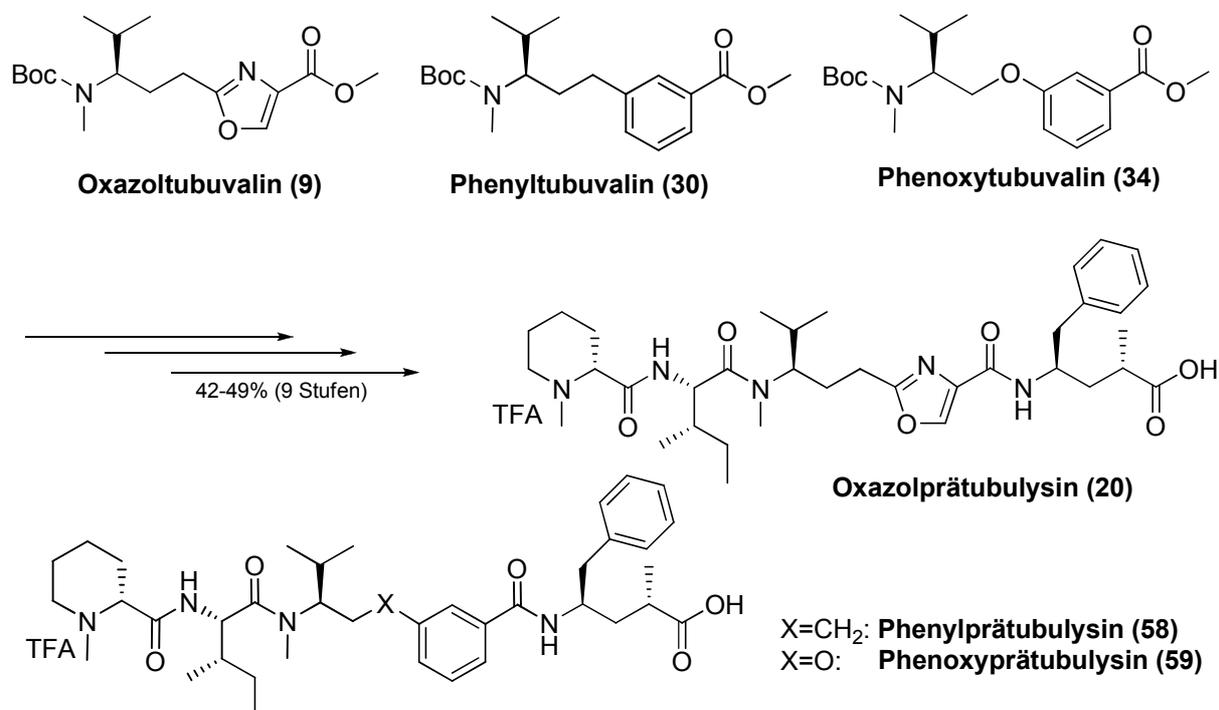
Optische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -4.5^\circ$ (c = 0.9, MeOH)

HRMS (ESI)	berechnet	gefunden
C ₄₃ H ₅₈ N ₅ O ₆ S [M+H] ⁺	772.4108	772.4082

6 Zusammenfassung

Das Hauptziel dieser Arbeit war die Synthese und biologische Evaluierung neuer Prä tubulysin-Derivate, wobei der Thiazolring der zentralen Tubuvalin-Einheit durch andere (hetero)-aromatische Ringsysteme (Phenyl, Phenoxy, Oxazol, Triazol) ersetzt werden sollte. Die Synthese der entsprechenden Tubuvalin-Derivate erfolgte in wenigen Stufen mit sehr guten Gesamtausbeuten.

Das Oxazol-, Phenyl- und Phenoxytubuvalin wurde anschließend durch sukzessive Peptidknüpfungen problemlos in die entsprechenden Prä tubulysine **21**, **58** und **59** überführt (**Schema 6.1**). Dabei wurde stets vom C- zum N-Terminus geknüpft um eine Racemisierung oder Cyclisierung der aktivierten Peptidbausteine zu verhindern. Die N-Methylgruppe an der Pipecolinsäure-Einheit wurde durch reduktive Methylierung auf der Stufe des Tetrapeptides eingeführt. So wurden die Prä tubulysine ausgehend von den jeweiligen Tubuvalinen in neun Stufen mit einer hervorragenden Gesamtausbeute von 41–49% erhalten. Die Derivate wurden im AK Müller auf ihre cytotoxischen Eigenschaften gegenüber diversen Krebszelllinien getestet. Das Oxazolprä tubulysin zeigte dabei die mit Abstand höchste Aktivität, die mit der des Prä tubulysins vergleichbar ist, während das Phenyl- bzw. Phenoxy-Derivat um den Faktor 70 bzw. 300 weniger aktiv ist. Nichtsdestotrotz liegen die Aktivitäten immer noch im nanomolaren Bereich.



Schema 6.1: Synthese von Oxazol-, Phenyl- und Phenoxyprä tubulysin.

Zum Aufbau einer kleinen Substanzbibliothek wurden verschiedene Triazolprä-tubulysin-Derivate durch *Click*-Chemie hergestellt. Durch diesen modularen Ansatz können schnell und effektiv neue Reste eingeführt und durch SAR-Studien der Einfluss der Substituenten auf die Aktivität studiert werden. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Alkine **A** (**Abbildung 6.1**) mit dem Peptid-Azid **74** in einer regio-spezifischen Cu(I)-katalysierten Huisgen-Reaktion umgesetzt (**Schema 6.2**).

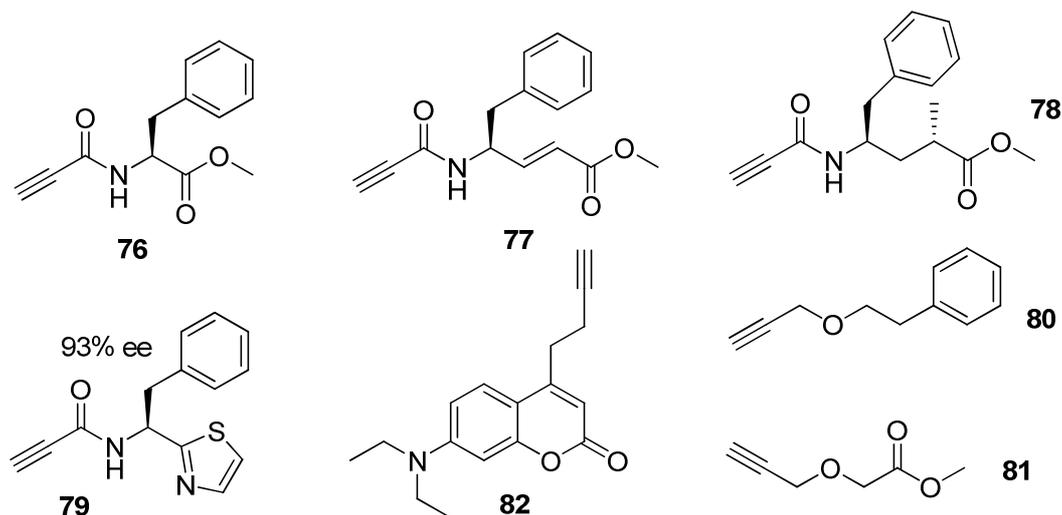
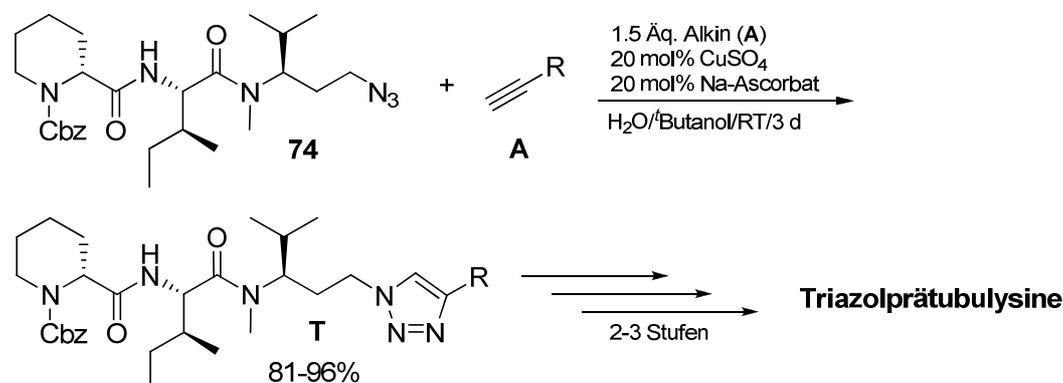


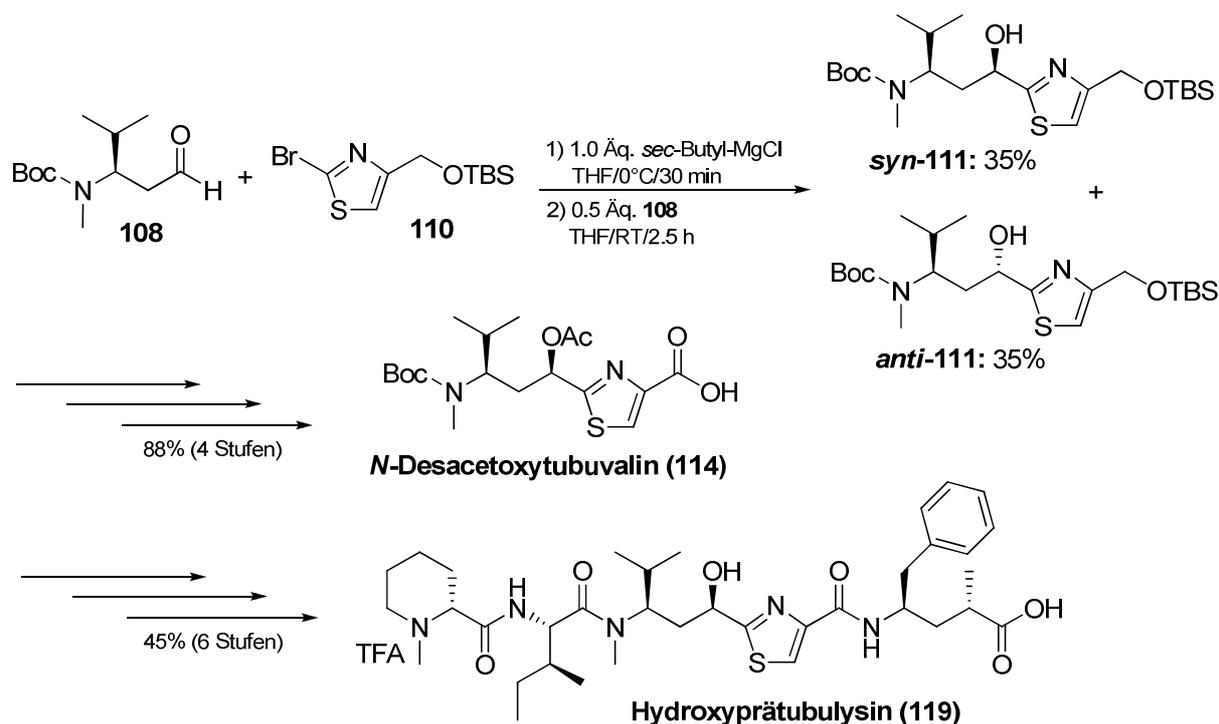
Abbildung 6.1: Diverse Alkine (**A**) für die Synthese von Triazolprä-tubulysin-Derivaten.

Die Ausbeuten waren dabei mit 81–96% durchweg gut-hervorragend. Im Anschluss wurden die verschiedenen Triazole **T** am *N*-Terminus reduktiv methyliert und die Schutzgruppen entfernt, wobei die entsprechenden Triazolprä-tubulysine mit den verschiedenen *C*-Termini erhalten wurden. Diese wurden dann ebenfalls im AK Müller auf ihre Wirksamkeit gegenüber der Proliferation verschiedener Krebszellen getestet. Bei diesen Derivaten lagen die IC_{50} -Werte im oberen nanomolaren bzw. μ molaren Bereich.



Schema 6.2: Synthese diverser Triazolprä-tubulysin-Analoga *via* *Click*-Chemie.

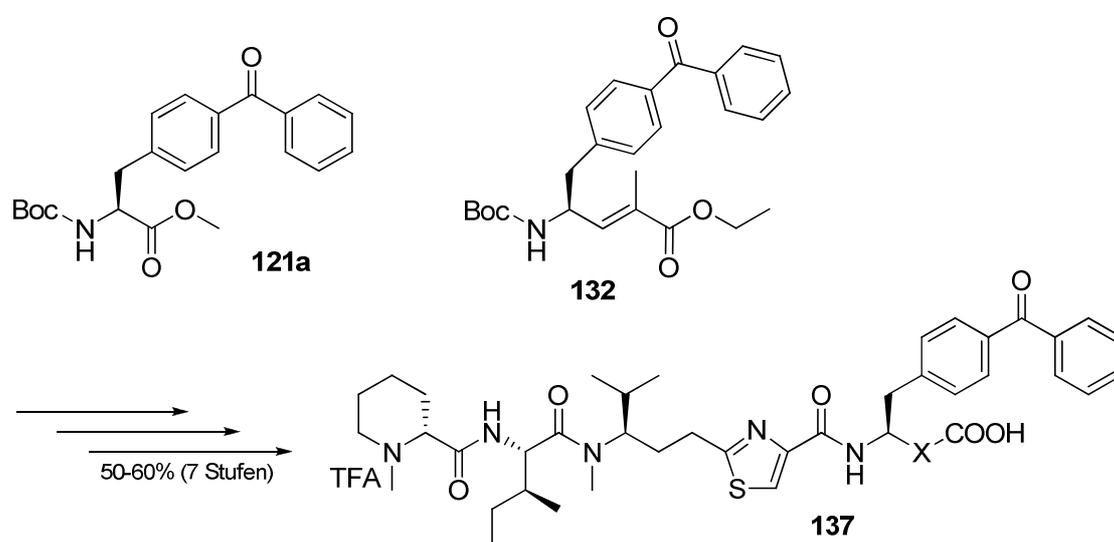
In Zusammenarbeit mit dem AK Müller wurde zur weiteren Aufklärung des Tubulysin-Syntheseweges Hydroxyprätubulysin **119**, ein postuliertes Biosyntheseintermediat, synthetisiert. Der Syntheseroute liegt eine Publikation von Wipf *et al.* zu Grunde, die, im Rahmen einer Totalsynthese von N^{14} -Desacetytubulysin H, die Darstellung des benötigten *N*-Desacetytubuvalin **114** beschreibt (**Schema 6.3**).^[49] Der Schlüsselschritt war dabei eine Grignard-Addition von Bromthiazol **110** an den Homovalinaldehyd **108** nach Knochel. Dabei konnten die beiden Diastereomere **111** im Verhältnis 1:1 isoliert und säulenchromatographisch getrennt werden. Die folgende Acetylierung und Oxidation lieferte das Schlüsselfragment **114** in einer Gesamtausbeute von 88% über vier Stufen. Dabei konnte die Ausbeute gegenüber der Literatur nochmal deutlich optimiert werden (57%). Durch sukzessive Peptidknüpfung mit Tup-OMe, Fmoc-Ile und Mep wurde die Synthese des Hydroxyprätubulysins mit einer hervorragenden Gesamtausbeute von 45% über die letzten sechs Stufen komplettiert. Die cytotoxische Aktivität von **119** liegt im unteren nanomolaren Bereich. Die Untersuchungen zur Biosynthese im AK Müller dauern zurzeit noch an.



Schema 6.3: Synthese von Hydroxyprätubulysin **119**.

In Zusammenarbeit mit dem AK Siebert von der LMU München sollen neue *Targets* (z.B. Enzyme, Proteine) für die Tubulysine identifiziert werden. Zu diesem Zweck wurden photoaktivierbare Prätubulysin-Derivate (**137**) synthetisiert (**Schema 6.4**), mit deren Hilfe unter Ausnutzung des *aktivitätsbasierten Protein-Profiling* (APBB) neue Wirkziele im Proteom verschiedener Mikroorganismen identifiziert

werden können.^[68] Die Verbindungen **137** besitzen als photoaktivierbare Gruppe eine Benzophenon-Einheit, die durch Bestrahlung mit UV-Licht Radikale bildet, die dann kovalent an die potentiellen Targets binden. Nach anschließender Anbringung eines Markers (z.B. mittels *Click*-Chemie) werden die Targets dann mittels Affinitätschromatographie identifiziert. Als Schlüsselschritt für die Synthese diente dabei eine carbonylierende Suzuki-Kupplung, mit der die beiden Benzophenon-Tubuvalin-Analoga **121a** und **132** dargestellt wurden. Der Aufbau der Tetrapeptide **137** erfolgte in weiteren sieben Stufen mit einer hervorragenden Ausbeute von 50–60%. Cytotoxizitätsstudien im AK Müller zeigten, dass die beiden Derivate einen IC₅₀-Wert im µmolaren Bereich besitzen. Die Untersuchungen im AK Siebert dauern zurzeit noch an.



Schema 6.4: Synthese von photoaktivierbaren Prätubulysin-Derivaten (**137**).

7 Literaturverzeichnis

- [¹] M. C. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggon, A. T. McPhail; *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325–2327.
- [²] A. Sharma, R. M. Straubinger, I. Ojima, R. J. Bernacki, *J. Pharm. Sci.* **1996**, *85*, 228–231.
- [³] D. J. Newman, G. M. Cragg, K. M. Snader, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1022–1037; K.-H. Lee, *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 273–283.
- [⁴] B. Frank, R. Müller, *Pharmazeutische Zeitung* **2007**, Ausgabe 50.
- [⁵] K. Gerth, S. Pradella, O. Perlova, S. Beyer, R. Müller, *J. Biotechnol.* **2003**, *106*, 233–253.
- [⁶] a) HZI Research Report **2006-07**, 54–59; b) Wissenschaftlicher Ergebnisbericht **1999/2000** des GBF, 97 (<http://www.helmholtz-hzi.de>).
- [⁷] S. Schneiker, O. Perlova, O. Kaiser, K. Gerth, A. Alici, M. O. Altmeyer, D. Bartels, T. Bekel, S. Beyer, E. Bode, H. B. Bode, C. J. Bolten, J. V. Choudhuri, S. Doss, Y. A. Elnakady, B. Frank, L. Gaigalat, A. Goesmann, C. Groeger, F. Gross, L. Jelsbak, J. Kalinowski, C. Kegler, T. Knauber, S. Konietzny, M. Kopp, L. Krause, D. Krug, B. Linke, T. Mahmud, R. Martinez-Arias, A. C. Mchardy, M. Merai, F. Meyer, S. Mormann, J. Muñoz-Dorado, J. Perez, S. Pradella, S. Rachid, G. Raddatz, F. Rosenau, C. Rückert, F. Sasse, M. Scharfe, S. C. Schuster, G. Suen, A. Treuner-Lange, G. J. Velicer, F. J. Vorhölter, K. J. Weissman, R. D. Welch, S. C. Wenzel, D. E. Whitworth, S. Wilhelm, C. Wittmann, H. Blöcker, A. Pühler, R. Müller, *Nat. Biotechnol.* **2007**, *25*, 1281–1289.
- [⁸] H. Reichenbach, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *27*, 149–456.
- [⁹] R. Jansen, B. Kumze, H. Reichenbach, G. Höfle, *Liebigs Ann.* **1996**, 285–290.
- [¹⁰] R. Jansen, H. Steinmetz, F. Sasse, W.-D. Schubert, G. Hagelüken, S. C. Albrecht, R. Müller, *Tet. Lett.* **2008**, *49*, 5796–5799.
- [¹¹] Y. A. Elnakady, F. Sasse, H. Lünsdorf, H. Reichenbach, *Biochem. Pharm.* **2004**, *67*, 927–935.
- [¹²] G. Höfle, N. Bedorf, H. Steinmetz, D. Schomburg, K. Gerth, H. Reichenbach, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1671–1673; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 1567–1569.
- [¹³] F. Sasse, H. Steinmetz, J. Heil, G. Höfle, H. Reichenbach, *J. Antibiot* **2000**, *53*, 879–885.

- [14] Y. Chai, D. Pistorius, A. Ullrich, K. J. Weissman, U. Kazmaier, R. Müller, *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 296–309.
- [15] R. Preusentanz, O. Pando, I. Wessjohann, *Nachrichten aus der Chemie* **2010**, *58*, 526–532.
- [16] H. Luesch, R. E. Moore, V. J. Paul, S. I. Mooberry, T. H. Corbett, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 907–910.
- [17] T. L. Simmons, K. L. McPhail, E. Ortega-Barria, S. L. Mooberry, W. H. Gerwick, *Tet. Lett.* **2006**, *47*, 3387–3390.
- [18] G. Höfle, N. Glaser, T. Leibold, U. Kamara, F. Sasse, H. Steinmetz, *Pure Appl. Chem.* **2003**, *75*, 167–178.
- [19] H. Steinmetz, N. Glaser, E. Herdtweck, F. Sasse, H. Reichenbach, G. Höfle, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4996–5000; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4888–4892.
- [20] A. Dömling, W. Richter, *Mol. Divers.* **2005**, *9*, 941–947.
- [21] A. Sandmann, F. Sasse, R. Müller, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1071–1079; A. Sandmann, *Dissertation*, Braunschweig **2004**.
- [22] a) A. Ullrich, Y. Chai, D. Pistorius, Y. A. Elnakady, J. E. Herrmann, K. J. Weissmann, U. Kazmaier, R. Müller, *Angew. Chem.* **2009**, *24*, 4486–4489; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4422–4425; b) A. Ullrich, *Dissertation*, Saarbrücken **2008**.
- [23] K. W. Wolf, K. J. Böhm, *Biologie in unserer Zeit* **1997**, *27*, 87–95.
- [24] M. A. Jordan, L. Wilson, *Nat. Rev. Cancer* **2004**, *4*, 253–265.
- [25] M.-W. M. Khalil, *Dissertation*, Braunschweig **1999**.
- [26] M. W. Khalil, F. Sasse, H. Lünsdorf, Y. A. Elnakady, H. Reichenbach, *ChemBio Chem* **2006**, *7*, 678–683.
- [27] D. G. I. Kingston, *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 507–515.
- [28] D. Skoufias, L. Wilson, *Biochemistry* **1992**, *31*, 738–746.
- [29] E. Nogales, S. G. Wolf, K. H. Downing, *Nature* **1998**, *391*, 199–203.
- [30] U. Klar, J. Hoffmann, M. Giurescu, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2008**, *17*, 1735–1748.
- [31] E. Hamel, *Pharmac. Ther.* **1992**, *55*, 31–51
- [32] K. Kubicek, S. K. Grimm, J. Orts, F. Sasse, T. Carlomagno, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 1–5; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4808–4812.

- [33] S. C. Wenzel, B. Kunze, G. Höfle, B. Silakowski, M. Scharfe, H. Blöcker, R. Müller, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 375–385; S. C. Wenzel, R. Müller, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 1211–1224.
- [34] D. E. Cane, C. T. Walsh, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, R319–R325; T. A. Keating, C. T. Walsh, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 598–606.
- [35] J. Staunton, K. J. Weissman, *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 380–416.
- [36] R. Finking, M. A. Marahiel, *Annu. Rev. Microbiol.* **2004**, *58*, 453–488; S. A. Siebert, M. A. Marahiel, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 715–738.
- [37] E. Conti, T. Stachelhaus, M. A. Marahiel, P. Brick, *EMBO J.* **1997**, *16*, 4174–4183.
- [38] C. D. Richter, D. Nietlispach, R. W. Broadhurst, K. J. Weissman, *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 75–81.
- [39] G. Höfle, T. Leibold, H. Steinmetz (GBF), DE 10008089, **2001** [*Chem. Abstr.* **2001**, *135*, 331296].
- [40] D. Neri, G. Fossati, M. Zanda, *ChemMedChem* **2006**, *1*, 175–180.
- [41] a) A. Dömling, B. Henkel, B. Beck (*Morphochem*), WO 2004005269, **2004** [*Chem. Abstr.* **2004**, *140*, 94054]; a) A. Dömling, B. Henkel, B. Beck, K. Ilgen, S. Sakamuri, S. Menon (*Morphochem*), WO 2004005327, **2004** [*Chem. Abstr.* **2004**, *140*, 94300].
- [42] A. Dömling, B. Beck, U. Eichelberger, S. Sakamuri, S. Menon, Q.-Z. Chen, Y. Lu, L. A. Wessjohann, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7393–7397; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7235–7239.
- [43] M. Sani, G. Fossati, F. Huguenot, M. Zanda, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 3596–3599; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3526–3529.
- [44] A. Dömling, B. Beck, U. Eichelberger, S. Sakamuri, S. Menon, Q.-Z. Chen, Y. Lu, L. A. Wessjohann, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2399–2400; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2347–2348.
- [45] R. Balasubramanian, B. Rhaghavan, A. Begaye, D. L. Sackett, R. A. Fecik, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 238–240.
- [46] T. Shibue, T. Hirai, I. Okamoto, N. Morita, H. Masu, I. Azumaya, O. Tamura, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 11678–11688.
- [47] a) H. M. Peltier, J. P. McMahon, A. W. Patterson, J. A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16018–16019; b) F. Sasse, D. Menche, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 87–88.

- [48] O. Pando, S. Dörner, R. Preusentanz, A. Denkert, A. Porzel, W. Richter, L. Wessjohann, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5567–5569.
- [49] P. Wipf, Z. Wang, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1605–1607.
- [50] A. Ullrich, J. Herrmann, R. Müller, U. Kazmaier, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 6367–6378.
- [51] G. F. Friestad, J.-C. Marie, A. M. Deveau, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3249–3252; G. F. Friestad, K. Banerjee, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1095–1098.
- [52] P. Wipf, T. Takada, M. J. Rishel, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4057–4060.
- [53] S. Chandrasekhar, B. mahipal, M. Kavitha, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 9531–9534.
- [54] Dominic Becker, *Diplomarbeit*, Saarbrücken **2010**.
- [55] Z. Wang, P. A. McPherson, B. S. Raccor, R. Balachandran, G. Zhu, B. W. Day, A. Vogt, P. Wipf, *Chem. Biol. Drug. Des.* **2007**, *70*, 75–86.
- [56] A. W. Patterson, H. M. Peltier, F. Sasse, J. A. Ellman, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 9534–9541.
- [57] A. W. Patterson, H. M. Peltier, J. A. Ellman, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4362–4369.
- [58] B. Raghavan, R. Balasubraminian, J. C. Steele, D. L. Sackett, R. A. Fecik, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1530–1533.
- [59] B. Raghavan, R. Balasubraminian, J. C. Steele, D. L. Sackett, R. A. Fecik, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2996–2999.
- [60] T. Shibue, I. Okamoto, N. Morita, H. Morita, Y. Hirasawa, T. Hosoya, O. Tamura, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 431–434.
- [61] O. Pando, S. Stark, A. Denkert, A. Porzel, R. Preusentanz, L. A. Wessjohann, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7692–7695.
- [62] S. Shankar, M. Sani, F. R. Saunders, H. M. Wallace, M. Zanda, *Synlett* **2011**, 1673–1676.
- [63] I. R. Vlaho, Y. Wang, P. J. Kleindl, C. P. Leamon, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4558–4561; C. P. Leamon, J. A. Reddy, M. Vetzal, R. Dorton, E. Westrick, N. Parker, Y. Wang, I. R. Vlaho, *Cancer Res.* **2008**, *68*, 9839–9844; J. A. Reddy, R. Dorton, A. Dawson, M. Vetzal, N. Parker, J. S. Nicoson, E. Westrick, P. J. Klein, Y. Wang, I. R. Vlahov, C. P. Leamon, *Mol. Pharmaceutics.* **2009**, *6*, 1518–1525.
- [64] T. Schlupe, P. Gunawan, L. Ma, G. S. Jensen, J. Durringer, S. Hinton, W. Richter, J. Hwang, *Clin. Cancer Res.* **2009**, *15*, 181–189.

- [65] a) T. K. Lindhorst, M. Märten, A. Fuchs, S. D. Knight, *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 810–822; b) Y. Wang, Q. Lin, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3570–3573.
- [66] J. C. Kauer, S. Erickson-Viitanen, H. R. Wolfe, Jr., W. F. DeGrado, *J. Biol. Chem.* **1986**, *23*, 10695–10700.
- [67] D. Fillion, M. Deraet, B. J. Holleran, E. Escher, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2200–2209.
- [68] T. Böttcher, M. Pitscheider, S. A. Sieber, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 2740–2759; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *15*, 2680–2698.
- [69] A. I. Meyers, J. P. Lawson, D. G. Walker, R. J. Linderman, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5111–5123.
- [70] J. A. Lafontaine, D. P. Provencal, C. Gardelli, J. W. Leahy, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4215–4234.
- [71] D. R. Williams, P. D. Lowder, Y.-G. Gui, D. A. Brooks, *Tet. Lett.* **1997**, *38*, 331–334.
- [72] L. J. Street, F. Sternfeld, R. A. Jelley, A. J. Reeve, R. W. Carling, K. W. Moore, R. M. McKernan, B. Sohal, S. Cook, A. Pike, G. R. Dawson, F. A. Bromidge, K. A. Wafford, G. R. Seabrook, S. A. Thompson, G. Marshall, G. V. Pillai, J. L. Castro, J. R. Atack, A. M. MacLeod, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3642–3657.
- [73] S. K. Chattopadhyay, J. Kempson, A. McNeil, G. Pattenden, M. Reader, D. E. Rippon, D. Waite, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 2415–2428.
- [74] A. I. Meyers, F. X. Tavares, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8207–8215.
- [75] A. J. Phillips, Y. Uto, P. Wipf, M. J. Reno, D. R. Williams, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1165–1168.
- [76] G. S. Lal, G. P. Pez, R. J. Pesaresi, F. M. Prozonic, H. Cheng, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7048–7054.
- [77] P. Li, J.-C. Xu, *Chemistry Letters* **2000**, 204–205; P. Li, J.-C. Xu, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 8119–8131.
- [78] U. Beutler, *Dissertation*, Stuttgart **1989**.
- [79] V. Dvornikovs, D. B. Smithrud, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2160–2167.
- [80] F. Picard, S. Barassin, A. Mokhtarian, R. W. Hartmann, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3406–3417.
- [81] O. Mitsunobu, M. Wada, T. Sano, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 679–680.

- [82] S. D. Lepore, Y. He, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8261–8263.
- [83] B. H. Lipshutz, D. W. Chung, B. Rich, R. Corral, *Org. Lett.* **2006**, *68*, 5069–5072.
- [84] G. Serra, D. Gonzalez, E. Manta, *Heterocycles* **1995**, *41*, 2701–1982.
- [85] G. Klein, B. Prijs, *Helv. Chim. Acta* **1954**, 2057–2067.
- [86] R. Houssin, J. Pommery, M.-C. Salaun, S. Deweer, J.-F. Goossens, P. Chavatte, J.-P. Henichart, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 533–536; T. R. Kelly, F. Lang, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4623–4633.
- [87] R. G. Kostyanovsky, D. A. Lenev, O. N. Krutius, A. A. Stankevich, *Mendeleev Commun.* **2005**, *4*, 140–141.
- [88] S.-J. Wen, Z.-J. Yao, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2721–2724.
- [89] R. J. Bergeron, J. S. McManis, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3108–3111.
- [90] Z. H. Kudzin, P. Lyzwa, J. Luczak, G. Andrijeski, *Synthesis*, 44–46.
- [91] J. L. Burkhardt, U. Kazmaier, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 3050–3059.
- [92] Y. Hamada, m. Shibata, T. Sugiura, S. Kato, T. Shioiri, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 1252–1255.
- [93] L. F. Tietze, T. Eicher, *Reaktionen und Synthesen im organisch-chemischen Praktikum* **1981**, 264.
- [94] T. Ye, M. A. McKervey, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 8007–8022.
- [95] D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kühnle, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 2057–2067.
- [96] J. R. McDermott, N. L. Benoiton, *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 1915–1919; S. T. Cheung, N. L. Benoiton, *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 906–910.
- [97] A. V. Malkov, K. Vrankova, M. Cerny, P. Kocovsky, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8425–8427.
- [98] A. Sutherland, C. L. Willis, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7764–7769.
- [99] A. Spaltenstein, P. A. Carpino, F. Mayake, P. B. Hopkins, *J. Org. Chem.* **2009**, *52*, 3759–3766.
- [100] Y. Liu, W. W. McWhorter, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4240–4252.
- [101] S. Bräse, C. Gil, K. Knepper, V. Zimmermann, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 5320–5374; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5188–5240.

- [¹⁰²] Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem.* **2002**, *14*, 2708–2711; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599.
- [¹⁰³] J. Coste, E. Frérot, P. Jouin, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2437–2446.
- [¹⁰⁴] G. R. Pettit, S. B. Singh, F. Hogan, P. Loyd-Williams, D. L. Herald, D. D. Burkett, P. J. Clewlow, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5463–5465.
- [¹⁰⁵] K. M. Brummond, T. O. Painter, D. A. Probst, B. Mitasev, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 347–349.
- [¹⁰⁶] J. Klose, M. Bienert, C. Mollenkopf, D. Wehle, C.-W. Zhang, L. A. Carpino, P. Henklein, *Chem. Comm.* **1999**, 1847–1848; A. L. L. García, *Synlett* **2007**, 1328–1329.
- [¹⁰⁷] N. Irako, Y. Hamada, T. Shioiri, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 7251–7264.
- [¹⁰⁸] A. Dondini, F. I. Merchan, P. Merino, I. Rojo, Tomas Tejero, *Synthesis* **1996**, 641–646.
- [¹⁰⁹] N. Irakn, Y. Hamada, T. Sbioiri, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 12731–12744.
- [¹¹⁰] K. Tomioka, M. Satoh, D. Taniyama, M. Kanai, A. Iida, *Heterocycles* **1998**, *47*, 77–80
- [¹¹¹] G. R. Pettit, F. Hogan, D. D. Burkett, S. B. Singh, D. Kantoci, J. Srirangam, M. D. Williams, *Heterocycles* **1994**, *39*, 81–100.
- [¹¹²] M. W. Bredenkamp, C. W. Holzapfel, R. M. Snyman, W. J. van Zyl, *Syn. Commun.* **1992**, *22*, 3029–3039.
- [¹¹³] Andrea Persch, *Diplomarbeit*, Saarbrücken **2010**.
- [¹¹⁴] U. Kazmaier, A. Persch, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 5442–5447.
- [¹¹⁵] T. J. Curphey, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6461–6473; F. S. Guziee, Jr., L. M. Wasmund, *Tet. Lett.* **1990**, *31*, 23–26.
- [¹¹⁶] Q. Fu, Z. Chen, *Synthesis* **2006**, 1940–1942.
- [¹¹⁷] J. L. Burkhart, U. Kazmaier, *Synlett* **2011**, Artikel befindet sich im Druck.
- [¹¹⁸] S. Punna, S. Meunier, M. G. Finn, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2777–2779.
- [¹¹⁹] R. J. Altenbach, K. Agrios, I. Drizin, W. A. Carroll, *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 557–565.
- [¹²⁰] L. Wirtz, U. Kazmaier, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, Artikel wurde akzeptiert.

- [121] D. W. Brooks, L.D.-L. Lu, S. Masamune, *Angew. Chem.* **1979**, *91*, 76–77; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, *18*, 72–74.
- [122] H. v. Pechmann, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **1884**, *17*, 929–936; S. M. Sethna, R. Phadke, *Org. React.* **1953**, *7*, 1–35.
- [123] K. Kacprzak, *Synlett* **2005**, 943–946.
- [124] D. Ben-Ishai, A. Berger, *J. Org. Chem.* **1952**, *17*, 1564–1570.
- [125] A. Boudier, L. O. Bromm, M. Lotz, P. Knochel, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4584–4606; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4414–4435.
- [126] D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4156–4158.
- [127] P. Knochel, W. Dohle, N. Gommermann, F. F. Kneisel, F. Kopp, T. Korn, I. Sapountzis, V. Anh Vu, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4438–4456; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4302–4320.
- [128] B. Lindgren, T. Nilsson, *Acta Chem. Scand.* **1973**, *27*, 888–890.
- [129] G. A. Kraus, B. Roth, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 4825–4830.
- [130] E. Morera, G. Ortar, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1815–1818.
- [131] W.-C. Shieh, J. A. Carlson, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 379–381.
- [132] S. Roosenburg, P. Laverman, L. Joosten, A. Eck, W. J. O. Oyen, M. de Jong, F. P. J. T. Rutjes, F. L. van Delft, O. C. Boerman, *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 663–670.
- [133] T. Ishiyama, H. Kizaki, T. Hayashi, A. Suzuki, N. Miyaura, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4726–4731.
- [134] A. M. Echavarren, J. K. Stille, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1557–1565.
- [135] A. L. S. Thompson, G. W. Kabalka, M. R. Akula, J. W. Huffman, *Synthesis* **2005**, 547–550.
- [136] H. Lei, M. S. Stoakes, K. P. B. herath, J. Lee, A. W. Schwabacher, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4206–4210.
- [137] T. Mosmann, *J. Immunol. Meth.* **1983**, *65*, 55–63; M. V. Berridge, A. S. Tan, K. D. McCoy, R. Wang, *Biochemica* **1996**, *4*, 14–19.
- [138] D. M. Shendage, R. Fröhlich, G. Haufe, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3675–3678.
- [139] J. Tejler, E. Tullberg, T. Frejd, H. Leffler, U. J. Nilsson, *Carbohydrate Research* **2006**, *341*, 1352–1362; Z. B. Papanastassiou, R. J. Bruni, E. White, *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 701–706.

[¹⁴⁰] A. Balog, D. P. Curran, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 337–344.

[¹⁴¹] R. K. Boeckman, Jr. P. Shao, J. J. Mullins, *Org. Synth.* **2000**, *77*, 141–148; *Org. Synth.* **2004**, *10*, 696–701.

8 Anhang

8.1 Publikationsliste

J. L. Burkhart, R. Müller, U. Kazmaier, **Syntheses and Evaluation of Simplified Pretubulysin Analogues**, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 3050–3059.

J. L. Burkhart, B. Diehl, M. J. Schmitt, U. Kazmaier, **A straightforward approach towards MMP-2 and MMP-9 inhibitors based on chelate Claisen rearrangements**, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, Artikel befindet sich im Druck.

J. L. Burkhart, U. Kazmaier, **A straightforward approach towards protected (S)-dolaphenine (Doe), the unusual amino acid of dolastatin 10**, *Synthesis* **2011**, Artikel befindet sich im Druck.

B. Diehl, T. Hoffmann, N. Müller, J. L. Burkhart, U. Kazmaier, M. Schmitt, **A novel yeast bioassay for high-throughput screening of matrix metallo-proteinase inhibitors**, *Appl. Environ. Microbiol.* **2011**, Artikel befindet sich im Druck.

J. L. Burkhart, U. Kazmaier, **A Straightforward Click-Approach towards Pretubulysin-Analogues**, *Org. Biomol. Chem.*, Artikel befindet sich in Vorbereitung.

8.2 Posterbeiträge auf Konferenzen

S. Rath, R. Fürst, A. Ullrich, J. L. Burkhart, A. M. Vollmar, U. Kazmaier, S. Zahler, **Anti-angiogenic potential of pretubulysin and its derivatives in vitro**, *77. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie e.V. (DGPT)*, Frankfurt a. M., März/April 2011.

J. L. Burkhart, R. Müller, U. Kazmaier, **Syntheses and Evaluation of Simplified Pretubulysin Analogues**, *Frontiers in Medicinal Chemistry*, Saarbrücken, März 2011.

D. Pistorius, Y. Chai, J. Hermann, A. Ullrich, J. L. Burkhart, U. Kazmaier, R. Müller, **Tubulysins: special biosynthetic features and chemically synthesized derivatives**, *Frontiers in Medicinal Chemistry*, Saarbrücken, März 2011.

Danksagung

In erster Hinsicht möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Uli Kazmaier für die sehr interessante Themenstellung und die exzellente fachliche Betreuung während der Doktorarbeit bedanken.

Den nicht namentlich genannten Mitgliedern des Arbeitskreises danke ich für die freundliche Integration in den Arbeitskreis und das angenehme Arbeitsklima.

Besonders hervorheben möchte ich dabei meinen Laborkollegen „Mr. Barbier“ für die regen Diskussionen und den Ansporn mehr Ansätze zu machen als er.

Philipp, Dominic, Lisa K. und Anton danke ich für die witzigen Gespräche (vor allem Freitags) und die vergnüglichen Feierabendsessions mit Bier und Schn...äh, anderen Getränken.

Auch unserer ehemaligen Mitarbeiterin Saskia gilt besonderer Dank dafür, dass sie immer ein offenes Ohr für mich hatte, auch wenn es um nichtdienstliche Angelegenheiten ging.

Angelika danke ich für die zahlreichen Hilfestellungen während der Doktorarbeit.

Rudi und Heike danke ich für ihre Bemühungen Massen und CHN-Proben in einem vernünftigen Zeitraum zu messen. Besonderer Dank gilt dabei Frau Susanne Harling, da sie meine Elementaranalysen in Lichtgeschwindigkeit gemessen hat.

Thomas Scherer möchte ich für die stete Hilfsbereitschaft bei besonders eiligen NMR-Messungen danken. Das gleiche gilt für Joachim Kriesamer, der jegliche technische Probleme in kürzester Zeit bewältigte.

Abschließend möchte ich mich bei meiner gesamten Familie für ihre Unterstützung bedanken, besonders aber bei meiner Mutter Ursula Schäfer und ihrem Mann Stephan, die mich während meiner gesamten Ausbildungszeit sowohl moralisch als auch finanziell unterstützt haben.

Mein größter Dank gilt meiner Freundin Sabrina Müller, die mich während des Studiums stets motiviert und unterstützt hat und immer für mich da war.