Synthese des carbazyklischen A-Rings von Labyrinthopeptin A2, eines ribosomal synthetisierten Typ III-Lantibiotikums

vorgelegt von
Diplom-Chemiker
Georg M. Sambeth
aus Waiblingen

Fakultät II - Mathematik und Naturwissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften
– Dr. rer. nat. –

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzender: Prof. Dr. rer. nat. Martin Lerch
1. Berichter: Prof. Dr. rer. nat. Roderich D. Süssmuth
2. Berichter: Prof. Dr. rer. nat. Martin E. Maier

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 15. April 2011

Berlin 2011
D 83

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Studien zur Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2. Das Typ III-Lantibiotikum wurde 1988 zusammen mit den Varianten A1 und A3 aus dem Kulturüberstand des Actinomyceten *Actinomadura namibiensis* isoliert, einem Bakterium, welches von der früheren Hoechst AG in einer Bodenprobe aus der Wüste Namibias entdeckt wurde. Die Labyrinthopeptine weisen eine einzigartige, unter Lantibiotika bisher unbekannte Molekülarchitektur auf. Die globulären Strukturen besitzen jeweils fünf Ringe: die carbazyklischen Ringe A und A‘, die Lanthioninringe B und B‘ und Ring C, welcher durch eine Disulfidbrücke ausgebildet wird. Alle drei Varianten enthalten eine neuartige Triaminotrisäure, welche Labionin (Lab) genannt wird. Es handelt sich hierbei um ein α,α-disubstituiertes Lanthioninderivat, welches an einer α-Position über eine Methylenbrücke mit einem zusätzlichen Aminosäurerest verknüpft ist. Identifiziert werden konnte die Struktur mittels Röntgenkristallstrukturanalyse. Die signifikante Aktivität von Labyrinthopeptin A2 in einem *in vivo*-Experiment gegen neuropathischen Schmerz begründete die Motivation die Totalsynthese des Naturstoffs durchzuführen.

Im Rahmen dieser Arbeit gelang die Synthese eines Labionin-Vorläufermoleküls. Es handelt sich hierbei um ein α,α-disubstituiertes Serinderivat, welches mit dem β-Kohlenstoff eines Alanins verknüpft ist. Die Überführung der Hydroxyfunktion in der Serinseitenkette in einen Thioether soll die Synthese des Lanthioninmotivs ermöglichen. Durch die Anwendung der stereoselektiven Alkylierungsmethode nach D. Seebach gelang eine enantiomerenreine Darstellung des Labioninvorläufers. Zudem wurde eine orthogonale Schutzgruppenstrategie entwickelt, welche die selektive Adressierung jeder einzelnen der fünf Funktionalitäten ermöglicht.

Des Weiteren konnte die Synthese eines Analogs des A-Rings von Labyrinthopeptin A2 erfolgreich abgeschlossen werden. Auch hier gelang die Darstellung mithilfe einer orthogonalen Schutzgruppenstrategie, welche den Einsatz des Bausteins in weiterführenden Synthesen ermöglicht. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit können daher als Grundlage für die zukünftig geplante Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 oder dessen Derivaten dienen, mit der langfristigen Perspektive neuartige Schmerzmedikamente zu entwickeln.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Publikationen

Georg M. Sambeth, Roderich D. Süssmuth, „Synthetic studies toward labionin, a new α,α-disubstituted amino acid from type III lantibiotic labyrinthopeptin A2", *J. Pept. Sci.* **2011**, in press.

Tagungsbeiträge

Vortrag: Georg M. Sambeth, "Synthetic studies on the A-rings of labyrinthopeptin A2", *ECOST Meeting CM0804: Natural Products as Drugs and Lead for Drugs* **2010***,* Kolymvari, Griechenland.

Posterpräsentation: Georg M. Sambeth, Maik Henkel, Roderich D. Süssmuth, "Studies on the synthesis of quaternary α,α-disubstituted amino acids", *9. Deutsches Peptidsymposium* **2009***,* Göttingen, Deutschland.

Posterpräsentation: Georg M. Sambeth, Maik Henkel, Julian Kretz, Roderich D. Süssmuth, "Synthetic studies on ring A of type III lantibiotic labyrinthopeptin A2", *10. Deutsches Peptidsymposium* **2011**, Berlin, Deutschland.

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von

Herrn Prof. Dr. Roderich D. Süssmuth

in der Zeit von April 2007 bis April 2011 am Institut für Chemie der Fakultät II der Technischen Universität Berlin angefertigt.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Roderich D. Süssmuth für die Überlassung des interessanten Themas, hervorragende Arbeitsbedingungen und die ausgezeichnete Betreuung während der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Martin E. Maier danke ich für die bereitwillige Übernahme der zweiten Berichterstattung.

Herrn Prof. Dr. Martin Lerch danke ich für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.

Sehr herzlich bedanke ich mich bei meinen Kollegen Maik Henkel und Julian Kretz für die hervorragende Zusammenarbeit bei der Bearbeitung dieses Themas.

Für zahlreiche konstruktive Gespräche, hilfreiche Ratschläge und das stets gute Arbeitsklima möchte ich mich bei meinen Kollegen aus der Arbeitsgruppe Süssmuth bedanken. Besonders möchte ich in diesem Zusammenhang Dr. Frank G. Dettner, Dr. Falko E. Wolter, Anne Hänchen, Wolfgang Müller und Jonny Nachtigal erwähnen.

Den Mitarbeitern des Instituts für Chemie danke ich für die gute Zusammenarbeit: Kati Winter für organisatorische Abläufe, Dr. Jennifer Tuma und Dr. Reinhard Zeisberg für die Hilfestellung bei der Aufnahme von NMR-Spektren, Dr. Maria Schlangen und Christine Klose für die Aufnahme von MS- und IR-Spektren.

Marcel Tietzmann, Paul Ensle und Stefan Grätz danke ich für Ihr Engagement im Zuge der durchgeführten OC-Vertiefungspraktika.

Für das Korrekturlesen dieser Arbeit danke ich Juliane Koch, Caroline Schloßer, Daniela Santelmann und Marius Löhken.

Über den Laboralltag hinaus danke ich ganz besonders meiner Familie und meiner Freundin Daniela, deren großartige Unterstützung und stete Aufmunterung wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Meiner Familie und Daniela

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

2 Theoretischer Hintergrund 3

2.1 Lantibiotika 3

2.1.1 Lanthionin 9

2.1.1.1 Biosynthese des Lanthioninmotivs 10

2.1.1.2 Methoden zur Synthese von Lanthionin 11

2.1.2 Bedeutende Beispiele für Lantibiotika 19

2.1.2.1 Das Typ I-Lantibiotikum Nisin 19

2.1.2.2 Das Typ II-Lantibiotikum Lacticin 22

2.1.2.3 Das Typ III-Lantibiotikum Labyrinthopeptin 26

2.1.2.3.1 Entdeckung und Strukturaufklärung 26

2.1.2.3.2 Biosynthese 29

2.1.2.3.3 Pharmakologische Wirkung 32

2.2 Methoden zur Synthese zyklischer Peptide 34

2.2.1 Zyklisierung in Lösung 35

2.2.2 Zyklisierung an fester Phase 41

2.3 α,α-Disubstituierte Aminosäuren 44

2.3.1 Stereoselektive Alkylierung von α-Aminosäuren 47

2.3.1.1 Methode nach Seebach zur stereoselektiven α-Alkylierung von Serin 48

2.3.1.2 Methode nach Oguri zur stereoselektiven α-Alkylierung von Glycin 52

3 Zielsetzung 55

3.1 Aufgabenstellung 55

3.2 Retrosynthetische Betrachtung 56

4 Ergebnisse und Diskussion 59

4.1 Synthese eines α,α-disubstituierten Aminosäurebausteins für die Synthese des A-Rings von Labyrinthopeptin A2 59

4.1.1 Razemische Methoden 61

4.1.2 Stereoselektive Methoden 67

4.1.2.1 Michael-Addition nach Lee zur Darstellung von (2*S*)-α-(Hydroxymethyl)-glutaminsäure 67
4.1.2.2 Methode nach Seebach zur stereoselektiven α-Alkylierung von Serin 69
4.2 Synthese des A-Rings von Labyrinthopeptin A2 84

5 Zusammenfassung und Ausblick 99

6 Experimenteller Teil 107
6.1 Allgemeine Informationen 107
6.1.1 Chemikalien 107
6.1.2 Schutzgas 107
6.1.3 Chromatographie 108
6.1.4 Analysemethoden 109
6.1.5 Nomenklatur 111
6.2 Synthesevorschriften und analytische Daten 112
6.2.1 HCl·H-D-Ser-OMe (**197**) 112
6.2.2 (4*R*)-2-*tert*-Butyloxazolidin-4-carbonsäuremethylester (**226**)[137] 112
6.2.3 Ameisensäureessigsäureanhydrid (**312**)[175] 113
6.2.4 (2*S*,4*R*)-2-*tert*-Butyl-3-formyloxazolidin-4-carbonsäuremethylester (**227**)[137] 114
6.2.5 (2*S*,4*R*)-2-*tert*-Butyl-3-formyl-4-(2-propenyl)oxazolidin-4-carbonsäuremethylester (**258**)[137] 115
6.2.6 (*R*)-2-Amino-3-hydroxy-2-(2-propenyl)propansäuremethylester (**259**) 116
6.2.7 (*R*)-2-(Benzyloxycarbonylamino)-2-(hydroxymethyl)pent-4-ensäuremethylester (**262**) 117
6.2.8 (2*R*)-2-(Benzyloxycarbonylamino)-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pent-4-ensäuremethylester (**263**) 118
6.2.9 Benzyl-(3*R*)-5-(hydroxymethyl)-2-oxo-3-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)tetrahydrofuran-3-ylcarbamat (**265**) 119
6.2.10 (4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-5-oxo-4-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-carbonsäure (**266**) 120
6.2.11 (4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-5-oxo-4-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**267**) 121

6.2.12 Kalium-(2*R*)-2-(benzyloxycarbonylamino)-5-*tert*-butoxy-4-hydroxy-5-oxo-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pentanoat (**268**)..... 123
6.2.13 (2*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-2-(benzyloxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pentanedioat (**269**)..... 124
6.2.14 (2*R*,4*S*)- und (2*R*,4*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-4-azido-2-(benzyloxycarbonylamino)-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pentanedioat (**270**)..... 125
6.2.15 (2*R*,4*S*)- and (2*R*,4*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-4-azido-2-(benzyloxycarbonylamino)-2-(hydroxymethyl)pentanedioate (**271**)..... 127
6.2.16 (2*S*,4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-5-oxo-4-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pyrrolidine-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**274**)..... 129
6.2.17 (2*S*,4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-4-(hydroxymethyl)-5-oxopyrrolidin-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**275**)..... 129
6.2.18 (2*R*,4*S*)-5-*tert*-Butyl-1-methyl-2-azido-4-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)-amino)-2-(methoxymethyl)pentanedioat (**278**)..... 130
6.2.19 (2*R*,4*S*)-2-Azido-4-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-5-*tert*-butoxy-2-(methoxymethyl)-5-oxopentansäure (**279**)..... 131
6.2.20 (2*S*,4*R*)-*tert*-Butyl-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanoat (**287**)..... 133
6.2.21 (2*S*,4*R*)-2-Amino-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentansäure (**288**)..... 134
6.2.22 (2*S*,4*R*)-4-Azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentansäure (**289**)..... 135
6.2.23 1-Allyl-4-*tert*-butyl-2-((2*S*,4*R*)-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanamido)succinat (**300**)..... 136
6.2.24 1-Allyl-4-*tert*-butyl-2-((2*S*,4*R*)-4-amino-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanamido)succinat (**301**)..... 137
6.2.25 Peptid **305**..... 138
6.2.26 Peptid **85**..... 139

6.2.27 Lactam **84** 139
6.2.28 Boc-L-Leucinolbenzylether (**285**) 140
6.2.29 L-Leucinolbenzylether (**286**) 141
6.2.30 Alloc-L-Trp(Boc)-OH (**304**) 142
6.3 Spektren und Chromatogramme ausgewählter Verbindungen 144
6.3.1 (2*S*,4*R*)-2-*tert*-Butyl-3-formyl-4-(2-propenyl)oxazolidin-4-carbonsäuremethylester (**258**) 144
6.3.2 (*R*)-2-Amino-3-hydroxy-2-(2-propenyl)propansäuremethylester (**259**) 145
6.3.3 (2*R*)-2-(Benzyloxycarbonylamino)-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pent-4-ensäuremethylester (**263**) 146
6.3.4 Benzyl-(3*R*)-5-(hydroxymethyl)-2-oxo-3-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)tetrahydrofuran-3-ylcarbamat (**265**) 148
6.3.5 (4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-5-oxo-4-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**267**) 149
6.3.6 (2*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-2-(benzyloxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pentanedioat (**269**) 151
6.3.7 (2*R*,4*S*)- und (2*R*,4*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-4-azido-2-(benzyloxycarbonylamino)-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pentanedioat (**270**) 153
6.3.8 (2*R*,4*S*)- and (2*R*,4*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-4-azido-2-(benzyloxycarbonylamino)-2-(hydroxymethyl)pentanedioate (**271**) 156
6.3.9 (2*S*,4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-4-(hydroxymethyl)-5-oxopyrrolidin-2-carbonsäure-*tert*-butylester (**275**) 160
6.3.10 (2*R*,4*S*)-5-*tert*-Butyl-1-methyl-2-azido-4-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)-amino)-2-(methoxymethyl)pentanedioat (**278**) 162
6.3.11 (2*S*,4*R*)-*tert*-Butyl-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanoat (**287**) 164
6.3.12 (2*S*,4*R*)-2-Amino-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentansäure (**288**) 166
6.3.13 (2*S*,4*R*)-4-Azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentansäure (**289**) 167

6.3.14 1-Allyl-4-*tert*-butyl-2-((2*S*,4*R*)-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanamido)succinat (**300**) 168
6.3.15 1-Allyl-4-*tert*-butyl-2-((2*S*,4*R*)-4-amino-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanamido)succinat (**301**) 170
6.3.16 Peptid **305** 171
6.3.17 Peptid **85** 172
6.3.18 Lactam **84** 173
6.3.19 Boc-L-Leucinolbenzylether (**285**) 174
6.3.20 L-Leucinolbenzylether (**286**) 175
6.3.21 Alloc-L-Trp(Boc)-OH (**304**) 176

7 Anhang 177
7.1 Abkürzungsverzeichnis 177
7.2 Literaturverzeichnis 183

1 Einleitung

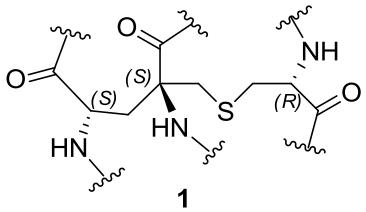
„*Dosis sola facit venenum*.“ – allein die Menge macht das Gift. Dieses lateinische Sprichwort, welches bereits im 16. Jahrhundert von Paracelsus geprägt wurde, trifft auf jede chemische Verbindung zu. Ob ein Wirkstoff Einfluss auf einen Organismus hat, d.h. ihn heilen kann oder ihm Schaden zufügt, hängt einzig und allein von der Dosis ab, in welcher er dem Organismus verabreicht wird. Das Wort *dosis* stammt von dem griechischen Wort für Gabe ab und wird in der Pharmakologie und der Toxikologie heutzutage meist als Effektivdosis (ED) angegeben. Der ED_{50}-Wert steht dabei für diejenige Dosis einer Substanz, welche in der Therapie bei 50 % der behandelten Individuen den beabsichtigten therapeutischen Effekt hervorruft. Demgegenüber steht der LD_{50}-Wert, der die letale Dosis, also diejenige Substanzmenge angibt, bei der 50 % der behandelten Individuen sterben. Arsen beispielsweise besitzt in Form von Arsenik mit einem LD_{50}-Wert von 1.4 mg/kg Körpergewicht[1] eine enorme Toxizität und wurde jahrhundertelang als Mordgift eingesetzt. Gleichzeitig ist es hingegen ein ubiquitäres Spurenelement, das auch im menschlichen Blut mit bis zu 0.008 % und in nahezu allen Organen zu finden ist. Ein gegensätzliches Beispiel ist Kochsalz, welches für den menschlichen Körper essenziell ist und in Deutschland mit durchschnittlich 15 g pro Kopf und Tag konsumiert wird. Wird hingegen eine Menge von 1 g pro Kilogramm Körpergewicht verabreicht, kann dies bereits zum Tode führen. Diese beiden Fälle verdeutlichen, dass jede chemische Verbindung erst ab einer bestimmten Menge einem Organismus Schaden zufügen kann. Umgekehrt können Wirkstoffe auch erst ab einer bestimmten verabreichten Dosis ihre gewünschte, heilende Wirkung entfalten. In der Humanmedizin ist man daher bestrebt Arzneimittel zu entwickeln, die bereits in sehr geringen Dosen gezielt zur Heilung führen, ohne dabei andere, gesunde Organe in Mitleidenschaft zu ziehen. Diese Anforderungen werden durch die sogenannten Antibiotika erfüllt. Sie weisen eine äußerst hohe Selektivität und einen enormen Wirkungsgrad auf. Die Bezeichnung leitet sich von den griechischen Wörtern *anti* (gegen) und *biotikos* (zum Leben gehörig) ab und wurde 1941 von dem Nobelpreisträger S. A. Waksman geprägt. Seit der Entdeckung des Antibiotikums Penicillin im Jahre 1929 durch Sir Alexander Fleming ist die Erforschung und

Entwicklung dieses Medikamententyps stark vorangetrieben worden. Ein stetig steigendes Interesse in der Entdeckung bioaktiver Substanzen für den humanmedizinischen Einsatz sorgte dafür, dass bis heute ca. 8000 Antibiotika[2] entdeckt wurden. Einen großen Anteil hiervon nehmen Peptidantibiotika ein, wobei unterschieden werden muss zwischen ribosomal synthetisierten Verbindungen und Verbindungen, die von nichtribosomalen Peptidsynthetasen (NRPS) produziert werden. Allein ribosomal synthetisierte Peptide weisen eine enorme Vielfalt auf, was deren Einteilung entsprechend ihrer Produzenten nach Gram-positiven bzw. Gram-negativen Stämmen nötig macht. Gram-positiv werden Organismen bezeichnet, deren bakterielle Zellwand einen speziellen, von H. C. J. Gram entwickelten Farbstoff[3] aufnehmen und daraufhin blau erscheinen. Die Bakterienzellwand von Gram-negativen Bakterien kann diesen Farbstoff aufgrund ihrer Beschaffenheit nicht aufnehmen und erscheint rot. Ribosomal synthetisierte Peptidantibiotika aus Gram-positiven Bakterienstämmen bezeichnet man als Bacteriocine, diejenigen aus Gram-negativen Stämmen als Microcine.[4] Bacteriocine können wiederum in drei Klassen eingeteilt werden. Klasse III wird durch hitzelabile Proteine mit einer Größe von über 30 kDa, wie Lactococcin G, gebildet. Zu Klasse II gehören hitzebeständige Peptide mit einer Größe von maximal 10 kDa und einer Länge von 37 bis 58 Aminosäuren. Ein Beispiel hierfür ist Mersacidin. Die Klasse I der Bacteriocine setzt sich aus posttranslational modifizierten, lanthioninhaltigen Peptiden von weniger als 5 kDa Größe zusammen. Verbindungen dieser Substanzklasse sind heutzutage als Lantibiotika bekannt und bilden das Thema der vorliegenden Arbeit.

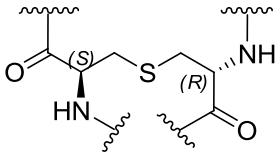
2 Theoretischer Hintergrund

2.1 Lantibiotika

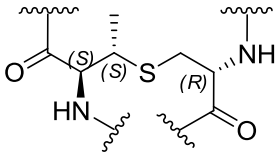
Unter Lantibiotika versteht man antibiotisch aktive Peptide, welche die nichtproteinogene Aminosäure Lanthionin (Lan) als charakteristisches Strukturmotiv besitzen. Hieraus leitet sich ihre Bezeichnung ab (Lanthionin enthaltende Antibiotika), welche 1988 von G. Jung[5] eingeführt wurde. Heutzutage sind über 50 verschiedene Verbindungen bekannt, welche sich in Struktur, Größe und Aktivität unterscheiden. Sie kommen in Pflanzen, Tieren und Bakterien vor und werden vom Menschen täglich über unterschiedlichste Lebensmittel aufgenommen. Bei den durch Gram-positive Bakterien, wie Staphylokokken, Laktobazillen oder Aktinomyzeten, produzierten Lantibiotika handelt es sich um ribosomal synthetisierte Peptide, welche posttranslational zu ihrer biologisch aktiven Form modifiziert werden. Während dieser in der Natur einzigartigen, umfangreichen posttranslationalen Umwandlung werden bis zu 47 % der Aminosäuren des Präpropeptids einer Modifikation unterzogen. Die Strukturmotive, welche dabei ausgebildet werden können, sind in Abbildung 1 dargestellt.[6] Höchstwahrscheinlich existieren zahlreiche weitere Motive, welche bisher jedoch nicht entdeckt worden sind.



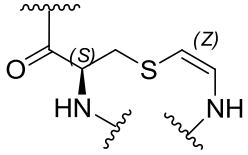
1
(2*S*,4*S*,8*R*)-Labionin
(Lab)



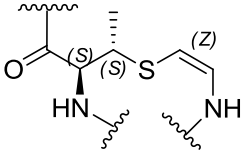
2
meso-Lanthionin
(Lan)



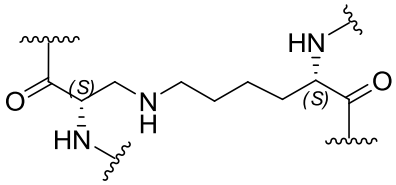
3
(2*S*,3*S*,6*R*)-3-Methyllanthionin
(MeLan)



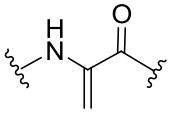
4
S-[(*Z*)-2-Aminovinyl]-
D-cystein
(AviCys)



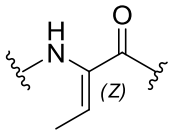
5
S-[(*Z*)-2-Aminovinyl]-
(3*S*)-3-methyl-D-cystein
(AviMeCys)



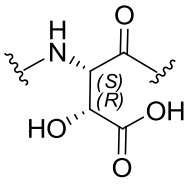
6
(2*S*,9*S*)-Lysinoalanin



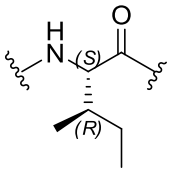
7
2,3-Didehydroalanin
(Dha)



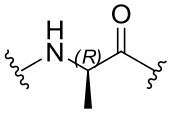
8
(Z)-2,3-
Didehydrobutyrin
(Dhb)



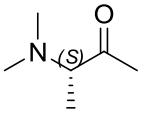
9
erythro-(3*R*)-3-Hydroxy-
L-asparaginsäure



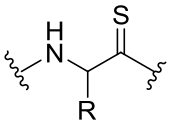
10
allo-Isoleucin



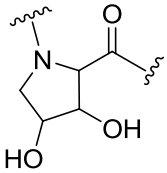
11
D-Alanin
(D-Ala)



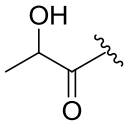
12
N,*N*-Dimethyl-
L-alanin



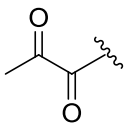
13
Thioamid



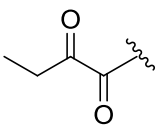
14
Dihydroxyprolin



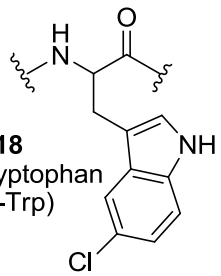
15
2-Hydroxypropionyl



16
2-Oxopropionyl



17
2-Oxobutyryl



18
Chlortryptophan
(Cl-Trp)

Abbildung 1: Strukturmotive, welche durch posttranslationale Modifikationen von proteinogenen Aminosäuren in Lantibiotika vorkommen können.

Lantibiotika können in Typ A und Typ B unterteilt werden. Diese von G. Jung eingeführte Klassifizierung[7] basiert auf der Topologie ihrer zyklischen Strukturen und ihrer biologischen Aktivität. Typ A-Lantibiotika, wie beispielsweise Nisin (Abschnitt 2.1.2.1), weisen in Lösung eine gestreckte, schraubenförmige Struktur mit sequenziellen Verbrückungen und positiver Nettoladung bei physiologischem pH auf und besitzen eine Länge von 20 bis 34 Aminosäuren. Eine weitere Unterteilung erfolgt anhand des Enzyms, welches im Rahmen der Biosynthese für die posttranslationalen Modifikationen verantwortlich ist. So werden Typ A-Lantibiotika, deren Lan-Brücken mithilfe zwei verschiedener Enzyme LanB und LanC aufgebaut werden, der Klasse AI zugeordnet. Wird hierfür hingegen lediglich ein einziges Enzym LanM benötigt, spricht man von AII-Lantibiotika.[8] Bei Typ B handelt es sich um Verbindungen mit globulären Strukturen und überlappenden Verbrückungen, welche keine oder eine negative Nettoladung bei pH 7 besitzen. Hierzu zählen unter anderen Cinnamycin und Mersacidin. Weiterhin sind Lantibiotika wie Lacticin 3147 (Abschnitt 2.1.2.2) bekannt, die als Zwei-Komponenten-Systeme vorkommen. Ihre Wirkung beruht nicht auf der individuellen Aktivität eines einzelnen Peptids, sondern auf der synergistischen Aktivität zweier Komponenten, welche bereits in nanomolaren Konzentrationen messbar ist. Eine Auswahl an Vertretern der besprochenen Peptidantibiotika-Klassen ist in Tabelle 1 gegeben.

Eine alternative Einteilung der Lantibiotika basiert auf ihrem genetischen Profil. Wie in Abschnitt 2.1.2.3.2 näher erläutert werden soll, wird im Verlauf der Lantibiotika-Biosynthese zunächst ein Präpropeptid ribosomal synthetisiert, dessen *N*-terminaler Abschnitt aus einem 23 bis 59 Aminosäuren langem Leaderpeptid besteht. Die in diesen Leadersequenzen vorhandenen hochkonservierten Motive lassen eine Einteilung der Lantibiotika in zwei Klassen zu. Die Peptide der Klasse I weisen ein FNLD-Motiv zwischen den Positionen 15 und 20 und für gewöhnlich ein Prolin (Pro) an Position 2 auf, wohingegen Klasse II-Sequenzen mehrere Asparaginsäuren (Asp) und Glutaminsäuren (Glu) sowie ein charakteristisches GG- oder GA-Motiv besitzen, welches als Erkennungssequenz für Proteasen zur Abspaltung vom Propeptid dient.

Tabelle 1: Lantibiotika isoliert zwischen 1928 und 2004.[6]

lantibiotic	producer strain	Lan	MeLan	Dha	Dhb	amino acids
	Type A (I)					
Nisin A[a]	*Lactococcus lactis* ATCC 11454	1	4	2	1	34
Nisin Z[a]	*Lactococcus lactis* N8, NIZO22186	1	4	2	1	34
Subtilin[a]	*Bacillus subtilis* ATCC6633	1	4	2	1	32
Ericin S[b]	*Bacillus subtilis* A1/3	1	4	2	1	32
Ericin A[b]	*Bacillus subtilis* A1/3	1	4	1	0	29
Streptin[b]	*Streptococcus pyogenes* BL-T, M25	2	1	0	3	23
Epidermin[a]	*Staphylococcus epidermis* Tü3298	2	1	0	1	22
[Val1-Leu6]-epidermin[b]	*Staphylococcus epidermis* BN−V1, BN−V301	2	1	0	1	22
Gallidermin[a]	*Staphylococcus gallinarium* Tü3928	2	1	0	1	22
Mutacin 1140[a]	*Streptococcus mutans* JH1140	2	1	1	1	22
Mutacin B−Ny266[b]	*Streptococcus mutans* Ny266	2	1	1	1	22
Mutacin III[b]	*Streptococcus mutans* UA787	2	1	1	1	22
Mutacin I[b]	*Streptococcus mutans* CH43	3	0	2	0	24
Pep5[a]	*Staphylococcus epidermis* 5	2	1	0	2	34
Epilancin K7[a]	*Staphylococcus epidermis* K7	2	1	2	2	31
Epicidin 280[b]	*Staphylococcus epidermis* BN280	1	2	0	1	30
	Type A(II)					
Lacticin 481[a]	*Lactococcus lactis* CNRZ 481	2	1	0	1	27
Variacin[b]	*Micrococcus varians* MCV8	2	1	0	1	25
Mutacin II[a]	*Streptococcus mutans* T8	2	1	0	1	27
StreptococcinA-FF22[a]	*Streptococcus pyogenes* FF22	1	2	0	1	26
Salivaricin A[b]	*Streptococcus salivarius* 20P3	1	2	0	0	22
[Lys2,Phe7]-salivaricin A[b]	*Streptococcus pyogenes* T11 (M type 4)	1	2	0	0	22
Lactocin S[b]	*Lactobacillus sakei* L45	2	0	0	1	37
Cypemycin[a]	*Streptomyces OH-4156*	0	0	0	4	22
Plantaricin C[a]	*Lactobacillus plantarum* LL441	1	3	1	0	27
Sublancin 168[b]	*Bacillus subtilis 168*	0	1	1	0	37
Butyrivibriocin OR79A[b]	*Butyrivibrio fibriosolvens*	1	2	0	1	25
	Type B					
Cinnamycin[a]	*Streptomyces cinnamoneus*	1	2	0	0	19
Duramycin[a]	*Streptoverticillium hachijoense* DSM 40114	1	2	0	0	19
Duramycin B[a]	*Streptoverticillium* R 2075	1	2	0	0	19
Duramycin C[a]	*Streptomyces griseoluteus* R 2107	1	2	0	0	19
Ancovenin[a]	*Streptomyces sp.* A647P-2	1	2	1	0	19
Mersacidin[a]	*Bacillus sp. strain* HIL Y-85,54728	0	3	1	0	20
Actagardine[a]	*Actinoplanes linguriae* ATCC 31048	1	2	0	0	19
Ala(0)-actagardine[b]	*Actinoplanes linguriae* ATCC 31048	1	2	0	0	20
	Two-Component Lantibiotics					
Lacticin 3147A1[a]	*Lactococcus lactis* DPC3147	2	2	0	2	30
Lacticin 3147A2[a]	*Lactococcus lactis* DPC3147	1	2	0	2	29
Staphylococcin C55α[b]	*Staphylococcus aureus* C55	Lan/MeLan	4	Dha/Dhb	3	30
Staphylococcin C55β[b]	*Staphylococcus aureus* C55	Lan/MeLan	3	Dha/Dhb	2	28
Plantaricin Wα[b]	*Lactobacillus plantarum* LMG 2379	2	1	0	0	29
Plantaricin Wβ[b]	*Lactobacillus plantarum* LMG 2379	1	2	1	1	32
Cytolysin L_L[b]	*Enterococcus faecalis*	Lan/MeLan	2	Dha/Dhb	4	38
Cytolysin L_S[b]	*Enterococcus faecalis*	Lan/MeLan	1	Dha/Dhb	4	21
	Structures Not Yet Determined					
Ruminococcin A	*Ruminococcus gnavus* E1					
Carnocin UI 49	*Carnobacterium piscicola* UI49					
Macedocin	*Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198					
Bovicin HJ50	*Streptococcus bovis* HJ50					
Nukacin ISK-1	*Staphylococcus warneri* ISK-1					
SapB morphogen	*Streptomyces coelicolor*					

[a] Structure established independently. [b] Proposed structure.

Darüber hinaus ist eine Unterscheidung in Bezug auf die posttranslationale Modifikation des Präpropeptids möglich. Diese kann entweder durch die zwei Enzyme LanB und LanC (Klasse I) oder alternativ durch das Enzym LanM (Klasse II) durchgeführt werden. In LanM sind die Dehydrataseaktivität von LanB und die Cyclaseaktivität von LanC in einem Enzym vereint. Röntgenstrukturanalysen und Sequenzhomologien zwischen LanC und LanM deuten auf ein Zinkatom im aktiven Zentrum der Cyclasedomäne hin.[9] Klasse III-Lantibiotika werden durch ein einzelnes Enzym prozessiert, welches sich von LanM unterscheidet. Hier ist im Gegensatz zu

LanM kein Zinkatom im aktiven Zentrum der Cyclasedomäne enthalten. Des Weiteren sind Peptide der Klasse III antibiotisch nicht aktiv, besitzen allerdings andere bedeutende Eigenschaften. Als Vertreter können Nisin und Subtilin für Klasse I, Cinnamycin und Lacticin 481 für Klasse II sowie SapB und die Labyrinthopeptine für Klasse III aufgeführt werden. Zudem existieren einige Ausnahmen dieser Klassifizierungsregel. Die Salivaricine beispielsweise besitzen Motive eines Klasse II-Lantibiotikums, ihre Biosynthese verläuft jedoch unter Einfluss der beiden Enzyme SalB und SalC, was einem Klasse I-Mechanismus entsprechen würde.[10] Eine Übersicht über wichtige Lantibiotika ist in Abbildung 2 dargestellt.

Lantibiotika weisen antimikrobielle Aktivitäten gegen eine große Bandbreite von Gram-positiven Bakterien auf. Das wohl bekannteste Beispiel ist der weitverbreitete Einsatz von Nisin als sichere und effektive Alternative zu synthetischen Verbindungen bei der Nahrungsmittelkonservierung. Millionen an lebensmittelbedingten Krankheitsfällen jährlich allein in den USA, deren Kosten in die Milliarden gehen,[11,12] sorgten für ein enormes Interesse an der Biosynthese und den Wirkmechanismen von Nisin und anderen Lantibiotika. Eine Verstärkung der Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet führte während der vergangenen Jahrzehnte unter anderem zur Entdeckung der antimikrobiellen Aktivität von Mersacidin gegen den Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA),[13] der Entdeckung von Cinnamycin als Phospholipase A_2-Inhibitor[14,15] und von Epidermin als Wirkstoff gegen *Propionibacterium acnes* zur Behandlung von Akne.[16] Weitere bekannte Beispiele sind Duramycin, welches sich wegen seiner Fähigkeit den Chloridtransport im Luftwegsepithel zu erhöhen, zur Behandlung zystischer Fibrose eignet[17] und SapB als oberflächenaktives Biomolekül im Lebenszyklus von Streptomyceten.[18]

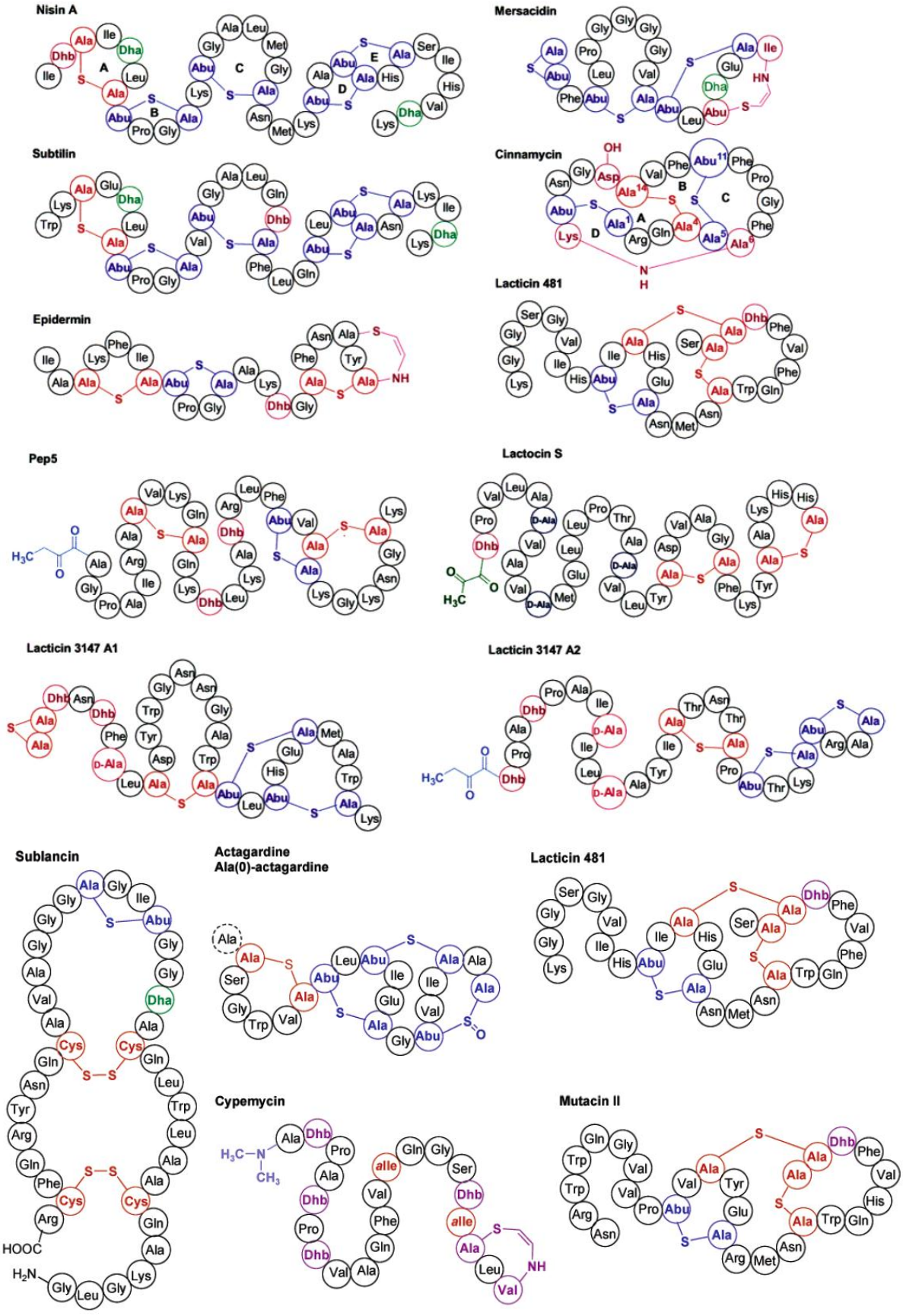


Abbildung 2: Kugelmodelle verschiedener Lantibiotika.[6]

Ihre gute Verträglichkeit bei Säugetieren und die Tatsache, dass pathogene Bakterien bisher kaum signifikante Resistenzen entwickeln konnten, machen Lantibiotika zu einem äußerst interessanten Forschungsgebiet bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe.

2.1.1 Lanthionin

Die Bezeichnung Lanthionin leitet sich vom lateinischen Wort für Wolle *lana* ab, woraus die Verbindung erstmals 1941 von Horn *et al.* durch die Behandlung mit Natriumcarbonat isoliert wurde.[19] Formal handelt es sich hierbei um zwei Alanine (Ala), welche an der β-Position über eine Schwefelverbrückung miteinander verknüpft sind. Die nichtproteinogene Diaminodisäure ist in allen natürlich vorkommenden Lantibiotika zu finden, wobei sie bisher lediglich in der *meso*-Form nachgewiesen werden konnte. Ihre Eingliederung in eine Peptidkette führt aufgrund der Thioetherverbrückung zu polyzyklischen Strukturen, welche dem Peptid Konformationsstabilität verleiht und es dadurch auf eine natürliche Art und Weise in seine bioaktive Form zwingt.[20] Nachteilig wirkt sich der enthaltene Schwefel unter oxidativen Bedingungen aus, da hier eine rasche Oxidation zu Sulfoxiden stattfindet. Im Gegensatz zu Disulfiden sind Thioether hingegen äußerst stabil gegenüber Reduktionsmitteln, was eine Substitution von Cystin durch Lan in bioaktiven Verbindungen nahelegt. Auf diese Weise konnten Naturstoffanaloga synthetisiert werden, welche eine höhere chemische, proteolytische und metabolische Stabilität aufweisen,[14] gleichzeitig ihre biologischen Eigenschaften jedoch beibehalten. Zudem wird von einem Austausch von *meso*-Diaminopimelinsäure (*meso*-DAP) durch Lan in der bakteriellen Zellwand[21] berichtet, um Änderungen auf die Eigenschaften der Zelle bzw. der Zellwand zu untersuchen. Lan, ebenso wie dessen nächster Verwandter Methyllanthionin (MeLan) stellen daher ein wertvolles Werkzeug für die Entwicklung neuer, meist auf Lantibiotika basierender Wirkstoffe dar.

2.1.1.1 Biosynthese des Lanthioninmotivs

Biosynthetisch werden Lan und MeLan im Zuge einer posttranslationalen Modifikation über eine intramolekulare Michael-Addition eines Cystein-Thiols mit einem 2,3-Didehydroalanin (Dha) bzw. einem 2,3-Didehydrobutyrin (Dhb) gebildet. Katalysiert wird dieser Schritt durch Cyclasen wie LanC, LanM oder LabKC. Ein möglicher mechanistischer Verlauf dieser Zyklisierung wurde von W. van der Donk vorgeschlagen.[22] Zunächst findet die Generierung von Dha bzw. Dhb durch Phosphorylierung und Eliminierung von H_2O aus Serin (Ser) bzw. Threonin (Thr) mithilfe von Adenosintriphosphat (ATP) statt (Abbildung 3).

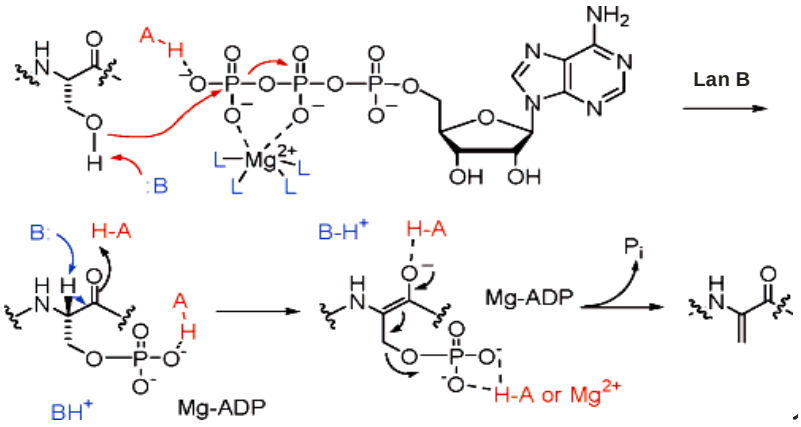


Abbildung 3: Phosphorylierung und Eliminierung von Ser zu Dha.[23]

Die Aktivierung von Cystein (Cys) erfolgt durch ein Zinkatom im aktiven Zentrum der Cyclasedomäne. Durch Deprotonierung des Thiols kann ein nucleophiler Angriff auf den Michaelakzeptor Dha bzw. Dhb erfolgen. Nach stereoselektiver Protonierung der α-Position und Abspaltung des Enzyms entsteht Lan bzw. MeLan als Teil eines schwefelverbrückten Rings (Abbildung 4).

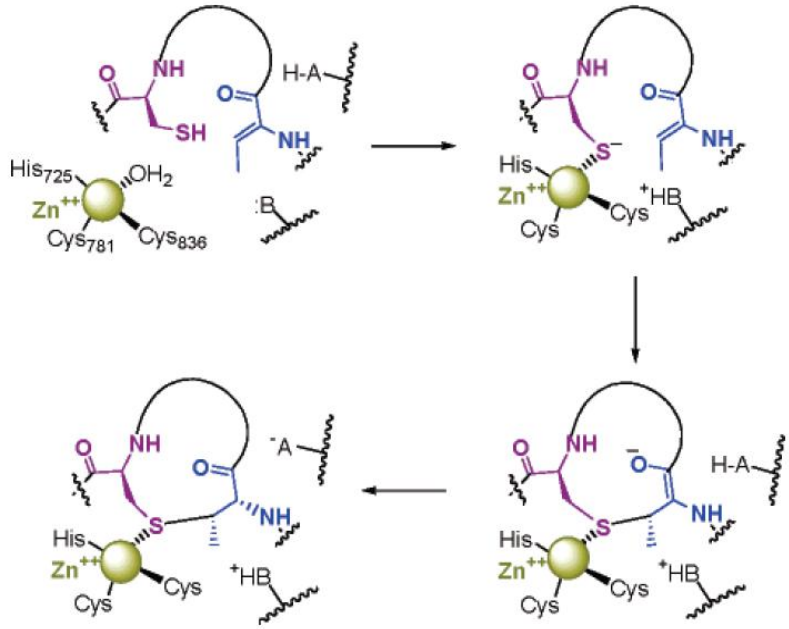


Abbildung 4: MeLan-Biosynthese katalysiert durch eine Cyclase.[22]

2.1.1.2 Methoden zur Synthese von Lanthionin

Aufgrund des überwältigenden Interesses an Lantibiotika und deren vielfältigen biologischen Aktivitäten wurde in den vergangenen Jahrzehnten eine Vielzahl an Strategien zur synthetischen Darstellung von Lan entwickelt. Eine nahe liegende Variante ist die Nachahmung der Biosynthese (Abbildung 5). *C*- und *N*-terminal geschütztes Cys wird durch die Base Cs_2CO_3 deprotoniert und in Acetonitril (MeCN) mit vollgeschütztem Dha zur Reaktion gebracht. Es erfolgt eine Michael-Addition zum orthogonal geschützten Lan. Der razemische Verlauf hat die Bildung von Diastereomeren zur Folge, welche jedoch problemlos voneinander getrennt werden können.[24] Die für diese Strategie notwendigen α,β-ungestättigten Aminosäuren sind auf verschiedenen Wegen zugänglich. Ser oder Thr können in Phosphorsäureester[25] oder Carbonate[26] überführt werden, welche mittels baseninduzierter Eliminierung von Phosphat bzw. CO_2 in den Michaelakzeptor Dha bzw. Dhb überführt werden können.[27,28]

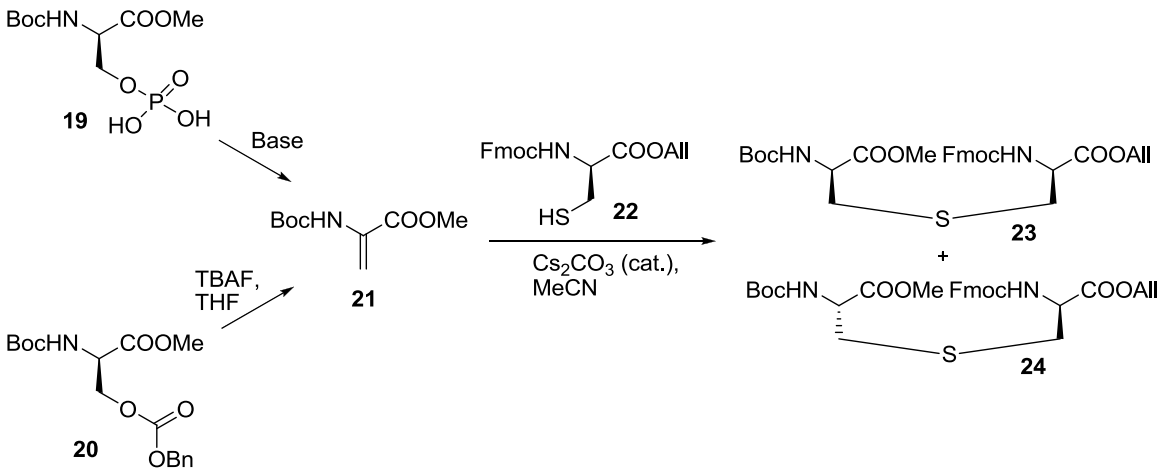


Abbildung 5: Synthese von Lan über eine Michael-Addition von Cys mit Dha. Dha **21** wird aus Phosphorsäureester **19** bzw. Carbonat **20** gewonnen und durch nucleophilen Angriff von Cys **22** in die Lan-Diastereomere **23** und **24** umgewandelt.

Eine Alternative bildet der Einsatz von Selenocysteinen (Abbildung 6), welche eine ausreichende Stabilität besitzen, um sie mittels Festphasensynthese in eine Peptidkette einzugliedern.[29] Die Umsetzung mit Oxidationsmitteln wie H_2O_2 oder $NaIO_4$ führt anschließend zur Eliminierung von Selenoalkoholen.[30] Interessanterweise handelt es sich bei der oxidativen Eliminierung um einen stereospezifischen Prozess, sodass *Z*-Dhb auf diesem Wege enantioselektiv zugänglich ist.[31,32] Das resultierende Dha bzw. Dhb kann schließlich durch Cys nucleophil angegriffen werden, dessen Thiol zuvor chemoselektiv entschützt werden muss, beispielsweise mittels Reduktionsmitteln, wie Tris(carboxyethyl)-phosphin (TCEP). Erfolgt die Michael-Addition intramolekular, kommt es zur Bildung von Lan-haltigen Zyklopeptiden. Handelt es sich hierbei um Tetrapeptidringe, verläuft die Additionsreaktion stereoselektiv.[22]

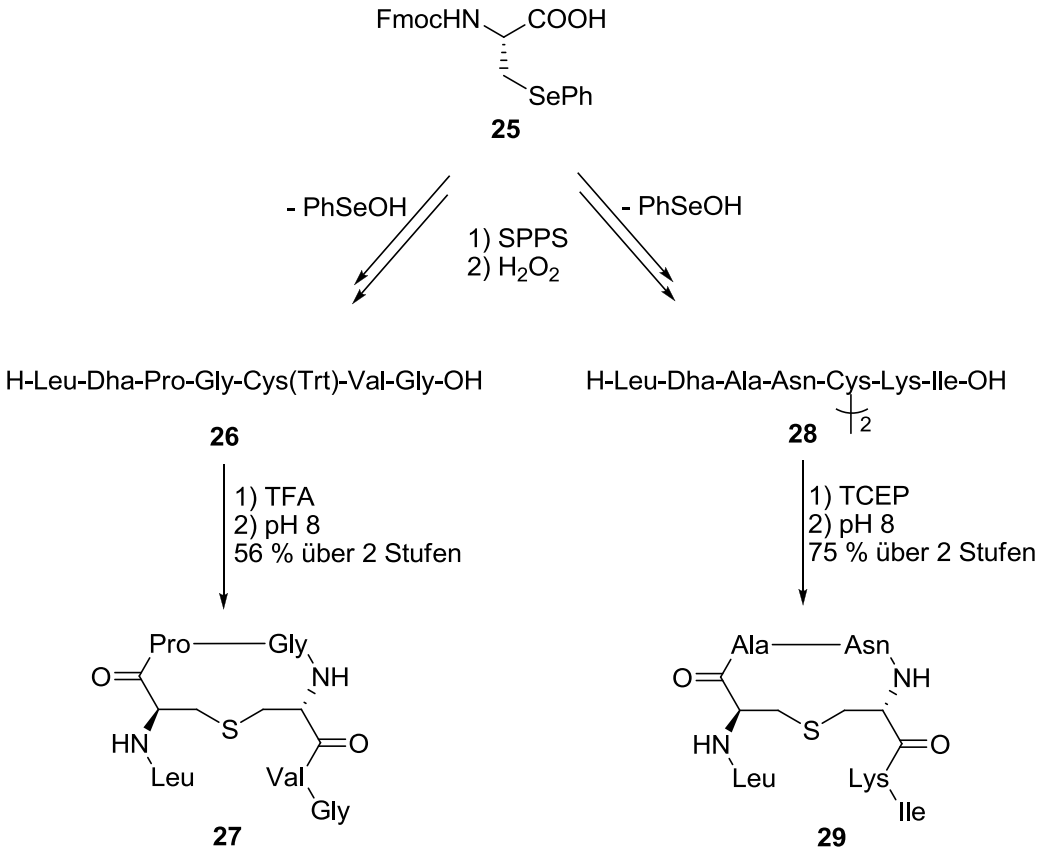


Abbildung 6: Synthese von Lan ausgehend von Selenocysteinen.[22] Selenocystein **25** wird in die Aminosäurensequenz eingebaut und in Dha umgewandelt. Über eine intramolekulare Michael-Addition mit Cys wird der Lan-Ring **27** bzw. **29** aufgebaut.

Eine weitverbreitete Methode zur Lan-Synthese ist die nucleophile Substitution von Halogeniden durch Cys, wie sie beispielsweise bei der Synthese des Lantibiotikums Bis(desmethyl) Lacticin 3147 A2 durch V. R. Pattabiraman *et al.*[33] zum Einsatz kam (Abbildung 7). Als Ausgangsverbindung dient hier Bromalanin, welches über eine Appel-Reaktion[34,35] zugänglich ist und bei der Darstellung von Lipolanthionin-Peptiden Verwendung fand.[36] Auch Iodalanin, das über eine Finkelstein-Reaktion[37] aus Tosylaten gewonnen werden kann, ist ein mögliches Substrat. Es wird unter Zugabe von $(Bu)_4NBr$ und $NaHCO_3$ als Base in Essigsäureethylester (EtOAc) mit Cys zur Reaktion gebracht. Über einen S_N2-Mechanismus wird schließlich das Halogenid verdrängt und das Lan-Gerüst aufgebaut. Andere Abgangsgruppen, wie Cl, OMs oder OTs finden seltener Verwendung.

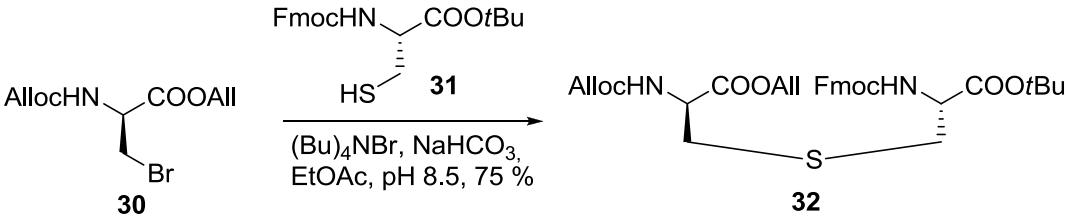


Abbildung 7: Synthese von Lan über eine S_N2-Reaktion. Lan **32** wird aus Bromalanin **30** durch Substitution von Brom durch die Seitenkette von Cys **31** gebildet.

Diese Strategie birgt jedoch Risiken, wie bei der Synthese des C-Ringanalogs von Nisin berichtet wurde (Abbildung 8). Die geringe Stabilität von Iodalaninen gegenüber Hitze und Licht, insbesondere unter basischen Bedingungen, kann zur β-Eliminierung und somit zur Bildung von Dha führen, wodurch keine stereoselektive Generierung von Lan mehr garantiert werden kann. Zudem ist eine Aziridinbildung bei *N*-Trityl-geschützten Iodalaninen möglich, falls keine ausreichende Kontrolle der Reaktionsbedingungen gewährleistet ist.[38]

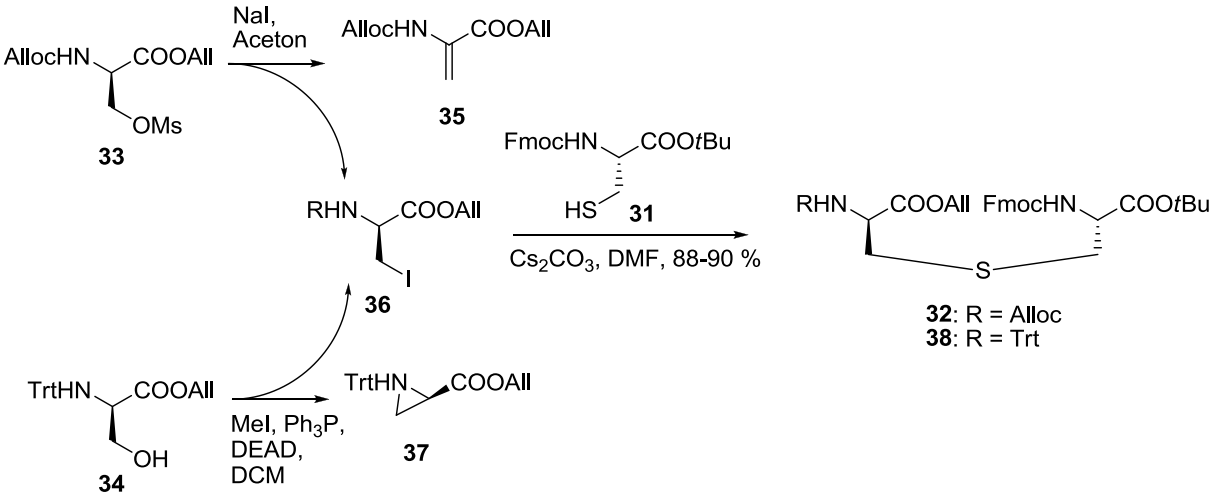


Abbildung 8: Lan **32** und **38** werden aus Iodalanin **36** durch Substitution von Iod durch die Seitenkette von Cys **31** gebildet. Bei der Darstellung von **36** aus den Ser-Derivaten **33** und **34** entstehen Dha **35** bzw. Aziridin **37** als Nebenprodukte.

Die Synthese von Lan über eine ringöffnende Addition von Cys auf Aziridine ist zwar durchaus möglich,[39] aufgrund geringer Chemo- und Stereoselektivitäten ist jedoch mit großen Ausbeuteverlusten zu rechnen (Abbildung 9). Des Weiteren wurde von

einer geringen Umsetzung aufgrund kompetitiver intra- und intermolekularer Reaktionen berichtet, da die Zyklisierung zum Aziridin gegenüber der Ringöffnung bei hohen Temperaturen, basischen Bedingungen und starken Nucleophilen bevorzugt abläuft.[40]

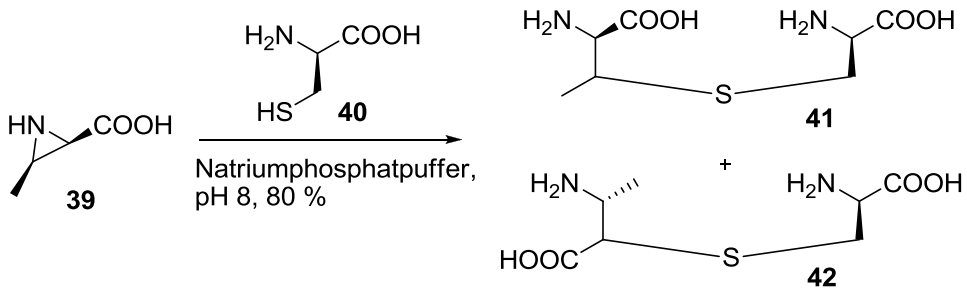


Abbildung 9: Synthese von Lan über eine Aziridinringöffnung. Die Addition von Cys **40** mit Aziridin **39** verläuft nicht regioselektiv und ergibt daher ein Gemisch aus MeLan **41** und Thioether **42**.

Ähnliche Probleme treten auch beim nucleophilen Angriff von Thiolen auf β-Lactone auf (Abbildung 10). Die hohe Ringspannung des Vierrings sorgt zwar für eine ausreichende Reaktivität des Lactons. Oftmals können jedoch keine zufriedenstellenden Ausbeuten erreicht werden, was unter anderem auf Eliminierungsreaktionen unter Bildung von Dha bzw. Dhb zurückzuführen ist.[41] Beim Einsatz von Fmoc-geschütztem Cys ist mehrmals gänzlich ausbleibender Umsatz beobachtet worden.[24] Mangelnde Chemoselektivität kann außerdem zur Ausbildung von Thioestern führen.[40]

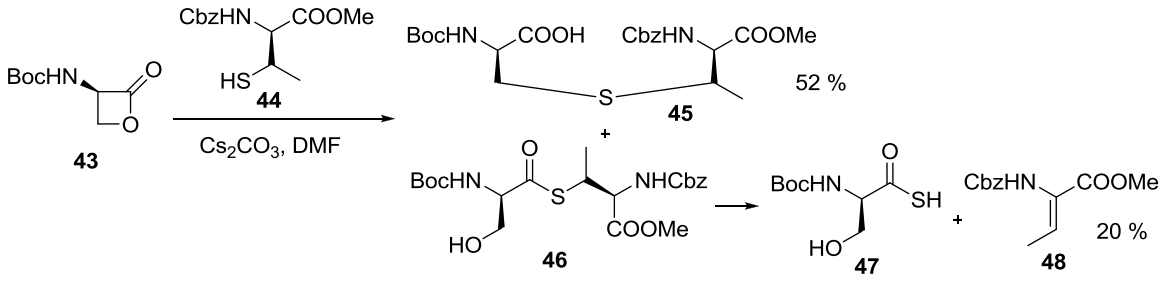


Abbildung 10: Synthese von Lan über eine Lactonringöffnung und mögliche Nebenprodukte. Die Addition von MeCys **44** mit β-Lacton **43** verläuft nicht chemoselektiv und ergibt daher ein Gemisch aus MeLan **45** und Thioester **46**, welcher sich unter Eliminierung in Thioester **47** und Dhb **48** umwandelt.

Ungeachtet dessen gelang Goodman *et al.* mit dieser Methode die Synthese eines Lan-Analogs des VLA-4-Antagonisten.[42] Das von Vederas *et al.* entwickelte Protokoll,[43] welches hier zum Einsatz kam, sieht eine Deprotonierung von Cys mit Cs_2CO_3 oder $CsHCO_3$ vor. Sterische Effekte zwischen der Carbonylfunktion des β-Lactons und der Cys-Seitenkette führen daraufhin zu einem regioselektiven Angriff des Thiolats. Der nucleophile Angriff des Cys auf die Esterfunktion wird durch den Carbonylsauerstoff blockiert, kann auf die β-Position des Lactons hingegen ungehindert stattfinden. Je höher der sterische Anspruch des Thiolats ist, beispielsweise durch Substituenten an der β-Position, desto bessere Selektivitäten sind zu erwarten (Abbildung 11).[44]

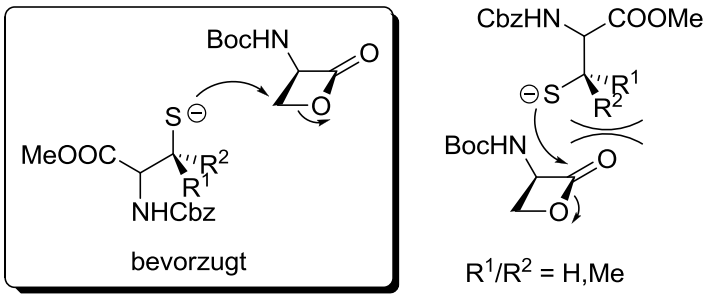


Abbildung 11: Sterischer Effekt von β-Substituenten auf die Regioselektivität der Ringöffnung.

Aufgrund der guten Löslichkeit des Cäsiumsalzes wird die Reaktion in Dimethylformamid (DMF) durchgeführt.[44] Goodman *et al.* konnten auf diesem Wege sogar sterisch höchst anspruchsvolle α-Methyllanthionine mit Ausbeuten bis zu 99 % generieren (Abbildung 12).[45]

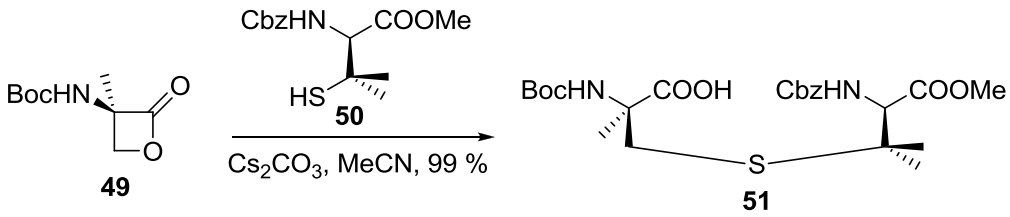


Abbildung 12: Synthese von α,α-disubstituiertem Lan über eine Lactonringöffnung. Addition von MeCys **50** mit β-Lacton **49** generiert Lan-Derivat **51**.

Eine ältere Methode zur Synthese von Lan (**55**) ist die Reduktion von Cystin, wobei ein Disulfid (**52**) mithilfe von Tris-(dialkylamino)phosphan aufgespalten wird. Es entsteht ein Thiolat (**54**), welches durch nucleophilen Angriff auf das entsprechende Thiophosphan (**53**) ein einzelnes Schwefelatom aus dem Substrat verdrängt.[46,47] Zwei Nebenreaktionen können hier auftreten. Zum einen kann das Thiophosphan unter Bildung von Dha (**57**) eliminiert werden. Zum anderen können Spuren von H_2O das reaktive Intermediat abfangen, indem Phosphor oxidiert und $HNEt_2$ abgespalten wird (Abbildung 13).[48]

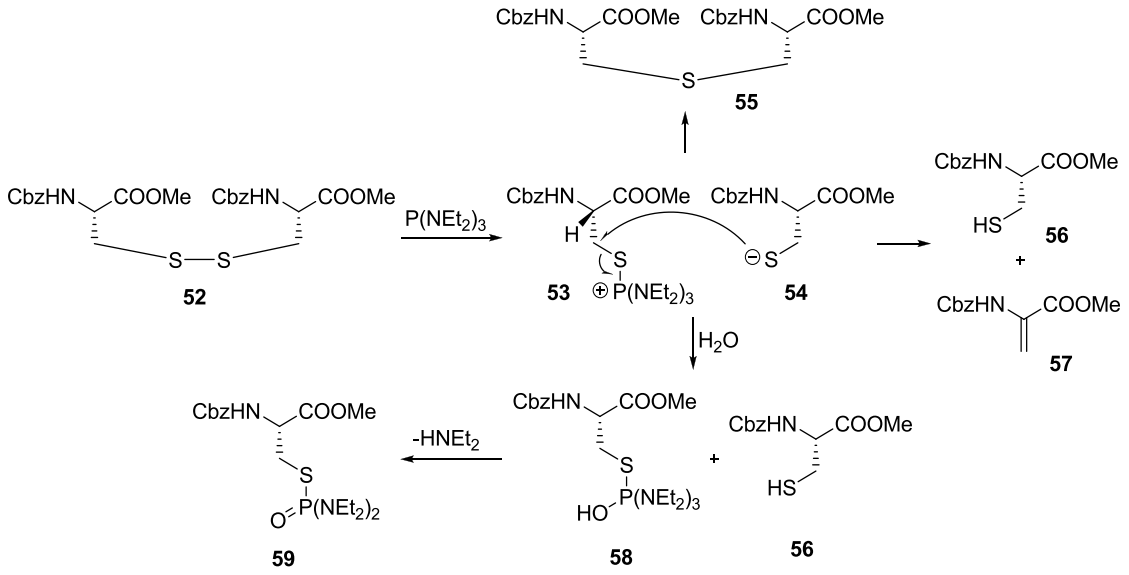


Abbildung 13: Synthese von Lan über eine Cystin-Spaltung und mögliche Nebenprodukte. $P(NEt_2)_3$ spaltet die Disulfidbrücke von Cystin **52**. Die Entschwefelung findet durch nucleophilen Angriff von Thiolat **54** auf Thiophosphan **53** unter Bildung von Lan **55** statt.

Auch über eine Mitsunobu-Reaktion können Lan und MeLan aufgebaut werden, wie M. Mustapa *et al.* zeigen konnten.[49] *C*- und *N*-terminal geschützte Ser-Derivate wurden mit ADDP (Dipiperididazodicarboxylat) und Me_3P versetzt. Um die Nucleophilie des Thiols zu erhöhen, wurde Zinktartrat zugegeben. Die hohe Oxophilie des Phosphors sorgte dabei unter Bildung von Phosphanoxid für die Abspaltung von Sauerstoff, was eine S_N2-Reaktion mit Fmoc-Cys-O*t*Bu und die Bildung von orthogonal geschütztem Lan ermöglichte. Zu erwähnen ist die geringe Ausbeute von 50 % nach sieben Tagen Reaktionszeit (Abbildung 14).

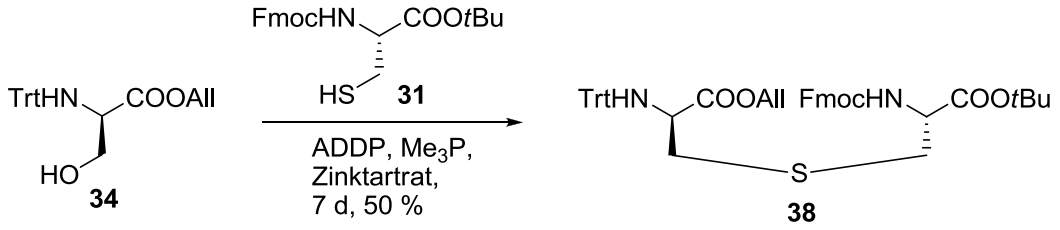


Abbildung 14: Synthese von Lan über eine Mitsunobu-Reaktion.

Eine weitere Variante der Lan-Synthese ist die Ringöffnung von zyklischen Sulfonamiden durch Cys.[50-52] Die Reaktion von Ser bzw. Thr mit Thionylchlorid und Pyridin (Pyr) führt zur Ausbildung von vollgeschützten Sulfonamiden (**62**). Hier kommt die *p*-Methoxybenzyl-Schutzgruppe (PMB) zum Einsatz, da diese unter oxidativen Bedingungen nicht zu Nebenreaktionen führt und leicht entfernt werden kann. Der Zyklus **62** kann durch adäquat geschützte Cys-Derivate (**63**) mithilfe von Cs_2CO_3 als Base in DMF regioselektiv geöffnet werden. Die anschließende Hydrolyse des Intermediats führt zur Bildung von orthogonal geschütztem Lan (**64**) in Ausbeuten bis zu 89 % (Abbildung 15).[53]

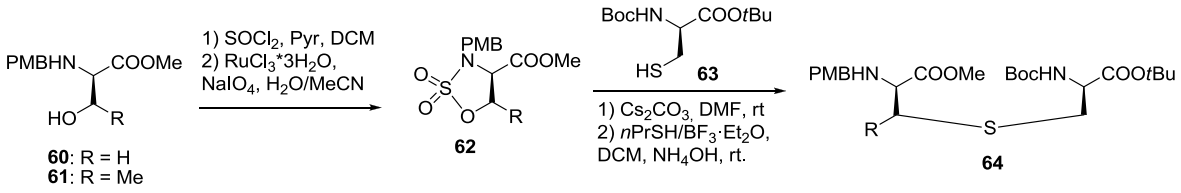


Abbildung 15: Synthese von Lan über eine Sulfonamidspaltung. Ser **60** bzw. Thr **61** werden in Sulfonamid **62** umgewandelt, aus welchem durch Addition von Cys **63** und anschließender Hydrolyse Lan **64** gebildet wird.

Mithilfe der hier vorgestellten Synthesestrategien können sowohl Lan, als auch MeLan und ihre Derivate synthetisiert werden. Eine Darstellung der verwandten α,α-disubstituierten Triaminotrisäure Labionin (Lab), welche das Lan-Grundgerüst trägt und deren Struktur vor Kurzem von Süssmuth *et al.*[54] erstmals beschrieben wurde, ist auf den bisher bekannten Wegen nicht möglich. Der Unterschied liegt in einem zusätzlichen Aminosäurerest, der über eine Methylenverbrückung mit einem Lan verknüpft ist, wodurch ein quartäres Kohlenstoffzentrum aufgebaut wird. Die Generierung dieses Strukturmotivs stellt eine neue Herausforderung in der organischen Naturstoffsynthese dar.

2.1.2 Bedeutende Beispiele für Lantibiotika

2.1.2.1 Das Typ I-Lantibiotikum Nisin

Das am intensivsten untersuchte Lantibiotikum ist Nisin. Es wurde bereits 1928 von L. A. Rogers[55,56] entdeckt, ein Jahr vor Penicillin.[57] Es handelt sich damit um einen der ältesten bekannten, antibakteriellen Naturstoffe und das erste Lantibiotikum, das jemals gefunden wurde. Lancefield *et al.* gaben Nisin im Bezug auf seine Klassifizierung „*N inhibitory substance*“ seinen Namen. Die Strukturaufklärung wurde jedoch erst 43 Jahre später durch Gross und Morell[58] im Jahre 1971 durchgeführt. Sie fanden heraus, dass es sich um ein 34 Aminosäuren langes Peptid mit einer Molekülmasse von 3351 g/mol handelt. Seine pentazyklische Struktur basiert auf Thioetherverbrückungen von einem *meso*-Lan- und vier *threo*-MeLan-Resten. Als erstes natürlich vorkommendes Peptid weist es außerdem die ungewöhnlichen Aminosäuren Dha und Dhb auf. Nisin wurde 1947 von Mattick *et al.*[59] und 1952 von Berridge *et al.*[60] aus dem Kulturüberstand von *Streptococcus lactis* isoliert. Es unterdrückt das Wachstum einer Vielzahl von Gram-positiven Mikroorganismen, wozu vor allem in Lebensmittel vorkommende Pathogene wie *Clostridium botulinum* und *Listeria monocytogenes* zählen.[61] Aufgrund seiner guten Verträglichkeit und hervorragenden Aktivität in nanomolaren Konzentrationen wird es seit fast 50 Jahren in über 80 Ländern dieser Welt bei der Nahrungsmittelkonservierung erfolgreich eingesetzt.[62] Seine biologische Aktivität ist zum einen auf die Bildung von Poren in Zellmembranen zurückzuführen. Zum anderen bindet es hochspezifisch an den Zellwandbiosynthesebaustein Lipid II,[63] welcher gleichzeitig das Target von Vancomycin[64] und Ramoplanin[65] darstellt. Dabei formiert sich ein Komplex aus vier Lipid II- und acht Nisin-Molekülen, der sich an die Oberfläche der Zellmembran anlagert. Die hoch geordnete Aggregation mehrerer dieser Komplexe führt schließlich zur Ausbildung extrem stabiler Poren in der Membran des Targetbakteriums und damit zur Inhibierung der Zellwandbiosynthese (Abbildung 16).[66] Trotz seiner außerordentlichen Aktivität konnte Nisin aufgrund seiner schlechten Löslichkeit in Wasser und geringen Stabilität bei physiologischem pH bisher nicht als Medikament appliziert werden.[67]

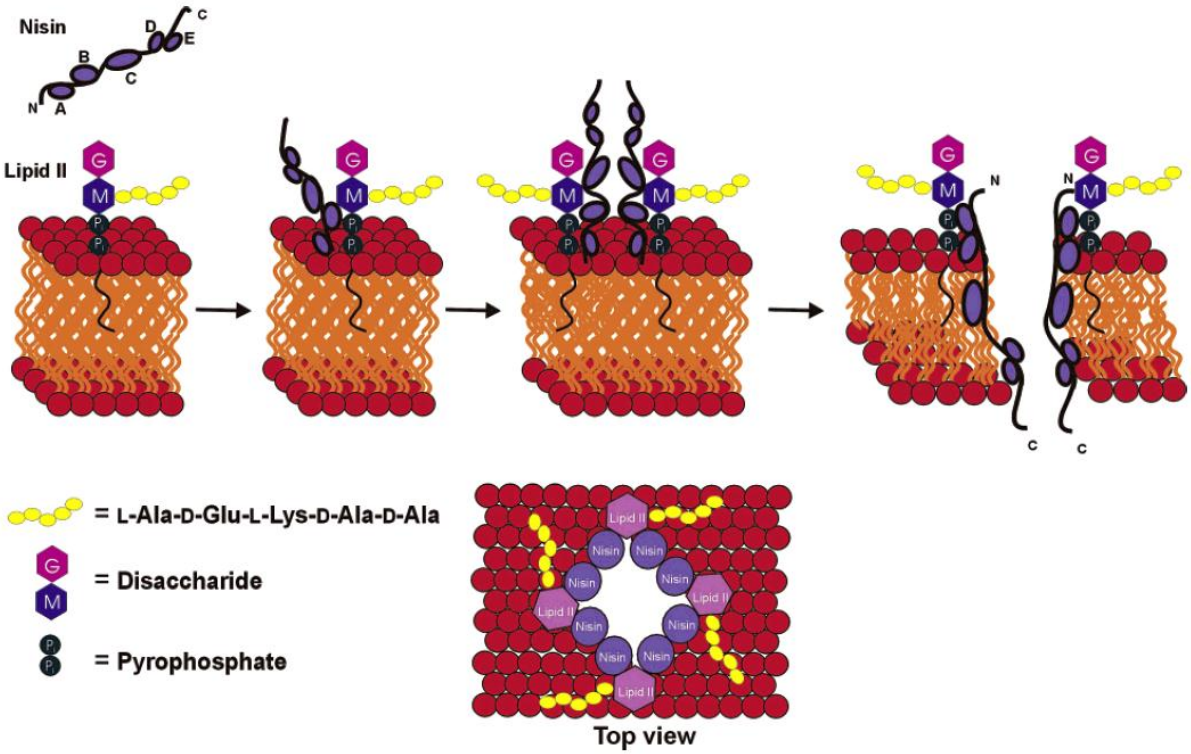


Abbildung 16: Vermuteter Mechanismus der Porenbildung in Zellmembranen. Ein Komplex aus vier Lipid II- und acht Nisin-Molekülen lagert sich an die Zellmembran an und führt zur Bildung stabiler Poren.[6]

Die Biosynthese von Nisin A ist in Abbildung 17 schematisch dargestellt. Hierbei wird „Lan“ als allgemeine Bezeichnung für Biosyntheseproteine der Lantibiotika durch „Nis“ – spezifisch für Nisin – ersetzt. Das Präpropeptid NisA (**65**) wird ribosomal synthetisiert. Im Zuge einer posttranslationalen Modifizierung werden mithilfe der Dehydratase NisB acht H_2O-Moleküle von drei Ser und fünf Thr abgespalten. Fünf der resultierenden Dha- bzw. *Z*-konfigurierten Dhb-Reste werden anschließend über eine regioselektive Michael-Addition von Cys-Seitenketten angegriffen. Die Bildung der Zyklen A, B, C, D und E (**66**) wird dabei von der Cyclase NisC katalysiert. Schließlich wird das 23 Aminosäuren lange Leaderpeptid (**68**) durch die Protease NisP abgespalten und Nisin A (**69**) kann aus der Zelle exportiert werden.

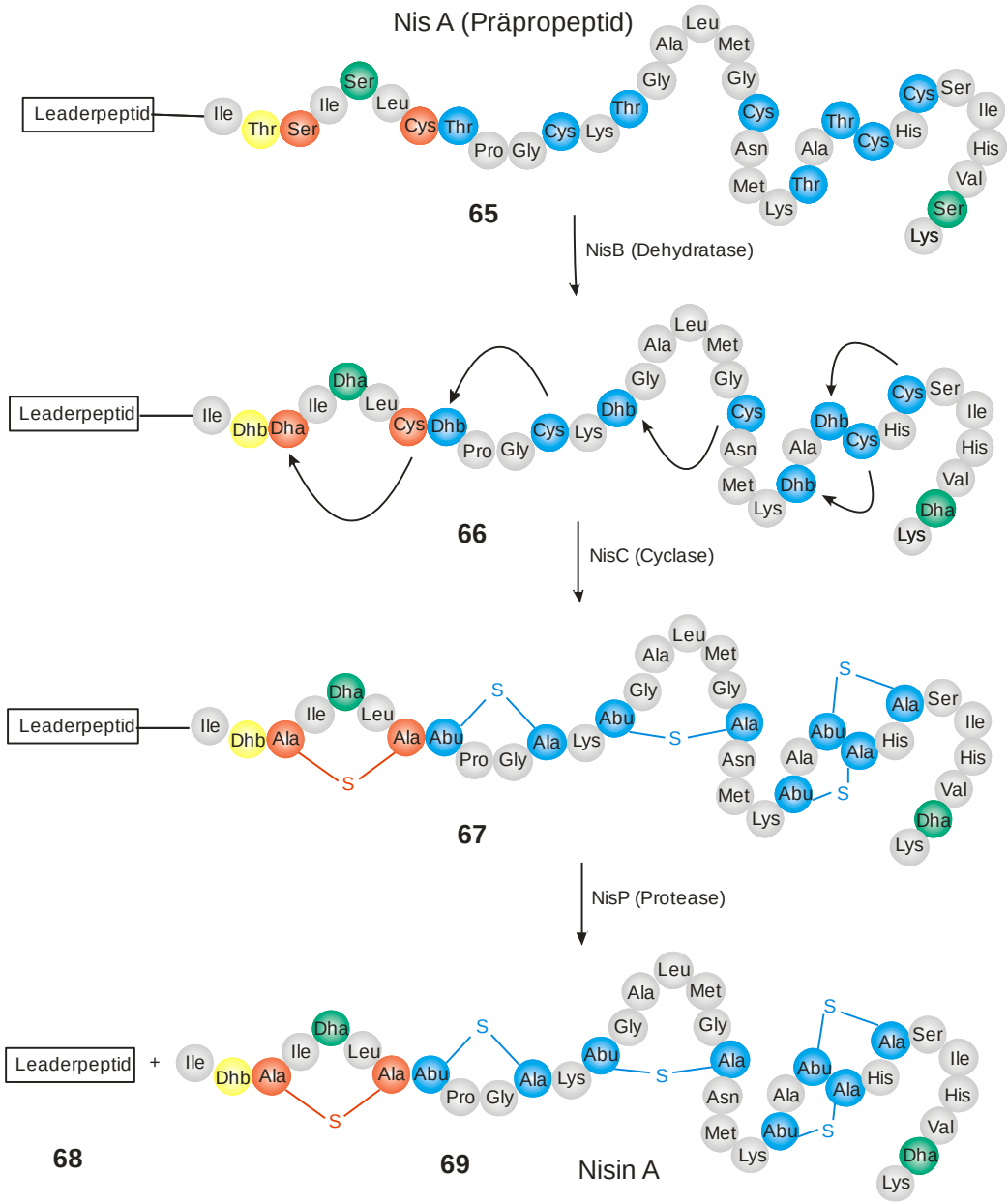


Abbildung 17: Biosyntheseschema von Nisin A.

Nachdem 1980 Photaki *et al.*[68] mit der Darstellung von Ring A die ersten Synthesestudien zu Nisin veröffentlichten, gelang Shiba *et al.*[67] 1992 die erste Totalsynthese. Sie generierten die Ringe A bis E, indem sie zunächst Cystinreste in die Aminosäurensequenz integrierten, deren Disulfidbrücken anschließend mittels $P(NEt_2)_3$ zu Thioethern abgebaut wurden (Abbildung 13). Dha wurde über einen Hofmann-Abbau aus 2,3-Propionsäure zugänglich gemacht. Dhb hingegen konnte

aus Thr durch Dehydratisierung mit Carbodiimiden und CuCl gewonnen werden. Mittels Peptidkupplung mit 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid (EDAC) und *N*-Hydroxybenzotriazol (HOBt) in DMF konnten fünf Teilfragmente synthetisiert werden, welche schließlich zu Nisin zusammengefügt wurden.

Neben der bekanntesten Form dieses bedeutenden Lantibiotikums, dem Nisin A, sind heutzutage noch weitere Strukturen bekannt. Das Nisin Z unterscheidet sich von der A-Form nur an Position 27 durch ein Asparagin (Asn) anstelle eines Histidins (His).[68,69] Größere Abweichungen weist das Nisin Q auf, welches sich an vier Positionen (Val^{15}, Leu^{21}, Asn^{27} und Val^{30}) von Nisin A (Ala^{15}, Met^{21}, His^{27} und Ile^{30}) unterscheidet.[69]

2.1.2.2 Das Typ II-Lantibiotikum Lacticin

Lacticin 481 wurde erstmals von Piard *et al.* aus *Lactococcus lactis CNRZ481*[70] isoliert. Mithilfe von Edman-Abbau, Aminosäurenanalyse und NMR-Spektroskopie konnte die 27 Aminosäuren lange Struktur ohne Nettoladung bei physiologischem pH mit einem großen Glycin-Vorkommen (11 %) und einem hohen Anteil an hydrophoben Resten (75 %) aufgeklärt werden.[71] Zudem wurden zwei Lan, ein MeLan und ein Dhb nachgewiesen. Aufgrund seiner kompakten *C*-terminalen Sekundärstruktur, hervorgerufen durch überlappende Verbrückungen der Lan-Einheiten, wurde Lacticin 481 als Typ II-Lantibiotikum eingestuft. Weitere Vertreter lacticinähnlicher Lantibiotika sind Mutacin II,[72] Lactocin S,[73] Streptococcin A-FF22 (SA-FF22),[74] Salivaricin A,[75] [Lys2,Phe7]-Salivaricin A (Salivaricin A1),[10] Variacin,[76] Plantaricin C,[77] Butyrivibriocin OR79A,[78] Sublancin 168[79] und Cypemycin.[80]

Die Biosynthese von Lacticin 481 ist in Abbildung 18 schematisch dargestellt. Das Präpropeptid LctA wird ribosomal synthetisiert. Im Zuge einer posttranslationalen Modifizierung werden mithilfe der Dehydratasedomäne von LctM vier H_2O-Moleküle von jeweils zwei Ser und Thr über eine *anti*-Eliminierung abgespalten. Drei der resultierenden Dha- bzw. Dhb-Reste werden anschließend über eine regioselektive Michael-Addition von Cys-Seitenketten angegriffen. Die Bildung der Zyklen A, B und

C wird dabei von der Cyclasedomäne von LctM katalysiert. Schließlich wird das 24 Aminosäuren lange Leaderpeptid durch die Proteasedomäne von LctT abgespalten und Lacticin 481 kann, katalysiert durch LctT, aus der Zelle exportiert werden.[22]

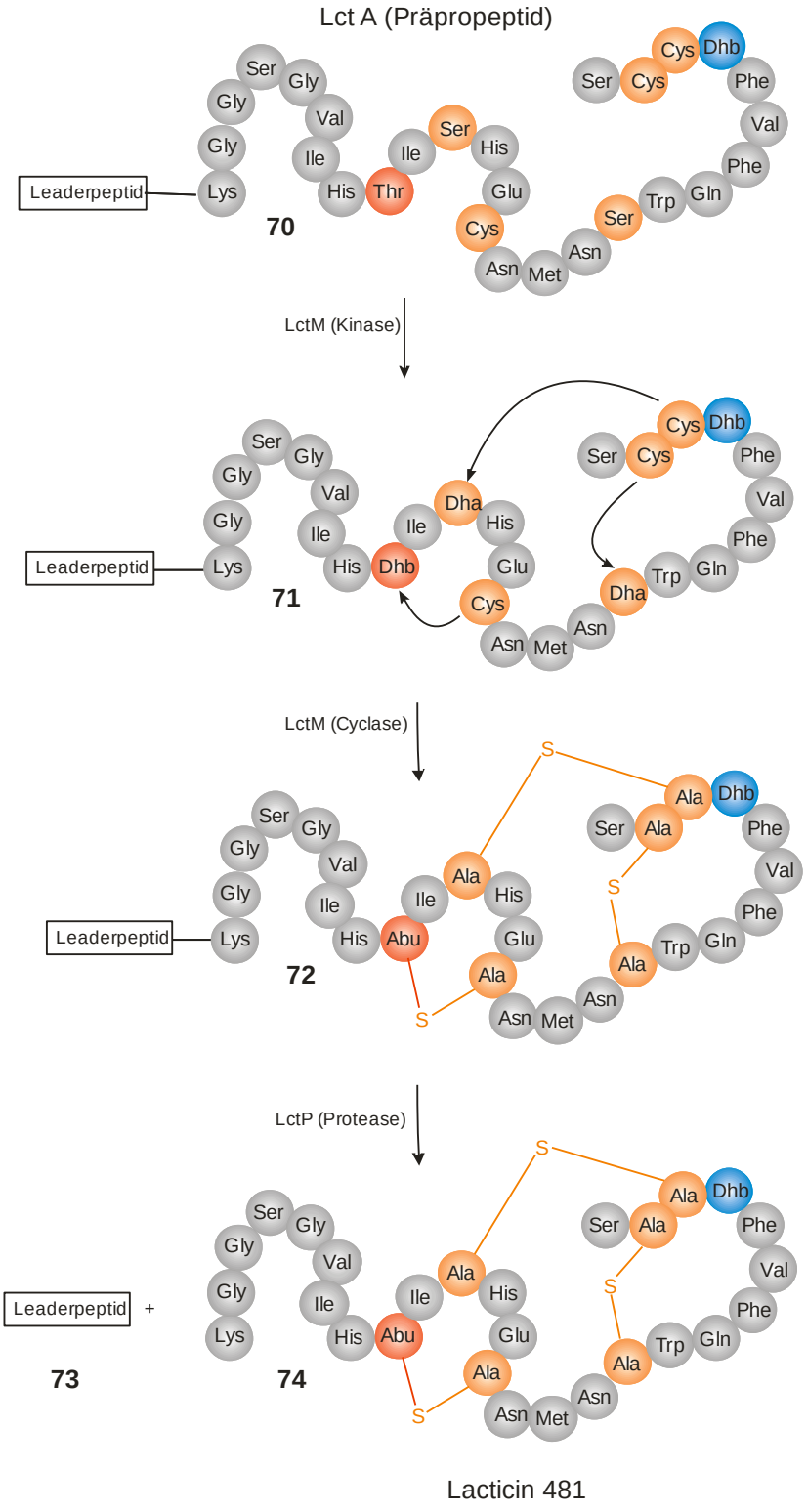


Abbildung 18: Biosyntheseschema von Lacticin 481.

Eine Besonderheit stellt das verwandte Lacticin 3147[81,82] dar. Es handelt sich hierbei um ein Zwei-Komponenten-Lantibiotikum, welches sich aus den beiden Peptiden A1 und A2 zusammensetzt und hierdurch eine synergistische, antimikrobielle Aktivität in nanomolaren Konzentrationen erreichen kann. Dabei bildet sich zunächst ein Komplex aus der A1-Form mit Lipid II aus, welcher dann von Lacticin A2 erkannt wird.[83] Die resultierende Anordnung aller drei Komponenten führt schließlich zur Porenbildung in Zellmembranen. Diese Aktivität gegen Gram-positive Organismen wurde in einem sogenannten *spot-on-lawn*-Test veranschaulicht (Abbildung 19), wo eine Verstärkung durch Synergismus zu erkennen ist.[33] Da die einzelnen Komponenten A1 und A2 auch eine unabhängige, wenn auch schwächere Aktivität aufweisen, ist anzunehmen, dass Lacticin 3147 nach mindestens zwei verschiedenen Wirkungsmechanismen agiert. Es wird vermutet, dass sowohl A1 als auch A2 direkt an Lipid II binden können, wodurch die Zellwandbiosynthese inhibiert wird.[84] Die Bildung eines Komplexes aller drei Komponenten führt schließlich zur Porenbildung, welche einen verstärkenden Effekt mit sich bringt.[83]

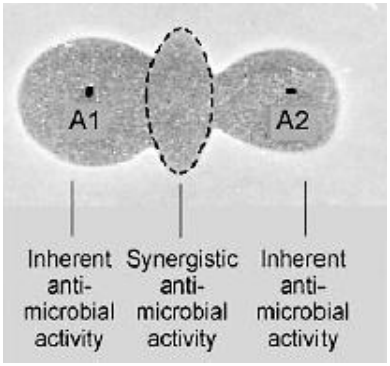


Abbildung 19: *Spot-on-lawn*-Aktivitätstest von Lacticin 3147 gegen den Gram-positiven Indikatororganismus *Lactococcus lactis subspecies cremoris HP*.[33] Lacticin A1 (links) und Lacticin A2 (rechts) zeigen eine Inhibierung des Zellwachstums. Gemeinsame Auftragung beider Komponenten (Mitte) führt zu einer Verstärkung der antimikrobiellen Aktiviät.

Synthesestudien zur Totalsynthese von Lacticin 3147 wurden erstmals von Vederas *et al.*[85] publiziert. 2007 konnte die Arbeitsgruppe ein Analogon von Lacticin 3147 A2 darstellen, welches anstelle der Thioether Ethylenverbrückungen trägt. Die Substitution von Lan erfolgte durch die Einführung von α-Allylglycinen in die Peptidkette, welche einer Ringschlussmetathese (RCM) mit Grubbs II-Katalysator unterzogen wurden. 2008 gelang ihnen die Darstellung von Bis(desmethyl) Lacticin

3147 A2.[33] Es unterscheidet sich von der A2-Form lediglich durch die Substitution zweier MeLan- durch zwei Lan-Reste. Diese wurden über eine S_N2-Reaktion von β-Bromalanin mit Fmoc-L-Cys-O*t*Bu zugänglich gemacht (Abbildung 7). Mittels Festphasensynthese (*solid phase peptide synthesis*, SPPS) konnte das Peptid in einer Gesamtausbeute von 1.3 % über 22 Kupplungsschritte aufgebaut werden. Dabei kam die Fmoc-Schutzgruppenstrategie und PyBOP/HOBt in NMM/DMF als Kupplungsreagenzien zum Einsatz. Das ungewöhnliche *N*-terminale α-Ketoamid konnte mittels Transaminierung mit 4-Pyridincarboxaldehydacetat und Diazabicycloundecen (DBU) aus 2-Aminobuttersäure gewonnen werden.[85] 2009 veröffentlichte dieselbe Gruppe die Synthese von Oxa-Lacticin A2,[86] bei welchem sämtliche Schwefelatome der Lan- und MeLan-Ringe durch Sauerstoff ausgetauscht wurden. Motivation für diese Durchführung war die Oxidationsempfindlichkeit der Thioether, welche durch Schwefeloxidation leicht zur Inaktivität der Lantibiotika führen kann. Bioaktivitätsstudien zeigten allerdings eine 20fach verringerte Aktivität des Oxa-Analogons gegenüber Lacticin A2 und keinen synergistischen Effekt mit der A1-Form (Abbildung 20). Verantwortlich hierfür könnten die leicht verringerte Ringgröße oder Änderungen elektrostatischer Eigenschaften durch den Austausch des Schwefels durch Sauerstoff sein, wodurch die Erkennung des Lacticin A1-Lipid II-Komplexes ausbleibt.

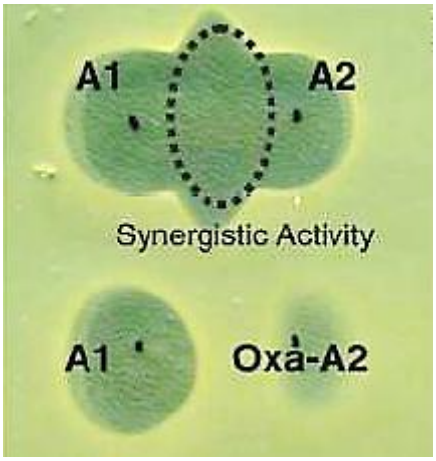


Abbildung 20: *Spot-on-lawn*-Aktivitätstest von Oxa-Lacticin A2 gegen den Gram-positiven Indikatororganismus *L. lactis subsp. Cremoris HP*.[86] Oxa-Lacticin A2 zeigt eine ca. 20-mal schwächere Inhibierung des Zellwachstums und kein Synergismus mit der Komponente A1.

2.1.2.3 Das Typ III-Lantibiotikum Labyrinthopeptin

2.1.2.3.1 Entdeckung und Strukturaufklärung

Die Labyrinthopeptine wurden aus Kulturextrakten des Aktinomyzeten *Actinomadura namibiensis* DSM 6313 (Abbildung 21) isoliert, welcher 1988 von der damaligen Höchst AG (heute Sanofi Aventis) in der Wüste Namibias entdeckt wurde.[87,88]

a) b)

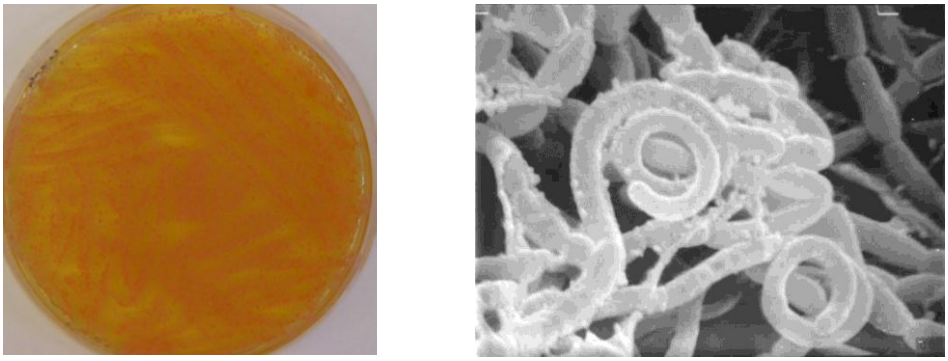


Abbildung 21: *Actinomadura namibiensis* a) Zellkultur auf Agarplatte, b) elektronenmikroskopische Aufnahme.

Mittels chromatographischer Methoden konnten die drei Peptide Labyrinthopeptin A1, A2 und A3 aus den Kulturfiltraten mit bis zu 99 %iger Reinheit gewonnen werden, wobei bei längerer Fermentationszeit eine Umwandlung von A3 in A1 beobachtet wurde. Die globulären Strukturen, das Aktivitätsspektrum und schließlich die Aufklärung des Biosynthesegenclusters durch Süssmuth *et al.*[54,89] im Jahre 2010 machten eine Einstufung als Typ III-Lantibiotika möglich. Im Gegensatz zu anderen Vertretern dieser Klasse, wie beispielsweise SapB aus *Streptomyces coelicolor*,[18] weisen die Labyrinthopeptine eine neuartige, außergewöhnliche Struktur und Differenzen in der Biosynthese auf, weshalb sie einer separaten Untergruppe IIIb zugeordnet wurden. Hochinteressante biologische Aktivitäten wurden bei Labyrinthopeptin A2 festgestellt, dessen Struktur zudem mittels Röntgenkristallstrukturanalyse (Abbildung 22) vollständig aufgeklärt werden konnte. Damit ist es die bisher am besten untersuchte Variante der Labyrinthopeptine.

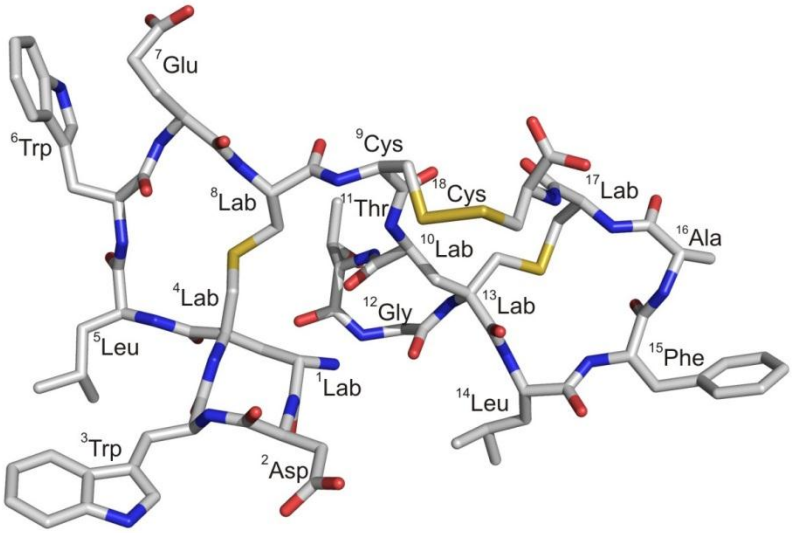


Abbildung 22: Röntgenkristallstruktur von Labyrinthopeptin A2 (Summenformel: $C_{85}H_{110}N_{20}O_{24}S_4$, monoisotopische Molekülmasse: 1922.6872 Da).

Die Labyrinthopeptine weisen eine einzigartige, unter Lantibiotika bisher unbekannte Molekülarchitektur auf (Abbildung 23). Die globulären Strukturen setzen sich aus überwiegend hydrophoben Aminosäuren zusammen und besitzen jeweils fünf Ringe: die carbazyklischen Ringe A und A‘, die Lan-Ringe B und B‘ und Ring C, welcher durch eine Disulfidbrücke ausgebildet wird. Labyrinthopeptin A1 und A2 unterscheiden sich in der Aminosäurensequenz und einem zusätzlichen Dhb im B‘-Ring der A1-Form. Die Varianten A1 und A3 sind bis auf das *N*-terminale Asp der A3-Form identisch.

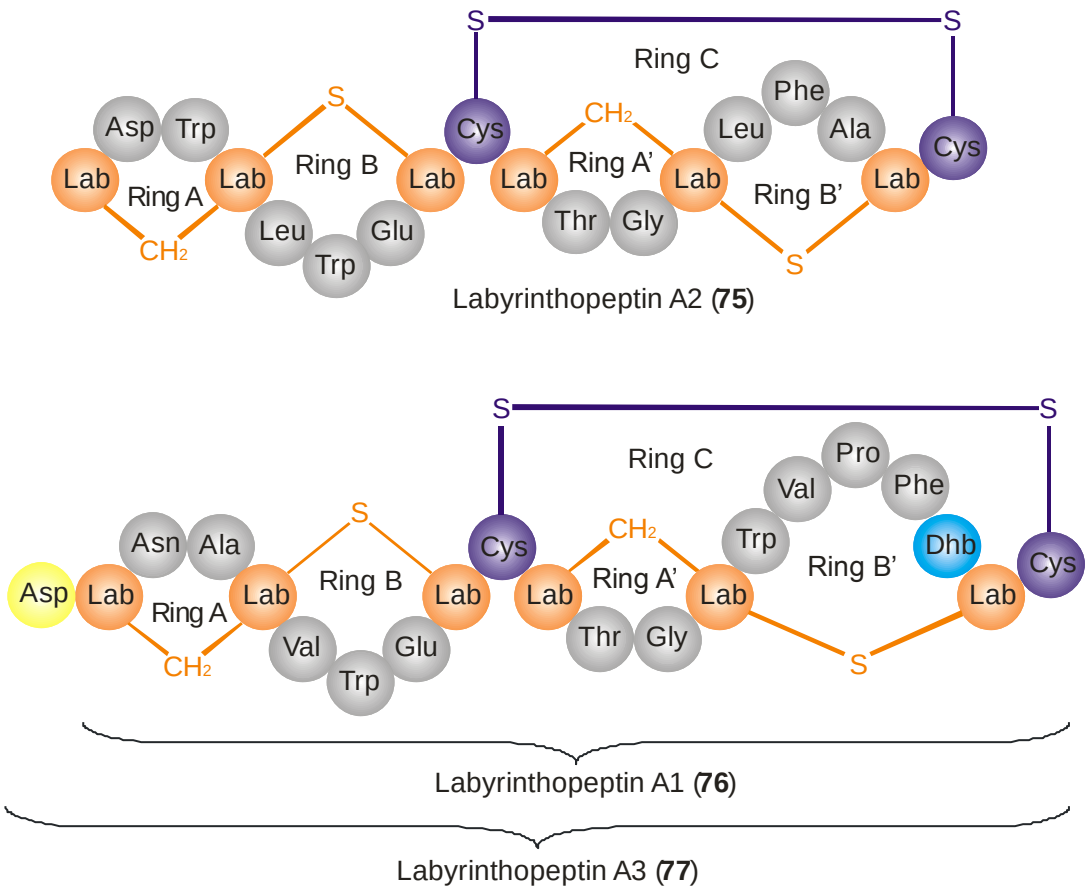


Abbildung 23: Kugelmodelle der Labyrinthopeptine A1 (**76**), A2 (**75**) und A3 (**77**).

Alle drei Varianten enthalten eine neuartige Triaminotrisäure (Abbildung 24), welche von Süssmuth *et al.* Labionin (Lab)[89] genannt wurde. Es handelt sich hierbei um ein α,α-disubstituiertes Lan-Derivat, welches an einer α-Position über eine Methylenbrücke mit einem zusätzlichen Aminosäurerest verknüpft ist. Dieses Strukturmotiv führt zu einer ungewöhnlichen carbazyklischen Seitenkettenverknüpfung in Peptiden. Die (2*S*,4*S*,8*R*)-Konfiguration von Lab stimmt mit der (2*S*,6*R*)-Konfiguration von Lan in anderen Lantibiotika überein. Identifiziert werden konnte die Struktur durch Röntgenkristallstrukturanalyse von Lab A2. Hierbei wurden zudem zwei *cis*-Amidbindungen zwischen Asp^{2} und Trp^{3} bzw. Thr^{11} und Gly^{12} im Kristall gefunden. Es ist anzunehmen, dass der hohe sterische Anspruch des quartären Aminosäurebausteins und die eingeschränkte Bewegungsfreiheit des kleinen elfgliedrigen A- bzw. A'-Rings das Peptidrückgrat in diese ungewöhnliche Konformation zwingt. Die Gegenwart dieser *cis*-Amidbindungen und das Fehlen von Wasserstoffbrücken zwischen Amid-NH- und Carbonyl-CO- Gruppen von Lab^{1} und

Lab^{4} bzw. Lab^{10} und Lab^{13} weisen darauf hin, dass es sich bei diesen Zyklen um kein β-Turn-Motiv handelt.

Ihren labyrinthartigen Strukturen verdanken die Labyrinthopeptine ihren Namen.

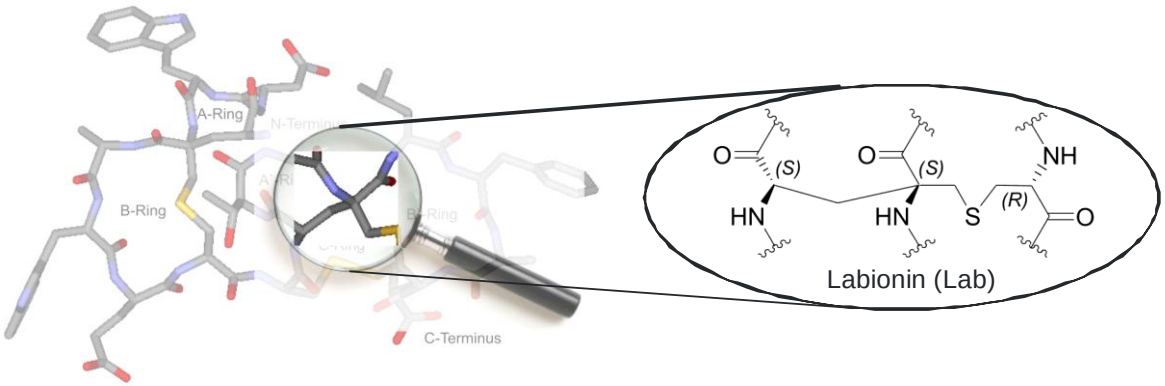


Abbildung 24: Quartäres Kohlenstoffzentrum in der Röntgenkristallstruktur und die abgeleitete Strukturformel des Lab-Motivs.

2.1.2.3.2 Biosynthese

Die Vermutung, dass die Biosynthese von Lan- und MeLan-Ringen auf die Dehydratisierung von Ser und Thr zu Dha bzw. Dhb und der anschließenden Addition von Cys zurückzuführen ist, wurde erstmals von L. Ingram 1969 angestellt.[90,91] Seine Hypothese wurde schließlich durch die Sequenzierung der ersten Gencluster, welche für die Biosynthese verschiedener Lantibiotika verantwortlich sind, bestätigt.[5,92] Die Labyrinthopeptine stellen hierbei keine Ausnahme dar. Bei der Sequenzierung der Gencluster, welche Informationen zur Aminosäurenabfolge in den Präpropeptiden und deren posttranslationalen Modifikation tragen, konnten nur fünf Gene der Biosynthese zugeordnet werden, welche in Tabelle 2 aufgelistet sind.

Tabelle 2: Klassifizierung der Biosynthesegene von Labyrinthopeptin.

Bezeichnung	Klasse	Funktion
labA1 und *labA2*	Strukturgene	Kodieren für Vorstufenpeptide
labT1 und *labT2*	Transportergene	Kodieren für den Peptidexport
labKC	Strukturgen	Kodiert für die Peptidmodifikation

Hieraus leitet sich die in Abbildung 25 schematisch dargestellte Biosynthese ab, welche beispielhaft für Labyrinthopeptin A2 erläutert werden soll. Zunächst findet die ribosomale Synthese eines Präpropeptids (**78**) statt, bestehend aus einem 20 Aminosäuren langen Leaderpeptid und einem 18 Aminosäuren langen Propeptid, dessen Aminosäurenabfolge durch das Strukturgen *labA2* kodiert ist. Die Sequenz des Propeptids weist ein Ser-Xxx-Xxx-Ser-Xxx-Xxx-Xxx-Cys-Motiv (Xxx = randomisierte Aminosäuren) auf, welches posttranslational durch die bifunktionelle Proteinkinase-Cyclase LabKC prozessiert wird. Dieses Enzym wird durch das Strukturgen *labKC* kodiert und besitzt eine *N*-terminale Ser/Thr-Kinase- und eine *C*-terminale LanC-Cyclasedomäne. Im ersten Schritt der posttranslationalen Modifikation findet eine Phosphorylierung von Ser durch die Kinasedomäne statt (**79**). Ein vergleichbarer Phosphorylierungsschritt wurde bereits für LctM in der Lacticin 481-Biosynthese[93,94] beschrieben. Im Fall der Labyrinthopeptine wurde im Gegensatz zu allen bisher untersuchten *in vitro*-Biosynthesen von Lantibiotika erstmals der Verbrauch von Guanosintriphosphat (GTP) anstelle von ATP nachgewiesen.[54] Die resultierenden Phosphoserine werden anschließend durch Eliminierung von Phosphat zu Dha dehydratisiert (**80**). Das Michaelakzeptor-System zweier Dha-Einheiten wird nun durch jeweils ein Cys-Thiolat im Rahmen einer 1,4-Addition angegriffen, wobei sich die Lan-Motive (**81**) ausbilden. Aufgrund der Verknüpfung mit einem Schwefelatom wird in diesem Schritt die Konfiguration des vorherigen Ser von *S* nach *R* umgekehrt. Bei anderen Lantibiotika-Biosynthesen wird im Anschluss an die Michael-Addition das Enolat protoniert. Im Fall der Labyrinthopeptine geht man davon aus, dass die Enolatintermediate nicht durch Protonierung abgefangen werden, sondern *in situ* eine weitere Michael-Addition eingehen. Bei dieser 1,4-Addition an ein zweites Dha wird die für Lantibiotika einzigartige Lab-Struktur generiert, welche zur Ausbildung eines bisher unbekannten, methylenverbrückten elfgliedrigen Carbazyklus (**82**) führt. Die Zyklisierungen finden in *N*-terminaler Richtung statt. Die Aktivierung und Deprotonierung von Cys zu nucleophilen Thiolaten wird bei Lantibiotika üblicherweise durch ein Zinkatom im aktiven Zentrum der Cyclasedomäne vollzogen.[9] Dieses Zink-Bindemotiv konnte bei LabKC nicht gefunden werden. Da dieses Enzym jedoch in seiner *C*-terminalen Domäne geringe Sequenzhomologien zu LanC-Cyclasen aufweist, ist davon auszugehen, dass es als Kinase-Cyclase in einem zweistufigen Mechanismus

arbeitet – die Phosphorylierung und Dehydratisierung im ersten und die doppelte Michael-Addition im zweiten Schritt.

Im Anschluss an die Posttranslationale Modifikation findet die Generierung der Disulfidbrücke und die *N*-terminale Prozessierung des Propeptids durch Proteasen statt, wobei das Leaderpeptid abgespalten wird. Dessen Funktion für die Erkennung des Präpropeptids durch das Enzym LabKC und für die Steuerung der korrekten Prozessierung ist ab dieser Stufe der Biosynthese nicht mehr erforderlich. Abschließend wird das Peptid (**75**) in den Extrazellulärraum exportiert.

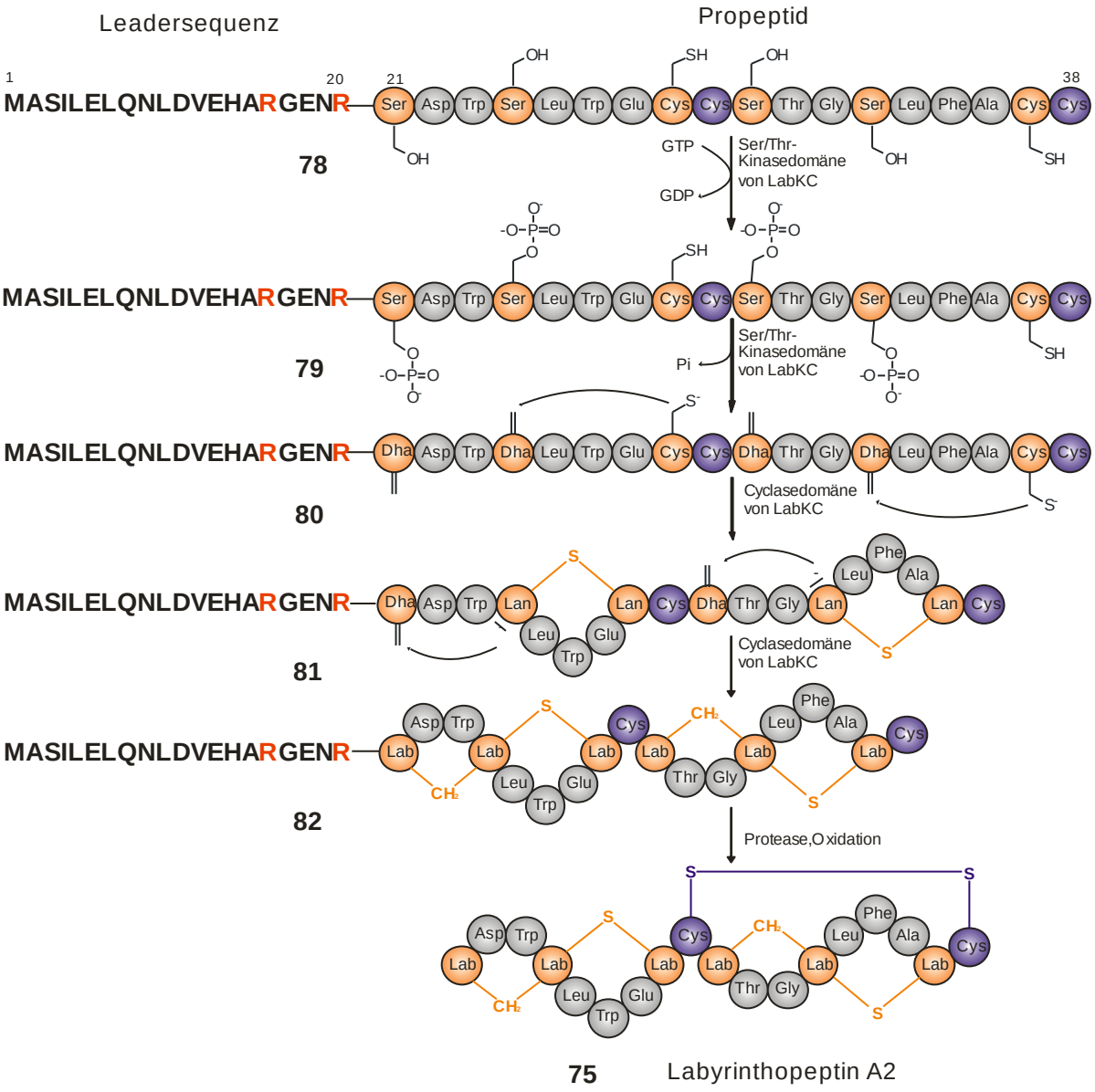


Abbildung 25: Biosynthesemodell von Labyrinthopeptin A2.[54]

Die Anordnung der Gene und die Leadersequenzen der Strukturgene *labA1/A3* und *labA2* zeigen signifikante Homologien zu Genclustern des Organismus *Streptomyces coelicolor*, welchem SapB als Biosyntheseprodukt zugeordnet wurde.[18] Der Sequenzvergleich der Ser/Thr-Kinase-Gene *labKC* und *ramC*, der Strukturgene *labA1/A3/A3* und *ramS* und der Transportergene *labT1/T2* und *ramA/B* lässt eine evolutionäre Verwandtschaft beider Gencluster vermuten. Neuste, bisher unveröffentlichte Erkenntnisse deuten darauf hin, dass SapB die ungewöhnliche Aminosäure Lab enthält, was den aktuell gültigen Strukturvorschlag von Willey *et al.* widerlegen würde.

2.1.2.3.3 Pharmakologische Wirkung

Auf die Labyrinthopeptine wurde man erstmals aufmerksam, als ihre Aktivität gegen das *Herpes simplex*-Virus festgestellt wurde. Weiterführende *in vivo*-Experimente in Mäusen zeigten neben moderater antiviraler Wirkung auch signifikante Aktivitäten gegen neuropathischen Schmerz.[89] In einem sogenannten Nervenverletzungsmodell (*spared nerve injury*, SNI) wurde dabei eine Nervenverletzung an einer der Hinterpfoten einer Maus verursacht. Vor und sieben Tage danach wurde die durch den chirurgischen Eingriff hervorgerufene taktile Allodynie – übermäßiges Schmerzempfinden gegen Druck – gemessen. Hierbei wurde der sogenannte *paw withdrawal threshold* (PWT) bestimmt, d.h. der maximale Druck, mit dem eine Nadel gegen die Pfote der Maus gedrückt werden kann, bevor diese ihre Pfote zurückzieht. Nach intravenöser Verabreichung von Labyrinthopeptin A2 (0.01-3.0 mg/kg) in einer Ethanol/Solutol/Phosphat-gepufferten Kochsalzlösung wurde die Messung über 6 h und nach 24 h an der geschädigten und der nicht geschädigten Hinterpfote wiederholt. Die Werte der Messungen an der nichtgeschädigten Pfote gelten als maximaler Wirkungsgrad. Die Messungen wiesen auf eine dosisabhängige Wirksamkeit des Lantibiotikums hin. Es konnte eine signifikante Verminderung der taktilen Allodynie mit einem ED_{50}-Wert von 50 µg/kg und eine über 6 h stabile Effizienz von 100 % beobachtet werden. 24 h nach der Verabreichung war der anti-allodynische Effekt verschwunden. Diese Ergebnisse

übertrafen sogar die der Messungen mit der Vergleichssubstanz Gabapentin (Abbildung 26).

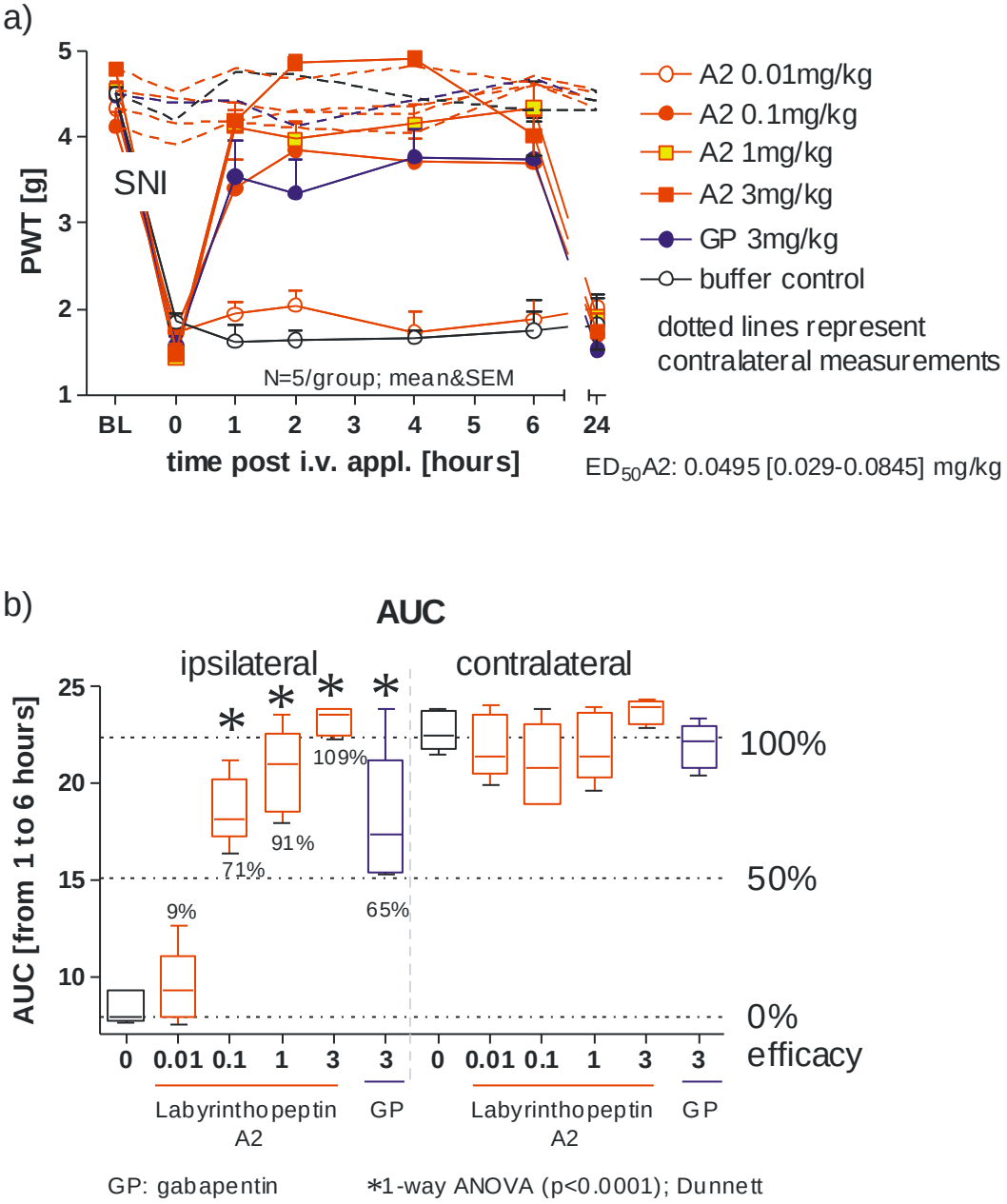


Abbildung 26: Neuropathisches Schmerzmodell in der Maus.[89] a) Messung der taktilen Allodynie vor (BL) und sieben Tagen nach (0 h) der chirurgischen Nervenverletzung. Nach intravenöser Gabe von **75** (A2), Gabapentin oder Vehikel (Ethanol/Solutol/Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung, 1:1:18), wurde die Messung über 6 h und nach 24 h an der geschädigten und der nicht geschädigten Hinterpfote wiederholt. B) Berechnungen der Fläche unter der Kurve (*area under the curve*, AUC) zwischen 1 h und 6 h nach intravenöser Gabe. Die taktile Allodynie der geschädigten Hinterpfote entspricht 0 % Wirksamkeit, die der nicht geschädigten Hinterpfoten zeigt die maximal mögliche Wirkstärke (100 %) an. Die intravenöse Gabe von **75** führt zu einer dosisabhängigen Wirksamkeit.

Ähnliche analgetische Wirkungen wurden für Lantibiotika zuvor nicht beschrieben. Peptidische Naturstoffe, welche aus Spinnengiften[95,96] isoliert wurden, oder Conotoxine aus Kegelschnecken[97,98] hingegen sind für derartige Aktivitäten bekannt. Als Beispiel kann hier GsMTx4, ein Toxin im Gift der chilenischen Tarantel *Grammostola spatulata*, aufgeführt werden.[95] Das 34 Aminosäuren lange Peptid besitzt drei disulfidverbrückte Zyklen, welche durch Cystineinheiten ausgebildet werden. Oh *et al.* wiesen dessen Aktivität gegen Hyperalgesie und Allodynie nach.[95] Der Grund wird in der Inhibierung von Kationenströmen durch mechanosensitive Ionenkanäle vermutet.
Die Messergebnisse des *in vivo*-Experiments mit Labyrinthopeptin A2 können als vielversprechende Grundlage für die Entwicklung neuer, effektiver Medikamente zur Behandlung von neuropathischem Schmerz dienen.

2.2 Methoden zur Synthese zyklischer Peptide

Zyklische Peptide weisen eine Reihe signifikanter Vorteile im Vergleich zu linearen Verbindungen auf, welche bei der Entwicklung neuer Pharmaka von großem Nutzen sein können.[99] So ist beispielsweise die hohe Resistenz gegenüber proteolytischem Verdau durch Enzyme auf ihren zyklischen Aufbau zurückzuführen. Diese Eigenschaft ist auch für Naturstoffe mit hohem Anteil an D-Aminosäuren oder anderen nichtproteinogenen Bausteinen bekannt. Als Beispiel kann an dieser Stelle das Hormon Somatostatin genannt werden, das ausschließlich intravenös verabreichbar ist und sich *in vivo* in wenigen Minuten abbaut. Nach intensiver Untersuchung der metabolischen Stabilität fand man heraus, dass das zyklische Hexapeptid Minisomatostatin besonders wirkungsvoll ist.[100] Der Naturstoff wurde auf die Sequenz, welche für die biologische Wirkung notwendig ist, verkürzt. Durch die anschließende Zyklisierung findet eine konformative Fixierung statt, wodurch das lineare Peptid nicht mehr im Gleichgewicht verschiedener Konformationen vorliegt. Die hierdurch hervorgerufenen entropischen Effekte durch Reduzierung der Flexibilität führen zur Schwächung der Wechselwirkungen mit verschiedenen anderen Rezeptoren oder Abbauenzymen und zur Zunahme an metabolischer

Stabilität. Ist also die Konformation eines zyklischen Wirkstoffs bekannt, können Rückschlüsse auf die Struktur der Rezeptor-Bindetasche gezogen werden. Zyklopeptide eignen sich daher hervorragend für die Untersuchung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen (SAR).

Bei Peptidringen unterscheidet man zwischen *homodeten* und *heterodeten* Verbindungen. Man spricht von *homodet*, wenn ausschließlich Peptidbindungen enthalten sind, es sich also um reine Lactame handelt. *Heterodet* werden Zyklopeptide bezeichnet, wenn sie neben Amidbindungen zusätzlich noch Lacton, Thioether- oder Disulfidbindungen enthalten. Die Synthese von Thioethern wurde in Abschnitt 2.1.1 bereits ausführlich behandelt. Im Folgenden werden ausschließlich *homodete* Peptide beleuchtet. Es existieren vier Möglichkeiten Zyklisierungen innerhalb eines Peptids durchzuführen:

- *head to tail*- bzw. *end to end*-Zyklisierung: *C*- und *N*-Terminus werden zu einem Lactam verknüpft.
- *sidechain to head/tail*-Zyklisierung: *C*- oder *N*-Terminus wird mit einer Seitenkette zu einem Lactam verknüpft.
- *sidechain to sidechain*-Zyklisierung: Amin- und Carboxyfunktion von zwei Seitenketten werden zu einem Lactam verknüpft (z.B. Lysin (Lys) mit Asp).
- *branched*-Zyklisierung: *C*- und *N*-Terminus eines verzweigten Peptids werden zu einem Lactam verknüpft.

Im Folgenden sollen hierfür Beispiele an fester und in flüssiger Phase gegeben werden.

2.2.1 Zyklisierung in Lösung

Die Theorie der Peptidsynthese ist allgemein bekannt und in der gängigen Literatur ausführlich beschrieben.[101] Es soll im Rahmen dieser Arbeit daher nicht näher auf dieses Thema eingegangen werden.

Die einfachste Vorgehensweise zyklische Peptide zu synthetisieren ist die Generierung eines linearen Peptids, welches mittels gewöhnlicher Peptidkupplung zwischen einer Amino- und einer Carboxyfunktion einer Zyklisierung unterworfen wird. Hierbei sind allerdings einige wichtige Faktoren zu beachten. Zunächst spielt die Konzentration, in der das lineare Peptid im Reaktionsgemisch vorliegt, eine große Rolle.[99] Ist sie zu hoch (> 0.1 M), ist zwar eine vollständige Umsetzung des Edukts zu erwarten, die Bevorzugung von inter- gegenüber intramolekularen Reaktionen ist hingegen nicht zu vermeiden. So treten mit hoher Wahrscheinlichkeit Di- und Trimere, wenn nicht sogar Polymere des Peptids auf, da aufgrund der räumlichen Nähe der einzelnen Moleküle diese nach Zugabe des Kupplungsreagenzes rasch miteinander abreagieren. Ist die Konzentration zu niedrig (< 1 µM), ist mit diesem kinetischen Phänomen zwar nicht zu rechnen, die Handhabbarkeit der Reaktion wird jedoch zunehmend schwieriger. Größere Überschüsse an Kupplungsreagenz müssen eingesetzt werden, damit diese bei hoher Verdünnung überhaupt auf die entsprechenden funktionellen Gruppen treffen. Zudem müssen große Mengen an Lösungsmittel verwendet werden, um das gewünschte Produkt in Grammmengen zu erhalten. Ein Mittelweg, die sogenannte Pseudoverdünnung, ist daher empfehlenswert. Die geeignete Konzentration kann anhand von Testreaktionen in einer Verdünnungsreihe ermittelt werden.

Ein weiterer bedeutender Faktor bei Zyklisierungsreaktionen ist die Ringgröße. Allgemein bekannt ist die rasche Bildung von Diketopiperazinen aus Alkyl-, Allyl- oder Benzylester-geschützten Dipeptiden mit freiem *N*-Terminus. Ebenso wie bei fünfgliedrigen Ringen, sorgt hier die große Nähe der funktionellen Gruppen und die Ausbildung eines stabilen Sechsrings für die effiziente, oft ungewollte Zyklisierung. Wird die Aminosäurensequenz verlängert, gestaltet sich der Ringschluss zunehmend schwieriger. Generell gilt: Je länger die Peptidkette und je weiter die zu verknüpfenden Gruppen voneinander entfernt sind, desto schwieriger ist die Zyklisierung. Zu beachten ist allerdings, dass der Ringschluss von Penta- und Hexapeptiden als effizienter beschrieben wird, als es bei Tri- und Tetrapeptiden der Fall ist. Dies ist auf die hohe Ringspannung zurückzuführen, welche bei sieben-, acht- und elfgliedrigen (*heterodet*) bzw. neun- und zwölfgliedrigen (*homodet*) Ringen vorzufinden ist.

Schließlich ist noch die Sterik zu erwähnen, welche einen entscheidenden Einfluss auf Zyklisierungsreaktionen haben kann. So wurde im Rahmen dieser Arbeit festgestellt, dass ein Ringschluss mittels Peptidkupplung zwischen *C*-terminalem Tryptophan (Trp) und der Aminofunktion eines α,α-disubstituierten Aminosäurebausteins erfolglos blieb (Abbildung 27). Trp als einzelne Aminosäure konnte hingegen problemlos an den quartären Baustein gekuppelt werden, was schließlich die Macrolactamisierung an einer anderen Stelle des Peptids – zwischen Trp und Asp – möglich machte (Abschnitt 4.2). Hieraus kann die Erkenntnis gezogen werden, dass, wenn möglich, der Ringschluss stets an der Stelle vollzogen werden sollte, an welcher der sterische Anspruch der benachbarten Substituenten am geringsten ist.

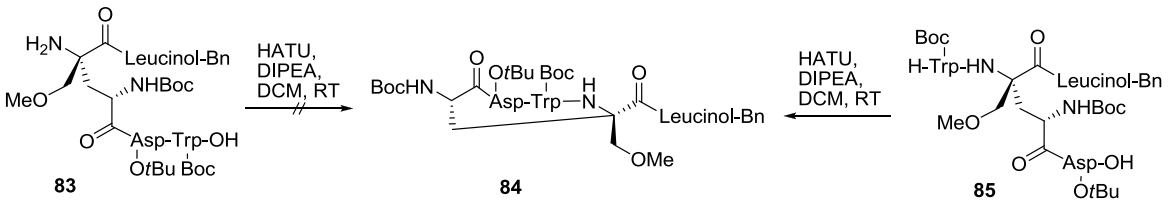


Abbildung 27: Beispiel einer *branched*-Zyklisierung mittels HATU-vermittelter Peptidkupplung (Abschnitt 4.2).

Eine erst kürzlich publizierte Zyklisierungsmethode basiert wesentlich auf einem Jahrzehnte altem Reagenz. 1988 fanden Tomkinson *et al.* heraus, dass sich 2,4-Dinitrobenzylsulfonamide hervorragend zur Aktivierung von Thioestern für die Darstellung von Amiden eignen.[102,103] Crich *et al.*[104] setzten hierfür 2,4-Dinitrofluorobenzol ein – das sogenannte Sanger-Reagenz, welches erstmals von dem Nobelpreisträger Frederick Sanger zur Sequenzanalyse von Peptiden verwendet wurde.[105] Mittels Boc-Schutzgruppenstrategie synthetisierten Crich *et al.* zunächst das lineare Peptid **86** mit einer *C*-terminalen Thioesterfunktion (Abbildung 28). Die Lys-Seitenkette lag Fmoc-geschützt vor und wurde mittels Behandlung mit Piperidin innerhalb weniger Minuten entschützt. Das dabei *in situ* gebildete Thiolat konnte sofort mit dem Sanger-Reagenz **87** zum 2,4-Dinitrofluorobenzyl-Aktivester **88** abreagieren und wurde schließlich unter Bildung einer Amidbindung von der Aminofunktion der Lys-Seitenkette angegriffen. Auf diese Weise gelang die *sidechain to tail*-Zyklisierung zu Glykopeptid **89** in einer

Gesamtausbeute von 20 %. Ein entscheidender Vorteil dieser Methode sind die milden Bedingungen, welche im Gegensatz zu anderen effektiven Kupplungsreagenzien Razemisierung und Nebenreaktionen unterdrücken können.

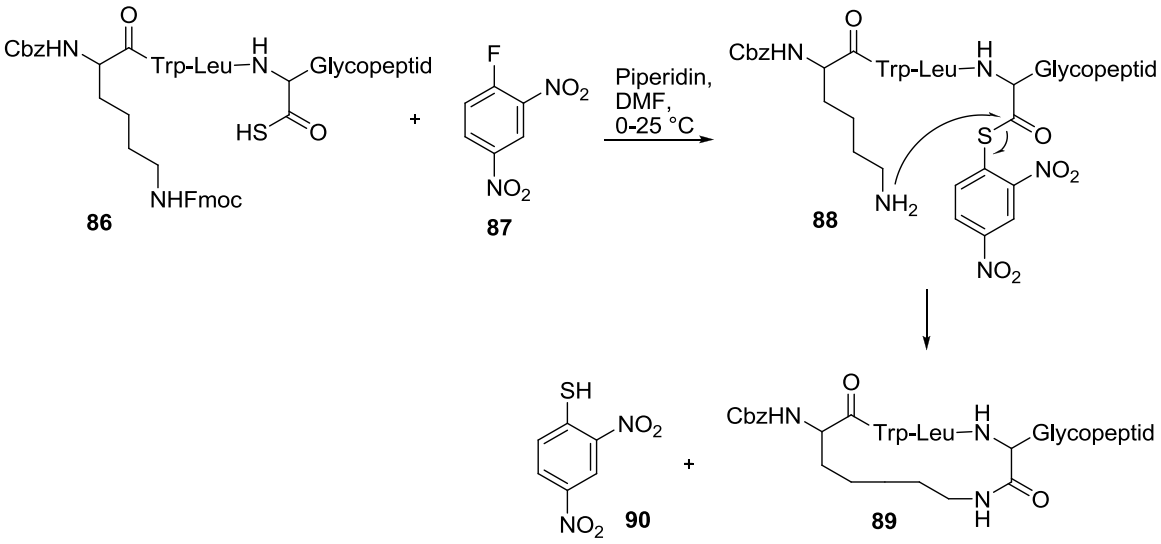


Abbildung 28: Beispiel einer *sidechain to tail*-Zyklisierung mittels Sanger-Reagenz.[104]

Eine weitere Variante Peptidbindungen ausgehend von Thioestern zu knüpfen, ist die sogenannte Staudinger-Ligation, welche sich von der gleichnamigen Reaktion ableitet. 1919 entdeckten H. Staudinger und J. Meyer,[106] dass bei der Vereinigung von Aziden mit Triarylphosphanen über einen viergliedrigen Übergangszustand unter Emission von N_2 Iminophosphorane gebildet werden (Abbildung 29). Diese Iminophosphorane können aufgrund ihres stark nucleophilen Stickstoffatoms mit einer Vielzahl von elektrophilen Funktionalitäten zur Reaktion gebracht werden. Wird die Reaktion beispielsweise in wässrigem Medium durchgeführt, so findet eine rasche Hydrolyse statt, wobei aufgrund der hohen Oxophilie von Phosphor Phosphan(V)-oxid und ein primäres Amin entstehen.[107] Diese Methode zur Reduktion von Aziden zu Aminen wurde unter dem Namen Staudinger-Reduktion bekannt.

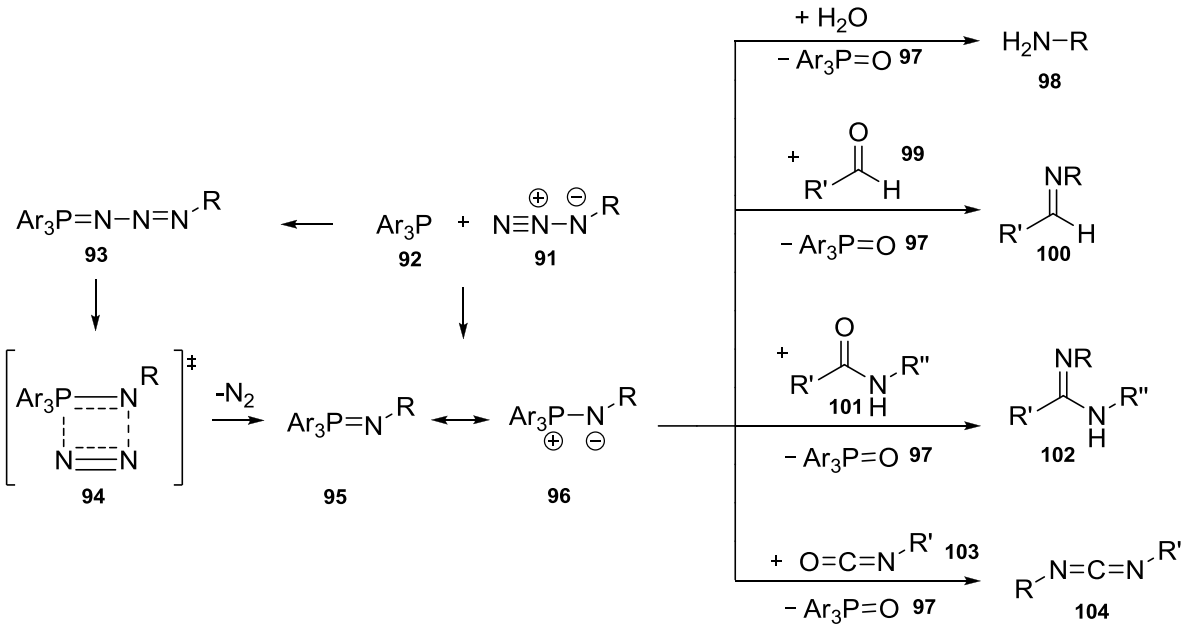


Abbildung 29: Prinzip der Staudinger-Reaktion mit verschiedenen Elektrophilen.

Auf der Grundlage dieser Namensreaktion entwickelten C. R. Bertozzi *et al.*[94-96] und R. T. Raines *et al.*[108-110] unabhängig voneinander die sogenannte Staudinger-Ligation. Als Elektrophile kommen hier Thioester zum Einsatz, welche mit Aziden zu Amiden verknüpft werden können. Raines *et al.* gelang mit dieser Strategie die Totalsynthese der 124 Aminosäuren langen Ribonuclease.[111] A. J. H. van Maarseveen *et al.*[112] bewiesen daraufhin, dass sich die Staudinger-Ligation auch für Zyklisierungsreaktionen eignet (Abbildung 30). Zunächst synthetisierten sie ein lineares Peptid (**105**), welches mittels einer Azidotransferreaktion mit Trifluormethansulfonylazid (TfN_3) in ein *N*-terminales Azid (**106**) umgewandelt wurde.[113] Der *C*-Terminus wurde mit Diphenylphosphanylmethanthiol und EDAC in den entsprechenden Thioester (**108**) überführt. Um vorzeitiges Abreagieren oder Schwefeloxidation des sehr reaktiven Thioesters zu verhindern, wurde das Phosphan zuvor als Borankomplex (**107**) geschützt. Die Entschützung zu **109** gelang mit 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO), woraufhin durch die Freisetzung des Phosphans eine intramolekulare Staudinger-Reaktion und anschließende Hydrolyse des Amidophosphoniumsalzes **113** erfolgte. Auf diese Weise konnten Sieben-, Acht- und Neunringlactame (**115**) aufgebaut werden, welche aufgrund ihrer ungünstigen Ringgröße mittels gewöhnlicher Peptidkupplung nicht zugänglich gemacht werden konnten.

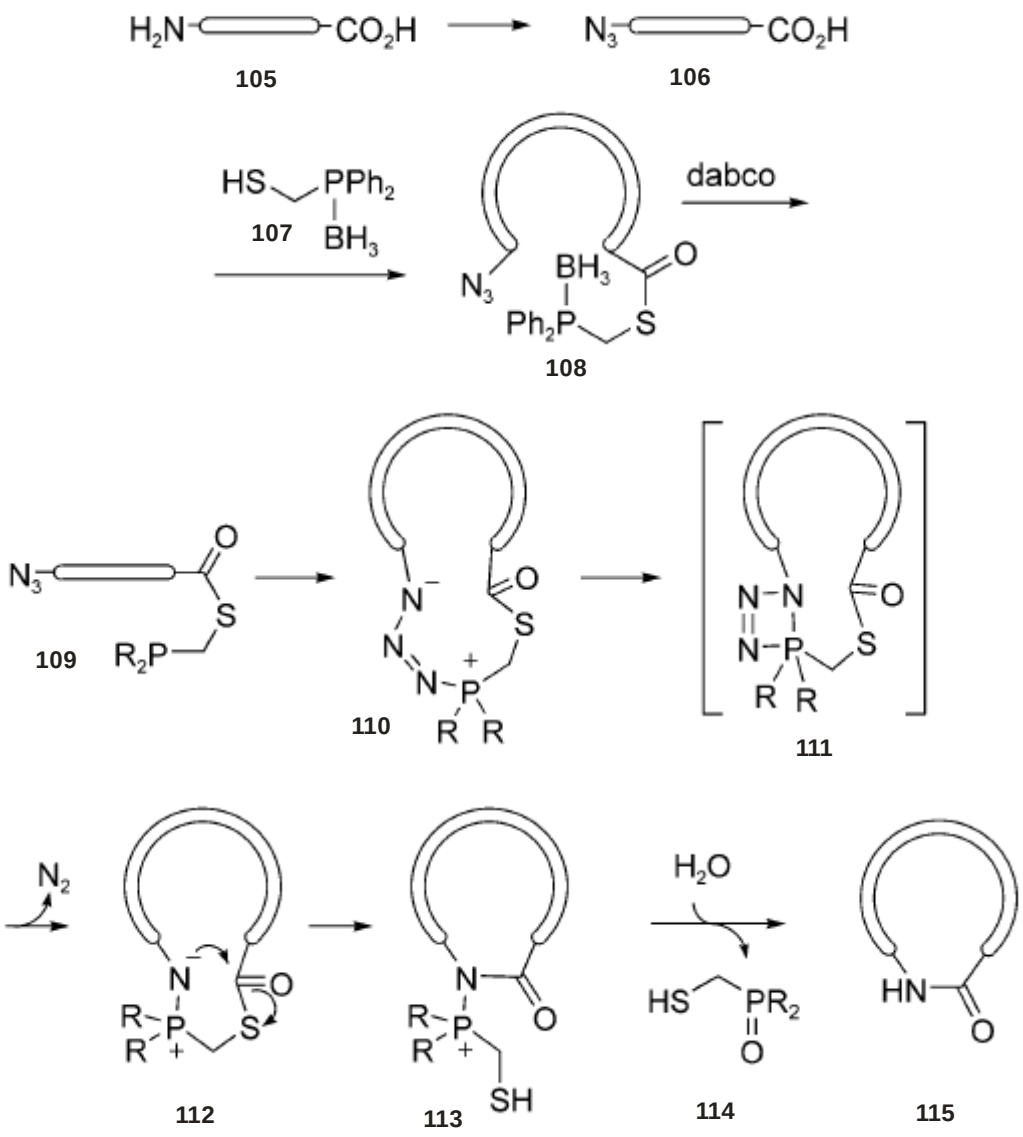


Abbildung 30: Mechanismus der Zyklisierung durch Staudinger-Ligation nach van Maarseveen *et al*.[112]

Ein klarer Vorteil dieser Methode liegt in der Azidogruppe. Sie kommt in fast keinem natürlich vorkommenden Molekül vor und ist somit „bioorthogonal“. Sie weist eine hohe Reaktivität auf und reagiert zudem mit einer sehr begrenzten Zahl von Reaktionspartnern. Die Azidogruppe besitzt einen geringen sterischen Anspruch und ist leicht einzuführen. Die Reaktion mit Phosphanen verläuft glatt ohne Zugabe von weiteren Reagenzien und hinterlässt keine schwer abtrennbaren Nebenprodukte, weshalb sie auch als rückstandslos (*traceless*) bezeichnet wird.[107]

2.2.2 Zyklisierung an fester Phase

Die zahlreichen Vorteile der SPPS liegen auf der Hand und sollen im Rahmen dieser Arbeit nicht näher beleuchtet werden. Methoden zur Synthese von Macrolactamen an fester Phase lassen sich in zwei Gruppen unterteilen. Zum einen kann das am Harz immobilisierte Peptid zyklisierend abgespalten werden, d.h. der Ringschluss findet während der Abspaltung statt, oder die Abspaltung wird durch den Ringschluss hervorgerufen. Zum anderen besteht die Möglichkeit Seitenkettenfunktionalitäten auf den polymeren Träger zu kuppeln, sodass *C*- und *N*-Terminus am Harz miteinander verknüpft werden können. Es sind dabei die gleichen Aspekte der Konzentration, der Ringgröße und der Sterik zu beachten wie bei der Synthese in Lösung. Die Konzentration lässt sich bei der SPPS natürlich nicht durch Verdünnung regeln. Hier findet die Kontrolle über die Harzbeladung statt. Um Zyklodimerisierung oder -oligomerisierung zu unterdrücken, sollte daher eine Beladung von 0.05-0.5 mmol/g gewählt werden.

Die Synthese des A-, B- und C-Rings von Bis(desmethyl) Lacticin 3147 A2 (Abschnitt 2.1.2.2) kann als Beispiel für eine *sidechain to head*-Zyklisierung aufgeführt werden (Abbildung 31).[33] Vederas *et al.* kuppelten die *C*-terminale Carbonsäure eines Lan-Derivats auf 2-Chlortritylchlorid-Harz und synthetisierten das Tripeptid **117**, dessen *N*-terminale Fmoc-Schutzgruppe anschließend abgespalten wurde. Durch Alloc- und Allyl-Entschützung des Lan-Rests und anschließender Peptidkupplung mit dem *N*-terminalen Arginin (Arg) wurde der intramolekulare Ringschluss des Lacticin-Rings C (**118**) möglich.

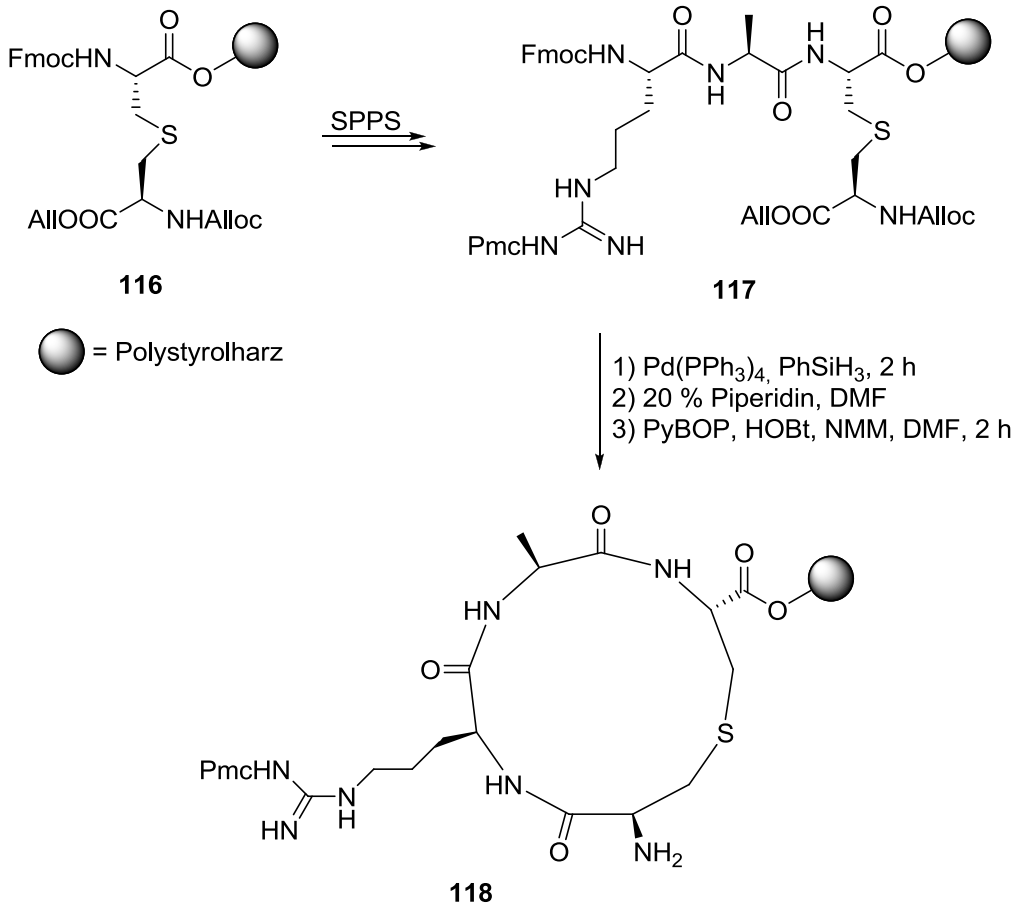


Abbildung 31: Beispiel einer *sidechain to head*-Zyklisierung zu Ring C von Bis(desmethyl) Lacticin 3147 A2.[33]

Zyklisierende Abspaltungen an fester Phase (*solid phase synthesis and cyclization cleavage*, SPS-CC) besitzen den enormen Vorteil, dass zwei entscheidende Reaktionen in einem Schritte durchgeführt werden können. Sowohl der Ringschluss als auch die Abspaltung des Peptids vom Harz können erhebliche Schwierigkeiten mit sich bringen. Beispielsweise basieren viele Harze bzw. Linker auf der Abspaltung durch starke Säuren, welche von unerwünschten Entschützungsreaktionen oder intramolekularen Ringschlüssen begleitet sein können. Gelingen beide Schritte im Zuge einer Reaktion, kann dies eine erhebliche Zeit- und Kostenersparnis bedeuten. Hierfür sind Harze mit speziellen Linkern notwendig, welche die Eigenschaft eines Aktivesters besitzen. Kumagai *et al.* setzten bei der Synthese eines zyklischen Segments von Elcatonin[114] beispielsweise das von W. F. DeGrado und E. T. Kaiser entwickelte *p*-Nitrobenzophenonoxim-Harz (**119**) ein.[115] Zunächst synthetisierten sie

das lineare Peptid **122** an fester Phase mittels Boc-Strategie. Die Freisetzung der *N*-terminalen Aminofunktion wurde durch TFA-Entsalzung mittels Triethylamin (TEA) vollzogen. Die Zugabe von Essigsäure induzierte schließlich einen nucleophilen Angriff des Amins auf die am Harz immobilisierte Carbonylfunktion. Die Oxim-Einheit fungiert hier als Abgangsgruppe, sodass der Ringschluss zwangsmäßig eine Abspaltung vom Harz zur Folge hat (Abbildung 32).

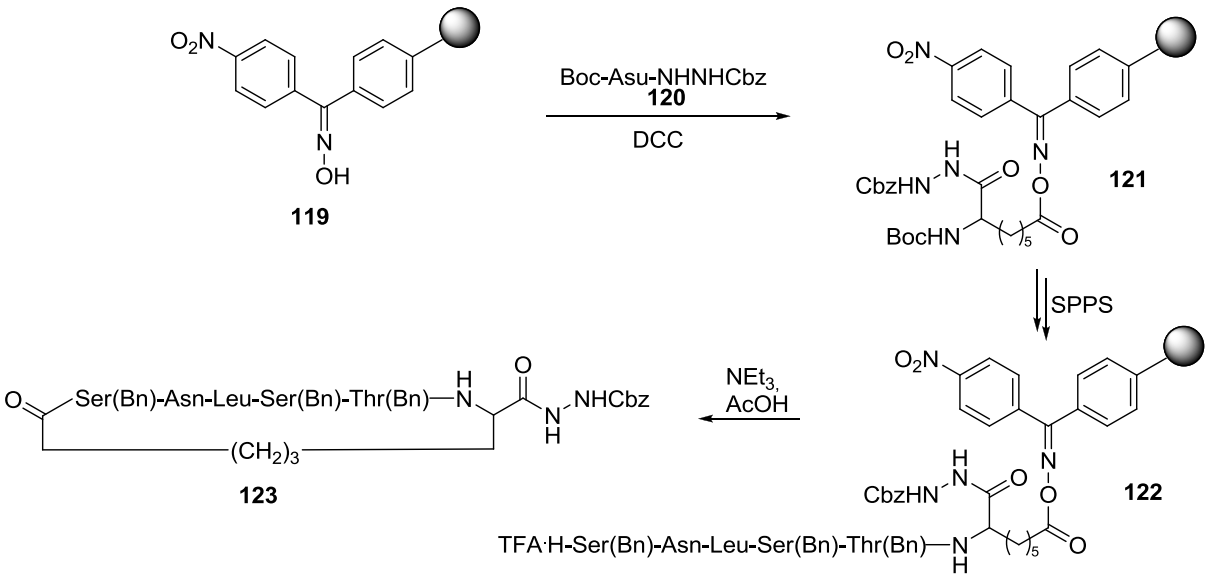


Abbildung 32: Synthese eines zyklischen Segments von Elcatonin (**123**).[114]

Auch bei der Synthese des Cyclodecapeptid-Antibiotikums Tyrocidin A durch J. W. Taylor *et al.*[116] kam der Oxim-Linker zum Einsatz. Die Zyklisierung gelang hier sogar ohne saure Katalyse durch Essigsäure (Abbildung 33).

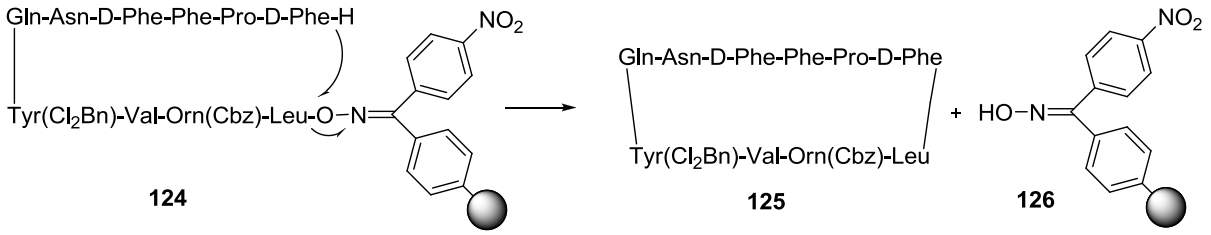
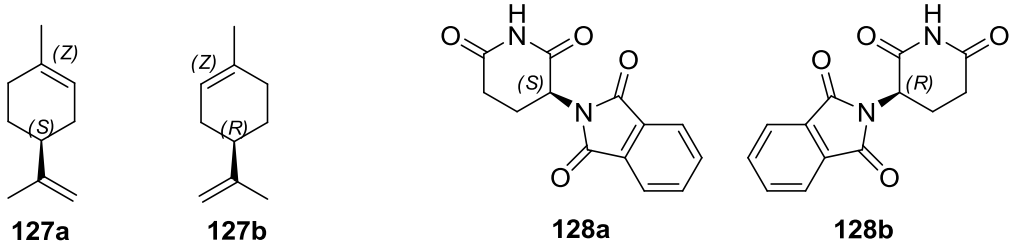


Abbildung 33: Synthese des Tyrocidin A-Rings (**125**).[116]

2.3 α,α-Disubstituierte Aminosäuren

Die von Lord Kelvin bereits 1904 geprägte Bezeichnung Chiralität leitet sich von dem griechischen Wort für Hand *cheir* ab und kann als „Händigkeit“ übersetzt werden. Sie beschreibt die Eigenschaft eines Objekts sich von seinem Spiegelbild zu unterscheiden. Ist ein Molekül chiral, so besitzt es ein Spiegelbild, welches sich in der Konfiguration mindestens eines Chiralitätszentrums unterscheidet. Man spricht hier von Enantiomeren bzw. Diastereomeren. Enantiomere sind durch achirale Methoden in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften nicht zu unterscheiden. Die Unterschiede in ihrer physiologischen Wirkung können hingegen enorm sein. Das (*S*)-konfigurierte Enantiomer des Terpens Limonen (**127a**) riecht nach Limone. Sein Spiegelbild (**127b**) hingegen sondert einen markanten Geruch nach Orange ab (Abbildung 34).[117] Ein weiteres Beispiel wurde im Rahmen des Contergan-Skandals weltweit bekannt. Das Medikament Contergan, welches schwangeren Frauen von 1958 bis 1962 als Schlafmittel verabreicht wurde, führte zur Missbildung der Extremitäten von Embryos, weshalb zu dieser Zeit in der BRD ca. 10 000 schwerstbehinderte Kinder zur Welt kamen. Grund hierfür war die unterschiedliche Wirkung der Enantiomere des Wirkstoffs Thalidomid (Abbildung 34). Die ®-konfigurierte Verbindung (**128b**) zeigt eine hervorragende sedative Aktivität und ist völlig harmlos. Allerdings kommt es im Körper auch bei Einsatz der enantiomerenreinen ®-Form zu einer Razemisierung des Chiralitätszentrums, wobei sich das (*S*)-(-)-konfigurierte Spiegelbildisomer (**128a**) bildet, welches eine starke teratogene Wirkung besitzt. Nur ca. 2600 der sogenannten Contergan-Kinder überlebten.



127a **127b** **128a** **128b**

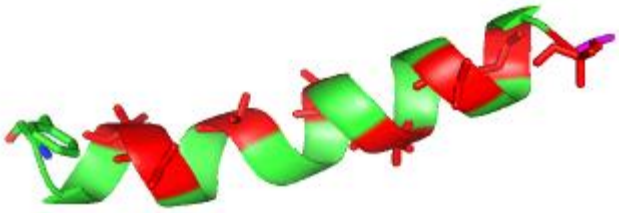
4-Isopropenyl-1-methylcyclohexan (Limonen)

N-(2,6-Dioxo-3-piperidy)-phtalimid (Thalidomid)

Abbildung 34: Enantiomerenpaare von Limonen (**127**) und Thalidomid (**128**).

Diese Beispiele verdeutlichen, dass Chiralität in der Natur eine äußerst bedeutende Rolle spielt. Die Synthese neuer Wirkstoffe basiert zunehmend auf enantioselektiven Methoden, was das stets wachsende Interesse an der Entwicklung stereoselektiver Synthesestrategien erklärt. Im Besonderen bei der Darstellung peptidischer Naturstoffe und deren Derivate im Rahmen der pharmazeutischen Wirkstoffforschung ist dies von herausragender Bedeutung. Tritt bei nur einer Aminosäure eines Peptids eine Razemisierung auf, kann dies fatale Auswirkungen auf dessen Wirkmechanismus haben.

Labyrinthopeptin A2 besitzt 17 Chiralitätszentren. Abgesehen von Gly trägt jede Aminosäure ein chirales α-Kohlenstoffatom, wovon zwei eine Besonderheit aufweisen. Es handelt sich dabei um die quartären Kohlenstoffzentren von Lab, einer in Naturstoffen einzigartigen α,α-disubstituierten α-Aminosäure. Eine strukturell verwandte Verbindung ist α-Aminoisobuttersäure (Aib).[118] Sie wurde bereits im Jahre 1872 beschrieben und ist die einfachste α,α-disubstituierte Aminosäure. Aib (**130**, Abbildung 36) ist in besonders hohen Anteilen in Peptaibolen[119] enthalten. Hierbei handelt es sich um antibiotisch wirkende, lineare, lipophile Peptide bestehend aus fünf bis zwanzig Aminosäuren und Molekülmassen zwischen 500 und 2200 Da. Der von Toniolo *et al.*[120] eingeführte Name dieser Substanzklasse leitet sich von der Primärstruktur ab: Peptaibole sind Peptide, die einen hohen Gehalt an Aib aufweisen. Als Beispiel sei hier Alamethicin (Abbildung 35)[121] genannt, das 1967 von Meyer und Reusser[122] aus *Trichoderma viride* isoliert wurde. Dieser weit verbreitete Bodenpilz produziert Alamethicin als komplexe Mischung aus bis zu zwölf verschiedenen homologen Peptaibolen. Für die Hauptkomponente (**129**) dieser Mischung postulierten Fox und Richards[123] eine α-helikale Struktur mit acht Aib- und zwei Prolinresten. Die Besonderheit von Alamethicin stellt seine Fähigkeit dar, in künstlichen und natürlichen Membranen Kanäle mit hoher spannungsabhängiger Leitfähigkeit zu bilden. Diese Eigenschaft begründet die antibiotische Wirkung der Verbindung bei Einlagerung in bakterielle Membranen.



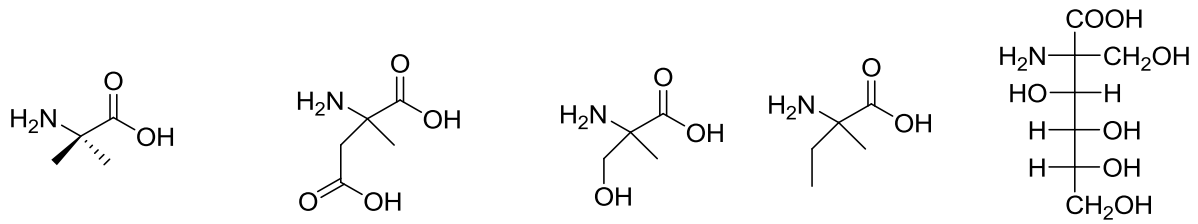
1 5 10 15 20

Ac-Aib-Pro-Aib-Ala-Aib-Ala-Gln-Aib-Val-Aib-Gly-Leu-Aib-Pro-Val-Aib-Aib-Glu-Gln-Phe-ol

129

Abbildung 35: Primärstruktur und schematische Darstellung der F30-Komponente von Alamethicin (**129**) mit hervorgehobenen Aib-Resten.[124]

In der Natur entstehen α,α-disubstituierte Aminosäuren durch Vorabsynthese oder durch posttranslationale Modifikation. Sie weisen eine Reihe bedeutungsvoller Merkmale auf, welche sie zunehmend in den Fokus der biochemischen Forschung rücken. Bei Peptiden, die Verbindungen dieser Substanzklasse enthalten, wurden erhöhte Stabilitäten gegen chemischen[125] und enzymatischen[126] Abbau festgestellt. Gesteigerte Rezeptorselektivität, verstärkte antibiotische Wirkung und Verringerung der Membranstabilität sind weitere beobachtete Eigenschaften. Andere α,α-disubstituierte Aminosäuren können wiederum als Enzyminhibitoren agieren, indem sie die Liganden ihrer natürlichen Analoga imitieren, die aktive Tasche des Enzyms blockieren und so eine enzymatische Reaktion verhindern.[127] Ein Beispiel hierfür ist α-Methylasparaginsäure (**131**), welche die Aspartat-Aminotransferase inhibiert.[128] Weitere natürlich vorkommende Vertreter sind α-Methylserin (**132**) als Bestandteil des Antibiotikums Amicitin[129,130] und 2-Amino-2-desoxy-2-hydroxymethyl-D-mannonsäure (**134**), das als Zwischenprodukt bei der Synthese des Antibiotikums Thermozymocidin auftritt (Abbildung 36).[131]



130 2-Aminoisobuttersäure (Aib)

131 2-Methylasparaginsäure

132 2-Methylserin

133 Isovalin

134 2-Amino-2-desoxy-2-hydroxymethyl-D-mannonsäure

Abbildung 36: Verschiedene natürlich vorkommende α,α-disubstituierte α-Aminosäuren.

Durch das tetrasubstituierte Kohlenstoffatom weisen α,α-disubstituierte Aminosäuren[132] eine hohe Stabilität auf und sind nicht dazu in der Lage Enolat-Intermediate auszubilden. Ebenso wird somit eine Razemisierung an der α-Position verhindert. Werden sie in eine Aminosäurensequenz eingebunden, führt dies zu konformativen Einschränkungen im Peptid-Rückgrat. Die Rotationsfreiheit der Bindungen zwischen dem α-Kohlenstoff und der Amino-Gruppe zum einen und dem α-Kohlenstoff und der Carboxy-Gruppe zum anderen wird hierdurch stark beeinträchtigt. Auf diese Weise können α,α-disubstituierte Aminosäuren durch ihre Einbindung in eine Aminosäurensequenz bestimmte Sekundärstrukturen induzieren. So stellte man fest, dass Aib ein hohes Helix-induzierendes Potential besitzt, was am Beispiel von dem bereits erwähnten Alamethicin verdeutlicht werden kann. Dessen α-helikale Struktur wird vom hohen Aib-Gehalt in der Sequenz verursacht.

2.3.1 Stereoselektive Alkylierung von α-Aminosäuren

Die Möglichkeiten der enantio- bzw. diastereoselektiven Synthese von α-Aminosäuren sind überaus vielfältig und können in dieser Arbeit nicht detailliert behandelt werden. Ein Artikel von C. Nájera und J. M. Sansano[133] gibt einen guten Überblick über die Thematik. Auch zur Darstellung quartär substituierter α-Aminosäuren sind bis heute zahlreiche Strategien entwickelt worden. Die wohl bekannteste ist die 1981 von U. Schöllkopf etablierte Bislactimether-Methode, welche auf der stereoselektiven Alkylierung eines Bislactimether-Lithiumsalzes basiert.[122,123]

Da die detaillierte Beschreibung dieser und anderer bedeutender Methoden den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde, sei an dieser Stelle lediglich auf die umfangreiche Literatur zu dieser Thematik verwiesen. C. Cativiela und M. D. Díaz-de-Villegas veröffentlichten 1998 einen ausführlichen Review-Artikel, der die bis dahin bekannte Literatur zur Synthese von azyklischen α,α-disubstituierten α-Aminosäuren zusammenfasst.[134] In einem zweiten Review aus dem Jahre 2000 vervollständigten sie den früheren Artikel mit einem Überblick über die Synthesemöglichkeiten von zyklischen α,α-disubstituierten α-Aminosäuren.[135] Bei der neuesten Publikation von H. Vogt und S. Bräse handelt es sich um eine Zusammenstellung sämtlicher Literatur zu diesem Thema, die zwischen 1998 und 2006 veröffentlicht wurde.[136]

2.3.1.1 Methode nach Seebach zur stereoselektiven α-Alkylierung von Serin

D. Seebach *et al.* veröffentlichten im Jahr 1996 einen Review-Artikel über Anwendungsmöglichkeiten und Grenzen eines Syntheseprinzips, das sie Selbstregeneration von Stereozentren (SRS)[125-128] nannten. Die Motivation zur Entwicklung dieses Prinzips gab ihnen die Suche nach einer Möglichkeit, Enolate von chiralen α-Amino- oder α-Hydroxysäuren so darzustellen, dass bei der Umsetzung dieser Verbindungen mit Elektrophilen eine Razemat-Bildung ausgeschlossen werden kann. Das Ergebnis ihrer Suche war eine Methode, bei der an einem chiralen Molekül zunächst diastereoselektiv ein Hilfschiralitätszentrum generiert und das ursprüngliche stereogene Zentrum durch Entfernen eines Substituenten trigonalisiert wird. Daraufhin wird ein neuer Ligand diastereoselektiv eingeführt und das temporäre Hilfsstereozentrum wieder entfernt. Die Abfolge dieser vier Schritte ermöglicht die asymmetrische Alkylierung von tertiären Kohlenstoffzentren unter SRS, ohne zusätzliche chirale Hilfsstoffe einsetzen zu müssen (Abbildung 37).

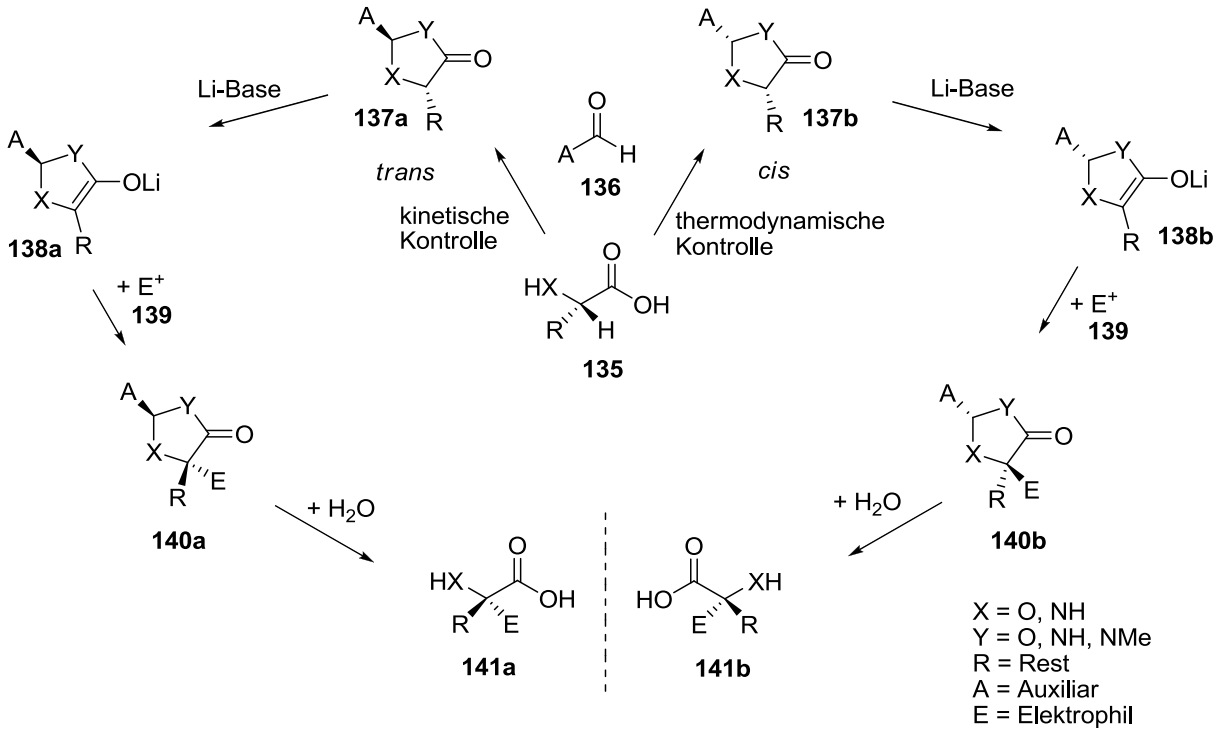
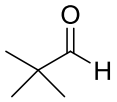


Abbildung 37: Stereoselektive Alkylierung des tertiären Kohlenstoffzentrums von **135** unter Inversion zu Verbindung **141a** bzw. unter Retention zu Verbindung **141b**.

Mit der Methode von Seebach *et al.* gelingt es 2- und 3-Amino- bzw. 2- und 3-Hydroxy- oder 2- und 3-Sulfanylcarbonsäuren unter Bildung von tertiären oder quartären Kohlenstoffzentren zu alkylieren. Das chirale Auxiliar wird hierbei aus einem Aldehyd (**136**) oder einem asymmetrischen Keton[137] gewonnen, welches mit dem zu alkylierenden Edukt (**135**) zum Acetal (**137**) zyklisiert wird. Bei dieser Reaktion kann sowohl der *cis*- (**137b**) als auch der *trans*-substituierte (**137a**) Heterozyklus entstehen, wobei in der Regel unter thermodynamischer Kontrolle das *cis*- und unter kinetischer Kontrolle das *trans*-Isomer bevorzugt gebildet wird. Der sich anschließende Schritt besteht aus der Enolat-Bildung durch Deprotonierung des Acetals mit einer Li-Base, meist Lithiumdiisopropylamid (LDA) oder Lithiumhexamethyldisilazanid (LHMDS). Obwohl hierbei das Stereozentrum der Ausgangsverbindung **135** aufgehoben wird, tritt bei der anschließenden Alkylierung des trigonalen Zentrums von **138** keine Razemisierung auf. Der sterische Einfluss des acetalischen Hilfszentrums sorgt für einen diastereoselektiven Verlauf des elektrophilen Angriffs und führt somit nach der Acetalspaltung idealerweise zu einem enantiomerenreinen Produkt **141**. Es können eine Vielzahl an gängigen Elektrophilen

eingesetzt werden, wie H^+, Alkyl-, Allyl-, Benzylhalogenide, α-Halogenester und -amide, Aldehyde, Ketone, α,β-ungesättigte Carbonylverbindungen oder Nitroolefine. Für die enantioselektive Substitution an einem Chiralitätszentrum ist nach dieser Strategie kein zusätzliches chirales Reagenz notwendig – darum der Name Selbstregeneration. Für die Acetalisierung setzten Seebach *et al.* bevorzugt Pivalaldehyd (**142**, Abbildung 38) ein, was eine Reihe von Vorteilen mit sich bringt:

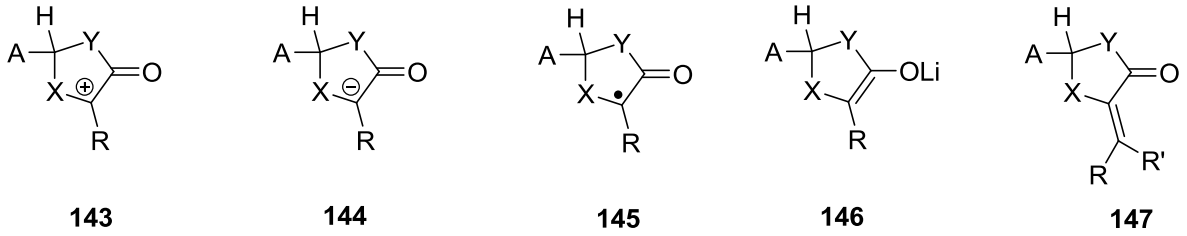
- Die sterisch anspruchsvolle *t*Bu-Gruppe ergibt besonders hohe Diastereoselektivitäten im Acetalisierungsschritt.
- Die Acetalisierungsausbeuten mit Pivalaldehyd sind in der Regel gut, mit einem Übergangsmetallkatalysator[138] von L. M. Venanzi[139,140] sogar nahezu quantitativ.
- Die *t*Bu-Gruppe bewirkt aufgrund ihres hohen sterischen Anspruchs besonders hohe Diastereoselektivitäten beim elektrophilen Angriff auf das trigonale Kohlenstoffzentrum.
- Die *t*Bu-Gruppe ist völlig unreaktiv und führt nicht zu Enol-Derivaten.
- Die *t*Bu-Gruppe erzeugt in NMR-Spektren scharfe Singulett-Signale und kann dadurch als nützliche Referenz bei der Analyse von Rohprodukten dienen.
- Pivalaldehyd ist großtechnisch zugänglich.
- Aufgrund seines niedrigen Siedepunkts von 74 °C kann Pivalaldehyd nach der Hydrolyse im letzten Syntheseschritt problemlos entfernt werden.



142

Abbildung 38: Struktur von Pivalaldehyd (**142**).

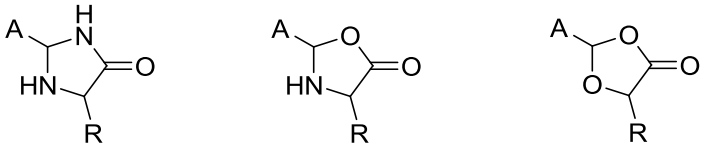
Das Anwendungsgebiet des SRS-Prinzips ist weitreichend. Die reaktive Zwischenstufe vor der diastereoselektiven Alkylierung kann ein kationisches (**143**), ein anionisches (**144**) oder ein radikalisches (**145**) trigonales Zentrum besitzen. Auch π-Elektronensysteme (**146**, **147**) sind bei dieser Methode anwendbar (Abbildung 39).



143 **144** **145** **146** **147**

Abbildung 39: Reaktive Zwischenstufe mit einem kationischen (**143**), anionischen (**144**), radikalischen (**145**) trigonalen Zentrum oder mit π-Elektronensystemen (**146**, **147**).

Des Weiteren bestehen verschiedene Möglichkeiten bei der acetalischen Struktur. Es kann sich um Imidazolidinone (**148**)[141] oder Oxazolidinone (**149**)[142] handeln, welche aus α-Aminosäuren gewonnen werden, sowie um Dioxolanone (**150**),[143] generiert aus α-Hydroxycarbonsäuren (Abbildung 40).



148 **149** **150**

Abbildung 40: Strukturen von Imidazolidinon- (**148**), Oxazolidinon- (**149**) und Dioxolanon-Derivaten (**150**). Die fünfgliedrigen Heterozyklen eignen sich für eine stereoselektive α-Alkylierung nach der Seebach-Methode.

Die Flexibilität dieser Methode macht sie für eine enorme Anzahl von Substraten einsetzbar. Allein mit den 22 proteinogenen Aminosäuren und den durch Diazotierung aus ihnen darstellbaren α-Hydroxycarbonsäuren steht eine große Bandbreite an chiralen Synthesebausteinen für die stereoselektive Alkylierung am Chiralitätszentrum nach dem SRS-Prinzip zur Verfügung.

2.3.1.2 Methode nach Oguri zur stereoselektiven α-Alkylierung von Glycin

T. Oguri *et al.*[144] veröffentlichten im Jahre 1978 eine Methode zur stereoselektiven α-Alkylierung von Gly, welche auf der von D. A. Evans[145] entwickelten Strategie basiert. 2-Hydroxypinan-3-on (**151**) wird als chirales Auxiliar in Form einer Schiffschen Base (**153**) an das Substrat geknüpft, welches anschließend durch Lithiumbasen in ein zweifach lithiiertes Enolat **154** überführt werden kann. Die Zugabe geeigneter Elektrophile (**155**) vermittelt eine Alkylierung der α-Position, welche aufgrund des sterischen Anspruchs des Hydroxypinanons stereoselektiv verläuft. Das Auxiliar kann schließlich mittels Zitronensäure wieder entfernt werden, wodurch der α-substituierter Gly-Ester **157** freigesetzt wird (Abbildung 41).

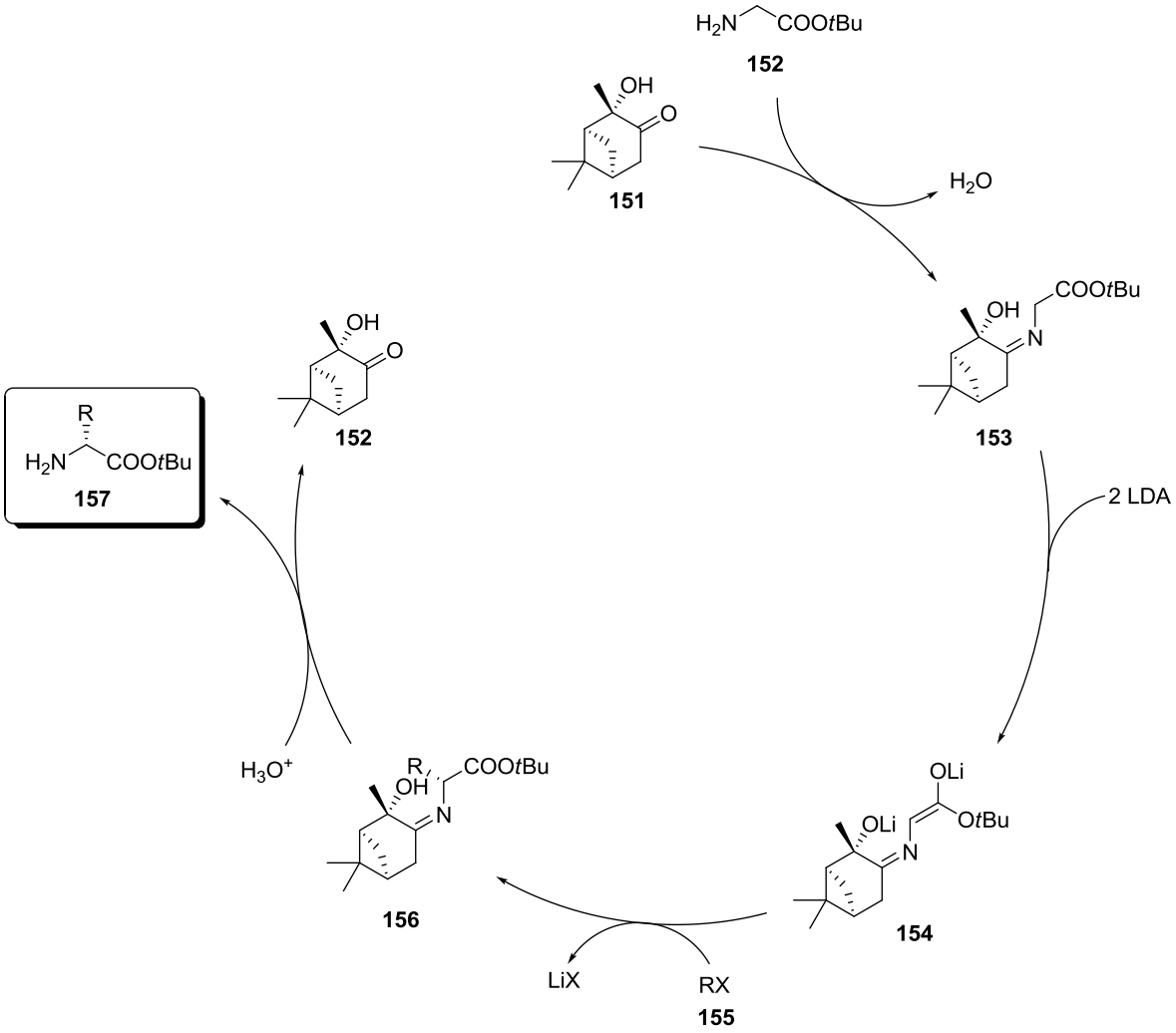


Abbildung 41: Stereoselektive Synthese von α-substituierten Gly-Estern nach T. Oguri *et al.*[144]

Untersuchungen von P. Viallefont *et al.* aus dem Jahre 1991 ergaben, dass der Einsatz von Lithiumbasen sehr hohe Diastereoselektivitäten ergab, wohingegen andere Basen, wie *t*BuOK, zu geringen diastereomeren Überschüssen führten. Des Weiteren stellten sie fest, dass die Selektivitäten stark von der Größe der Estergruppierung abhängig waren. 1993 publizierten Solladié-Cavallo *et al.*[146] ein überzeugendes Modell, welches den mechanistischen Verlauf der Reaktion erklären würde. Sie schlugen einen Übergangszustand vor, in welchem die mehrfache Koordination von Li^+ zur Ausbildung von Aggregaten führt (Abbildung 42). Als Vergleich wurden Zimmerman-Traxler-Übergangszustände[147] in Aldolreaktionen herangezogen, bei welchen ebenfalls Enolate beteiligt sind und Metallaggregate ausgebildet werden. Analog hierzu konnte für die Oguri-Reaktion der dimere Komplex **158** ermittelt und NMR-spektroskopisch und kristallographisch charakterisiert werden.[148] Polymere Strukturen wurden nicht beobachtet, was auf das Lösungsmittel THF zurückzuführen ist. Als Elektronendonor sättigt es Metallkationen ab und unterdrückt zusätzliche Koordinationsmöglichkeiten. Die Stereoselektivität der Reaktion ist letztendlich auf die Stellung der OH-Gruppe des chiralen Auxiliars zurückzuführen. Vier Li^+-Atome koordinieren so an zwei Substratmoleküle, sodass die Hydroxyfunktionen nach innen zeigen und von Li-Kationen fixiert werden. Diese innere Seite des Enolats ist folglich durch ein zweites Enolat so stark abgeschirmt, dass der elektrophile Angriff nur von der gegenüberliegenden Seite, also der Außenseite des Dimers, erfolgen kann. So würde das beschriebene Modell die beobachteten hohen Diastereoselektivitäten erklären. Diese können durch Zugabe von Magnesiumsalzen auf bis zu 98 % *de* erhöht werden. Eine Erklärung hierfür ist die starke Koordinationskraft von Magnesiumionen, die den dimeren Komplex zusätzlich stabilisiert. Eine weitere Verbesserung der Stereoselektivitäten bei der Alkylierung konnte schließlich von Wehbe *et al.*[149] erzielt werden. Sie stellten fest, dass die *C*-terminale Schutzgruppe des Gly eine erhebliche Rolle spielt. Sterisch anspruchsvolle Reste sind kleineren, wie Methylestern, vorzuziehen. Die besten Ergebnisse konnten bei dem Einsatz eines *tert*-Butylesters mit über 99 % *de* erreicht werden.

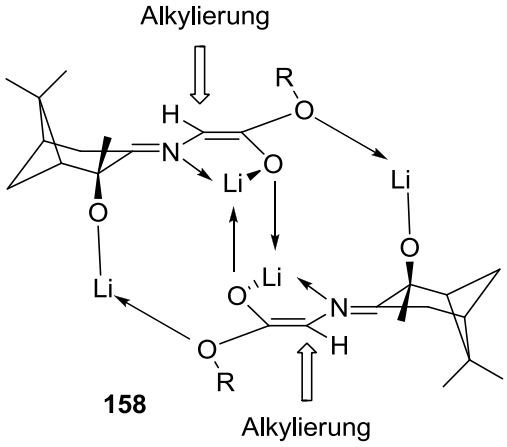


Abbildung 42: Dimer-Komplex zweier Lithiumenolate.

Auf der Grundlage dieser Ergebnisse stellt die Alkylierungsmethode von Oguri *et al.* ein hervorragendes Werkzeug für die stereoselektive Synthese ungewöhnlicher α-Aminosäuren dar.

3 Zielsetzung

3.1 Aufgabenstellung

Zielstruktur der vorliegenden Arbeit war der Naturstoff Labyrinthopeptin A2 (**75**), ein Sekundärmetabolit des Mikroorganismus *Actinomadura namibiensis*. Die cysteinreiche, polyzyklische Struktur (Abbildung 23), welche mittels Röntgenkristallstrukturanalyse aufgeklärt werden konnte, ließ die Einordung in die Klasse der ribosomal synthetisierten Lantibiotika zu. Aufgrund seiner signifikanten analgetischen Wirkung stellt das Peptid **75** eine höchst interessante Leitstruktur für die Entwicklung neuer biologisch aktiver Verbindungen dar. Die Gewinnung des Naturstoffs mittels Fermentation wurde zwar bereits beschrieben, der Zugang zu wirksameren oder besser applizierbaren Substanzen ist hierdurch allerdings nicht möglich. Zudem ist **75** aufgrund seiner Größe von fast 2 kDa wahrscheinlich nicht oral verfügbar, was die Suche nach kleineren Derivaten nahelegt, um eine schmerzvolle und schwerer praktikable intravenöse oder subkutane Anwendung zu umgehen. Die synthetische Darstellung des Naturstoffs oder von chemisch veränderten Analoga ist bisher nicht bekannt, stellt jedoch eine sehr interessante und anspruchsvolle Herausforderung für den Synthesechemiker dar. Ziel unserer Arbeitsgruppe war daher die Realisierung der ersten Totalsynthese in Lösung. Im Rahmen dieser Arbeit sollte hierfür der Grundstein gelegt werden. Hauptziel war es zunächst den zentralen α,α-disubstituierten Aminosäurebaustein zu synthetisieren, aus welchem schließlich die ungewöhnliche Aminosäure Lab aufgebaut werden sollte. Die Darstellung von quartären Kohlenstoffzentren ist hinreichend beschrieben. Die Synthese eines derart hochfunktionalisierten Derivats ist bisher allerdings unbekannt. Es galt also eine neue Synthesestrategie zu entwickelt, welche sämtliche notwendigen Bedingungen erfüllen würde. Zum einen musste die Ausbeute hoch genug sein, um ausreichend Substanz für die Realisierung der Totalsynthese in den Händen zu halten. Zum anderen sollte die Darstellung stereoselektiv erfolgen, um die Konfiguration des Naturstoffs in möglichst hohen Diastereomerenüberschüssen zu erhalten. Als besondere Herausforderung erwies sich außerdem die hohe Dichte an funktionellen Gruppen. Eine durchdachte Schutzgruppenstrategie war

Voraussetzung für eine orthogonale Funktionalisierung des zentralen quartären Bausteins.

Ausgehend von diesem Lab-Vorläufer sollte Ring A des Naturstoffs aufgebaut werden. Die Zyklisierung stellte dabei eine weitere Hürde dar. Nicht nur die kritische Ringgröße und der sterisch hohe Anspruch der Seitenketten und Schutzgruppen könnten zu Schwierigkeiten führen. Auch die selektive Funktionalisierung und die daraus resultierenden hohen Anforderungen an die Schutzgruppenchemie machten eine sorgfältige Planung der Synthesestrategie notwendig. Mit der Realisierung der A-Ring-Synthese wäre die Darstellung des A‘-Rings nur ein kleiner Schritt, da die darin enthaltenen Aminosäuren Thr und Gly weitaus leichter handhabbar sind. Die geringere Empfindlichkeit und Reaktivität und der kleinere sterische Anspruch der Seitenketten sollte den Einsatz derselben Synthesestrategie ermöglichen.

Die Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 könnte den Weg ebnen für die Entwicklung und Gewinnung neuer, biologisch aktiver Derivate. Zudem wird mit der Totalsynthese ein letzter Strukturbeweis des Naturstoffs erbracht. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, hierfür den Grundstein zu legen und eine effiziente Synthese zur Darstellung des A-Rings zu entwickeln.

3.2 Retrosynthetische Betrachtung

Die Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 soll durch die Fragmentkondensation der beiden 9mer-Peptide **161** und **162** erreicht werden (Abbildung 43). Möglich wäre dies durch Peptidkupplung zwischen den Aminosäuren Cys^{9} und Lab^{10}. Durch die finale oxidative Bildung einer Disulfidbrücke zwischen Cys^{9} und Cys^{18} könnte Ring C aufgebaut und somit die Zielverbindung **75** gewonnen werden. Die beiden 9mer-Peptide sollen aus Verbindung **163** bzw. **164** dargestellt werden. Geplant ist hierbei zunächst Lab zu generieren, indem ein Thioether zwischen dem zentralen quartären Baustein und dem entsprechenden Cys (Lab^{8} bzw. Lab^{17}) geknüpft wird. Anschließend könnten Ring B und B‘ durch Zyklisierung zwischen Lab^{4} und Leu^{5} bzw. Lab^{13} und Leu^{14} aufgebaut werden. Die Synthese der Ringe A (**165**) und A‘ (**167**) soll durch Peptidkupplung des α,α-disubstituierten Aminosäurederivats **169** mit

den entsprechenden Aminosäuren Asp[2] und Trp[3] bzw. Thr[11] und Gly[12] erfolgen, der sich eine Lactambildung zwischen Asp[2] und Trp[3] bzw. Thr[11] und Gly[12] anschließt.

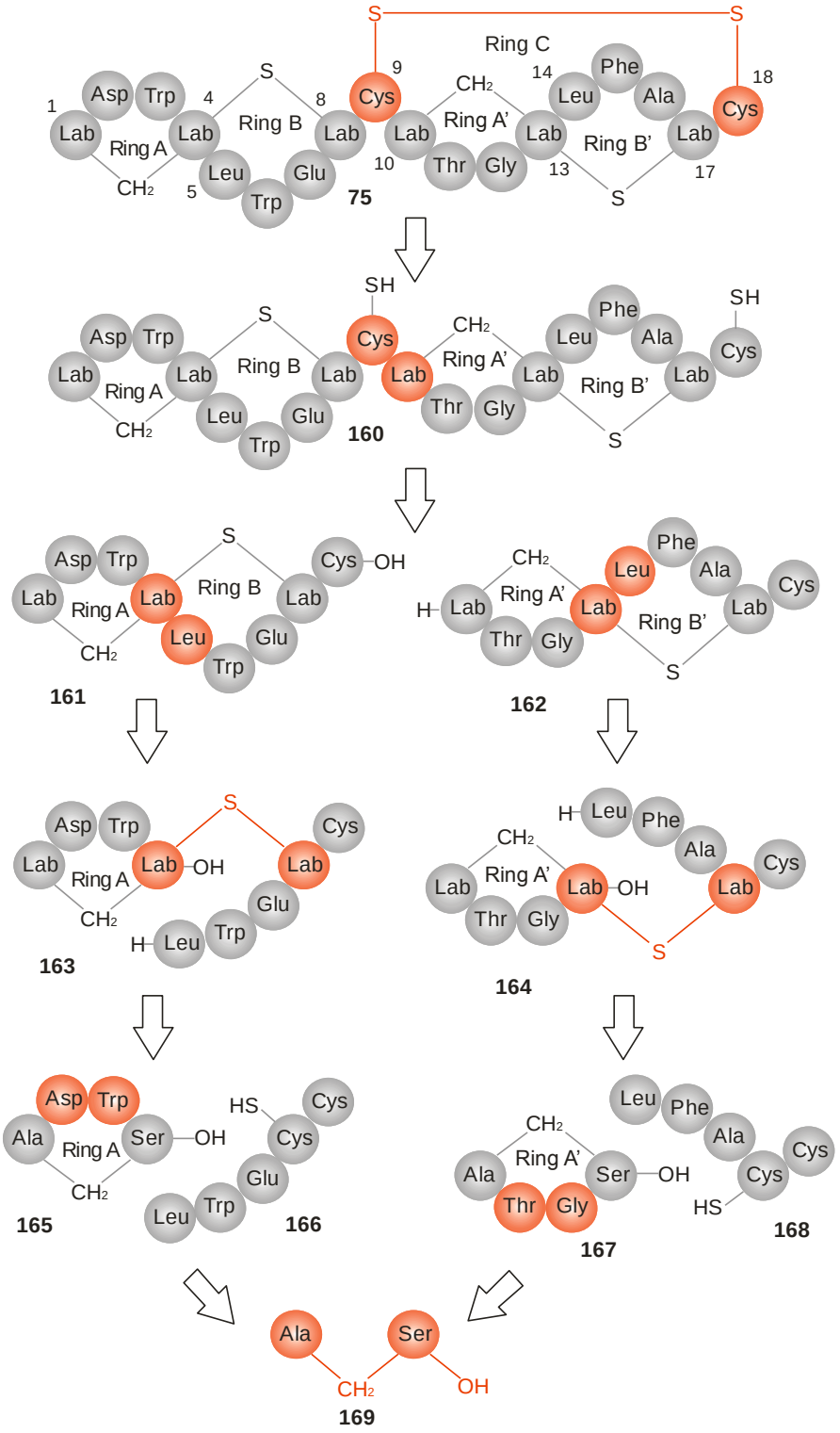


Abbildung 43: Retrosynthetische Betrachtung der Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 (**75**).

Als Ausgangsverbindung für die Totalsynthese sollte ein α,α-disubstituierter Aminosäurebaustein dienen. Dieser würde als Vorläufermolekül zum Aufbau von Lab fungieren. Hierbei könnte es sich um das Ser-Derivat **170** handeln, welches mit einem weiteren Gly über eine Methylenbrücke zwischen den jeweiligen α-C-Atomen verknüpft ist. Die Darstellung wäre mithilfe einer geeigneten Alkylierungsmethode ausgehend von gewöhnlichen Aminosäuren möglich. Im Rahmen dieser Arbeit sollten zahlreiche Verfahren getestet und optimiert werden, um sie zur Synthese des Lab-Vorläufers einzusetzen (Abbildung 44).

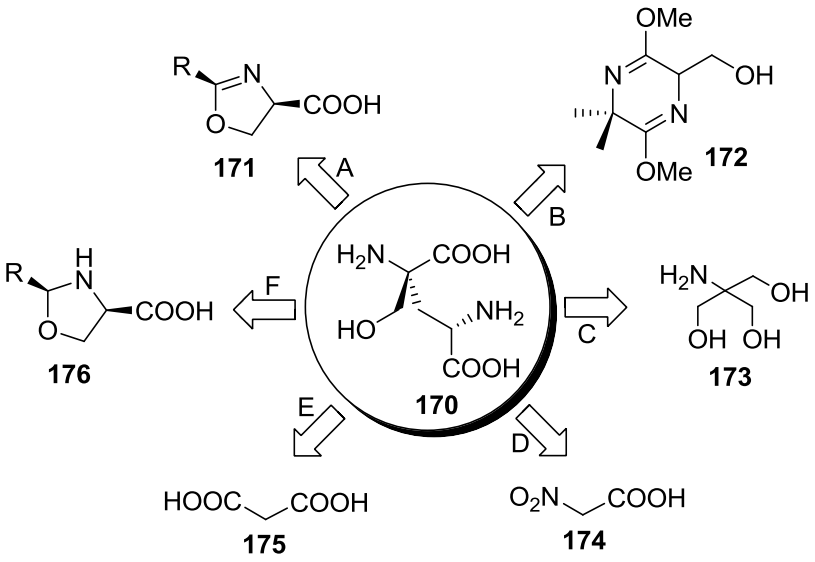


Abbildung 44: Synthesemethoden zur Darstellung des α,α-disubstituierten Lab-Vorläufers **170** mittels A: Michael-Addition, B: Schöllkopf-Synthese, C: Selektive Funktionalisierung von Tris(hydroxymehtyl)aminomethan, D: Alkylierung von Nitromethan, E: Alkylierung von Malonsäure und Kolbe-Nitril-Synthese, F: Seebach-Alkylierung.

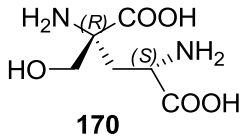
4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Synthese eines α,α-disubstituierten Aminosäurebausteins für die Synthese des A-Rings von Labyrinthopeptin A2

Die Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 (**75**) beinhaltet zahlreiche diffizile Schlüsselschritte, welche sorgfältig aufeinander abgestimmt werden müssen, um unerwünschte Nebenreaktionen zu vermeiden. Hierzu zählen die Zyklisierungsstrategien, die Generierung der Thioether und der Disulfidbrücke und die Fragmentkondensation der 9mer-Peptide. Die größte Herausforderung jedoch stellte die Synthese des zentralen α,α-disubstituierten α-Aminosäurebausteins dar. Nicht nur ausreichende Ausbeuten und Stereoselektivitäten mussten erreicht werden. Um die Verbindung später in die Sequenz des Labyrinthopeptins einzugliedern, war es auch zwingend notwendig, sämtliche temporären und permanenten Schutzgruppen während der Syntheseplanung so zu wählen, dass deren Einführung oder Abspaltung orthogonal und unter milden Bedingungen erfolgen konnte. Sowohl die *N*- und *C*-terminalen Peptidbindungen, als auch ein Thioether und eine Methylenbrücke mussten regio- bzw. chemoselektiv an das quartäre Zentrum des Bausteins geknüpft werden. Die Komplexität und hohen Ansprüche an diese Synthese waren der Anlass, die Generierung dieses α,α-disubstituierten Lab-Vorläufers als ersten Schritt der Totalsynthese zu wählen. Verbindung **170** (Abbildung 45) wurde als Zielmolekül dieser ersten Etappe definiert, da sie all die erwähnten Bedingungen erfüllt. Die Methylenbrücke liegt hier bereits im Molekül vor, wodurch eine komplizierte Alkylierungsreaktion auf einer späteren Stufe erspart bleibt. Der Baustein trägt eine *S*-Konfiguration am tertiären Kohlenstoffzentrum. Am quartären Zentrum hingegen ist eine *R*-Konfiguration vorgesehen, wohingegen der Naturstoff an dieser Position *S*-konfiguriert vorliegt. Der Grund hierfür ist die Hydroxyfunktion in der Seitenkette, welche nach Einbau des Moleküls in die Aminosäurensequenz in einen Thioether überführt werden soll. Dies hat eine Umkehr der Konfiguration zur Folge. Der Grund, eine Hydroxygruppe anstelle eines Thiols oder Thioethers für das Zielmolekül zu wählen, waren Stabilität und Handhabbarkeit. Cys ist sehr razemisierungsempfindlich und Thiole neigen stark zu Oxidation. Zudem ist die Auswahl an gängigen Schutzgruppen für Cys-Seitenketten eingeschränkt.

Meist findet die Trityl-Gruppe (Trt) Verwendung. Sie weist jedoch eine hohe Säurelabilität und einen enormen sterischen Anspruch auf, was bei der geplanten Synthese höchstwahrscheinlich zu Problemen führen würde. Die alternative *tert*-Butyl-Schutzgruppe ist nur unter drastischen, sauren Bedingungen abspaltbar, was die Orthogonalität der Schutzgruppenstrategie gefährden würde.

Bei dem Zielmolekül sollte es sich um eine Diaminodisäure handeln, um dessen Einbau in die Aminosäurensequenz durch simple Peptidknüpfung zu ermöglichen. Zur Gewährleistung der selektiven Adressierung der Funktionalitäten, war eine orthogonale Schutzgruppenstrategie notwendig, d.h. die Schutzgruppen aller fünf Funktionalitäten sollten selektiv einführbar und abspaltbar sein. Hierbei sollte es sich um möglichst milde Methoden handeln, um unerwünschte Nebenreaktionen, wie Razemisierung, Oxidation oder Hydrolyse, zu vermeiden. Des Weiteren sollten nach Möglichkeit nur gängige Schutzgruppen zum Einsatz kommen, deren Reaktivität und Reaktionsverhalten bereits ausführlich untersucht wurden. Auf diese Weise könnten unvorhergesehene und unerwünschte Nebenreaktionen auf einer späten Stufe der Synthese vermieden werden. Diese Bedingungen grenzen die Auswahl der heute bekannten Schutzgruppen stark ein. Ein genaues Studium der Schutzgruppenchemie und eine durchdachte, präzise Syntheseplanung waren daher Grundvoraussetzung dieses Projekts.



170

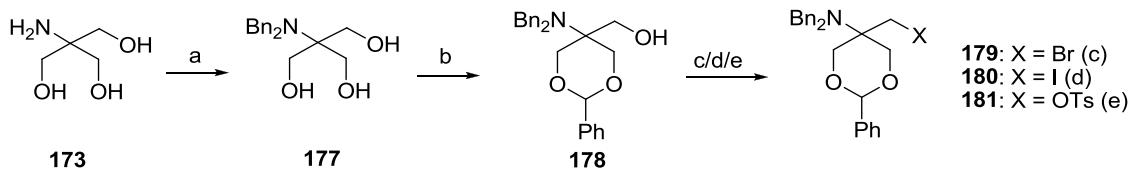
Abbildung 45: α,α-disubstituiertes Ser-Derivat als Zielmolekül.

Während der Forschungsarbeiten wurde eine Vielzahl an Synthesestrategien untersucht. Die detaillierte Beschreibung aller Ergebnisse würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Daher kann im Folgenden auf die Strategien, welche aufgrund unbefriedigender Resultate nicht weiter verfolgt wurden, nur kurz eingegangen werden, ohne die genauen Reaktionsmechanismen zu erläutern.

4.1.1 Razemische Methoden

Um rasch zu Ergebnissen zu gelangen und die Machbarkeit einer Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 zu belegen, wurde unter anderem die razemische Darstellung des Zielmoleküls **170** untersucht. Das dabei entstehende Diastereomerengemisch sollte anschließend chromatographisch getrennt werden, um ein enantiomerenreines Produkt zu erhalten.

Der direkteste Weg, den α,α-disubstituierten Aminosäurebaustein zu generieren, ist die selektive Funktionalisierung von Tris(hydroxymethyl)aminomethan **173** (Abbildung 44). Die problematische Darstellung des quartären Kohlenstoffzentrums, welche meist mit drastischen Reaktionsbedingungen und mäßigen Ausbeuten verbunden ist, kann hier umgangen werden, da dieses bereits in der Ausgangsverbindung enthalten ist. Lediglich eine Alkylierungsreaktion wäre notwendig, um die Aminosäurefunktionalität in der Seitenkette einzuführen. Hierzu wurde zunächst die Aminogruppe dibenzyliert. Die doppelte Schützung geschah aus zwei Gründen. Zum einen sollte verhindert werden, dass ein acides Wasserstoffatom am Stickstoff zurückbleibt, welches bei der anschließenden Alkylierung das angreifende Nucleophil protonieren und die Reaktion somit abbrechen könnte. Zum anderen sollte durch die vollständige Blockierung des *N*-Terminus eine Oxazolidinbildung als Konkurrenzreaktion zur anschließenden Acetalisierung unterdrückt werden. Durch diese Acetalbildung mittels Benzaldehyddimethylacetal wurde die Schützung von zwei der drei alkoholischen Seitenketten möglich. Die verbliebene freie Hydroxyfunktion konnte somit selektiv in eine geeignete Abgangsgruppe überführt und das Bromid **179**, das Iodid **180** und das Tosylat **181** generiert werden (Abbildung 46).



173 **177** **178**

Abbildung 46: Synthese der Acetale **179**, **180** und **181**. a) BnBr, Na_2CO_3, EtOH, H_2O, 80 °C, 17 h, 66 %; b) Benzaldehyddimethylacetal, CSA, abs. MeCN, 80 °C, 5 h, 79 %; c) CBr_4, PPh_3, abs. DCM, RT, 4 h, 76 %; d) I_2, Imidazol, PPh_3, abs. MeCN, abs. DEE, RT, 4 h, 73 %; e) TsCl, Pyr, 0 °C, 18 h, 86 %.

Daraufhin sollten die Bausteine **179**, **180** und **181** mittels einer C,C-Verknüpfung mit einem Gly-Derivat verbunden werden. Hierfür kamen die Verbindungen **183**, **186**, **189** und **191** zum Einsatz (Abbildung 47), welche durch entsprechende Schützungsreaktionen aus Gly hergestellt wurden. Zu beachten war zum einen die Orthogonalität der Schutzgruppen, zum anderen die Basenstabilität der Substrate, um bei der basenvermittelten Alkylierung keine Abspaltung der Schutzgruppen zu riskieren. Die Synthese von **189** gelang über zwei Stufen ausgehend von Nitromethan (**187**).

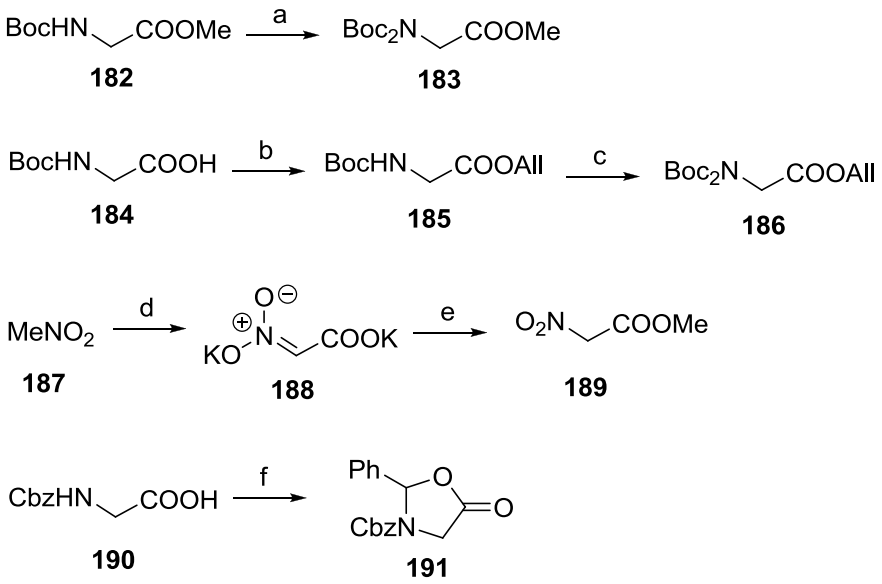


Abbildung 47: Synthese der Gly-Derivate **183**, **186**, **189** und **191**. a) Boc_2O, DMAP, abs. MeCN, RT, 20 h, 94 %; b) AllBr, Cs_2CO_3, abs. MeCN, RT, 21 h, 77 %; c) Boc_2O, DMAP, abs. MeCN, RT, 20 h, 80 %; d) KOH, H_2O, 100 °C, 2 h, 39 %; e) MeOH, H_2SO_4, -30 °C → RT, 19 h, 69 %; f) Benzaldehyddimethylacetal, BF_3Oet_2, abs. DEE, -78 °C → RT, 48 h, 46 %.

Leider konnte bei keinem der durchgeführten Versuche eine Umsetzung beobachtet werden (Abbildung 48). Die Edukte wurden unverändert aus dem Produktgemisch isoliert. Vermutlich verhindert der hohe sterische Anspruch der Schutzgruppen einen Angriff der Nucleophile. Weitere Testreaktionen mit sterisch weniger anspruchsvollen Schutzgruppen, anderen Basen oder unterschiedlichen Abgangsgruppen wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt.

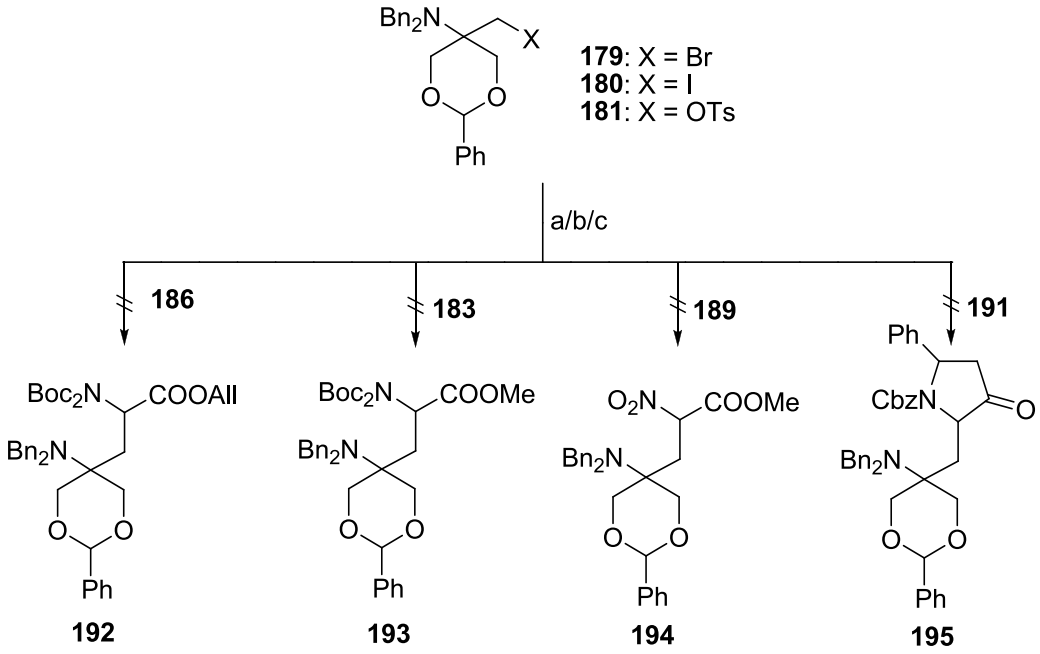


Abbildung 48: Alkylierung der Gly-Derivate **183**, **186**, **189** und **191**. a) LDA, DMPU, abs. THF, -78 °C → RT, 20 h; b) LHMDS, DMPU, abs. THF/Hexan, -78 °C → RT, 20 h; c) DIPEA, abs. DMF, 0 °C → RT, 20 h.

Eine altbewährte und ausführlich beschriebene Variante der Aminosäuresynthese ist die Schöllkopf-Methode (Abschnitt 2.3.1), mit welcher nicht nur mono-, sondern auch α,α-disubstituierte Aminosäuren gewonnen werden können.[150,151] Mithilfe dieses Verfahrens sollte die Synthese von Zielmolekül **170** auf zwei unterschiedlichen Wegen getestet werden. Zum einen sollte ein Bislactimether aus zwei identischen Ser-Derivaten aufgebaut werden, welcher in einer Alkylierungsreaktion mit einem entsprechenden β-Halogenalanin zur Reaktion gebracht werden sollte. Hierfür konnte Diketopiperazin **199** ausgehend von L-Ser gewonnen werden (Abbildung 49). Nach Schützung der Carboxy- und der Hydroxyfunktion war lediglich eine mehrtätige Lagerung bei Raumtemperatur nötig, um das Ser-Derivat in ein Diketopiperazin zu zyklisieren. Die anschließende Umwandlung mit Meerweinsalz in den entsprechenden Bislactimether wurde in verschiedenen Lösungsmitteln und bei unterschiedlichen Temperaturen getestet, verlief jedoch stets ohne Umsetzung (Abbildung 51). Diese Ergebnisse bestätigen Berichte der Arbeitsgruppe Schmid[152] aus dem Jahre 1985. Auch hier wird die Darstellung von **208** als erfolglos beschrieben.

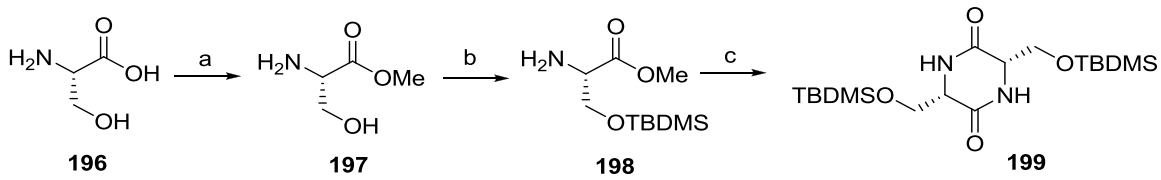


Abbildung 49: Synthese des Diketopiperazins **199**. a) $SOCl_2$, MeOH, 80 °C, 22 h, 97 %; b) TBDMSCl, TEA, DMAP, abs. DCM, RT, 22 h, 74 % c) HV, RT, 7 d, 22 %.

Eine alternative Strategie sah vor, einen Bislactimether aus Aib und Ser einer Alkylierung zu unterziehen. Hierfür konnten die Diketopiperazine **204** und **205** durch Peptidkupplung von Aib mit Ser und anschließender Zyklisierung bei 120 °C synthetisiert werden (Abbildung 50).

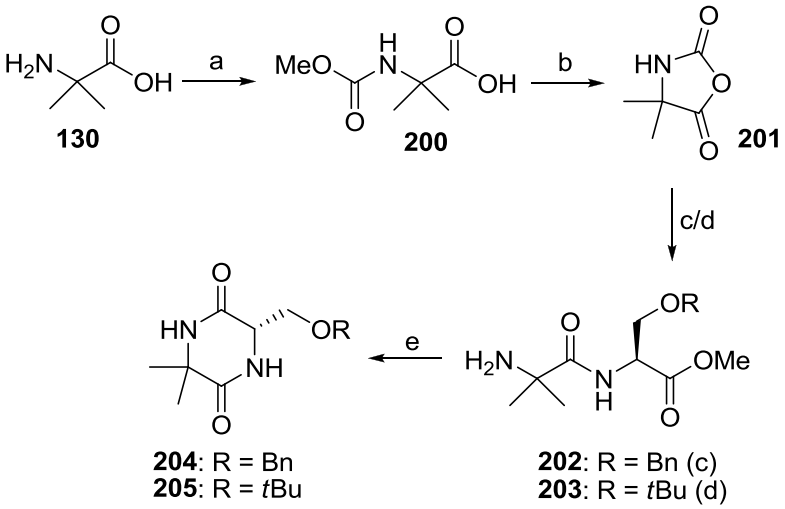


Abbildung 50: Synthese der Diketopiperazine **204** und **205**. a) Chlorameisensäuremethylester, 2N NaOH aq, 0 °C, 4 h; b) $SOCl_2$, abs. Hexan, 80 °C, 1 h, 86 % über zwei Stufen; c) HCl·H-L-Ser(Bn)-Ome, TEA, abs. $CHCl_3$, -60 °C, 18 h; d) HCl·H-L-Ser(*t*Bu)-Ome, TEA, abs. $CHCl_3$, -70 °C, 7 h; e) Toluol, 120 °C, 17 h, 89 % (**204**), bzw. 83 % (**205**) über zwei Stufen.

Doch auch hier schlug deren Umsetzung mit Meerweinsalz fehl (Abbildung 51). Der Grund könnte die enorme Stabilität des Diketopiperazins oder der hohe sterische Anspruch der Substituenten sein. Eventuell wäre die Darstellung eines Bislactimethers aus Aib und Gly möglich. Dieser könnte einer Alkylierung mit einem β-Halogenalanin und anschließend einer Henry-Reaktion zur Generierung der Hydroxymethylseitenkette unterzogen werden. Auf diese Weise würde man nach saurer Hydrolyse des disubstituierten Heterozyklus das Zielmolekül **170** erhalten.

Untersuchungen hierzu wurden jedoch nicht durchgeführt, da mit weiteren Problemen zu rechnen war. Mehrfach wurde über Schwierigkeiten bei der Hydrolyse von Bislactimethern berichtet, welche Aib enthalten. Statt vollständiger Spaltung in zwei Aminosäuren wird oftmals das nur schwer spaltbare Dipeptid erhalten.

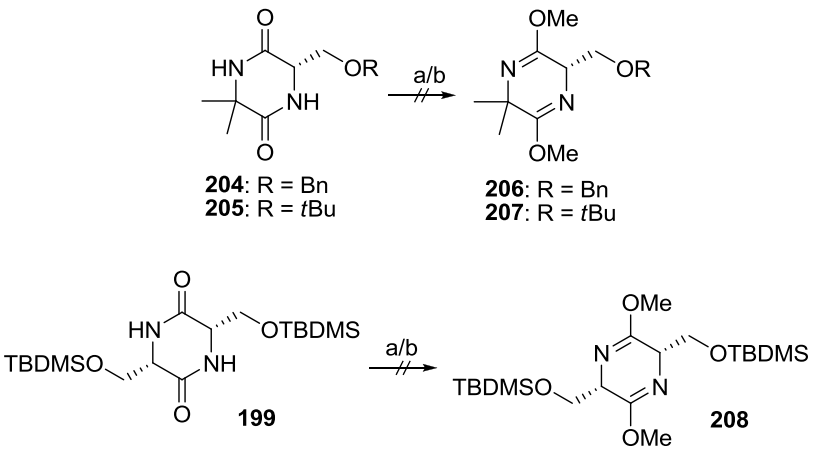


Abbildung 51: Darstellung von Bislactimethern (vgl. Schmid *et al.*[152]). a) $Me_3O^+BF_4^-$, abs. DCM, 20 – 40 °C, 72 h; b) $Me_3O^+BF_4^-$, abs. $CHCl_3$, 20 – 65 °C, 72 h.

Aufgrund dieser unvorhersehbaren Schwierigkeiten bei der Schöllkopf-Synthese wurden weitere Synthesestrategien entwickelt. Die α-Alkylierung von Malonsäureestern oder Nitroessigsäureestern sollte unter milden Bedingungen möglich sein. Die Aminofunktion am quartären Zentrum könnte anschließend über eine Curtius-Umlagerung bzw. die Reduktion der Nitrogruppe generiert werden. In beiden Fällen konnte eine Alkylierung beobachtet werden (Abbildung 52). Nitroessigsäuremethylester **189** konnte mit Bromalanin an der α-Position alkyliert und der Malonsäurediester **210** über eine S_N2-Reaktion in die entsprechende Tricarbonsäure **211** überführt werden. Die Einführung der zweiten Seitenkettenfunktionalität durch eine Henry-Reaktion, bei welcher eine Hydroxymethylgruppe durch nucleophilen Angriff auf Formaldehyd generiert wird, schlug hingegen unter allen getesteten Reaktionsbedingungen fehl. Zwar konnte im Falle von **213** mittels DC- und LCMS-Analyse die Bildung des gewünschten α,α-disubstituierten Produkts beobachtet werden. Dessen Isolierung war jedoch nicht möglich. Es liegt nahe, dass aufgrund einer Deprotonierung des Alkohols durch die benachbarte Nitrogruppe über den sechsgliedrigen Übergangszustand **214** eine

Abspaltung von Formaldehyd stattfindet. Dasselbe Problem wird bei der Synthese des Ser-Derivats **212** vermutet. Um diesen Vorgang zu unterdrücken, wurde der Versuch unternommen die Hydroxyfunktion *in situ* zu schützen, was jedoch nicht gelang. Die Formaldehyd-Eliminierung erfolgt offenbar so rasch, dass es nicht zur Ausbildung eines entsprechenden Ethers kommen kann. Auch Alkylierungsreaktionen mit Alkoxyhalogeniden, wie BOMCl oder MOMCl zeigten keinen Erfolg, was eventuell auf den hohen sterischen Anspruch der beteiligten Substituenten zurückzuführen ist, durch welchen der Weg für eine nucleophile Substitution versperrt sein könnte.

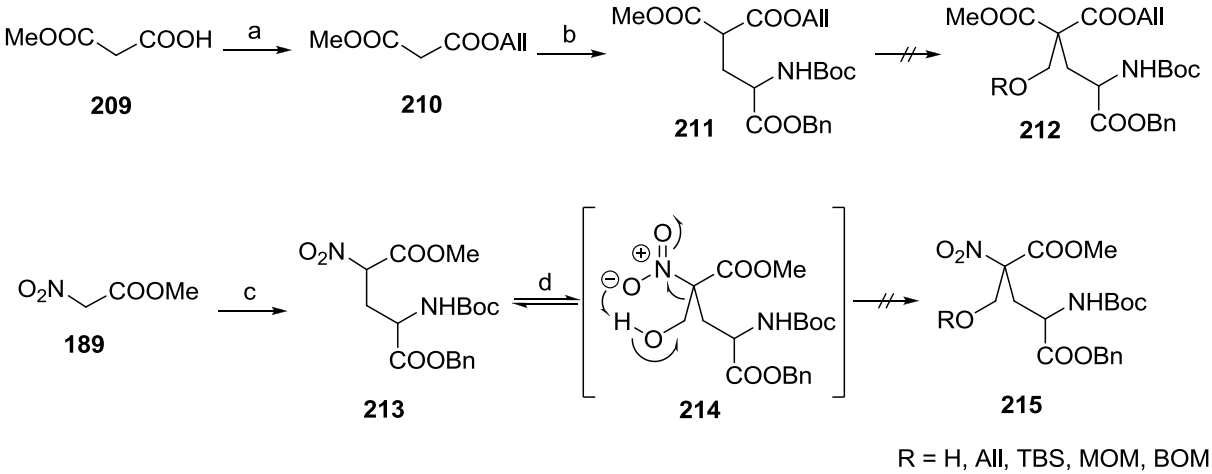


Abbildung 52: Alkylierung von Malonsäuremethylester bzw. Nitroessigsäuremethylester. a) AllBr, Cs_2CO_3, abs. MeCN, RT, 22 h, 80 %; b) Boc-L-β-Br-Ala-Obn, DIPEA, TBAB, abs. DMF, RT, 22 h, Ausbeute nicht bestimmt; c) Boc-L-β-Br-Ala-Obn, DIPEA, TBAB, abs. DMF, RT, 22 h, 71 %; d) 37 % CH_2O aq, K_2CO_3, DMF, RT, 24 h.

4.1.2 Stereoselektive Methoden

4.1.2.1 Michael-Addition nach Lee zur Darstellung von (2*S*)-α-(Hydroxymethyl)-glutaminsäure

Da Alkylierungen mit großen, sterisch anspruchsvollen Molekülen bei der Synthese des Zielmoleküls **170** keinen Erfolg zeigten, erschien es sinnvoll, das Hauptaugenmerk auf etablierte Alkylierungsmethoden zu legen, bei welchen möglichst kleine, aber reaktive Elektrophile eingesetzt werden. Hierdurch sollte die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen S_N2-Reaktion stark erhöht werden. Bei einer Michael-Addition eines tertiären Kohlenstoffzentrums an ein Acrylsäurederivat sollten diese Bedingungen erfüllt sein. Grundlage dieser Überlegungen stellte eine Publikation von Y.-J. Lee *et al.*[143] dar, welche die Synthese von (2*S*)-α-(Hydroxymethyl)-glutaminsäure beschreibt, deren Stereoselektivität durch den Einsatz des chiralen Phasentransferkatalysators **159** erreicht wurde. Dieses α,α-disubstituierte Ser-Derivat ist, abgesehen von der zusätzlichen Aminofunktion in der Seitenkette, nahezu identisch mit Zielmolekül **170**. Sollte es nun möglich sein diese Aminogruppe einzuführen, könnte **170** stereoselektiv über wenige Stufen zugänglich sein. Um die Machbarkeit dieser Strategie zu testen, wurde zunächst das Oxazolin **218** über zwei Stufen aus H-L-Ser-OBn (**216**) synthetisiert, welches als Nucleophil fungieren sollte. Anstelle des in der Publikation eingesetzten Acrylsäureesters, kam nun allerdings ein entsprechend geschütztes Dha **220** als Michael-Akzeptor zum Einsatz. Getestet wurden verschiedene Basen, Lösungsmittel und Reaktionsbedingungen (Abbildung 53). Jedoch konnte in keiner der durchgeführten Testreaktionen eine Umsetzung beobachtet werden. Ursache hierfür ist vermutlich eine ungenügende Reaktivität des Michael-Akzeptors. Im Gegensatz zum Acrylsäurester tritt beim Dha ein +m-Effekt durch die zusätzliche Aminofunktion auf, was zu erhöhter Elektronendichte in der Doppelbindung und einer reduzierten Elektrophilie des π-Elektronensystems führt. Dieser Effekt reduziert die Wahrscheinlichkeit einer Michael-Addition.

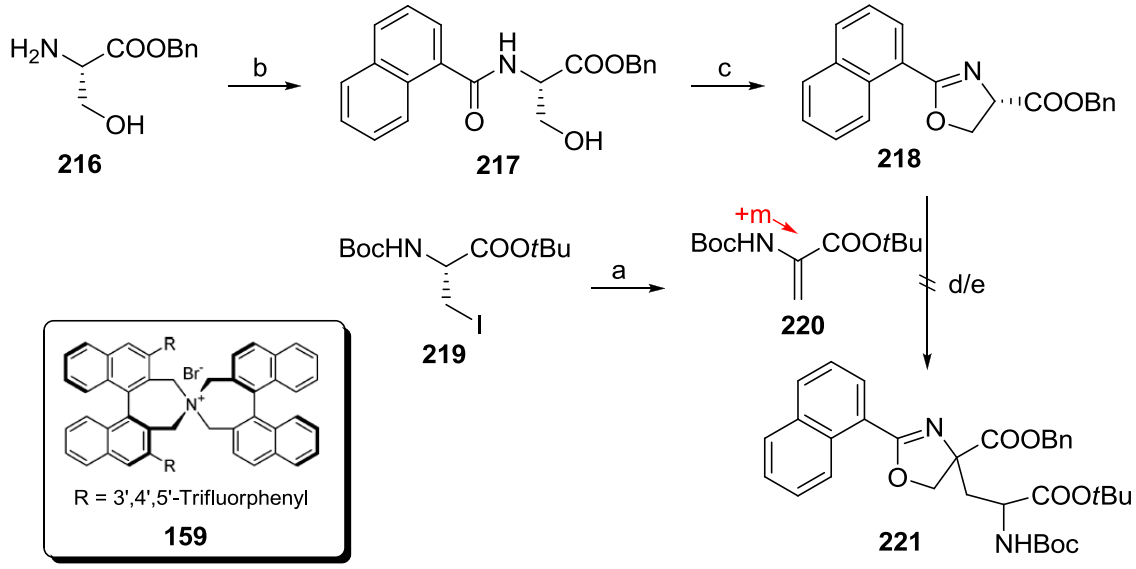


Abbildung 53: Alkylierung des Oxazolins **218** und Struktur des chiralen Phasentransferkatalysators **159**. a) LHMDS, abs. THF/Hexan, -78 °C → RT, 22 h, 71 %; b) Naphtoesäurechlorid, TEA, abs. DCM, 0 °C, 12 h, 85 %; c) DAST, abs. DCM, -78 → -20 °C, 16 h, 99 %; d) **220**, LHMDS, abs. THF/Hexan, -78 °C → RT, 30 h; e) **220**, BEMP, **159**, abs. DCM, -78 °C → RT, 30 h.

Um dem entgegenzuwirken, musste das Amin durch eine Funktionalität substituiert werden, welche einen geringeren Elektronenschub aufweist und in einem späteren Schritt in die Aminogruppe umgewandelt werden kann. Zwei Möglichkeiten stehen hier zur Verfügung. Zum einen würde sich die Nitrogruppe eignen, welche durch ihren starken Elektronenzug eine reaktivitätssteigernde Wirkung auf die Michael-Addition haben sollte und anschließend mittels Raney-Nickel zum Amin reduziert werden könnte.[153] Zum anderen wäre der Einsatz eines Bromids möglich, welches über eine S_N2-Reaktion durch eine geschützte Aminofunktion substituiert werden kann. Aufgrund der guten Zugänglichkeit eines entsprechenden Bromderivats, wurde zunächst diese Variante getestet. A-Bromacrylsäuremethylester (**223**) konnte aus kommerziell erhältlichem 2,3-Dibrompropansäuremethylester (**222**) gewonnen werden und wurde mit Oxazolin **218** zur Reaktion gebracht (Abbildung 54). Tatsächlich konnte hier eine Addition beobachtet werden. Anstelle der vorgesehenen Michael-Addition trat jedoch eine Art Kaskadenreaktion auf. Nach nucleophilem Angriff des heterozyklischen Anions auf den Michael-Akzeptor reagierte das daraus resultierende Addukt **224** mit einem weiteren Acrylsäurebaustein. Mittels NMR- und MS-Analyse konnte Produkt **225** identifiziert werden, dessen Bildung auch nach zahlreichen Modifikationen dieser Reaktion nicht unterbunden werden konnte.

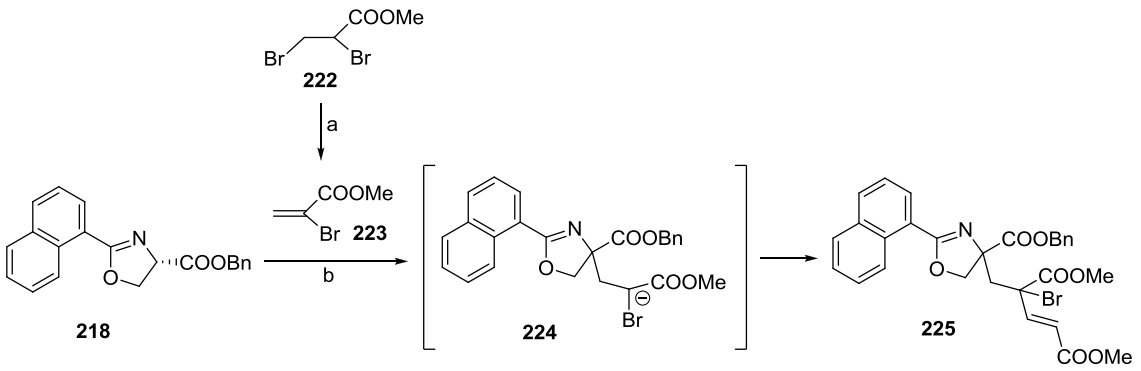


Abbildung 54: Michael-Addition von Oxazolin **218** mit Acrylsäureester **223**. a) TEA, abs. DEE, RT, 64 %; b) LHMDS, abs. THF/Hexan, -78 °C.

Ob diese ungewollte Nebenreaktion auch bei der Addition an α-Nitroacrylsäureestern auftritt, ist nicht bekannt. Im Rahmen dieser Arbeit konnten entsprechende Testreaktionen nicht durchgeführt werden. Es ist jedoch ratsam dies in Zukunft nachzuholen, da die Synthese von Zielmolekül **170** mithilfe dieser Strategie durchaus vorstellbar ist.

4.1.2.2 Methode nach Seebach zur stereoselektiven α-Alkylierung von Serin

Eine weitere Möglichkeit der stereoselektiven Darstellung quartärer α-Aminosäuren ist die Seebach-Alkylierung (Abschnitt 2.3.1.1). Mithilfe dieser etablierten und detailliert beschriebenen Methode konnten bereits zahlreiche ungewöhnliche Aminosäurederivate generiert werden. Die Synthese der Diaminodisäure **170** hingegen ist bisher gänzlich unbekannt. Sollte es möglich sein ein Oxazolidinderivat mithilfe dieser Alkylierungsvariante mit Ala zu verknüpfen (Abbildung 58), könnte Zielmolekül **170** über wenige Stufen stereoselektiv gewonnen werden. Um dies zu untersuchen, wurden drei verschiedene Oxazolidinbausteine dargestellt. Verbindung **227** war nach einem Protokoll von D. Seebach[154,155] über drei Stufen ausgehend von D-Ser mit einer Ausbeute von 93 % zugänglich. Hervorzuheben ist hier die Umwandlung des *trans*-Isomers von **226** in das *cis*-konfigurierte Molekül **227** während der Formylierungsreaktion. Dieser Vorgang ist auf eine vorübergehende Ringöffnung des Heterozyklus zurückzuführen, wie bereits von D. Seebach

beschrieben wurde. Die *N*-benzylierte Variante **229** wurde entsprechend einer Vorschrift von T.-P. Loh *et al*.[156] aus D-Ser über drei Stufen in 45 %iger Ausbeute hergestellt wurde. Bei dem dritten Baustein handelte es sich um das razemische Oxazolidin **234**, dessen Synthese über fünf Schritte aus D-Phenylglycin (D-Phg) mit einer Ausbeute von 32 % nach einem Protokoll von H. P. Husson *et al.*[157] möglich war (Abbildung 55).

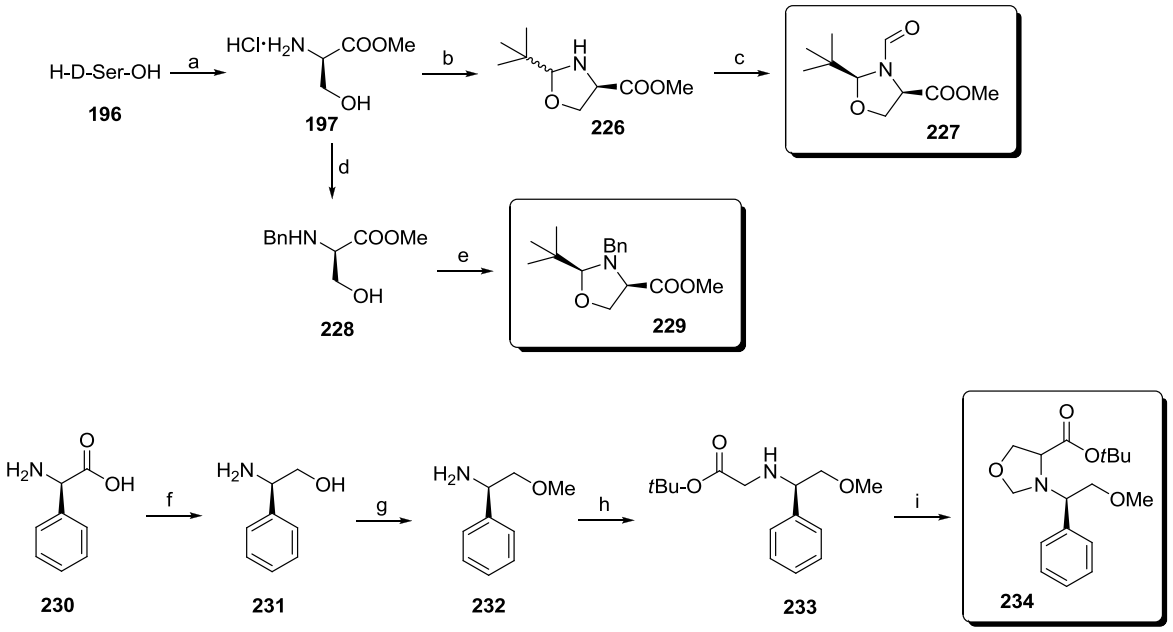


Abbildung 55: Synthese der Oxazolidinderivate **227**, **229** und **234**. a) $SOCl_2$, MeOH, RT, 16 h, 100 %; b) Pivalaldehyd, TEA, abs. *n*-Hexan, 70 °C, 20 h, 94 %; c) Ameisensäureessigsäureanhydrid, abs. DEE, 0 °C, 15 h, 99 %; d) Benzaldehyd, TEA, $NaBH_4$, MeOH, 0 °C, 4 h, 85 %; e) Pivalaldehyd, *p*TsOH, Toluol, 120 °C, 20 h, 53 %; f) $NaBH_4$, H_2SO_4, THF, RT, 2 d, 62 %; g) MeI, NaH, abs. THF, 70 °C, 40 h; h) Bromessigsäure-*tert*-butylester, K_2CO_3, abs. MeCN, 40 °C, 40 h, 60 % über zwei Stufen; i) Paraformaldehyd, Toluol, 120 °C, 5 h, 85 %.

Diese drei Oxazolidinderivate sollten nun durch Deprotonierung und anschließender S_N2-Reaktion an der α-Position alkyliert werden. Als Elektrophil sollte ein Ala-Derivat dienen, welches an seiner β-Position eine geeignete Abgangsgruppe trägt. Um die Eignung verschiedener Fluchtgruppen zu testen, kamen Bromide, Iodide und Tosylate zum Einsatz, welche jeweils ausgehend von L-Ser über eine Appel- bzw. Finkelstein-Reaktion gewonnen werden konnten (Abbildung 56).

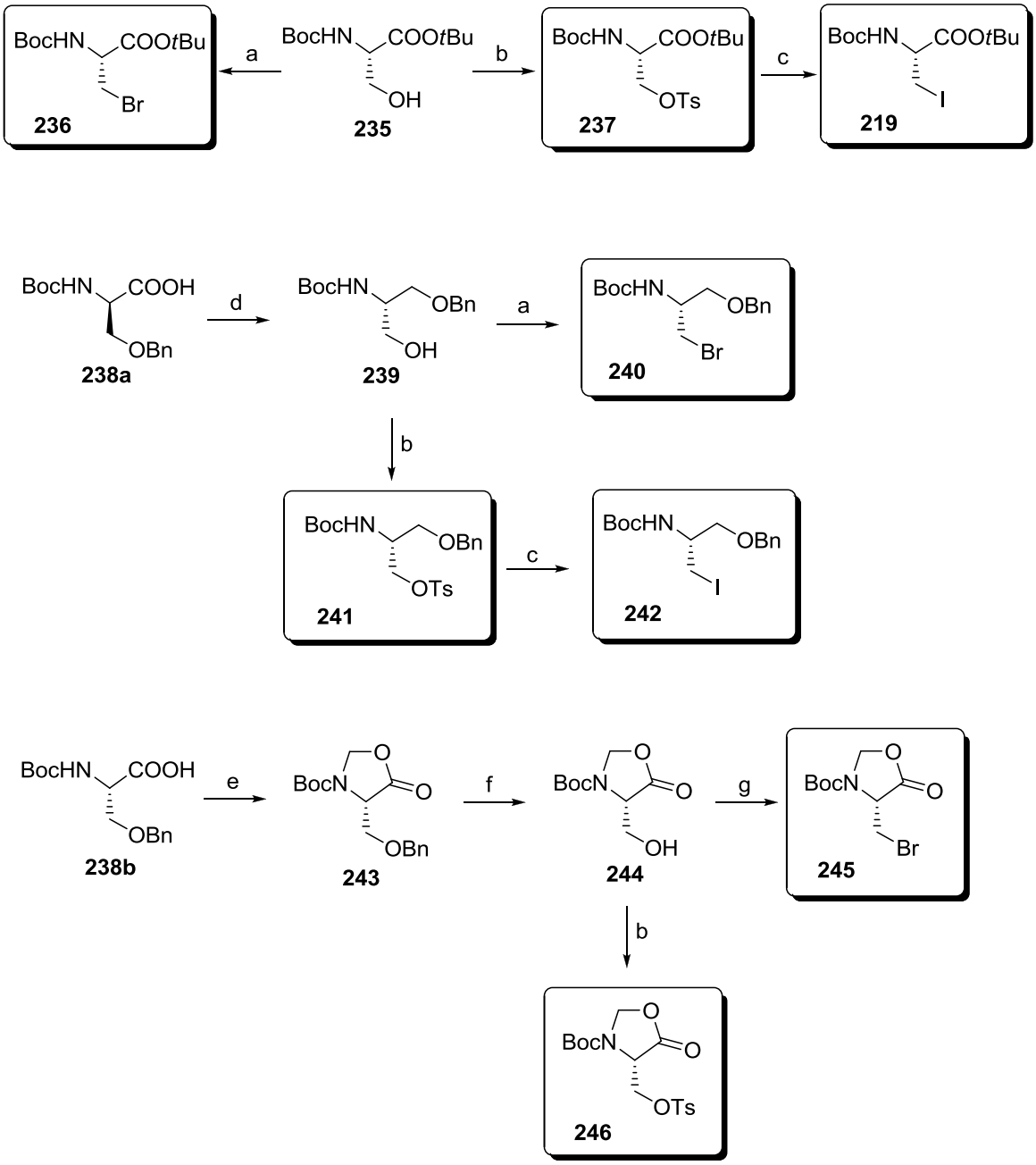


Abbildung 56: Synthese von elektrophilen Bromiden, Iodiden und Tosylaten ausgehend von Ser-Derivaten. a) CBr_4, PPh_3, abs. DCM, 0 °C, 3 h, 83 %; b) Pyr, TsCl, -20 → 0 °C, 23 h, 82 %; c) NaI, abs. Aceton, RT, 3 d, 83 %; d) *iso*-Butylchloroformiat, $NaBH_4$, TEA, abs. THF, H_2O, 0 °C, 19 h, 66 %; e) Paraformaldehyd, CSA, abs. Toluol, 120 °C, 1 h, 85 %; f) Pd/C (10 %), H_2, THF, RT, 20 h, 82 %; g) CBr_4, PPh_3, abs. DCM, RT, 26 h, 23 %.

Für sämtliche Elektrophile wurden mit den Oxazolidinen **227**, **229** und **234** Alkylierungsversuche durchgeführt, wobei unterschiedliche Basen getestet wurden. Neben LDA und NaH wurden auch LHMDS und KHMDS untersucht. Bei der Umsetzung der Nucleophile mit den Ser-Derivaten **236**, **237** und **219** konnte die

Bildung des gewünschten Produkts nicht beobachtet werden (Abbildung 58). Stattdessen wurde stets Boc-Dha-O*t*Bu (**220**) aus dem Reaktionsgemisch isoliert. Die Erwartung, dass das hieraus resultierende Michael-System durch das Enolat nucleophil angegriffen würde, bestätigte sich nicht. Auch nach weiterer Zugabe von Base trat keine Michael-Addition an das *in situ* generierte Dha auf. Die Eliminierung ist darauf zurückzuführen, dass das Enolat-Anion die α-Position des Elektophils deprotoniert, was eine Eliminierung der Abgangsgruppe zur Folge hat. Es liegt nahe, dass die Eliminierung durch die Ausbildung eines Michael-Systems begünstigt wird, da das dabei entstehende konjugierte π-Elektronensystem aus Carbonylfunktion und Olefin elektronisch begünstig ist.

Um diesen Effekt auszuschließen, musste die Carbonylfunktion entfernt werden. Durch die $NaBH_4$-vermittelte Reduktion des *C*-Terminus von Boc-L-Ser(Bn)-OH (**238**) konnten die Bausteine **240**, **241** und **242** synthetisiert werden (Abbildung 56). Deren Umsetzungsversuche mit den Oxazolidinen zeigte jedoch ebenfalls keinen Erfolg (Abbildung 58). Die bisher beobachtete Eliminierung trat hier zwar nicht auf, im Falle von **229** und **234** fand jedoch schlichtweg keine Reaktion statt. Auch nach Erhöhung der Reaktionstemperatur und der Menge an Base konnten nur die Edukte isoliert werden. Der formylierte Heterozyklus **227** hingegen wies eine geringere Stabilität auf. Bevor die gewünschte Alkylierungsreaktion auftreten konnte, reagierte dieser zu diversen Nebenprodukten ab. Möglich sind dabei die in Abbildung 57 dargestellten Reaktionen zu Verbindung **248**, den Dimeren **247** und **249** und weiteren unbekannten Zersetzungsprodukten, wie bereits von G. Jiménez-Osés *et al.*[158] und T.-P. Loh *et al.*[156] berichtet wurde.

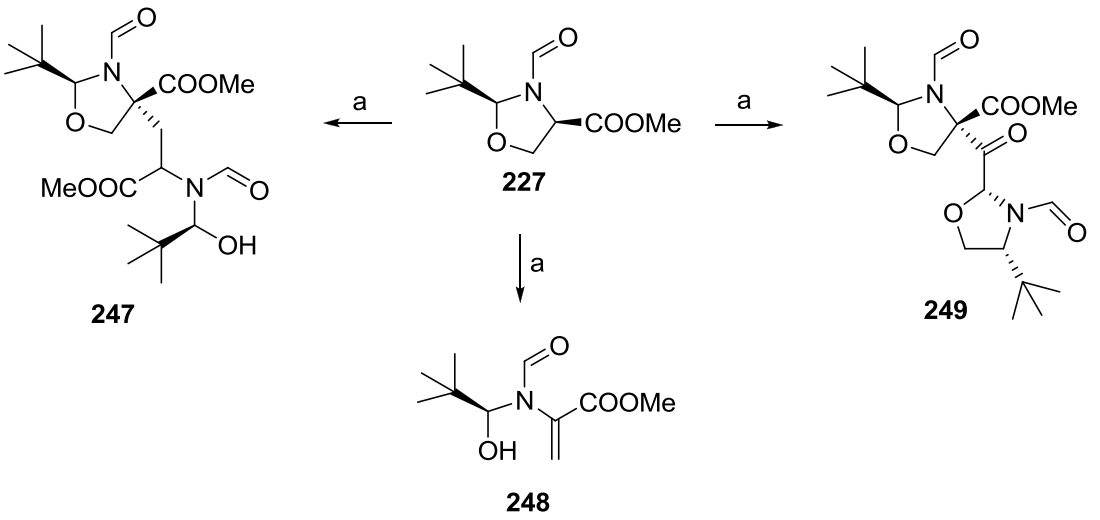


Abbildung 57: Mögliche Nebenprodukte bei Alkylierungen von Oxazolidin **227**. a) Li-Base, -78 °C → 0 °C.

Ein weiterer Grund für das Misslingen der Alkylierungsreaktionen könnte das Proton am *N*-Terminus des Elektrophils sein. Besitzt dieses eine ausreichende Azidität, kann es in entsprechend basischem Milieu abgespalten werden, wodurch das angreifende Enolat protoniert und die Substitutionsreaktion abgebrochen wird. Um diese Annahme zu untersuchen, wurde das Bromid **245** und das Tosylat **246** dargestellt, welches eine vollgeschützte Aminofunktion und damit keine N-H-azide Bindung besitzt (Abbildung 56). Die Reaktion mit den Verbindungen **227**, **229** und **234** zeigte jedoch keinen Erfolg. Neben den jeweiligen Edukten und geringen Mengen Eliminierungsprodukt, konnte kein gewünschtes Alkylierungsprodukt isoliert werden (Abbildung 58).

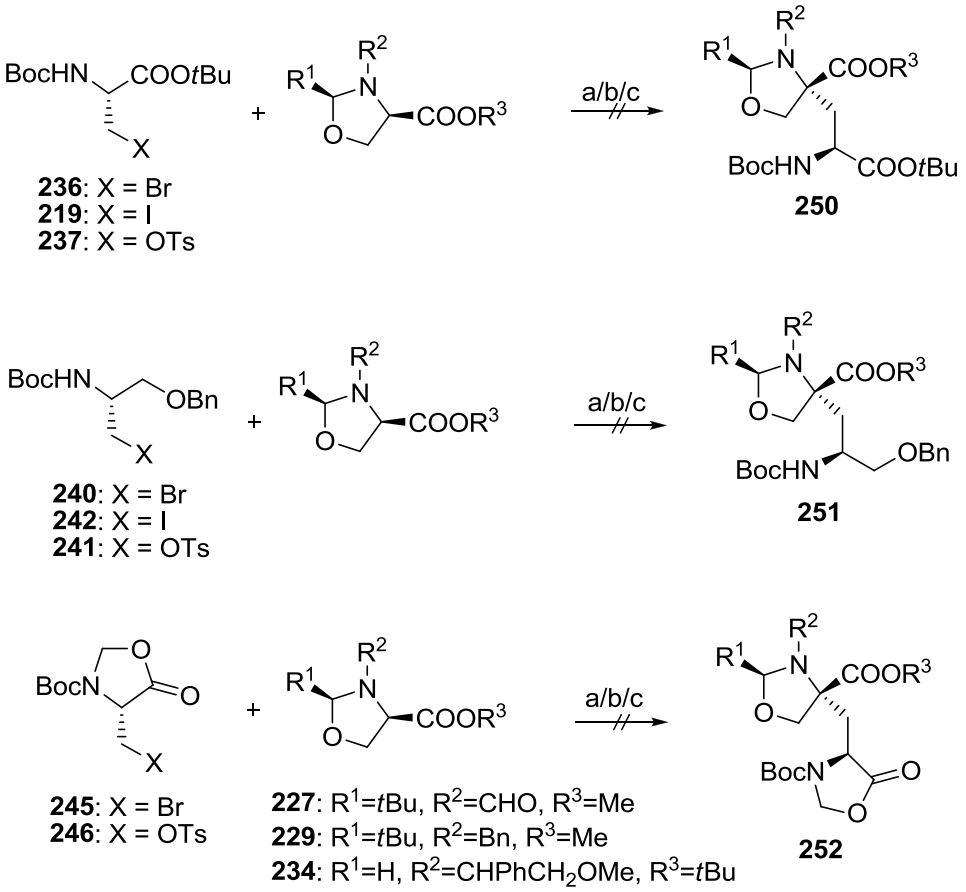


Abbildung 58: Alkylierung der Oxazolidine **227**, **229** und **234** mit verschiedenen Elektrophilen. a) LDA, HMPA, abs. THF/Hexan, -78 °C → RT, 20 h; b) LHMDS, DMPU, abs. THF/Hexan, -78 °C → RT, 20 h; c) KHMDS, abs. THF/Toluol, -78 °C → RT, 20 h.

Da die Alkylierung von Oxazolidinen in der Literatur bereits mehrfach beschrieben wurde, muss das Problem bei dieser Umsetzung bei den eingesetzten Elektrophilen liegen. Zum einen könnten die sperrigen Schutzgruppen einen nucleophilen Angriff unterdrücken. Zum anderen wird die Reaktivität der Verbindungen eine große Rolle spielen. Bei erneuter Literaturrecherche fiel auf, dass bei den zuvor veröffentlichten Alkylierungsreaktionen stets Elektrophile zum Einsatz kamen, welche ein konjugiertes π-Elektronensystem oder ein freies Elektronenpaar in Nachbarschaft zur Abgangsgruppe tragen. Dies hat zur Folge, dass der konzertierte Übergangszustand der hier ablaufenden S_N2-Reaktion durch Delokalisierung der π-Elektronen stabilisiert werden kann (Abbildung 59).[159] Es scheint, als ob die hier untersuchte Seebach-Alkylierung, welche nach einem S_N2-Mechanismus abläuft, nur durchführbar ist, wenn ihr bimolekularer Übergangszustand **255** stabilisiert wird. Die

Stabilisierung wiederum wird durch den +m-Effekt einer angrenzenden π-Bindung oder eines freien Elektronenpaars benachbarter Heteroatome gewährleistet. Beide Faktoren waren bei den bisher eingesetzten Elektrophilen **254** jedoch nicht gegeben.

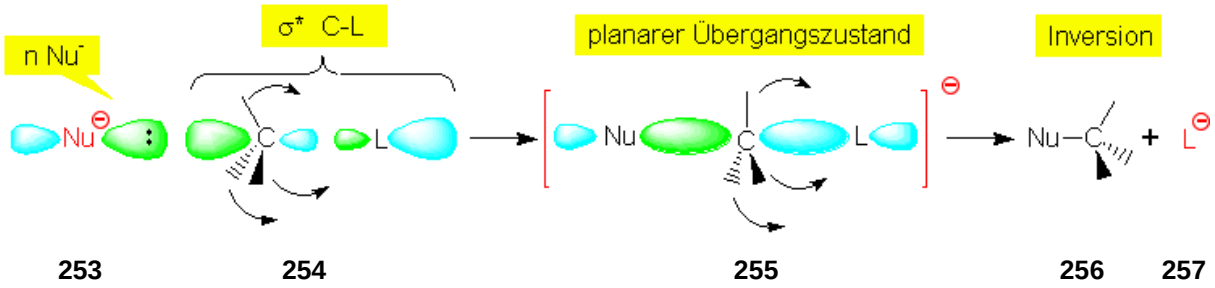


Abbildung 59: Mechanismus einer S_N2-Reaktion (Nu = Nucleophil, L = Abgangsgruppe).[159] Nach Angriff des Nucleophils **253** auf das Substrat **254** bildet sich ein stabilisierter bimolekularer Übergangszustand (**255**) aus, bevor die Abgangsgruppe **257** abgespalten wird.

Der diskutierte Aspekt könnte ebenso ein Misslingen der unter Abschnitt 4.1.1 untersuchten Methoden erklären, da keine geeigneten Elektrophile eingesetzt wurden. Auch hier würde die entsprechende Alkylierungsmethode nach einem S_N2-Mechanismus verlaufen, welcher keinen stabilisierten Übergangszustand besitzt. Die logische Schlussfolgerung ist also, dass für eine erfolgreiche Generierung eines quartären α-Kohlenstoffatoms ein Elektrophil herangezogen werden muss, welches bei einem nucleophilen Angriff einen stabilisierten Übergangszustand ausbilden kann. Es musste sich natürlich um eine Verbindung handeln, aus der anschließend eine Aminosäurefunktionalität aufgebaut werden kann, um das gewünschte Zielmolekül **170** zu erhalten. Die wahrscheinlich einfachste Variante war in diesem Fall der Einsatz von kommerziell günstig erhältlichem Allylbromid (AllBr), welches durch sein π-Elektronensystem in der enthaltenen Doppelbindung die nötigen Voraussetzungen mitbringen sollte. Tatsächlich wurde die Allylierung der Oxazolidine **227** und **234** bereits mehrfach beschrieben und sollte kein Problem darstellen. Die Doppelbindung sollte anschließend durch entsprechende Funktionalisierung zur Aminosäure umgewandelt werden. Als Vorlage diente hier die Synthese von Vancomycin durch Nicolaou *et al.*[160-163] Auch hier wurde ein Olefin zur α-Aminosäure umfunktionalisiert, indem dieses zunächst einer Sharpless-Dihydroxylierung unterzogen wurde. Nach selektiver TBDMS-Schützung der endständigen Hydroxyfunktion konnte der sekundäre Alkohol mittels Mitsunobu-

Reaktion in ein Azid überführt werden, welches anschließend durch Staudinger-Reduktion in eine Aminofunktion umgewandelt wurde. Die endständige Hydroxyfunktion wurde schließlich entschützt und zur Carbonsäure oxidiert.

Mit dieser Reaktionssequenz als Grundlage der neuen Synthesestrategie, wurden nun die drei Oxazolidine **227**, **229** und **234** einer Allylierung unterzogen. Verbindung **261** konnte mithilfe der Base KHMDS in 59 %iger Ausbeute gewonnen werden. Auch **258** und **260** konnten durch Einsatz der Base LDA synthetisiert werden (Abbildung 60). Die Ausbeuten fielen zwar mit 39 % bzw. 35 % geringer aus, stimmten jedoch mit den literaturbeschriebenen Ergebnissen[164] überein. Obwohl die Alkylierungen mit sehr guten Stereoselektivitäten abliefen, war im NMR-Spektrum eine Dopplung der Signale zu erkennen. Der Grund hierfür war die Bildung eines Rotamerengemischs im Verhältnis 1:1, was durch die Einschränkung der freien Drehbarkeit der sterisch anspruchsvollen Substituenten hervorgerufen wird und bereits von D. Seebach *et al.* beschrieben wurde.[154]

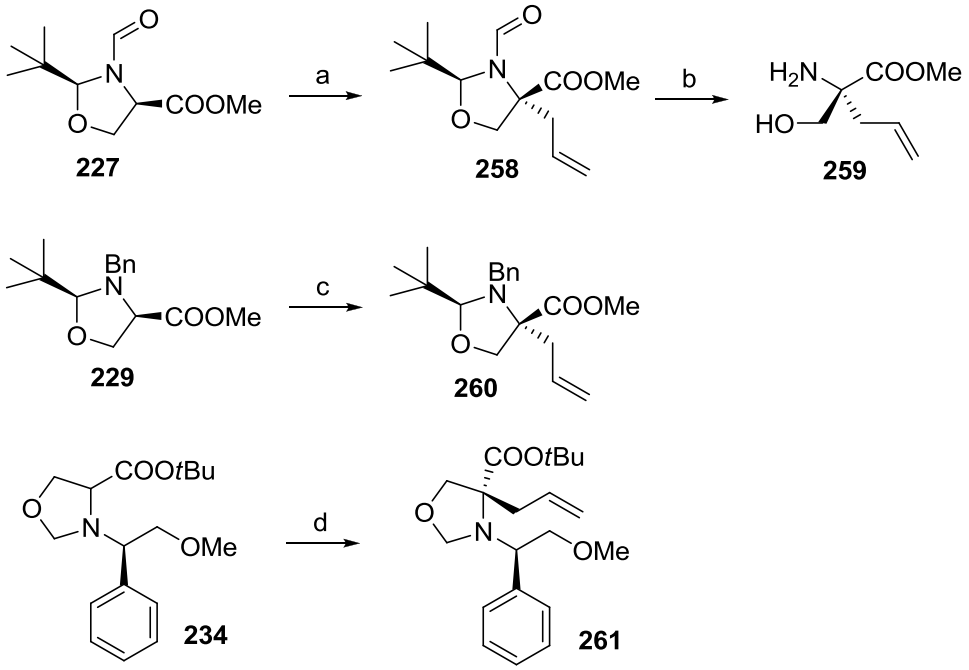


Abbildung 60: Allylierung der Oxazolidine **227**, **229** und **234**. a) LDA, AllBr, HMPA, abs. THF/Hexan, -78 °C → 0 °C, 24 h, 39 %; b) 1M HCl aq, MeOH, 70 °C, 25 h, 78 %; c) LHMDS, AllBr, HMPA, abs. THF/Hexan, -78 °C → 0 °C, 24 h, 35 %; d) KHMDS, AllBr, abs. THF/Toluol, -78 °C → 0 °C, 24 h, 59 %.

Obwohl alle drei allylsubstituierten Verbindungen für die geplante Strategie geeignet wären, wurde die Synthese lediglich mit Verbindung **258** fortgeführt. Dies geschah aus mehreren Gründen. Zum einen wies die Darstellung von **258** die höchste Gesamtausbeute gegenüber **260** und **261** auf. Zum anderen konnte mit dem Formyl-geschützten Oxazolidin die günstigste Schutzgruppenstrategie entwickelt werden. Außerdem war sowohl die Synthese als auch die Hydrolyse dieses Oxazolidinrings seit Langem literaturbekannt, sodass hier keine unerwarteten Nebenreaktionen oder Risiken zu erwarten waren. Tatsächlich konnte bei der Ringöffnung mit 1 M HCl aq in MeOH unter Rückflussbedingungen nach 19 h die α,α-disubstituierte Aminosäure **259** in 78 %iger Ausbeute gewonnen werden.

Der stereoselektive Verlauf der Alkylierungsreaktion ist in Abbildung 61 schematisch dargestellt. Durch Zugabe einer Lithiumbase wird Oxazolidin **227** in ein Lithiumenolat umgewandelt. Die Koordination von Li^+-Ionen zwischen den Carbonyl-Sauerstoffatomen der Formyl- und der Esterfunktionalität führt zur Ausbildung eines planaren Rings. Eine Seite dieses Ringsystems wird durch die sterisch anspruchsvolle *tert*-Butylgruppe so stark abgeschirmt, dass ein Angriff des elektrophilen AllBr nur von der gegenüberliegenden Seite erfolgen kann.

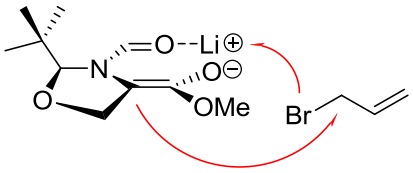


Abbildung 61: Stereoselektiver Verlauf der Alkylierung von **227**.

Um im weiteren Syntheseverlauf die Orthogonalität der Schutzgruppen zu gewährleisten, wurde anschließend der *N*-Terminus der Aminosäure **259** mit CbzCl und $NaHCO_3$ in einem Dioxan/Wasser-Gemisch bei Raumtemperatur und einer Reaktionszeit von 32 h in 81 %iger Ausbeute geschützt (Abbildung 62). Alkohol **262** wurde mithilfe von Dihydropyran (DHP) und Pyridiunium-*p*-toluolsulfonat (PPTS) in DCM bei Raumtemperatur in 20 h mit einer Ausbeute von 96 % in einen THP-Ether umgewandelt. Der THP-Ether wurde aufgrund seiner besonderen Basenstabilität gewählt, welche bei anschließenden Syntheseschritten erforderlich werden sollte. Da durch diese Schutzguppe ein weiteres Chiralitätszentrum in das Molekül eingeführt

wird, erhielt man ein Diastereomerengemisch im Verhältnis 1:1. Deren Trennung war nicht notwendig, da dieses Stereozentrum keine Auswirkung auf die folgenden Schritte haben und der Ether am Ende der Synthese ohnehin wieder abgespalten werden sollte. Alternative Hydroxyschutzgruppen stellten sich für die hier durchgeführte Synthesestrategie als ungeeignet heraus. Silylether beispielsweise sind basenlabil und würden bei der Öffnung des Lactonrings **267** auf einer späteren Stufe der Synthese abgespalten werden. Ein Benzylether würde die nötige Stabilität aufweisen, könnte wiederum nicht selektiv gegenüber der Cbz-Schutzgruppen entfernt werden.

Die endständige Doppelbindung des vollgeschützten Bausteins **263** wurde schließlich einer Sharpless AD unterzogen. Zum Einsatz kam AD-Mix β, da der darin enthaltene chirale Ligand nach der von B. Sharpless aufgestellten Theorie[165] die gewünschte *R*-Konfiguration am sekundären Kohlenstoffzentrum induzieren sollte. In einem *t*BuOH/H_2O-Gemisch bei Raumtemperatur konnte nach 52 h eine Ausbeute von 88 % erzielt werden. Bei dem gebildeten Produkt handelte es sich jedoch nicht um das zu erwartende Diol **264**. Die genaue Analyse zeigte das Fünfringlacton **265**, welches durch intramolekulare Zyklisierung zwischen dem gebildeten sekundären Alkohol und dem *C*-terminalen Methylester *in situ* entstanden war. Für die folgenden Schritte sollte dies von enormem Vorteil sein, da im Gegensatz zur Vancomycin-Synthese von Nicolaou *et al.* die zwischenzeitliche Schützung der primären Hydroxyfunktion zur selektiven Funktionalisierung des sekundären Alkohols nicht mehr nötig war. Das Lacton **265** stellte eine temporäre Maskierung dar, wodurch ein zusätzlicher Schützungsschritt erspart blieb. Die Stereoselektivität der Sharpless AD erwies sich jedoch als ungenügend. Die NMR-Analyse des Produkts zeigte ein Gemisch aus vier Diastereomeren in fast gleichen Verhältnissen, wovon lediglich zwei Isomere auf das Chiralitätszentrum der THP-Schutzgruppe zurückzuführen sind. Dies lässt vermuten, dass die Substituenten der zu funktionalisierenden Doppelbindung sich nicht für eine enantioselektive Dihydroxylierung eignen, da mangelnde sterische Wechselwirkungen zwischen Katalysator und Substrat keine optimale Anlagerung an das aktive Zentrum zulassen.[156-158] Die Chinolin-Liganden des AD-Mix scheinen keine nennenswerte chirale Induktion ausüben zu können. Arbeiten von M. Iwashima *et al*., in denen die AD von chiralen Allylalkoholen beschrieben wird,[166] unterstreichen diese Vermutung. Hier wurde keine Umkehr der

Stereoselektivität unter Verwendung von AD-Mix-α und AD-Mix-β beobachtet. Eine genaue Untersuchung der Stereochemie von **265** war nicht möglich, da es sich aufgrund des chiralen THP-Ethers um ein nicht trennbares Gemisch aus vier Diastereomeren handelte, welche zu diesem Zweck separat voneinander untersucht werden müssten. Um dies zu ermöglichen, müssten die THP- und die Cbz-Schutzgruppen abgespalten und die daraus resultierenden Isomere mittels präparativer HPLC getrennt werden. Anschließende Enantiomeranalytik nach Marfey oder Mosher könnte schließlich Aufschluss über das Diastereomerenverhältnis des Produkts der Sharpless AD liefern. Diese Ergebnisse legen nahe, die Dihydroxylierung aus finanziellen Gründen ohne den kostspieligen chiralen Liganden durchzuführen, da er ohnehin keine bedeutende Auswirkung auf den Reaktionsverlauf hat.

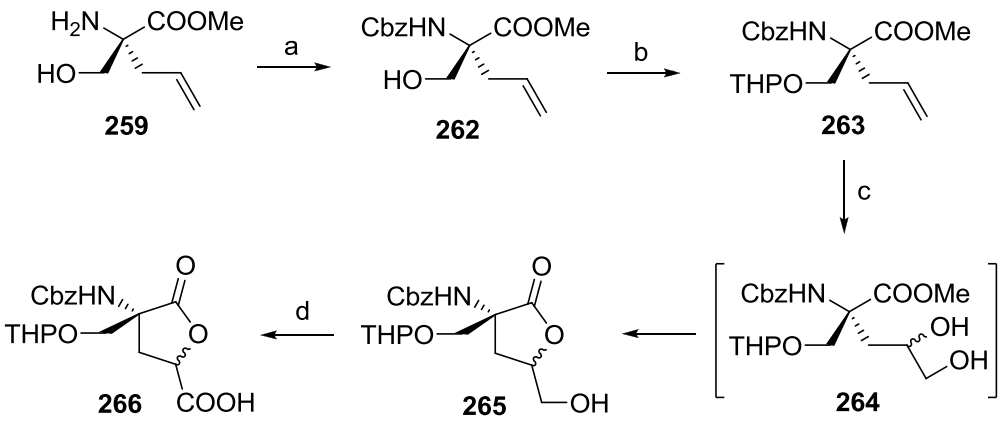


Abbildung 62: Synthese der Carbonsäure **266**. a) CbzCl, $NaHCO_3$, Dioxan/H_2O, RT, 32 h, 81 %; b) DHP, PPTS, abs. DCM, RT, 20 h, 96 %; c) AD-Mix β, *t*BuOH/H_2O, RT, 52 h, 88 %; d) NaOCl, TEMPO, $NaHCO_3$, KBr, Aceton, 0 °C → RT, 19 h, 92 %.

Alkohol **265** wurde nun einer TEMPO/NaOCl-Oxidation mit $NaHCO_3$ und KBr in Aceton unterzogen und lieferte nach einer Reaktionszeit von 5 h bei 0 °C Carbonsäure **266** in 92 %iger Ausbeute (Abbildung 62). Diese wurde mit einer Ausbeute von 80 % als *tert*-Butylester **267** geschützt, was mithilfe von Boc_2O und DMAP in *t*BuOH bei Raumtemperatur über 18 h geschah (Abbildung 63). Um nun die Aminofunktion in der Seitenkette des Bausteins einzuführen, musste der Lactonring von **267** geöffnet und die dabei entstehende Hydroxyfunktion umfunktionalisiert

werden. Die Hydrolyse wurde mit KOH in einem THF/Wasser-Gemisch durchgeführt. Um Razemisierung zu vermeiden, wurde die Emulsion bei maximal 0 °C stark gerührt und die Umsetzung mittels DC-Kontrolle genau beobachtet, damit die Reaktionszeit mit 5 h so kurz wie möglich gehalten werden konnte. Man erhielt das Kaliumcarboxylat-Salz **268**, welches ohne weitere Aufreinigung der Veresterung unterzogen wurde. Eine Lösung von **268** in DMF wurde mit 50 Äquivalenten AllBr versetzt. Ein derart großer Überschuss war nötig, um eine *in situ* Lactonisierung zu Verbindung **267** zu verhindern. Der Carbonylkohlenstoff des Allylesters ist, ähnlich wie bei einem Methylester, leicht durch ein Nucleophil angreifbar. Im vorliegenden Fall ist der intramolekulare Angriff des ungeschützten Alkohols begünstigt, zum einen durch die Ausbildung eines stabilen Fünfringlactons, zum anderen durch die konformativen Gegebenheiten. Bei der räumlichen Darstellung des Moleküls erscheint eine besondere räumliche Nähe der beiden Funktionalitäten durch eine *R*-Konfiguration an beiden α-Positionen gegeben zu sein. Mit Allylalkohol als gute Abgangsgruppe ist **269** geradezu prädestiniert eine Ringschlussreaktion einzugehen. Gänzlich verhindern ließ sich diese Nebenreaktion nicht. Mit einem großen Überschuss an AllBr konnte jedoch eine rasche Bildung des Allylesters begünstigt und durch Temperaturen unter 0 °C eine sofortige Zyklisierung weitgehend verhindert werden. Genaue Reaktionskontrolle mittels DC war notwendig, um einen schnellstmöglichen Abbruch nach vollständiger Umsetzung des Edukts durchzuführen. Auf diese Weise konnte **269** mit einer Ausbeute von 45 % nach säulenchromatographischer Aufreinigung erhalten werden. Um eine erneute Lactonbildung zu vermeiden, musste das Produkt bei maximal 20 °C getrocknet, stets kühl gelagert und baldmöglichst der Folgereaktion zugeführt werden. Nichtsdestotrotz wurde Lacton **267** während der Veresterung zu 20 % gebildet, konnte jedoch erneut in die Reaktionssequenz eingeführt werden. Aufgrund dieser Tatsache konnte die Ausbeute der Synthese von **269** ausgehend von Lacton **267** auf 56 % über zwei Stufen korrigiert werden.

Die Umwandlung des Alkohols **269** in das Azid **270** wurde durch eine Mitsunobu-Reaktion[167] erreicht. Nach sukzessiver Zugabe von PPh_3, DEAD und DPPA zu einer Lösung von -30 °C kaltem **269** in THF, konnte nach einer Reaktionszeit von 23 h bei -10 °C Azid **270** in 53 %iger Ausbeute erhalten werden. MS- und IR-Analytik des säulenchromatographisch gereinigten Produkts wiesen eindeutig auf die Bildung

einer N_3-Gruppe hin. Der Grund für die moderate Ausbeute war die Bildung des Eliminierungsprodukts **272**, das anhand von MS- und NMR-Daten ermittelt werden konnte. Offensichtlich war es bei der Reduktion durch PPh_3 zu einer partiellen Deprotonierung anstelle einer Substitution durch N_3 gekommen, welche durch die Ausbildung eines stabilen konjugierten π-Elektronensystems mit der benachbarten Carbonylfunktion begünstigt wurde. Diese Nebenreaktion konnte durch Senkung der Reaktionstemperatur reduziert, jedoch nicht vollständig unterdrückt werden. Da die Mitsunobu-Reaktion nach einem S_N2-Mechanismus abläuft, verläuft dieser Schritt unter Inversion der Stereochemie. Weil das Substrat jedoch als razemisches Gemisch vorlag, konnte dieser Aspekt vernachlässigt werden. Allerdings konnten die beiden hier entstandenen Diastereomerenpaare durch präparative HPLC voneinander getrennt werden. Durch Behandlung von **270** mit PPTS in EtOH über eine Reaktionszeit von 24 h bei 40 °C konnte der THP-Ether entfernt werden und man erhielt nach Aufreinigung mittels präparativer HPLC Baustein **271** in einer Ausbeute von 62 % (Abbildung 63). Da mit der THP-Gruppe ein Chiralitätszentrum abgespalten wurde, lag nun nur noch ein Gemisch aus zwei statt zuvor vier Diastereomeren vor. **271a** und **271b** konnten mittels präparativer HPLC voneinander getrennt werden.

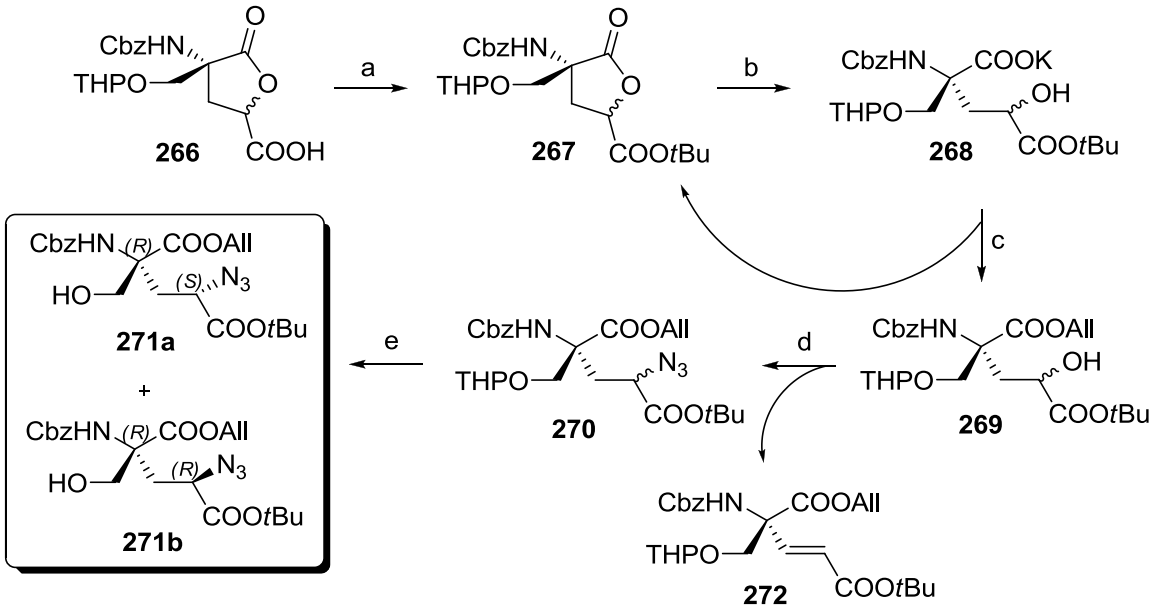


Abbildung 63: Synthese des Zielmoleküls **271**. a) Boc_2O, DMAP, *t*BuOH, RT, 18 h, 80 %; b) 1N KOH aq, THF, 0 °C; c) AllBr, abs. DMF, 0 °C, 1 h, 56 %; d) PPh_3, DEAD, DPPA, abs. THF, -30 → -10 °C, 23 h, 53 %; e) PPTS, abs. EtOH, RT, 2 d, 62 %.

Die Stereochemie der beiden Diastereomere **271a** und **271b** wurde NMR-spektroskopisch durch NOESY-Messungen aufgeklärt, wofür eine Derivatisierung des Bausteins erforderlich war. Um eine eindeutige und selektive Kopplung der entsprechenden Protonen zu ermöglichen, sollte die Rotationsfreiheit des Moleküls eingeschränkt werden. Dies gelang durch Staudinger Reduktion des Azids **270a**, welche bei einer Reaktionstemperatur von 70 °C über 76 h unter Zugabe der Base $NaHCO_3$ einen intramolekularen Ringschluss zum Lactam **273** zur Folge hatte. Nach der Entfernung des razemischen Chiralitätszentrums durch Abspaltung der THP-Schutzgruppe mittels PPTS, erhielt man das enantiomerenreine Lactam **274** in 85 %iger Ausbeute über drei Stufen (Abbildung 64). Aufgrund seines starren Ringsystems konnte diese Verbindung schließlich mittels NOESY-NMR-Spektroskopie untersucht werden. Das erhaltene Spektrum weist eindeutig eine *S*-Konfiguration am tertiären Kohlenstoffzentrum (Position 4) auf, was an den Fernkopplungen zwischen der Hydroxymethyl-Gruppe (Position 1 und 2) und der CH_2-Brücke (Position 3) bzw. der CH_2-Brücke und dem tertiären Kohlenstoffzentrum zu erkennen ist.

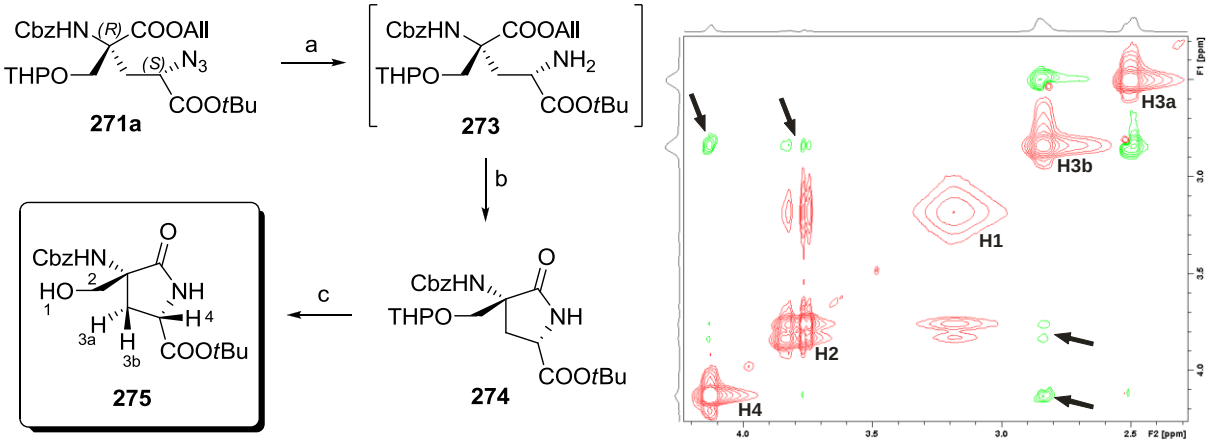


Abbildung 64: Synthese und NOESY-Spektrum von Lactam **275**. Die durch die Pfeile markierten Signale sind auf Kopplungen zwischen H2 und H3b bzw. H3b und H4 zurückzuführen. a) PPh_3, H_2O, THF, RT, 23 h; b) $NaHCO_3$, THF, 70 °C, 76 h; b) PPTS, abs. EtOH, 23 → 40 °C, 87 h, 85 % über drei Stufen.

Mit der Generierung von **271** konnte der erste Abschnitt der Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 – die Darstellung eines α,α-disubstituierten Lab-Vorläufers – erfolgreich abgeschlossen werden. Der Baustein bringt alle Voraussetzungen mit sich, welche für einen erfolgreichen Aufbau des Naturstoffs erforderlich sind. Er

a) enthält die schwer darzustellenden strukturellen Besonderheiten von Lab: das quartäre Kohlenstoffzentrum und die Methylenbrücke,
b) lässt sich mittels gewöhnlicher Peptidkupplung einfach in eine Aminosäurensequenz integrieren,
c) ist stabil gegenüber Peptidkupplungsbedingungen,
d) trägt eine funktionelle Gruppe, welche nach etablierten Methoden in einen Thioether überführbar ist, um die Lan-Brücke von Lab auszubilden,
e) besitzt die korrekte Stereochemie,
f) ist orthogonal geschützt, d.h. jede Funktionalität kann selektiv demaskiert und an ein beliebiges Peptid gekuppelt werden.

4.2 Synthese des A-Rings von Labyrinthopeptin A2

Parallel zur Entwicklung dieser Synthese wurde in unserem Arbeitskreis durch Dipl.-Chem. Maik Henkel eine weitere Synthesestrategie ausgearbeitet. Diese sah vor, ausgehend von Gly und α-(Brommethyl)-acrylsäuremethylester, einen geeigneten Lab-Vorläufer aufzubauen. Man orientierte sich dabei an einem Protokoll von T. Oguri *et al.* aus dem Jahre 1978, welches in Abschnitt 2.3.1.2 detailliert beschrieben ist. Es war möglich auf dieser Grundlage Verbindung **277** über acht Stufen mit einer Gesamtausbeute von 15 % darzustellen (Abbildung 65),[168] worauf im Folgenden nicht näher eingegangen werden soll. Der Baustein lag als Diastereomerengemisch im Verhältnis 36:9:4:1 (*R/S*, *S/S*, *R/R*, *S/R*) vor.[169] Da **277** somit in höheren Ausbeuten und besseren Enantioselektivitäten zugänglich gemacht werden konnte als **271**, war eine Änderung des Synthesekonzepts ratsam. Im zweiten Schritt der Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 – dem Aufbau der Ringe A und A‘ – sollte nicht **271**, sondern **277** als Ausgangsverbindung eingesetzt werden. Es handelt sich hierbei ebenso wie bei dem oben beschriebenen Derivat **271** um ein α,α-disubstituiertes Ser-Derivat, welches über eine Methylenbrücke mit Gly an der α-Position verknüpft ist. Der Baustein weist jedoch eine unterschiedliche Maskierung der Funktionalitäten auf. Die Aminofunktion in der Seitenkette liegt hier doppelt Boc-geschützt vor. Im Gegenzug dafür ist der *N*-Terminus am quartären Zentrum als Azid maskiert. Am *C*-Terminus befindet sich ein Methylester anstelle eines Allylesters. Der übrige Teil des Moleküls ist identisch zu Baustein **271**. Die folgenden Synthesen wurden ausgehend von **277** durchgeführt.

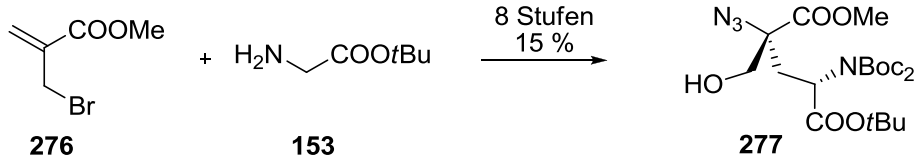


Abbildung 65: Synthese des α,α-disubstituierten Aminosäurebausteins **277** in Anlehnung an die Synthesevorschrift von T. Oguri *et al*.[144]

Die anfänglich ausgearbeitete Syntheseplanung sah vor, die Hydroxyfunktion in der Seitenkette von Verbindung **277** ungeschützt zu lassen und die Reaktionsbedingungen der einzelnen Schritte so zu wählen, dass die übrigen Funktionalitäten selektiv umgesetzt werden können, ohne den Alkohol in Mitleidenschaft zu ziehen. Es musste jedoch festgestellt werden, dass **277** bzw. die Folgeprodukte aufgrund der hohen Dichte an Funktionalitäten mehrfach intramolekulare Zyklisierungen eingingen. Hierauf soll in den einzelnen Teilschritten nochmals näher eingegangen werden. Diese unerwünschten Nebenreaktionen führten zu starken Ausbeuteverlusten und konnten nur durch eine Blockierung der Hydroxygruppe unterdrückt werden. Eine geeignete Schutzgruppe musste allerdings eine Vielzahl an Voraussetzungen erfüllen. Sie musste

- stabil gegenüber starken Säuren sein, um bei der Verseifung des *tert*-Butylesters nicht abgespalten zu werden,
- stabil gegenüber starken Basen sein, um bei der Verseifung des Methylesters nicht abgespalten zu werden,
- stabil gegenüber den Bedingungen einer Staudinger-Reduktion sein, um bei der Reduktion des Azids nicht abgespalten zu werden,
- stabil gegenüber Pd^0 sein, um bei der Entfernung der Alloc- und der Allylschutzgruppe nicht abgespalten zu werden,
- stabil gegenüber Peptidkupplungsbedingungen sein,
- unter milden Bedingungen einführbar sein, welche nicht zu Razemisierung oder unerwünschten Nebenreaktionen führen,
- leicht orthogonal abspaltbar sein.

Diese Bedingungen schränkten die Auswahl auf eine einzige gängige Schutzgruppe ein, den Methylether. Dieser erfüllt all die genannten Punkte mit nahezu absoluter Sicherheit und stellte daher die mit Abstand beste und zuverlässigste Wahl dar – abgesehen von einem Nachteil: Methylether sind äußerst stabil und lassen sich meist nur unter drastischen Bedingungen abspalten. Eine Methode von T. Akiyama,[170] welche bei der Synthese von (-)-Conduritol F zum Einsatz kam, scheint für den vorliegenden Fall jedoch geeignet zu sein. Hier wird ein Methylether in Anwesenheit

eines Benzylethers durch Behandlung mit $AlCl_3$ und *n*-Bu_4NI in MeCN in einen Alkohol überführt. Sollte es möglich sein mithilfe dieses Protokolls die Hydroxyfunktion des α,α-disubstituierten Aminosäurebausteins zu entschützen, könnte diese in eine geeignete Abgangsgruppe überführt werden, beispielsweise mittels einer Appel-Reaktion. Die hierdurch aktivierte Verbindung könnte anschließend mit der Seitenkette eines Cys-Derivats zur Reaktion gebracht werden, um eine Lan-Brücke zu generieren.

Auf der Grundlage dieser Strategie wurde Verbindung **277** mit Ag_2O, MeI und katalytischen Mengen Me_2S in MeCN in den entsprechenden Methylether **278** überführt, was nach einer Reaktionszeit von 24 h bei -10 °C mit quantitativen Ausbeuten gelang (Abbildung 66). Anzumerken ist an dieser Stelle, dass ein Diastereomerengemisch im Verhältnis 4.5:1 erhalten wurde. Es musste während der Schützung also zu einer Epimerisierung gekommen sein.

Im nächsten Abschnitt der Synthese sollte die Zyklisierung zum A-Ring durchgeführt werden, wofür eine Abspaltung des *tert*-Butylesters notwendig war. Um die benachbarten Boc-Schutzgruppen intakt zu lassen, konnten hier keine gängigen Methoden eingesetzt werden, wie beispielsweise die Behandlung mit TFA oder HCl. Ein von E. Marcantoni *et al.* veröffentlichtes Protokoll[171] ermöglicht die Abspaltung von *tert*-Butylestern in Anwesenheit von Boc-geschützten Aminen mit $CeCl_3 \cdot 7\ H_2O$ und NaI in MeCN und schien daher für das vorliegende Problem die geeignete Lösung zu bieten. Mehrere Testreaktionen zeigten jedoch stets die Abspaltung von einer der beiden Boc-Carbamate, was bereits gravierende Auswirkungen auf die Stabilität der Verbindung hatte. Lag in der Seitenkette von **280** ein freies oder nur einfach geschütztes Amin vor, trat stets ein intramolekularer nucleophiler Angriff auf die Carbonylfunktion des Methylesters auf, was durch MeOH als gute Abgangsgruppe und die Ausbildung des stabilen Fünfringlactams **281** begünstigt wurde und unter keinerlei Änderung der Reaktionsbedingungen zu unterdrücken war. Die Öffnung des Lactamrings mit 1M LiOH aq unter Bildung der Carbonsäure **282** war zwar mit einer Ausbeute von 80 % möglich. Sämtliche Versuche, den freien *C*-Terminus an sein benachbartes Peptidfragment zu kuppeln, führten allerdings stets zu einem erneuten Ringschluss bei der Aktivierung der Carboxyfunktion. Die Methode von E. Marcantoni *et al*. war also keine adäquate Lösung. Da bisher keine weitere Methode zur orthogonalen Entschützung von *tert*-Butylestern in Anwesenheit

von doppelt Boc-geschützten Aminen in der aktuellen Literatur beschrieben ist, war die Entfernung des Methylesters die einzige Möglichkeit eine ungewollte Lactambildung zu vermeiden. Carbonsäure **279** konnte nach 24 h Reaktion mit 1 M LiOH aq in THF bei Raumtemperatur gewonnen werden (Abbildung 66).

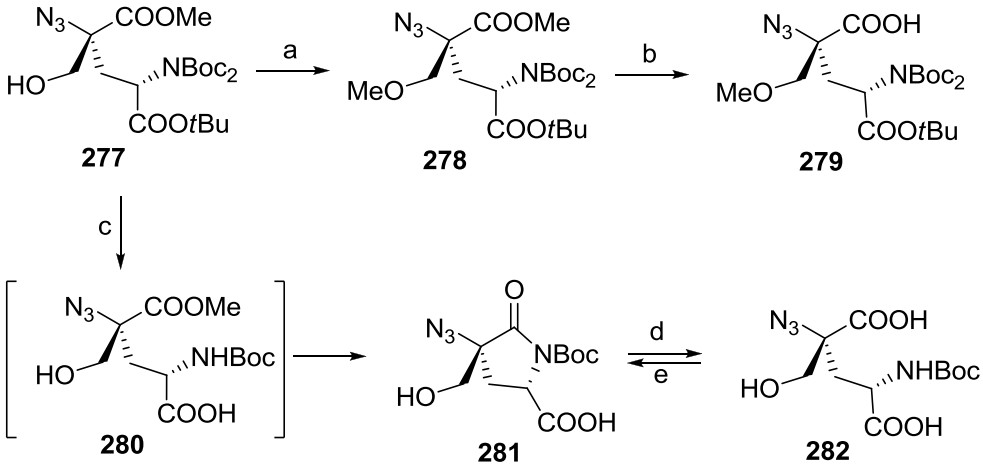


Abbildung 66: Synthese der α-Azidosäure **279**. a) MeI, Ag_2O, abs. MeCN, Me_2S, -10 °C, 24 h, 99 %; b) 1M LiOH aq, THF, RT, 24 h; c) $CeCl_3 \cdot 7\ H_2O$, NaI, abs. MeCN, 85 °C, 48 h; d) 1M LiOH aq, THF, 0 °C, 3 h, 80 %; e) Aktivierung der Carbonsäure z.B. mit EDAC oder HOAt.

Eine Umschützung der Carboxyfunktion würde zusätzliche zwei Stufen und damit unnötige Verluste mit sich bringen. Stattdessen sollte bereits das angrenzende Peptidfragment **166** (Abbildung 43) an den *C*-Terminus gekuppelt werden. Da die Strategie der Totalsynthese vorsah, sämtliche Aminosäureseitenketten mit säurelabilen Schutzgruppen zu versehen, um eine vollständige Entschützung des finalen Peptids mit TFA zu ermöglichen, sollten auch in diesem Peptidfragment die Seitenkettenfunktionalitäten von Trp[6] und von Glu[7] als Boc-Carbamat bzw. als *tert*-Butylester geschützt werden. Eine ungeschützte Indolseitenkette von Trp würde zwar nicht zu Nebenreaktionen während einer Peptidkupplung führen. Freie Trp-Seitenketten neigen jedoch stark zu Oxidation oder Alkylierung. Beispielsweise wird bei einer Boc-Entschützung trotz Zugabe von Scavengern oftmals eine *tert*-Butylierung des Indolrings beobachtet. Dieser Umstand hatte zur Folge, dass lediglich Leu[5] an den quartären Baustein **279** gekuppelt werden konnte, um bei der anschließenden Behandlung mit TFA nicht die Seitenkettenentschützung von Trp[6] und Glu[7] zu riskieren (Abbildung 68). Ein weiteres Problem stellte die Wahl der

C-terminalen Schutzgruppe von Leu^5 dar. Diese musste zahlreiche Voraussetzungen erfüllen. Sie musste

- stabil gegenüber starken Säuren sein, um bei der Verseifung des *tert*-Butylesters nicht abgespalten zu werden,
- stabil gegenüber Pd^0 sein, um bei der Entfernung der Alloc- und der Allylschutzgruppe nicht abgespalten zu werden,
- stabil gegenüber den Bedingungen einer Staudinger-Reduktion sein, um bei der Reduktion des Azids nicht abgespalten zu werden,
- nicht nucleophil anreifbar sein, da eine Reduktion des *N*-terminalen Azids zum Amin **291** die Bildung des Diketopiperazins **292** zur Folge hätte (Abbildung 68),
- stabil gegenüber Peptidkupplungsbedingungen sein,
- unter milden Bedingungen einführbar und abspaltbar sein, welche nicht zu Razemisierung oder unerwünschten Nebenreaktionen führen.

Auch nach ausgiebiger Literaturrecherche konnte keine Schutzgruppe gefunden werden, die all diese Bedingungen erfüllen würde. Es musste daher auf eine Notlösung zurückgegriffen werden, welche die Maskierung von Leu^5 als Leucinolbenzylether vorsah. Dieser könnte durch Hydrogenolyse orthogonal zu den übrigen Schutzgruppen in einen Alkohol überführt und anschließend zur Carboxyfunktion oxidiert werden. Eine derartige Synthesestrategie wurde bereits von Nicolaou *et al.* bei der Synthese von Vancomycin[160] eingesetzt.
Die Darstellung des Leucinolderivats **286** erfolgte problemlos in 67 %iger Ausbeute über drei Stufen aus kommerziell erhältlichem L-Leucinol (Abbildung 67). Bei der Generierung des Benzylethers war darauf zu achten, dass eine möglichst milde Methode angewendet wird, welche keine Razemisierung oder Benzylierung des Amins verursacht. Ein Protokoll von B. Faroux-Corlay *et al.*[172] trug diesen Ansprüchen Rechnung. Der Alkohol wurde hier in einer Suspension aus NaOH aq und DCM mit BnCl versetzt und 18 h unter Rückfluss erhitzt. Da sich der Aminoalkohol und die Base in unterschiedlichen Phasen lösen und sich somit nicht in direktem Kontakt befinden, konnte eine Razemisierung des Chiralitätszentrums verhindert werden. Der für die Umsetzung notwendige Protonenaustausch zwischen den Phasen wurde durch Zugabe des Phasentransferkatalysators *n*-Bu_4NHSO_4

gewährleistet. Um diesen Schützungsschritt zu vollziehen, musste zunächst die Aminogruppe durch Behandlung mit Boc_2O und TEA in DMF für 22 h bei Raumtemperatur geschützt werden, welche schließlich mittels 4 M HCl in Dioxan bei 0 °C nach 5 h wieder selektiv entfernt werden konnte (Abbildung 67).

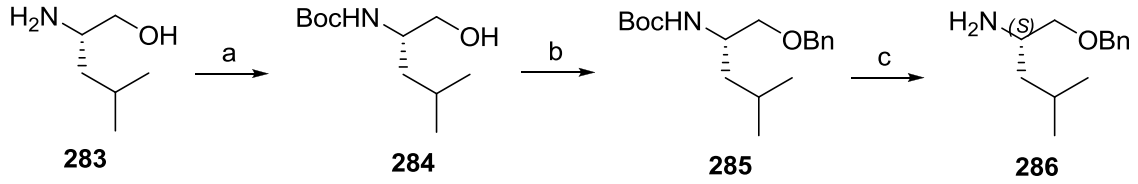


Abbildung 67: Synthese von Leucinolbenzylether **286**. a) Boc_2O, TEA, abs. DMF, RT, 22 h; b) BnCl, Bu_4NHSO_4, NaOH, DCM, H_2O, 50 °C, 18 h; c) 4M HCl in abs. Dioxan, 0 °C, 5 h, 67 % über drei Stufen.

Aminoalkohol **286** wurde mit **279** zum peptidischen Baustein **287** gekuppelt (Abbildung 68). Die Umsetzung fand mit Cl-HOBt und EDAC als Kupplungsreagenzien in DMF bei 5 °C statt und ergab nach einer Reaktionszeit von 23 h eine Ausbeute von 87 % über zwei Stufen. Anschließend konnte der *tert*-Butylester durch Behandlung mit TFA und H_2O über 24 h bei Raumtemperatur problemlos entfernt werden. Als Scavenger des *tert*-Butylkations diente Triisopropylsilan (TIPS). Um eine selektive Peptidkupplung an dem entschützten *C*-Terminus von **288** durchzuführen, wurde eine erneute Schützung der freigesetzten Aminofunktion vorgenommen. Die Umsetzung mit Boc_2O und TEA in DMF über 5 h bei Raumtemperatur lieferte Verbindung **289** mit einer Ausbeute von 82 % über zwei Stufen (Abbildung 68).

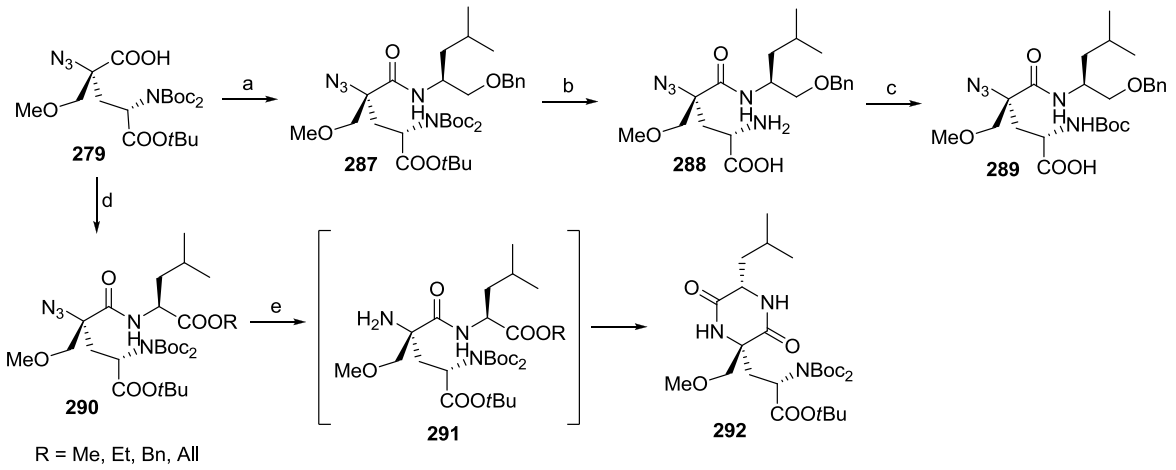


Abbildung 68: Synthese des Bausteins **289**. a) **286**, Cl-HOBt, EDAC, abs. DMF, 5 °C, 23 h, 87 % über zwei Stufen; b) TFA, TIPS, H_2O, RT, 24 h; c) Boc_2O, TEA, abs. DMF, RT, 5 h, 82 % über zwei Stufen; d) Peptidkupplung mit H-L-Leu-OR; e) Reduktion des Azids.

Baustein **289** sollte nun mit dem Dipeptid **297** verknüpft werden, dessen Darstellung jedoch nur in schlechten Ausbeuten möglich war (Abbildung 69). Grund hierfür war die Bildung des Diketopiperazins **298** bei der *N*-terminalen Entschützung von **296**, welche durch BnOH als gute Fluchtgruppe begünstigt wurde. Der Einsatz eines sterisch anspruchsvolleren Esters, der diese unerwünschte Nebenreaktion unterdrücken könnte, war aufgrund der geplanten Schutzgruppenstrategie nicht möglich. Alle an dieser Stelle einsetzbaren Carboxyschutzgruppen, wie beispielsweise der *tert*-Butyl- oder der Diphenylmethylester hätten zu einer Aufhebung der Orthogonalität geführt. Aus diesem Grund wurde lediglich eine Aminosäure an die freie Säurefunktion von **289** gekuppelt. Hier kam kommerziell erhältliches H-L-Asp(O*t*Bu)-OAll zum Einsatz. Die Kupplung zu Peptid **300** erfolgte mit den Reagenzien Cl-HOBt und EDAC über eine Reaktionszeit von 23 h in DMF bei 5 °C in einer Ausbeute von 87 % (Abbildung 70). Ein weiterer Grund war für diese Vorgehensweise ausschlaggebend: In Testreaktionen wurde **289** mit dem Dipeptid **297** anstelle von H-L-Asp(O*t*Bu)-OAll zu Peptid **299** gekuppelt. Nach anschließender Staudinger-Reduktion konnte der Baustein jedoch unter keiner der getesteten Bedingungen zyklisiert werden (Abbildung 69). Aufgrund der ungünstigen Größe des A-Rings (Abschnitt 2.2) gestaltet sich die Zyklisierung ohnehin schwierig, da sich ein gespanntes Elfringsystem ausbilden muss. Des Weiteren muss die Kupplung an die Aminofunktion erfolgen, welche am quartären Kohlenstoffzentrum positioniert ist und daher durch drei benachbarte Substituenten sterisch stark abgeschirmt ist. Der

sterisch hohe Anspruch von Trp[3] kommt erschwerend hinzu. Es schien also ratsam Trp[3] zunächst als einzelne Aminosäure an den *N*-Terminus des α,α-disubstituierten Bausteins zu kuppeln anstatt im Rahmen einer Macrolactamisierung.

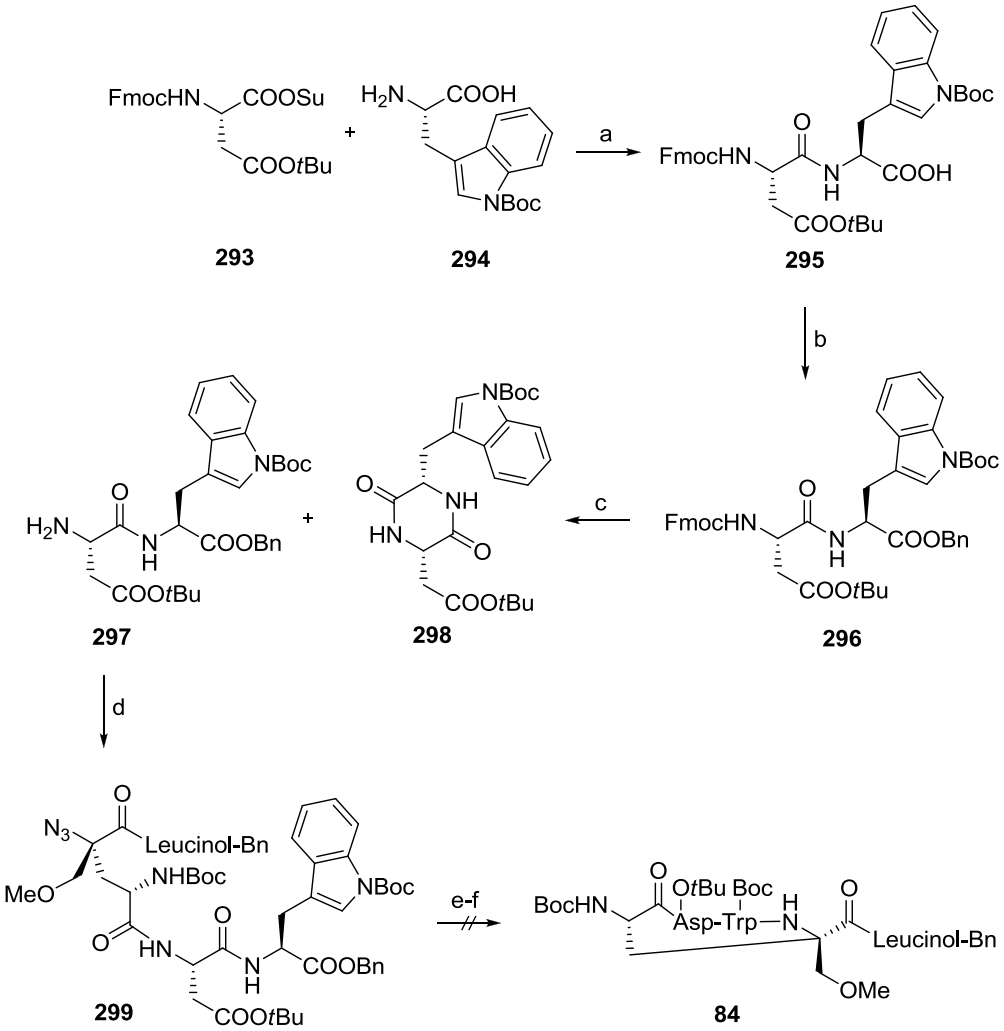


Abbildung 69: Testreaktion zur Synthese des A-Rings. a) TEA, abs. DMF, RT, 38 h; b) BnBr, Cs_2CO_3, abs. DMF, RT, 4 h, 89 % über zwei Stufen; c) DBU, *N*-(2-Mercaptoethyl)-aminomethylpolystyrol, abs. THF, RT, 2 h; d) **289**, EDAC, HOAt, abs. THF, -10 → 10 °C, 21 h; e) Pd/C, H_2, THF, RT, 4 d; f) HATU, DIPEA, abs. DCM, RT, 4 d.

Bei der Kupplung von Asp[2] an die Carboxyfunktion von **289** war die Schützung der Hydroxygruppe in der Seitenkette von enormer Bedeutung. Testreaktionen mit dem ungeschützten Derivat **302** führten zu einer raschen Bildung des stabilen Sechsringlactons **303** (Abbildung 70). Der intramolekulare Angriff des Alkohols auf die aktivierte Carbonsäure war hier gegenüber der Peptidkupplung mit H-L-Asp(O*t*Bu)-OAll bevorzugt.

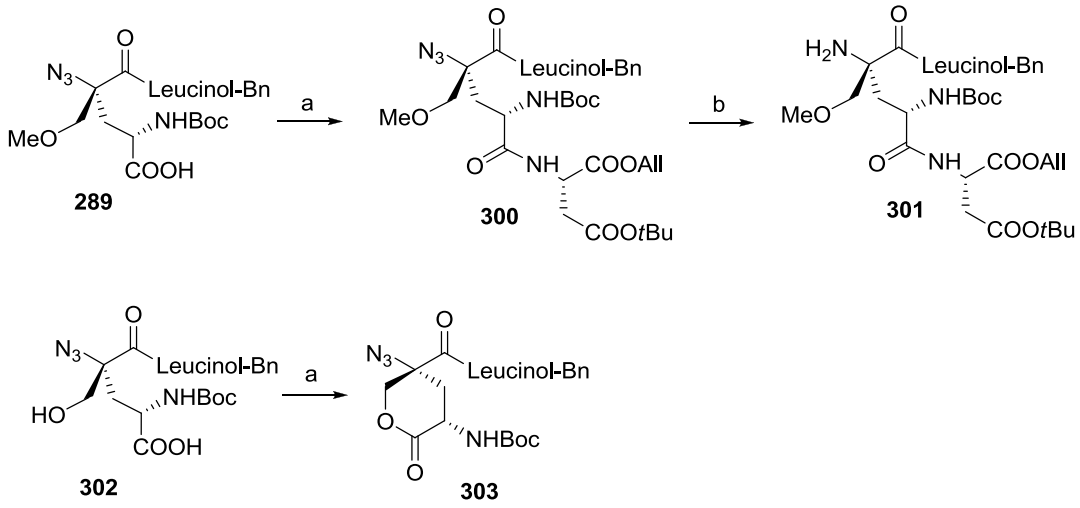
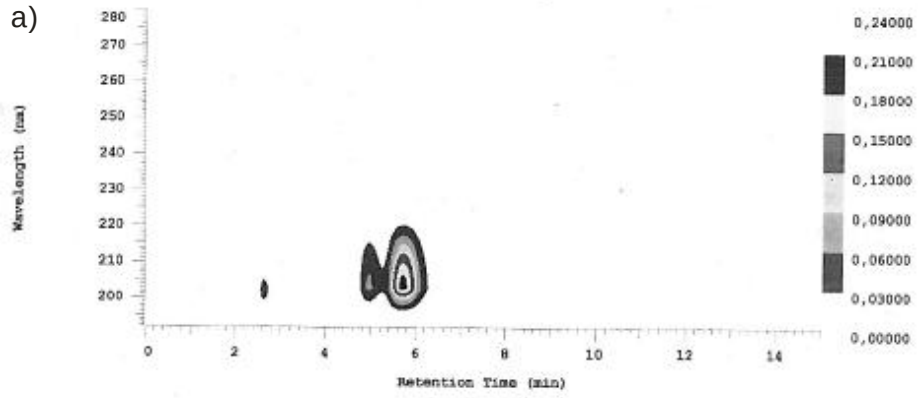


Abbildung 70: Synthese des Peptids **301**. a) HCl·H-L-Asp(O*t*Bu)-OAll, Cl-HOBt, EDAC, abs. DMF, $NaHCO_3$, 5 °C, 23 h, 87 %; b) PBu_3, H_2O, THF, RT, 23 h.

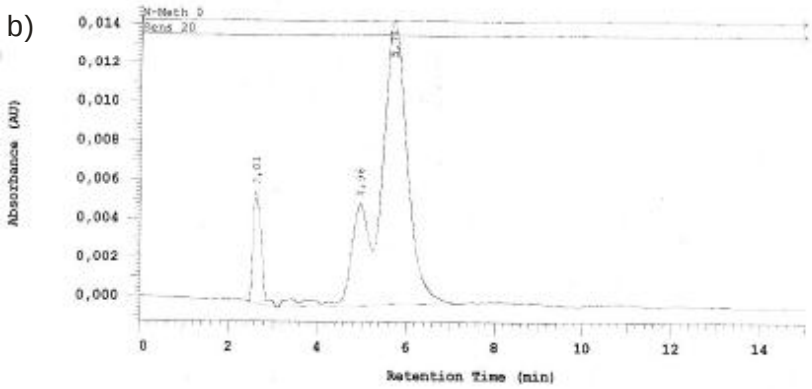
Methylether **289** konnte hingegen problemlos mit HCl·H-L-Asp(O*t*Bu)-OAll zu Verbindung **300** gekuppelt werden. Nach einer Reaktionszeit von 23 h bei 5 °C wurde mit Cl-HOBt und EDAC als Kupplungsreagenzien eine Ausbeute von 87 % erzielt. Chirale HPLC-Analytik zeigte einen Diastereomerenüberschuss von 56 % (Abbildung 71).

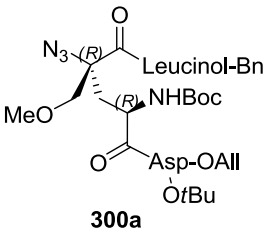
a)



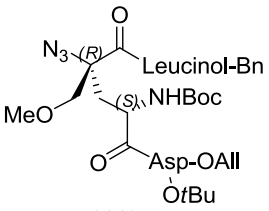
Chrom Type: Fixed WL Chromatogram, 225 nm

b)





300a



300b

c)

No.	RT	Area	Conc 1
1	2,61	37141	9,618
2	4,96	77730	20,130
3	5,71	271275	70,252
		386146	100,000

Abbildung 71: HPLC-Chromatogramme der Verbindung **300**, aufgenommen mittels a) Diodenarray-Detektion (DAD) bzw. b) UV-Detektion bei λ = 225 nm. C) Über die Integrale errechnet sich ein *de*-Wert von 56 % (Säule: Chiralpak OD-H, Eluent: *iso*-PrOH/*n*-Hexan); Peak 1 = Einspritzpeak, Peak 2 = **300a**, Peak 3 = **300b**.

Im nächsten Schritt erfolgte die Umwandlung des Azids **300** in ein Amin mittels Staudinger-Reduktion. **300** wurde hierfür mit PBu_3 in THF gelöst und mit H_2O versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 23 h bei Raumtemperatur konnte mittels MS- und IR-Analyse kein Azid mehr nachgewiesen werden. Das Produkt **301** konnte ohne weitere Aufreinigung der nächsten Kupplungsreaktion mit Alloc-L-Trp(Boc)-OH zugeführt werden (Abbildung 72). Die bereits erwähnten Testreaktionen zum Aufbau dieser Peptidbindung ließen vermuten, dass die sterisch äußerst anspruchsvollen Substrate unter den bisher angewendeten Bedingungen nicht mit zufriedenstellenden

Ausbeuten zu verknüpfen wären. Daher kam in diesem Schritt HATU anstelle von Cl-HOBt und EDAC als Kupplungsreagenz zum Einsatz. Es handelt sich bei HATU zwar um ein wesentlich teureres Reagenz. Es zeigt jedoch höhere Reaktivitäten und wurde bereits in zahlreichen schwierigen Peptidkupplungen und Macrolactamisierungen erfolgreich eingesetzt.[173] Auch im vorliegenden Fall konnte in Verbindung mit DIPEA als Base in DMF nach einer Reaktionszeit von 48 h bei Raumtemperatur eine Ausbeute von 65 % über zwei Stufen zu **305** erzielt werden (Abbildung 72).

An dieser Stelle wird deutlich, warum Trp^3 *N*-terminal Alloc-geschützt und Asp^2 *C*-terminal als Allylester vorliegen sollte. Durch die Behandlung des Peptids **305** mit $Pd(PPh_3)$ und $PhSiH_3$ als Scavenger des Allylkations konnten diese beiden Schutzgruppen in einem Schritt gleichzeitig entfernt werden, ohne die übrigen Funktionalitäten in Mitleidenschaft zu ziehen. Nach einer Reaktionszeit von 4 h bei 0 °C in DCM konnte eine vollständige Umsetzung mittels LCMS-Analyse beobachtet werden (Abbildung 72). Der Pd^0-Katalysator wurde kurz zuvor frisch aus $PdCl_2$, PPh_3 und Hydrazinhydrat durch vierstündiges Kochen in DMSO hergestellt. Eine vollständige Aufreinigung des Produkts **85** war nicht möglich, da nicht identifizierte Nebenprodukte mit ähnlichen Molekülmassen weder durch Extraktion, noch durch Chromatographie abgetrennt werden konnten. Peptid **85** konnte jedoch problemlos ohne weitere Aufreinigung direkt der nächsten Stufe zugeführt wurde.

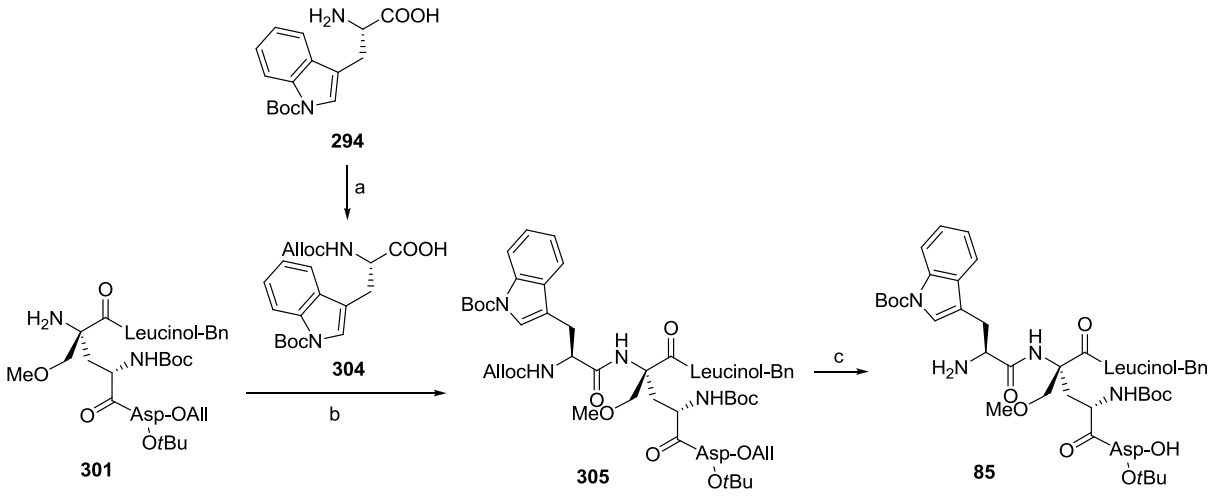


Abbildung 72: Synthese des Peptids **85**. a) AllocCl, $NaHCO_3$, Aceton, H_2O, RT, 22 h, 65 %; b) HATU, DIPEA, abs. DMF, RT, 48 h, 65 % über zwei Stufen; c) $Pd(PPh_3)_4$, $PhSiH_3$, abs. DCM, 0 °C, 4 h.

Der finale Schritt zur Synthese des A-Rings von Labyrinthopeptin A2 war die Zyklisierung zum Macrolactam, welche mittels Peptidkupplung zwischen Trp^2 und Asp^3 der Aminosäurensequenz des Naturstoffs vollzogen wurde. An dieser Stelle war die Methyletherschützung der Hydroxyfunktion von Bedeutung. Der freie Alkohol könnte einen ungewollten Ringschluss zum Lacton eingehen und zu großen Ausbeuteverlusten führen. HATU in Kombination mit DIPEA zeigte sich auch hier als effektives Kupplungsreagenz. Um eine Polymerisierung durch intermolekulare Amidbildung zu verhindern, wurde die Reaktion in einer 0.2 mM Verdünnung in DCM durchgeführt. Tatsächlich konnte keine Dimerisierung beobachtet werden. Nach einer Reaktionszeit von 4 d bei Raumtemperatur konnte durch LCMS-Analyse kein Edukt **85** mehr detektiert werden (Abbildung 73). Nach säulenchromatographischer Aufreinigung erhielt man **84** als weißen Feststoff, dessen NMR- und LCMS-Analyse jedoch stets geringe Verunreinigungen aufwiesen. Weitere Aufreinigung mittels präparativer HPLC war in diesem Fall nicht möglich, da die Verbindung in den geeigneten HPLC-Lösungsmitteln eine zu geringe Löslichkeit zeigte. Alternativ wurde die Ausfällung aus MeOH bzw. MeCN getestet. Auch hierdurch konnten nicht alle Verunreinigungen abgetrennt werden. Die geringe Löslichkeit von **84** sorgte hingegen für große Ausbeuteverluste. Die vollständige Aufreinigung gelang schließlich mithilfe einer *solid phase extraction* (SPE). Das Rohprodukt wurde dabei als Feststoff auf eine SPE-Kartusche mit C_{18}-funktionalisiertem Kieselgel aufgetragen und mit einem H_2O/MeOH-Gemisch gewaschen, wobei der MeOH-Anteil sukzessive in 10 vol%-Schritten von 0 % auf 100 % erhöht wurde. Da mit MeOH das so aufgereinigte Produkt jedoch nur teilweise eluiert werden konnte, wurde schließlich der verbleibende Rest mit $CHCl_3$ von der Kartusche gewaschen. Nach Lyophilisation erhielt man schließlich das reine Macrolactam **84** als weißen Feststoff in einer Ausbeute von 61 % über zwei Stufen.

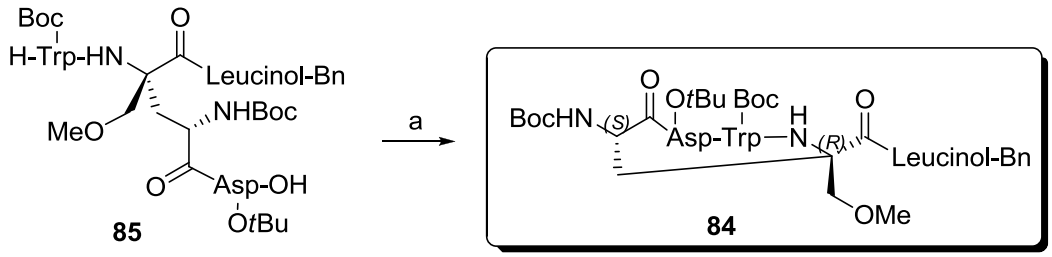


Abbildung 73: Synthese des Macrolactams **84**. a) HATU, DIPEA, abs. DCM, RT, 4 d, 61 % über zwei Stufen.

Es sollte an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass sich die Interpretation der NMR-Spektren der Verbindungen **301**, **305**, **85** und **84** als große Herausforderung erwies. Zwar konnten stets sämtliche charakteristischen Signale, wie die der Aromaten, der *tert*-Butylgruppen und der Methylreste des Leucinols, identifiziert und zugeordnet werden, eine Aufspaltung der Signale war hingegen nicht erkennbar. Ebenso war eine exakte Integration der Peakflächen nicht möglich. Es wurden NMR-Messungen bei höheren Temperaturen durchgeführt, um gegebenenfalls die Umwandlung von Konformationsisomeren durch Überwindung ihrer Rotationsbarriere zu ermöglichen. Doch auch hier konnte keine Verbesserung der Signallinien beobachtet werden. Unterschiede zwischen den eingesetzten deuterierten Lösungsmitteln $CDCl_3$, DMSO und DMF konnten nicht beobachtet werden. Ein Grund dieses Problems liegt auf der Hand. Wie bereits erwähnt liegt der vollgeschützte Baustein **278** als Gemisch aus vier Stereoisomeren vor, bei denen es sich um ein Diastereomeren- sowie ein Enantiomerenpaar (*R/S*, *S/S*, *R/R*, *S/R* 36:9:8:2)[169] handelt. Erfahrungsgemäß sind Enantiomere im NMR-Spektrum nicht voneinander zu unterscheiden, was erklären würde, warum in den NMR-Daten von **278** lediglich eine Dopplung der Signale auftritt. Werden nun weitere Chiralitätszentren an den Baustein geknüpft, wie es in Form der enantiomerenreinen Aminosäuren **286**, H-Asp(O*t*Bu)-OAll und **304** geschehen ist, so wandelt sich das Enantiomerenpaar in ein Diastereomerenpaar um. Dies hat zur Folge, dass das NMR-Spektrum nun einen vierfachen Satz an Signalen aufweist, welche sich zwangsweise überlagern. Erschwerend kommt hinzu, dass die synthetisierten Verbindungen eine äußerst hohe Dichte an Funktionalitäten aufweisen, welche mit teilweise sterisch sehr anspruchsvollen Schutzgruppen versehen sind. Dies wiederum kann zur Ausbildung von Rotameren führen, wenn die freie Drehbarkeit eines Rests durch Platzmangel

nicht mehr gewährleistet ist und sich diese Substituenten ineinander verhaken. Diese Rotamere liefern in der NMR-Analyse meist unterschiedliche Ergebnisse, also einen weiteren Signalsatz.

Im Fall des zyklischen Peptids **84** ist ein weiterer Aspekt von großer Bedeutung. Die Röntgenkristallstruktur von Labyrinthopeptin A2 zeigt, dass zwischen Trp^{2} und Asp^{3} bzw. Thr^{11} und Gly^{12} eine *cis*-Amidbindung vorliegt. Diese wurde während der Synthese jedoch nicht gezielt induziert. Es ist jedoch durchaus anzunehmen, dass sich durch die strukturellen Gegebenheiten bei der Zyklisierung die *cis*-Amidbindung zumindest teilweise von selbst ausbildet, auch wenn dieser Vorgang gegenüber der *trans*-Amidbildung energetisch benachteiligt sein mag. Begünstigt würde er durch die ungewöhnliche Ringgröße, die voluminösen Aminosäureseitenketten und die sterische Induktion des quartären Bausteins. Es muss also davon ausgegangen werden, dass **84** als Gemisch aus einem *cis*- und einem *trans*-Amid vorliegt. Werden nun sämtliche Konformations- und Konfigurationsisomere, welche bei diesen Verbindungen vorliegen können, in Betracht gezogen, kann die Struktur der vorliegenden NMR-Spektren nachvollzogen werden. Es kommt zwangsläufig zu einer Überlagerung mehrere Signalsätze, welche schließlich nicht mehr eindeutig interpretierbar sind. Diese Annahme wird durch die Ergebnisse der Strukturaufklärung von Labyrinthopeptin A2 gestärkt. Auch hier waren die NMR-Daten aufgrund starker Signalüberlagerungen nicht auswertbar. Die korrekte Struktur, die Reinheit und damit die erfolgreiche Synthese des zyklischen Peptids **84** konnte schließlich mittels HRMS-, LCMS-, IR- und DC-Analytik bestätigt werden. Um zukünftig die Analytik des Bausteins durch NMR-Daten zu ergänzen, ist dessen vollständige Entschützung geplant. Durch Entfernung der sterisch anspruchvollen Reste, soll das Auftreten von Rotamerengemischen und von starken Signalüberlagerungen unterdrückt und eine Interpretation der NMR-Spektren ermöglicht werden.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Der peptidische Naturstoff Labyrinthopeptin A2 (**75**) wurde im Jahre 1988 zusammen mit seinen verwandten Verbindungen Labyrinthopeptin A1 (**76**) und A3 (**77**) von der Firma Hoechst (heute Sanofi-Aventis, Frankfurt) aus dem Mikroorganismus *Actinomadura namibiensis* DSM 6313[87,88] isoliert. Die Struktur des Peptids konnte zum damaligen Zeitpunkt jedoch nicht aufgeklärt werden. Basierend auf den Daten von Meindl *et al.*[89] handelt es sich hierbei um ein pentazyklisches 18mer-Peptid, welches aufgrund seiner molekularen Architektur in die Klasse der ribosomal synthetisierten Lantibiotika eingeordnet werden konnte. Die durch die Arbeitsgruppen Süssmuth und Sheldrick durchgeführte Strukturaufklärung gelang hauptsächlich mittels Röntgenstrukturanalyse und wies einen globulären Charakter auf. Zudem wurde die neuartige α,α-disubstituierte Triaminotrisäure Lab nachgewiesen, welche in der Sequenz des Naturstoffs zweimal zu finden ist. Ausgehend von ihrem quartären Kohlenstoffzentrum bildet diese zusammen mit ihren benachbarten Aminosäuren jeweils einen Tetrapeptid- und einen Pentapeptidring aus, was mithilfe ihrer ungewöhnlichen Methylenverbrückung (Ring A und A‘) bzw. der Lan-Brücke (Ringe B und B‘) möglich ist. Ein fünfter Ring kommt durch eine Disulfidverknüpfung zwischen Cys^9 und Cys^{18} (Ring C) zustande.[54] Es wurde nachgewiesen, dass Labyrinthopeptin A2 eine geringe antivirale Wirkung und schwache antibakterielle Eigenschaften gegen Gram-positive Bakterien aufweist. Vor allem jedoch zeigt es eine beachtliche Wirkung gegen taktile Allodynie (ED_{50} = 50 µg/kg), was Tests im SNI-Mausmodell belegten (Abschnitt 2.1.2.3.3).[89] Durch diese Ergebnisse stellt Peptid **75** einen potentiellen Wirkstoff gegen neuropathischen Schmerz dar, was dessen genauere Untersuchung nahelegt. Die Synthese des Naturstoffs oder chemisch veränderter Analoga könnte zur Entwicklung neuer Schmerzmedikamente mit verbesserten pharmakologischen Eigenschaften und optimierter Applizierbarkeit beitragen.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte ein erster wichtiger Abschnitt auf dem Weg zur Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 erfolgreich abgeschlossen werden. Nach der Untersuchung zahlreicher Methoden und der mehrfachen Änderung und Neuentwicklung der Synthesestrategie wurde der α,α-disubstituierte

α-Aminosäurebaustein **271** in einer Gesamtausbeute von 3 % über 14 Stufen ausgehend von D-Ser (**196**) dargestellt (Abbildung 74). Die moderate Ausbeute ist zum einen auf unerwünschte Nebenreaktionen zurückzuführen, welche trotz Optimierung nicht vollständig unterdrückt oder umgangen werden konnten. Zum anderen war bei der Einführung der Aminosäurefunktionalität in der Seitenkette mittels Sharpless AD nur eine geringe Stereoseletivität zu beobachten, was zur Verringerung der Ausbeute um ca. 50 % führte. Von weitaus größerer Bedeutung ist jedoch, dass die hierbei entstandenen Diastereomere getrennt werden konnten, was die Gewinnung von enantiomerenreinem **271a** und **271b** ermöglichte.

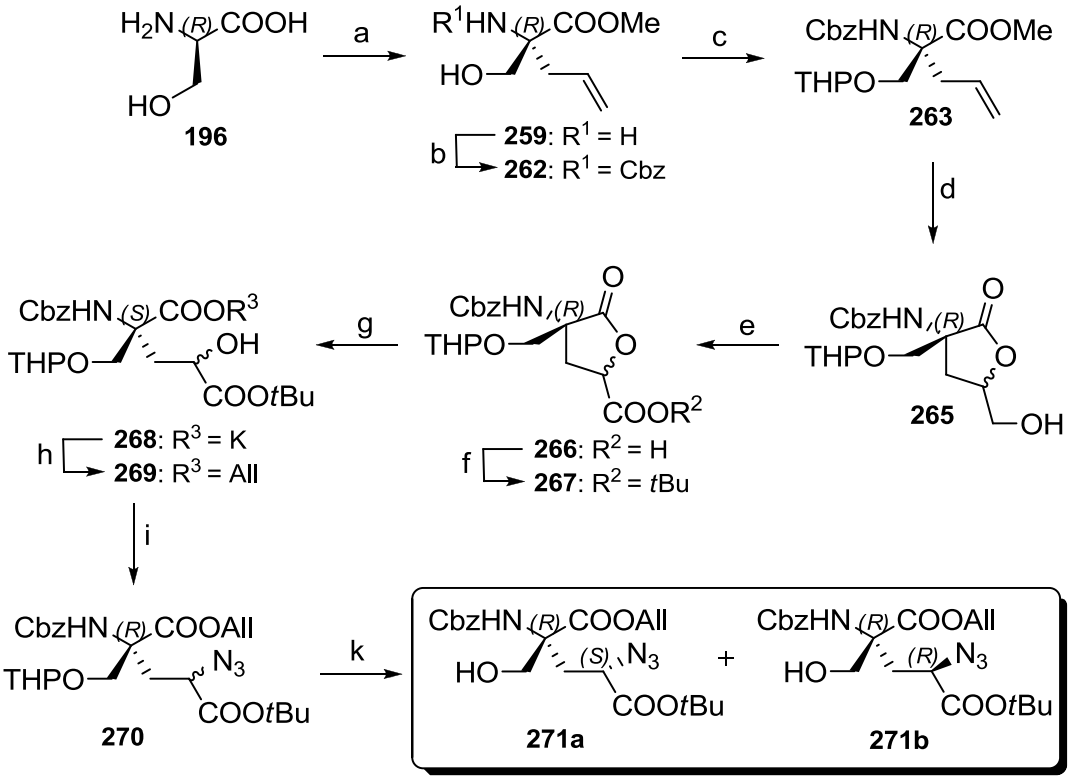


Abbildung 74: Synthese des α,α-disubstituierten Aminosäurebausteins **271** ausgehend von D-Ser. a) 5 Stufen, 28 %; b) CbzCl, $NaHCO_3$, Dioxan/H_2O, RT, 32 h, 81 %; c) DHP, PPTS, abs. DCM, RT, 20 h, 96 %; d) AD-Mix β, *t*BuOH/H_2O, RT, 52 h, 88 %; e) NaOCl, TEMPO, $NaHCO_3$, KBr, Aceton, 0 °C → RT, 19 h, 92 %; f) Boc_2O, DMAP, *t*BuOH, RT, 18 h, 80 %; g) 1N KOH aq, THF, 0 °C; h) AllBr, abs. DMF, 0 °C, 1 h, 56 %; i) PPh_3, DEAD, DPPA, abs. THF, -30 → -10 °C, 23 h, 53 %; k) PPTS, abs. EtOH, RT, 2 d, 62 %.

Die dabei angewendete Schutzgruppenstrategie ermöglicht die selektive Demaskierung und gezielte Funktionalisierung aller Substituenten (Abbildung 75):

1. Überführung des Alkohols in einen Thioether (**307**),
2. Abspaltung des Allylesters mit Pd^0 (**308**),
3. Staudinger Reduktion des Azids (**309**),
4. Hydrogenolyse der Cbz-Schutzgruppe (**310**),
5. Abspaltung des *tert*-Butylesters mit TFA (**311**).

Auf Grundlage dieser Strategie dient **271** als Lab-Vorläufer, aus welchem in wenigen Schritten die Lan-Brücke aufgebaut werden kann, indem der Alkohol nach einem Protokoll von Y. Rew *et al.*[174] durch Aktivierung und nucleophilen Angriff eines Thiols in einen Thioether überführt wird. Durch selektive Demaskierung eines bestimmten Substituenten ist anschließend die Einführung des Bausteins **307** in eine Aminosäurensequenz mithilfe einer gewöhnlichen Peptidkupplung möglich. Dies kann gezielt an einer der beiden Aminosäurefunktionalitäten geschehen. Des Weiteren bieten sowohl die Methylen-, als auch die Lan-Brücke die Voraussetzung für Zyklisierungen ausgehend vom quartären Kohlenstoffzentrum. Die Ausbildung der Ringe A und B bzw A‘ und B‘ kann dadurch vollzogen werden.

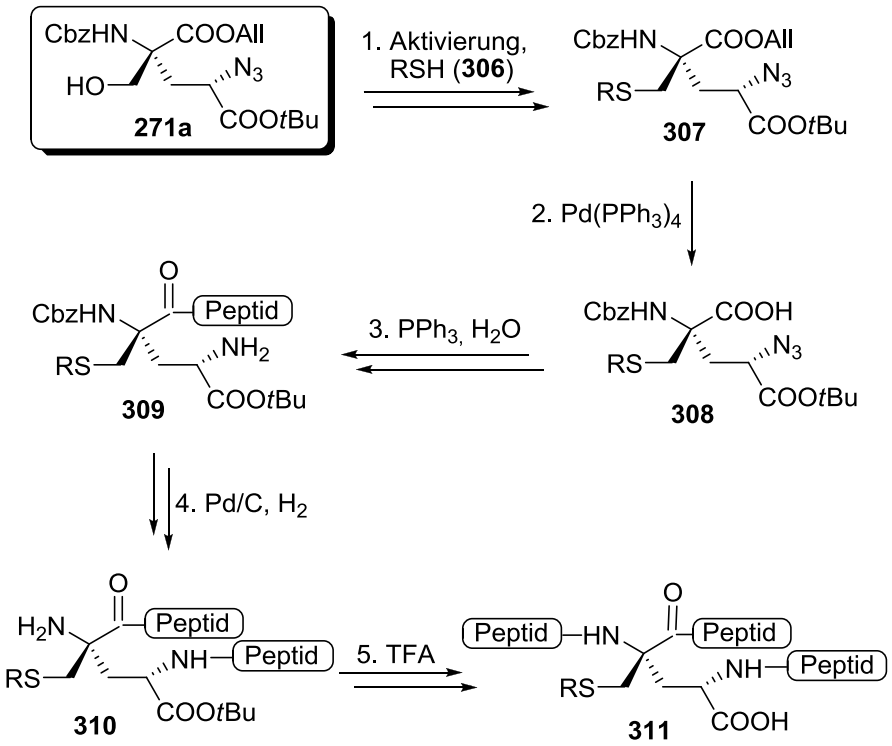


Abbildung 75: Möglichkeiten der selektiven Funktionalisierung von Baustein **271**.

Verbindung **271** bildet somit die Basis für die Totalsynthese der Labyrinthopeptine und kann hierfür als Ausgangsverbindung eingesetzt werden. Zudem stellt sie einen wertvollen Baustein für die organische Synthese im Allgemeinen dar. Durch die Orthogonalität der Schutzgruppen ist sie flexibel einsetzbar und kann zukünftig zur Gewinnung von komplexen, hochverbrückten Verbindungen, insbesondere Lantibiotika herangezogen werden.

Das zweite Projekt, welches im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurde, beinhaltete den Aufbau von Ring A des Naturstoffs Labyrinthopeptin A2. Dies gelang ausgehend von Verbindung **277** über zehn Stufen in einer Gesamtausbeute von 24 %. Aufgrund der hohen Dichte funktioneller Gruppen traten hierbei zahlreiche unerwünschte intramolekulare Ringschlüsse auf, welche durch mehrfache Änderung des Syntheseplans umgangen werden mussten. Die besondere Herausforderung lag vor allem in der Schutzgruppenstrategie. Der nichtlineare Verlauf der Synthese, der Aufbau des A-Rings und die zielgerichtete Fortführung der Totalsynthese erforderten eine strikte Orthogonalität der Schutzgruppen. Um diese zu gewährleisten, waren während der Syntheseentwicklung zahlreiche grundlegende Optimierungen der Strategie notwendig. Schließlich konnte Verbindung **84** gewonnen werden, welche Ring A von Labyrinthopeptin A2 entspricht. Zu erwähnen ist jedoch, dass diese als Diastereomerengemisch vorliegt, da keine enantiomerenreine Darstellung der α,α-disubstituierten Verbindung **278** möglich war. Des Weiteren ist nicht bekannt, ob **84** eine *cis*-Amidbindung zwischen Asp^2 und Trp^3 entsprechend dem Naturstoff aufweist. Vor der Fortführung der Totalsynthese ist daher eine eingehende Untersuchung der Stereochemie empfehlenswert, was eine Trennung der vorliegenden Diastereomere einschließt.

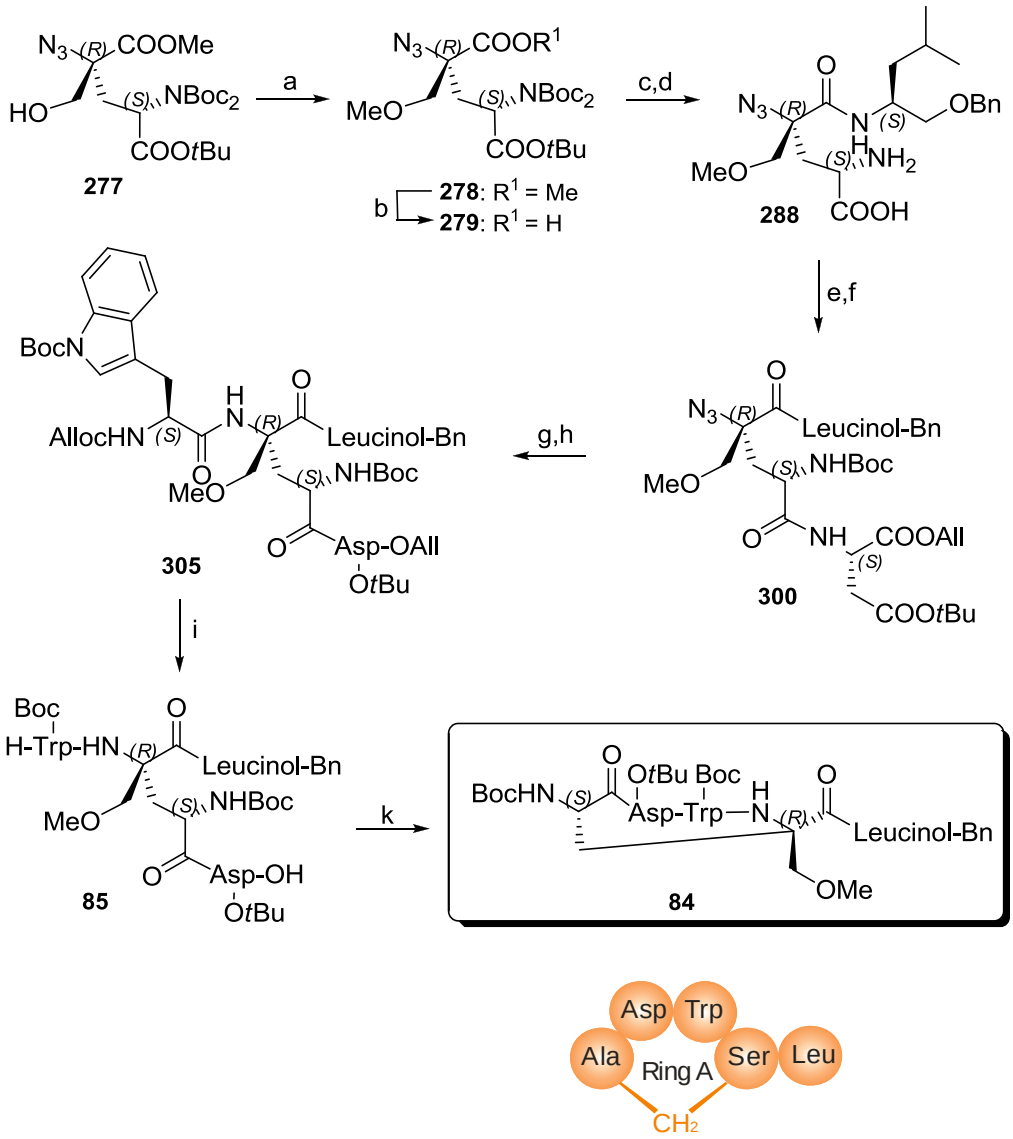


Abbildung 76: Synthese des zyklischen Peptids **84** und schematischer Vergleich mit dem Ring A-Fragment von Labyrinthopeptin A2. a) MeI, Ag_2O, abs. MeCN, Me_2S, -10 °C, 24 h, 99 %; b) 1M LiOH aq, THF, RT, 24 h; c) **286**, Cl-HOBt, EDAC, abs. DMF, 5 °C, 23 h, 87 % über zwei Stufen; d) TFA, TIPS, H_2O, RT, 24 h; e) Boc_2O, TEA, abs. DMF, RT, 5 h, 82 % über zwei Stufen; f) HCl·H-L-Asp(O*t*Bu)-OAll, Cl-HOBt, EDAC, abs. DMF, $NaHCO_3$, 5 °C, 23 h, 87 %; g) PBu_3, H_2O, THF, RT, 23 h; h) **304**, HATU, DIPEA, abs. DMF, RT, 48 h, 65 % über zwei Stufen; i) $Pd(PPh_3)_4$, $PhSiH_3$, abs. DCM, 0 °C, 4 h; k) HATU, DIPEA, abs. DCM, RT, 4 d, 61 % über zwei Stufen.

Ausgehend von Verbindung **84** soll in Zukunft die Totalsynthese fortgesetzt werden. Geplant ist zunächst die Spaltung des Methylethers mittels $AlCl_3$ und *n*-Bu_4NI in MeCN gemäß einem Protokoll von T. Akiyama.[170] Durch anschließende Aktivierung des Alkohols und nucleophile Substitution durch Cys soll Lab aufgebaut werden. Hydrogenolyse des Benzylethers und Oxidation des Aminoalkohols zu Leu[5] würde die Verknüpfung mit Trp[6] und Glu[7] und die darauffolgende Zyklisierung zu Ring B

durch gewöhnliche Peptidkupplungen ermöglichen (Abbildung 77). Das auf diesem Wege erhaltene Peptid **161** soll schließlich durch Fragmentkondensation mit dem Ostteil des Naturstoffs – dem A'B'-Fragment **162** – verknüpft werden. Die Ausbildung der Disulfidbrücke würde schließlich die Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 abschließen.

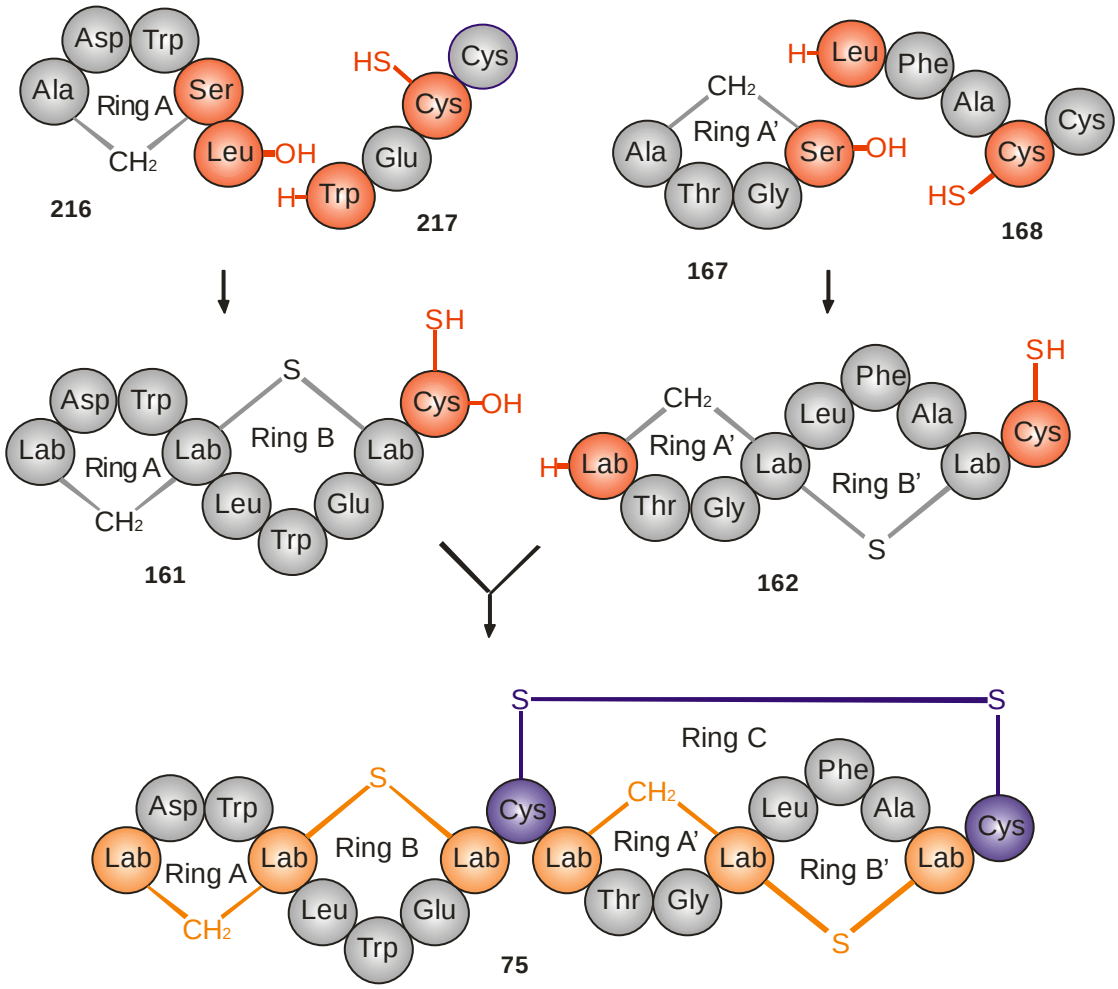


Abbildung 77: Syntheseschema der geplanten Totalsynthese von Labyrinthopeptin A2 (**75**).

Ein weiteres Ziel wird die Suche nach pharmakologisch interessanten Analoga sein. Hierfür sollen Derivate von **75** synthetisiert und auf ihre Bioaktivität hin untersucht werden. Vorstellbar sind Fragmente des Moleküls, wie beispielsweise einzelne Peptidzyklen. Auch lineare Strukturen oder Substitutionen einzelner Positionen innerhalb der Peptidkette durch völlig neuartige Aminosäurebausteine wären denkbar, genauso wie Retropeptidmotive oder hybridische Peptide. Die signifikante Wirkung von Labyrinthopeptin gegen neuropathischen Schmerz legt nahe, dessen

ungewöhnliche Struktur hierfür als Leitmotiv heranzuziehen. Auf diesem Wege könnten pharmakologisch verbesserte oder besser applizierbare Verbindungen als potenzielle Kandidaten zur medikamentösen Anwendung entdeckt werden – ein Ziel, welches nicht nur einen naturwissenschaftlichen Gewinn, sondern ebenso einen großen Beitrag zum Wohl unserer Gesellschaft darstellen würde.

6 Experimenteller Teil

6.1 Allgemeine Informationen

6.1.1 Chemikalien

Chemikalien für Synthese und Analytik wurden von den Firmen ABCR (Karlsruhe, Deutschland), ACROS ORGANICS (Geel, Belgien), ALFA AESAR (Karlsruhe, Deutschland), FLUKA (Buchs, Schweiz), FLUOROCHEM LIMITED (Derbyshire, UK), IRIS BIOTECH (Marktredwitz, Deutschland), KARL ROTH (Karlsruhe, Deutschland), LANCASTER (Mühlheim a.M., Deutschland), MERCK (Darmstadt, Deutschland), NOVABIOCHEM (Darmstadt, Deutschland), ORPEGEN (Heidelberg, Deutschland) und SIGMA-ALDRICH (Taufkirchen, Deutschland) bezogen und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

Deuterierte Lösungsmittel für die NMR-Spektroskopie (Chloroform-d_1 99.8 %, Methanol-d_4 99.8 %, Dimethylsulfoxid-d_6 99.8 %, D_2O 99.9 %) wurden von den Firmen DEUTERO (Kastellaun, Deutschland) und EURISO-TOP (Gif-sur-Yvette, Frankreich) erworben.

6.1.2 Schutzgas

Sämtliche Reaktionen mit feuchtigkeits- oder luftempfindlichen Substanzen wurden unter Stickstoff- oder Argonatmosphäre durchgeführt. Die Apparaturen wurden dabei zuvor im Ölpumpenvakuum ausgeheizt. Die Zugabe von Flüssigkeiten erfolgte mithilfe von Spritzen durch Septen hindurch. Feststoffe wurden im Schutzgasgegenstrom zugegeben.

6.1.3 Chromatographie

Säulenchromatographie wurde mit Kieselgel (Korngröße: 35 – 70 µm, Porendurchmesser: 60 Å) der Firmen ACROS ORGANICS oder RediSep Rf-Kartuschen der Firma TELEDYN ISCO (Lincoln, USA) durchgeführt. Eluiert wurde unter erhöhtem Druck (Druckluft) manuell oder automatisch mithilfe eines CombiFlash-Rf-Systems der Firma TELEDYN ISCO (Lincoln, USA). Es kamen unterschiedliche Kombinationen folgender Eluenten zum Einsatz: *n*-Hexan, EtOAc, DEE, DCM, $CHCl_3$, MeOH. Die Lösungsmittel wurden zuvor destilliert.

Dünnschichtchromatographie wurde mit kieselgelbeschichteten Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (Kieselgel 60 F_{254}) der Firma MERCK (Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Die Detektion erfolgte einerseits mittels UV-Licht (Wellenlänge: λ = 254 nm), andererseits durch Entwicklung mit Permanganat-, Ninhydrin-, Molybdat-, oder Dichlorophenolindophenol-Reagenz, die wie folgt hergestellt wurden:

- Permanganat-Reagenz: Kaliumpermanganat (3 g), Kaliumcarbonat (20 g), Wasser (300 ml), 5 %ige Natronlauge (5 ml).
- Ninhydrin-Reagenz: Ninhydrin (300 mg), *n*-Butanol (100 ml).
- Molybdat-Reagenz: Ammoniummolybdat (20 g), Cer(IV)-sulfat (400 mg), 10 %ige Schwefelsäure (400 ml).
- Dichlorphenolindophenol-Reagenz: 1,2-Dichlorphenolindophenol (380 mg als Natriumsalz), Ethanol (480 ml).

Präparative RP-HPLC Trennungen wurden auf einer 1260 Infinity-HPLC-Anlage der Firma AGILENT TECHNOLOGIES (Waldbronn, Deutschland) mit UV-Detektor (Beobachtungswellenlängen: λ = 210, 254 oder 280 nm) unter Verwendung der Prep-C_{18}-Säule (212 x 250 mm, 10 µm) der Firma AGILENT TECHNOLOGIES durchgeführt. Als Lösungsmittelsysteme wurden Wasser / 0.1 % HCOOH (Lösungsmittel A) und MeCN / 0.1 % HCOOH (Lösungsmittel B) bzw. MeOH / 0.1 % HCOOH (Lösungsmittel B) bei einer Flussrate von 20 ml/min verwendet. Die

jeweiligen Gradienten sind an entsprechender Stelle angegeben. Auswertungssoftware: Agilent ChemStation.

6.1.4 Analysemethoden

^{1}H-NMR-Spektren wurden mit den Geräten DRX 500 (Aufnahmefrequenz: 500.13 MHz) und AM 400 (Aufnahmefrequenz: 400.14 MHz) der Firma BRUKER (Karlsruhe, Deutschland) aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in δ-Werten (ppm) relativ zum Restsignal der undeuterierten Lösungsmittelanteile angegeben. Die Kopplungskonstanten *J* sind in Hertz (Hz) angegeben. Das Lösungsmittel ist zusammen mit den spektroskopischen Daten aufgeführt. Die Anzahl der Protonen wurde durch elektronische Integration ermittelt. Signalmultiplizitäten sind wie folgt gekennzeichnet: (s) Singulett, (d) Dublett, (dd) Dublett von Dublett, (ddd) Dublett von Dublett von Dublett, (t) Triplett, (dt) Dublett von Triplett, (q) Quartett, (m) Multiplett und (br) breit. Die Spektren wurden, sofern nicht anders angegeben, bei 298 K aufgenommen. Auswertungssoftware: ACDLabs 5 (Toronto, Kanada), BRUKER Topspin 1.3.

^{13}C-NMR-Spektren wurden mit den Geräten DRX 500 (Aufnahmefrequenz: 125.76 MHz) und AM 400 (Aufnahmefrequenz: 100.62 MHz) der Firma BRUKER (Karlsruhe, Deutschland) ^{1}H-Breitband entkoppelt aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in δ-Werten (ppm) relativ zum Restsignal der undeuterierten Lösungsmittelanteile angegeben. Die Zuordnungen wurden durch DEPT-135, APT oder 2D-NMR Experimente ermittelt. Das Lösungsmittel ist zusammen mit den spektroskopischen Daten aufgeführt. Die Spektren wurden, sofern nicht anders angegeben, bei 298 K aufgenommen. Auswertungssoftware: ACDLabs 5 (Toronto, Kanada), BRUKER Topspin 1.3.

MS-EI-Experimente (auch Hochauflösung) wurden entweder auf einem FINNIGAN MAT 895 SQ oder auf einem VARIAN MAT 771 durchgeführt. Die Ionisierung erfolgte durch Elektronenstoß (EI) mit einem Ionisierungspotential von 70 eV.

HPLC-ESI-MS-Experimente (auch Hochauflösung) wurden entweder an einem Qtrap 2000 Quadrupol-Massenspektrometer der Firma APPLIED BIOSYSTEMS (Darmstadt, Deutschland) in Kopplung mit einem Agilent 1100 HPLC-System der Firma AGILENT TECHNOLOGIES (Waldbronn, Deutschland) unter Verwendung einer RP-C_{18}-Säule der Firma PHENOMENEX (Aschaffenburg, Deutschland) (Lösungsmittel A: Wasser / 0.1 % HCOOH, Lösungsmittel B: MeCN / 0.1 % HCOOH; Flussrate: 1.5 ml/min) oder an einem Orbitrap XL-Massenspektrometer der Firma THERMO SCIENTIFIC (Waltham, Massachusetts, USA) in Kopplung mit einem 1200-HPLC-Anlage der Firma AGILENT TECHNOLOGIES unter Verwendung einer Hypersil 100-C_{18}-Säule der Firma THERMO SCIENTIFIC durchgeführt (Lösungsmittel A: Wasser / 0.025 % HCOOH, Lösungsmittel B: MeOH / 0.025 % HCOOH; Flussrate: 1.3 ml/min). Steuerungs- und Auswertungssoftware: Analyst 1.4.1 bzw. Thermo Xcalibur.

HPLC-Analytik wurde mit einer analytischen 1100-HPLC-Anlage der Firma AGILENT TECHNOLOGIES (Waldbronn, Deutschland) mit DAD-Detektor und einer Luna RP-C_{18}-Säule der Firma PHENOMENEX (Aschaffenburg, Deutschland) durchgeführt (Lösungsmittel A: Wasser / 0.1 % HCOOH; Lösungsmittel B: MeCN / 0.1 % HCOOH; Flussrate: 1.5 ml/min; Gradient: 0 min 5 % B → 10 min 100 % B → 12 min 100 % B → 12.1 min 5 % B → 15 min 5 % B). Auswertungssoftware: Agilent ChemStation.

Chirale HPLC-Analytik wurde an einem Merck-Hitachi LaChrom-System der Firma HITACHI (Tokyo, Japan) unter Verwendung einer Chiralcel OD-H Säule der Firma DAICEL CHEMICAL INDUSTRIES (Tokyo, Japan) mittels DAD- und UV-Detektion durchgeführt. Als isokratisches Lösungsmittelsystem diente *iso*-PrOH und *n*-Hexan bei einer Flussrate von 1.2 ml/min. *de*-Werte [%] wurden über die Verhältnisse der Peakintegrale errechnet. Auswertungssoftware: VWR HPLC System Manager.

Drehwerte wurden an einem P-2000 Digital Polarimeter der Firma JASCO (Easton, USA) unter Verwendung einer Küvette mit 5 cm Strahlengang bei einer Temperatur von ca. 22 °C ermittelt (Natriumdampflampe: λ = 589 nm). Detektiert wurde die

optische Rotation α mit der Einheit [°]. Angegeben sind zudem die jeweiligen Konzentrationen [g/100 ml].

IR-Spektren wurden mit dem FTIR-Spektrometer Nicolet Magna 750 der Firma THERMO SCIENTIFIC (Waltham, Massachusetts, USA) als ATR (*attenuated total reflectance*) aufgenommen. Die Lage der Banden ist in Wellenzahlen [cm^{-1}] angegeben. Auswertungssoftware: OMNIC.

Schmelzpunkte wurden an einem IA9200 Schmelzpunktapparat der Firma THERMO SCIENTIFIC (Waltham, Massachusetts, USA) durch lichtmikroskopische Beobachtung bestimmt. Die ermittelten Werte sind unkorrigiert.

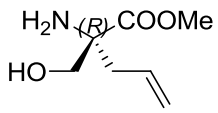
6.1.5 Nomenklatur

Chemischen Namen für synthetisierte Verbindungen wurden mit ChemDraw Ultra 6.0 der Firma CAMBRIDGESOFT CORPORATION (Cambridge, Massachusetts, USA) erstellt. In einigen Fällen wurde zum besseren Verständnis von dieser Nomenklatur abgewichen und in Anlehnung an die bestehende Literatur verfahren. Die Nummerierung der Atome in Strukturabbildungen dient der Zuordnung in NMR-Spektren und entspricht nicht immer der Nomenklatur.

Aminosäuren wurden entsprechend den Vorschlägen der IUPAC-IUB-Kommission für biologische Nomenklatur[94] nach dem Drei-Buchstaben-Code benannt.

6.2 Synthesevorschriften und analytische Daten

6.2.1 HCl·H-D-Ser-OMe (197)



D-Ser (1.0 eq, 286 mmol, 30.0 g) wird in Methanol (450 ml) suspendiert und das Reaktionsgemisch im Eisbad gekühlt. $SOCl_2$ (1.2 eq, 343 mmol, 24.9 ml) wird langsam zugetropft und das Gemisch 16 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand gründlich mit DEE gewaschen. Nach Trocknung im Hochvakuum erhält man reines **197** (285 mmol, 44.3 g, 100 % d. Th.) als weißen Feststoff.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:2): R_f = 0.21.

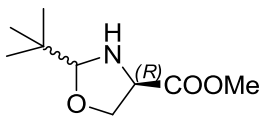
^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD): δ (ppm) = 4.13 (dd, *J* = 4.43, 3.49 Hz, 1 H), 4.00 (dd, *J* = 11.89, 4.43 Hz, 1 H), 3.92 (dd, *J* = 11.89, 3.43 Hz, 1 H), 3.84 (s, 3 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 168.53 (C_q), 59.45 (CH_2), 54.37 (CH), 52.75 (CH_3).

MS (CI): *m/z* = 120.2 $(M+H)^+$, 102.1 $(M+H-H_2O)^+$, 88.1 $(M+H-MeOH)^+$, 60.0 $(M+H-HCOOMe)^+$.

HRMS (CI): *m/z* ber. Für $C_4H_{10}NO_3$ $(M+H)^+$ 120.06607, gef. 120.06550.

6.2.2 (4*R*)-2-*tert*-Butyloxazolidin-4-carbonsäuremethylester (226)[137]



197 (1.0 eq, 289 mmol, 45.0 g) wird in einem Zweihalskolben mit Dean-Stark-Apparatur und Rückflusskühler vorgelegt und unter N_2-Atmosphäre in abs. *N*-Hexan (350 ml) suspendiert. Pivalaldehyd (2.0 eq, 578 mmol, 64.3 ml) und TEA (1.1 eq, 318 mmol, 44.2 ml) werden zugetropft und das Reaktionsgemisch 20 h unter Rückfluss erhitzt.

Triethylammoniumchlorid wird abfiltriert und mit DEE gründlich nachgespült. Die flüchtigen Komponenten der vereinigten Filtrate werden unter reduziertem Druck entfernt. Man erhält ein Diastereomerengemisch (1.0:1.3) von **226** (270 mmol, 50.6 g, 94 % d. Th.) als gelbes Öl, welches ohne weitere Aufreinigung der nächsten Stufe zugeführt wird.

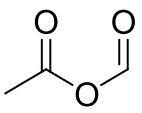
DC ($CHCl_3$/MeOH 9:2): R_f = 0.88.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 4.32 & 4.07 (s, 1 H), 4.12-4.07 & 3.97-3.88 (m, 1 H), 3.97-3.88 (m, 1 H), 3.77-3.68 (m, 1 H), 3.75 & 3.74 (s, 3 H), 2.50 (s br, 1 H), 0.98 & 0.91 (s, 9 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 173.06 & 172.84 (C_q), 99.89 & 99.17 (CH), 68.91 & 68.24 (CH_2), 59.52 & 59.34 (CH), 52.50 & 52.35 (CH_3), 34.51 & 33.14 (C_q), 25.20 & 24.85 (3 CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3325, 2956, 2907, 2871, 1742, 1482, 1435, 1402, 1366, 1332, 1306, 1269, 1207, 1142, 1115, 1065, 1032, 1024, 935, 916.

6.2.3 Ameisensäureessigsäureanhydrid (312)[175]

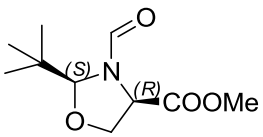


Natriumformiat (1.2 eq, 1.47 mol, 100.0 g) wird in einem Kolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter unter N_2-Atmosphäre in abs. DEE (89.0 ml) suspendiert. Unter Kühlung im Eisbad wird Acetylchlorid (1.0 eq, 1.25 mol, 88.9 ml) zügig zugetropft, wobei die Temperatur unter 5 °C gehalten werden muss. Nach einer Reaktionszeit von 26 h wird NaCl abfiltriert und gründlich mit DEE nachgespült. Die flüchtigen Komponenten des Filtrats werden unter reduziertem Druck entfernt. Man erhält **312** (0.82 mol, 61.4 g, 56 % d. Th.) als klare, farblose Flüssigkeit.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 2:1): R_f = 0.46.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.03 (s, 1 H), 2.10 (s, 3 H).

6.2.4 (2*S*,4*R*)-2-*tert*-Butyl-3-formyloxazolidin-4-carbonsäuremethylester (227)[137]



226 (1.0 eq, 270 mmol, 50.6 g) wird unter N_2-Atmosphäre in abs. DEE (200 ml) gelöst und auf 0 °C gekühlt. **312** (2.6 eq, 697 mmol, 61.4 g) wird so zugetropft, dass die Temperatur 5 °C nicht übersteigt. Nach einer Reaktionszeit von 15 h bei 0 °C wird die Lösung auf ein Gemisch aus Eis und ges. $NaHCO_3$-Lösung gegossen (200 ml) und mit DEE (3 x 400 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. $NaHCO_3$-Lösung (6 x 100 ml) gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 7:1) aufgereinigt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch (5:1) von **227** (267 mmol, 57.5 g, 99 % d. Th.) als gelblichen Feststoff.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 2:1): R_f = 0.58.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.45 & 8.37 (s, 1 H), 5.15 & 4.86 (s, 1 H), 4.90 & 4.56-4.52 (dd, *J* = 7.25, 3.09 Hz, 1 H), 4.47 & 4.56-4.52 (dd, *J* = 8.80, 3.16 Hz, 1 H), 4.01 (dd, *J* = 8.73, 7.39 Hz, 1 H), 3.79 & 3.75 (s, 3 H), 0.95 & 0.89 (s, 9 H).

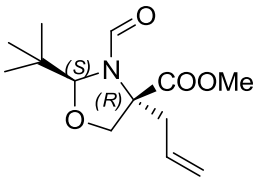
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 169.62 (C_q), 162.34 (CH), 97.38 & 95.85 (CH), 68.34 & 66.95 (CH_2), 58.74 & 56.29 (CH), 52.83 & 52.60 (CH_3), 36.99 & 36.15 (C_q), 25.32 & 24.75 (3 CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 2958, 2906, 2875, 1745, 1683, 1483, 1437, 1399, 1375, 1364, 1292, 1265 1215, 1175, 1153, 1099, 1037.

MS (ESI): *m/z* = 254.2 $(M+K)^+$, 238.2 $(M+Na)^+$, 216.2 $(M+H)^+$, 130.0 $(M+H-CHO-tBu)^+$.

HRMS (EI): *m/z* ber. Für $C_{10}H_{17}NO_4$ $(M)^+$ 215.11576, gef. 115.11379.

6.2.5 (2*S*,4*R*)-2-*tert*-Butyl-3-formyl-4-(2-propenyl)oxazolidin-4-carbonsäuremethylester (258)[137]



Diisopropylamin (1.2 eq, 27.90 mmol, 3.94 ml) wird unter N_2-Atmosphäre in einem Gemisch aus abs. THF/*n*-Hexan (10:1, 154 ml) gelöst und auf -78 °C gekühlt. 2.5M *n*-BuLi in *n*-Hexan (1.2 eq, 27.90 mmol, 11.2 ml) wird langsam zugetropft und 1 h bei -50 °C gerührt. Anschließend wird HMPT (6.9 eq, 159.30 mmol, 27.9 ml) zugetropft und auf -78 °C gekühlt. Nach 30 min wird **227** (1.0 eq, 23.20 mmol, 5.00 g) in abs. THF (28 ml) gelöst, langsam zugetropft und 1 h gerührt. Dabei färbte sich die Lösung orange. AllBr (2.7 eq, 62.70 mmol, 5.43 ml) wird zugetropft und die Lösung über 24 h auf 0 °C erwärmt. Die Reaktion wird mit eisgekühlter 3.5M NH_4Cl-Lösung (460 ml) gequenscht und das Gemisch mit DEE (3 x 300 ml) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit H_2O (500 ml) gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 14:1, dann 9:1) aufgereinigt. Man erhält ein Rotamerengemisch (1:1) von **258** (9.01 mmol, 2.30 g, 39 % d. Th.) als gelbes Öl.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 2:1): R_f = 0.56.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.50 (s, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 5.80-5.58 (m ,2 H), 5.30 (d, *J* = 0.94 Hz, 1 H), 5.24-5.13 (m, 4 H), 4.82 (s, 1 H), 4.58 (d, *J* = 9.13 Hz, 1 H), 4.24 (dd, *J* = 8.87, 0.94 Hz, 1 H), 4.04 (d, *J* = 8.73 Hz, 1 H), 3.89 (d, *J* = 9.27 Hz, 1 H), 3.80 (s, 3 H), 3.77 (s, 3 H), 3.25-3.19 (m, 1 H), 2.89-2.84 (m, 1 H), 2.77-2.72 (m, 1 H), 2.67-2.62 (m, 1 H), 1.01 (s, 9 H), 0.90 (s, 9 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 171.60 (C_q), 170.99 (C_q), 162.44 (CH), 159.61 (CH), 131.53 (CH), 129.36 (CH), 121.48 (CH_2), 120.26 (CH_2), 98.20 (CH), 97.01

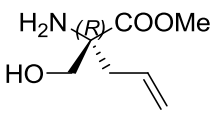
(CH), 74.15 (CH_2), 73.11 (CH_2), 68.09 (C_q), 67.32 (C_q), 52.98 (CH_3), 52.73 (CH_3), 42.47 (CH_2), 38.39 (C_q), 37.45 (C_q), 36.39 (CH_2), 25.97 (3 CH_3), 25.54 (3 CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3080, 2958, 2911, 2875, 1744, 1681, 1641, 1481, 1437, 1363, 1346, 1318, 1293, 1264, 1229, 11127, 1067.

MS (ESI): *m/z* = 294.1 $(M+K)^+$, 278.2 $(M+Na)^+$, 256.3 $(M+H)^+$, 170.2 $(M+H-CHO-tBu)^+$.

HRMS (EI): *m/z* ber. Für $C_{13}H_{22}NO_4$ $(M+H)^+$ 256.154883, gef. 256.1544.

6.2.6 (*R*)-2-Amino-3-hydroxy-2-(2-propenyl)propansäuremethylester (259)



258 (30.5 mmol, 7.80 g) wird in MeOH (80 ml) gelöst, mit 1M HCl-Lösung (80 ml) versetzt und 25 h unter Rückfluss erhitzt. Das MeOH wird unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand mit DEE gewaschen (4 x 100 ml). Die wässrige Phase wird mit ges. $NaHCO_3$-Lösung auf pH 10 eingestellt, mit NaCl gesättigt und mit EtOAc (3 x 150 ml) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Man erhält **259** (23.7 mmol, 3.80 g, 78 % d. Th.) als bräunliches Öl, welches ohne weitere Aufreinigung der nächsten Stufe zugeführt wird.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:1): R_f = 0.32

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 5.69-5.59 (m, 1 H), 5.16-5.11 (m, 2 H), 3.78 (d, *J* = 10.75 Hz, 1 H), 3.74 (s, 3 H), 3.49 (d, *J* = 10.75 Hz, 1 H), 2.48 (dd, *J* = 13.70, 6.58 Hz, 1 H), 2.37 (s br, 3 H), 2.25 (dd, *J* = 13.70, 8.46 Hz, 1 H).

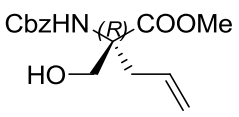
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 175.64 (C_q), 131.60 (CH), 120.00 (CH_2), 67.80 (CH_2), 62.22 (C_q), 52.43 (CH_3), 40.45 (CH_2).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3358, 3301, 3181, 3079, 3004, 2979, 2952, 2924, 2851, 1734, 1641, 1594, 1457, 1437, 1217, 1138, 1062, 996, 965, 922.

MS (ESI): *m/z* = 182.0 $(M+Na)^+$, 160.1 $(M+H)^+$, 142.2 $(M+H-H_2O)^+$, 118.1 $(M+H-All)^+$.

HRMS (EI): *m/z* ber. Für $C_7H_{14}NO_3$ $(M+H)^+$ 160.09737, gef. 160.09767.

6.2.7 (*R*)-2-(Benzyloxycarbonylamino)-2-(hydroxymethyl)pent-4-ensäuremethylester (262)



259 (1.0 eq, 23.7 mmol, 3.77 g) wird in Dioxan (60 ml) gelöst und im Eisbad gekühlt. $NaHCO_3$ (1.5 eq, 35.5 mmol, 3.00 g) wird in H_2O (60 ml) gelöst und zugetropft. Nach 20 min wird CbzCl (1.5 eq, 35.5 mmol, 5.10 ml) langsam zugetropft und das Reaktionsgemisch 17 h bei RT gerührt. Nach erneuter Zugabe von $NaHCO_3$ (0.5 eq, 11.8 mmol, 1.00 g) und CbzCl (0.5 eq, 11.8 mmol, 1.70 ml) wird weitere 15 h gerührt. Das Gemisch wird mit DEE (3 x 100 ml) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit H_2O (2 x 100 ml) und ges. NaCl-Lösung. (2 x 100 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 5:1, dann 3:1) aufgereinigt. Man erhält **262** (19.2 mmol, 5.63 g, 81 % d. Th.) als farbloses Öl.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 1:1): R_f = 0.45

Drehwert: $[\alpha]_D^{22}$ = -0.54 (c = 1, $CHCl_3$).

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.39-7.30 (m, 5 H), 5.72 (s, br, 1 H), 5.66-5.55 (m, 1 H), 5.14-5.05 (m, 4 H), 4.15 (d, *J* = 10.88 Hz, 1 H), 3.88-3.81 (m, 1 H), 3.78 (s, 3 H), 3.25 (s br, 1 H), 2.79 (dd, *J* = 13.84, 7.93 Hz, 1 H), 2.53 (dd, *J* = 13.90, 6.92 Hz, 1 H).

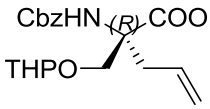
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 172.34 (C_q), 155.44 (C_q), 136.02 (C_q), 131.03 (CH), 128.51 (2 CH), 128.21 (2 CH), 128.05 (CH), 120.25 (CH_2), 66.89 (CH_2), 65.60 (CH_2), 65.02 (C_q), 52.89 (CH_3), 37.05 (CH_2).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3416, 3342, 3065, 3033, 3008, 2977, 2953, 2892, 2894, 1714, 1706, 1641, 1500, 1455, 1437, 1415, 1375, 1328, 1230, 1138, 1053, 1028, 955, 920, 827, 772, 741, 697.

MS (ESI): *m/z* = 316.1 $(M+Na)^+$, 294.1 $(M+H)^+$, 250.1 $(M+H-CO_2)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{15}H_{20}NO_5Na$ $(M+Na)^+$ 316.11554, gef. 316.11478.

6.2.8 (2*R*)-2-(Benzyloxycarbonylamino)-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pent-4-ensäuremethylester (263)



262 (1.0 eq, 28.3 mmol, 8.30 g) wird unter Ar-Atmosphäre in abs. DCM (280 ml) gelöst. PPTS (0.1 eq, 2.83 mmol, 0.71 g) und DHP (2.2 eq, 62.3 mmol, 5.64 ml) werden zugegeben und das Reaktionsgemisch 20 h bei RT gerührt. Es wird mit DEE (200 ml) verdünnt und mit H_2O (200 ml) und ges. NaCl-Lösung (200 ml) gewaschen. Die org. Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Man erhält ein Diastereomerengemisch von **263** (27.2 mmol, 10.3 g, 96 %) als farbloses Öl, welches ohne weitere Aufreinigung der nächsten Stufe zugeführt wird.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 2:1): R_f = 0.53.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.37-7.28 (m, 5 H), 5.85 & 5.82 (s br, 1 H), 5.72-5.56 (m, 1 H), 5.15-5.05 (m, 4 H), 4.54 (t, *J* = 2.75 Hz, 1 H), 4.25-3.65 (m, 3 H), 3.77 & 3.75 (s, 3 H), 3.49-3.40 (m, 1 H), 2.99-2.51 (m, 2 H), 1.77-1.44 (m, 6 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 171.88 & 171.80 (C_q), 154.24 & 154.14 (C_q), 136.27 (C_q), 131.28 & 131.18 (CH), 128.20 & 128.10 & 128.09 & 127.90 & 127.73 &

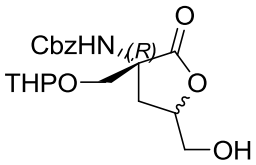
127.67 & 127.62 & 127.54 (5 CH), 119.95 & 118.96 (CH_2), 98.57 & 98.45 (CH), 68.63 & 68.34 (CH_2), 65.93 (CH_2), 63.66 & 63.39 (C_q), 61.47 (CH_2), 52.37 & 52.33 (CH_3), 36.22 & 36.00 (CH_2), 29.92 & 29.85 (CH_2), 24.95 & 24.91 (CH_2), 18.70 & 18.65 (CH_2).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3426, 3348, 3066, 3033, 2942, 2867, 2854, 1742, 1723, 1499, 1454, 1440, 1350, 1329, 1240, 1228, 1124, 1076, 1062, 1033, 979, 922, 906, 742, 698.

MS (ESI): *m/z* = 400.2 $(M+Na)^+$, 378.2 $(M+H)^+$, 294.1 $(M+H\text{-}THP)^+$, 250.2 $(M+H\text{-}THP\text{-}CO_2)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{20}H_{27}NO_6Na$ $(M+Na)^+$ 400.17306, gef. 400.17129.

6.2.9 Benzyl-(3*R*)-5-(hydroxymethyl)-2-oxo-3-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)tetrahydrofuran-3-ylcarbamat (265)



263 (19.9 mmol, 7.51 g) wird in *tert*-BuOH (60 ml) gelöst und mit H_2O (60 ml) versetzt. AD-Mix β (28.00 g) wird portionsweise zugegeben und die Suspension 37 h kräftig bei RT gerührt. Es wird erneut H_2O (35 ml), *tert*-BuOH (35 ml) und AD-Mix β (20.00 g) zugegeben und die Suspension weitere 15 h kräftig gerührt. Die Reaktion wird mit $Na_2S_2O_3$ (30.00 g) gequenscht und das Gemisch mit EtOAc (3 x 150 ml) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit H_2O (2 x 150 ml) und ges. NaCl-Lösung. (150 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 1:1) aufgereinigt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch von **265** (17.5 mmol, 6.64 g, 88 % d. Th.) als farbloses Öl.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:0.5): R_f = 0.28.

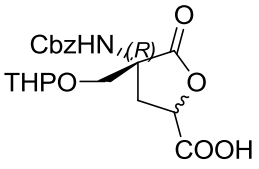
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 8.09 & 8.04 & 7.97 & 7.95 (s br, 1 H), 7.39-7.30 (m, 5 H), 5.09-5.01 (m, 3 H), 4.67-4.35 (m, 2 H), 3.77-3.30 (m, 5 H), 2.51-2.16 (m, 2 H), 1.72-1.39 (m, 6 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 175.95 (C_q), 154.80 (C_q), 136.55 (C_q), 128.43 (2 CH), 128.03 (CH), 127.94 (2 CH), 98.27 & 97.98 & 97.62 & 97.54 (CH), 78.23 & 78.17 & 78.01 & 77.93 (CH), 70.21 & 69.64 & 69.18 & 68.90 (CH_2), 65.88 & 65.83 & 65.75 & 65.72 (CH_2), 63.78 & 63.76 & 63.36 & 63.29 (CH_2), 61.31 & 61.24 & 60.59 & 60.54 (CH_2), 60.21 & 59.75 & 59.65 (C_q), 31.80 & 32.38 & 32.35 & 32.30 (CH_2), 29.81 & 29.79 & 29.73 & 29.62 (CH_2), 24.83 (CH_2), 18.73 & 18.70 & 18.40 & 18.34 (CH_2).

MS (ESI): *m/z* = 402.1 $(M+Na)^+$, 397.1 $(M+NH_4)^+$, 380.1 $(M+H)^+$, 296.1 $(M+H\text{-}THP)^+$, 252.1 $(M+H\text{-}THP\text{-}CO_2)^+$.

HRMS (EI): *m/z* ber. Für $C_{19}H_{24}NO_7$ $(M-H)^-$ 378.15528, gef. 378.15595.

6.2.10 (4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-5-oxo-4-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-carbonsäure (266)



265 (1.0 eq, 14.00 mmol, 5.31 g) wird in Aceton (105 ml) gelöst und im Eisbad gekühlt. KBr (0.1 eq, 1.40 mmol, 0.17 g), TEMPO (1.1 eq, 15.40 mmol, 2.41 g) und 5%ige $NaHCO_3$-Lösung (36 ml) werden zugegeben. Eine 5%ige NaOCl-Lösung (1.3 eq, 18.20 mmol, 24.90 ml) wird über 10 min zugetropft und das Gemisch 1 h bei 0 °C gerührt. Nach erneuter Zugabe von 5 %iger $NaHCO_3$-Lösung (50 ml) und 5 %iger NaOCl-Lösung. (0.5 eq, 7.00 mmol, 9.60 ml) wird 18 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit DEE (3 x 150 ml) gewaschen, die wässrige Phase mit 5 %iger HCl-Lösung auf pH 4 eingestellt und mit EtOAc (3 x 150 ml) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung (200 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch von **266** (12.88 mmol, 5.07 g,

92 % d. Th.) als farblosen Schaum, welcher ohne weitere Aufreinigung der nächsten Stufe zugeführt wird.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:2): R_f = 0.18.

Schmelzpunkt: 112 °C.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.40-7.24 (m, 5 H), 6.41 & 6.29 & 5.97 & 5.89 (s, 1 H), 5.08-4.44 (m, 4 H), 3.83-3.47 (m, 4 H), 2.96-2.59 (m, 2 H), 1.73-1.25 (m, 6 H).

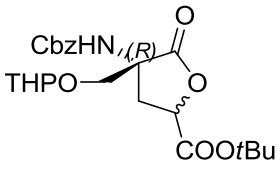
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 174.27 (C_q), 171.45 (C_q), 155.32 (C_q), 135.37 & 134.59 (C_q), 128.58 & 128.56 & 128.43 & 128.37 & 128.32 & 128.21 & 128.17 & 128.04 (5 CH), 100.15 & 99.76 & 99.15 & 98.50 (CH), 70.36 & 70.19 & 70.15 (CH_2), 69.11 & 68.78 & 68.72 (C_q), 67.57 (CH_2), 62.04 & 61.86 (CH_2), 54.99 & 50.61 (CH), 35.06 (CH_2), 30.37 & 30.22 & 30.17 & 29.94 (CH_2), 25.30 & 24.94 & 24.89 (CH_2), 19.17 & 18.68 (CH_2).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3312, 3064, 3034, 2944, 2874, 2855, 1791, 1717, 1530, 1455, 1271, 1212, 1200, 1184, 1127, 1070, 1035, 971, 906, 698.

MS (ESI): *m/z* = 432.1 $(M+K)^+$, 416.1 $(M+Na)^+$, 411.2 $(M+NH_4)^+$, 310.2 $(M+H\text{-}THP)^+$, 266.2 $(M+H\text{-}THP\text{-}CO_2H)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{19}H_{23}NO_8Na$ $(M+Na)^+$ 416.13159, gef. 416.13052.

6.2.11 (4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-5-oxo-4-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-carbonsäure-*tert*-butylester (267)



266 (1.0 eq, 13.80 mmol, 5.43 g) wird unter Ar-Atmosphäre in *tert*-BuOH (140 ml) gelöst, mit DMAP (0.3 eq, 4.14 mmol, 0.51 g) und Boc_2O (1.1 eq, 15.18 mmol, 3.50 ml) versetzt und

18 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit EtOAc (100 ml) verdünnt und mit 5 %iger $NaHCO_3$-Lösung (3 x 100 ml) gewaschen, um nicht abreagiertes Edukt **269** zu extrahieren und einer erneuten Boc-Schützung zu unterziehen. Die org. Phase wird mit ges. NaCl-Lösung (100 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 5:1) aufgereinigt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch von **267** (11.04 mmol, 4.96 g, 80 % d. Th.) als weißen Feststoff. In der Ausbeute ist die erneute Umsetzung des nicht abreagierten Edukts inbegriffen. Im Folgenden sind lediglich die Analytikdaten eines Diastereomerenpaares aufgelistet.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 2:1): R_f = 0.40 & 0.48.

Schmelzpunkt: 103 °C.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.38-7.30 (m, 5 H), 6.36 & 5.78 (s br, 1 H), 5.13-4.99 (m, 3 H), 4.60-4.46 (m, 1 H), 3.90-3.47 (m, 4 H), 2.92-2.56 (m, 2 H), 1.82-1.43 (m, 6 H), 1.49 (s, 9 H).

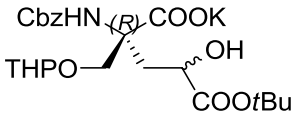
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 174.00 & 173.87 (C_q), 169.15 & 169.01 (C_q), 155.19 (C_q), 135.93 (C_q), 128.59 & 128.53 & 128.39 & 128.30 & 128.24 & 128.15 (5 CH), 100.88 & 99.13 (CH), 83.15 & 83.07 (C_q), 73.73 & 73.59 (CH), 70.97 & 69.44 (CH_2), 67.38 & 67.14 (CH_2), 64.25 & 62.68 (CH_2), 59.60 & 59.26 (C_q), 34.10 & 33.78 (CH_2), 30.50 & 30.08 (CH_2), 27.87 (3 CH_3), 25.06 & 24.90 (CH_2), 20.31 & 19.23 (CH_2).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3329, 3034, 2975, 2942, 2874, 1792, 1752, 1720, 1525, 1455, 1369, 1270, 1201, 1154, 1128, 1071, 1034, 971, 906, 845, 742, 699.

MS (ESI): *m/z* = 472.2 $(M+Na)^+$, 467.2 $(M+NH_4)^+$, 366.2 $(M+H\text{-}THP)^+$, 310.1 $(M+H\text{-}THP\text{-}t\text{Bu})^+$, 266.1 $(M+H\text{-}THP\text{-}Boc)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{23}H_{31}NO_8Na$ $(M+Na)^+$ 472.19419, gef. 472.19257.

6.2.12 Kalium-(2*R*)-2-(benzyloxycarbonylamino)-5-*tert*-butoxy-4-hydroxy-5-oxo-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pentanoat (268)



267 (1.0 eq, 1.92 mmol, 864 mg) wird in THF (4.70 ml) gelöst, mit H_2O (4.70 ml) versetzt und auf 0 °C gekühlt. KOH (1.5 eq, 2.88 mmol, 162 mg) wird so zugegeben, dass die Temperatur 5 °C nicht übersteigt. Nach einer Reaktionszeit von 5 h bei 0 °C wird die Lösung lyophilisiert. Man erhält ein nicht trennbares Diastereoisomerengemisch von **268** (932 mg) als weißen Feststoff, welcher ohne weitere Aufreinigung der nächsten Stufe zugeführt wird.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:2): R_f = 0.45.

Schmelzpunkt: 123 °C.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 7.39-7.27 (m, 5 H), 6.61 & 6.60 & 5.37 (s, 1 H), 5.08-4.97 (m, 2 H), 4.62-3.41 (m, 6 H), 2.70-1.93 (m, 2 H), 1.71-1.33 (m, 15 H).

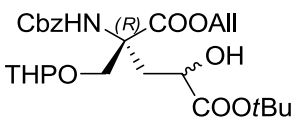
^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 173.00 & 172.97 (C_q), 172.81 & 172.74 (C_q), 153.82 & 153.78 (C_q), 137.07 & 137.05 (C_q), 128.40 & 128.29 & 128.03 & 127.94 & 127.86 & 127.75 & 127.54 & 127.49 (5 CH), 98.33 & 97.98 & 97.84 & 97.46 (CH), 80.16 & 80.07 (C_q), 67.96 & 67.61 (CH_2), 66.94 & 66.29 (CH), 65.04 (CH_2), 60.89 & 60.75 & 60.68 (CH_2), 59.08 & 59.03 (C_q), 35.85 & 35.78 (CH_2), 29.93 & 29.60 (CH_2), 27.59 & 27.56 & 27.53 & 27.48 (3 CH_3), 24.92 & 24.79 (CH_2), 18.73 & 18.61 & 18.55 (CH_2).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3410, 3090, 3065, 3033, 2943, 2633, 1722, 1500, 1455, 1369, 1245, 1211, 1064, 1035, 975, 907, 752, 698.

MS (ESI): *m/z* = 466.2 $(M-H)^-$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{23}H_{32}N_1O_9$ $(M-H)^-$ 466.20825, gef. 466.20664.

6.2.13 (2*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-2-(benzyloxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pentanedioat (269)



268 (1.0 eq, 499 mg) wird in abs. DMF (10.5 ml) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Allylbromid (50.0 eq, 49.3 mmol, 4.27 ml) wird so zugegeben, dass die Temperatur 5 °C nicht übersteigt. Nach einer Reaktionszeit von 1 h bei 0 °C wird das Gemisch mit DEE (10 ml) verdünnt und mit H_2O (2 x 10 ml) und ges. NaCl-Lösung (10 ml) gewaschen. Die wässrige Phase wird mit DEE (2 x 10 ml) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc, CombiFlash-Rf-Systems) aufgereinigt. Das Nebenprodukt **267** (0.20 mmol, 91.1 mg, 20 % d. Th. über zwei Stufen) kann dabei abgetrennt und erneut umgesetzt werden. Man erhält ein nicht trennbares Diastereoisomerengemisch von **269** (0.46 mmol, 233 mg, 56 % d. Th. über zwei Stufen) als klares, farbloses Öl. Im Folgenden sind lediglich die Analytikdaten eines Diastereomerenpaares angegeben.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 2:1): R_f = 0.48.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.38-7.27 (m, 5 H), 6.27 & 6.26 (s, 1 H), 5.98-5.85 (m, 1 H), 5.37-5.30 (m, 1 H), 5.25-5.21 (m, 1 H), 5.10 (q, *J* = 12.36 Hz, 2 H), 4.73-4.54 (m, 3H), 4.45-3.35 (m, 5 H), 2.79-2.72 (m, 2 H), 2.02-1.96 (dd, *J* = 13.84, 11.55 Hz, 1 H) 1.74-1.36 (m, 15 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 173.98 (C_q), 171.78 &171.69 (C_q), 154.32 (C_q), 136.65 (C_q), 131.68 (CH), 128.41 & 128.40 (2 CH), 127.96 & 127.92 (2 CH), 127.78 (CH), 118.76 & 118.58 (CH_2), 98.65 & 98.33 (CH), 82.86 & 82.85 (C_q), 68.81 & 68.50 (CH_2), 66.90 & 66.87 (CH), 66.60 & 66.39 (CH_2), 66.22 (CH_2), 62.17 & 62.15 (C_q), 61.44 & 61.19 (CH_2), 36.80 & 36.65 (CH_2), 30.07 (CH_2), 27.91 (3 CH_3), 25.28 (CH_2), 18.78 & 18.60 (CH_2).

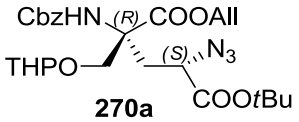
IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3500, 3460, 3418, 3032, 2977, 2942, 2896, 1725, 1498, 1455, 1369, 1325, 1246, 1160, 1127, 1082, 1062, 1035, 975, 907, 698.

MS (ESI): *m/z* = 530.2 $(M+Na)^+$, 508.3 $(M+H)^+$, 424.2 $(M+H\text{-}THP)^+$, 368.1 $(M+H\text{-}THP\text{-}t\text{Bu})^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{26}H_{37}NO_9Na$ $(M+Na)^+$ 530.23605, gef. 530.23543.

6.2.14 (2*R*,4*S*)- und (2*R*,4*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-4-azido-2-(benzyloxycarbonylamino)-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pentanedioat (270)

269 (1 eq, 145 µmol, 73.6 mg) und PPh_3 (2 eq, 290.0 µmol, 76.1 mg) werden unter Ar-Schutzatmosphäre in abs. THF (1.6 ml) gelöst und auf -30 °C gekühlt. DEAD (2 eq, 290 µmol, 45.7 µl) und DPPA (15 eq, 2175 µmol, 467.8 µl) werden so zugegeben, dass die Temperatur 5 °C nicht übersteigt. Nach einer Reaktionszeit von 23 h bei -10 °C wird das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 7:1) aufgereinigt, wobei die zwei Diastereomerenpaare voneinander getrennt werden können. Man erhält **270a** und **270b** (77 µmol, 41.3 mg, 53 % d. Th.) als farblose Öle.



270a

DC (*n*-Hexan/EtOAc 5:1): R_f = 0.28.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.36-7.29 (m, 5 H), 5.97-5.84 (m, 2 H), 5.38-5.22 (m, 2 H), 5.11 (s, 2 H), 4.68-4.52 (m, 3 H), 4.25-3.43 (m, 5 H), 2.58-2.37 (m, 2 H), 1.73-1.38 (m, 15 H).

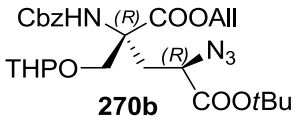
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 170.81 (C_q), 168.79 & 168.72 (C_q), 155.02 & 154.88 (C_q), 136.40 (C_q), 131.45 & 131.36 (CH), 128.46 & 128.45 (2 CH), 128.08 & 128.05 & 127.99 (3 CH), 119.07 & 118.79 (CH_2), 99.19 & 98.82 (CH), 83.20 (C_q), 69.57 & 68.82 (CH_2), 66.72 & 66.56 (CH_2), 66.48 (CH_2), 62.48 & 62.41 (C_q), 62.17 &

61.73 (CH_2), 58.99 & 58.90 (CH), 33.35 & 33.29 (CH_2), 30.27 & 30.07 (CH_2), 27.91 (3 CH_3), 25.16 (CH_2), 19.10 & 18.87 (CH_2).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3420, 3352, 3033, 2977, 2943, 2876, 2854, 2109, 1738, 1499, 1455, 1370, 1305, 1250, 1218, 1154, 1128, 1064, 1034, 974, 907, 698.

MS (ESI): *m/z* = 555.2 $(M+Na)^+$, 533.3 $(M+H)^+$, 449.2 $(M+H\text{-}THP)^+$, 393.1 $(M+H\text{-}THP\text{-}t\text{Bu})^+$, 258.1 $(M+H\text{-}THP\text{-}t\text{Bu-Cbz})^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{26}H_{36}N_4O_8Na$ $(M+Na)^+$ 555.24254, gef. 555.24239.



270b

DC (*n*-Hexan/EtOAc 5:1): R_f = 0.28.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.41-7.24 (m, 5 H), 6.14 (s, 1 H), 6.01-5.87 (m, 1 H), 5.40-5.32 (m, 1 H), 5.28-5.24 (m, 1 H), 5.16-5.04 (dd, *J* = 36.27, 12.36 Hz, 2 H), 4.80-3.34 (m, 8 H), 2.84-2.76 (m, 1 H), 2.17-2.10 (dd, *J* = 14.51, 11.42 Hz, 1 H), 1.71-1.32 (m, 15 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 171.15 & 171.06 (C_q), 168.83 & 168.78 (C_q), 154.25 (C_q), 136.42 (C_q), 131.33 & 131.31 (CH), 128.49 & 128.47 (2 CH), 128.10 & 128.02 (2 CH), 127.86 (CH), 119.29 & 119.07 (CH_2), 98.68 & 98.37 (CH), 83.17 (C_q), 68.82 & 68.50 (CH_2), 67.05 & 66.78 (CH_2), 66.43 (CH_2), 62.20 & 62.16 (C_q), 61.50 & 61.27 (CH_2), 58.43 & 58.39 (CH), 33.11 (CH_2), 30.05 (CH_2), 27.91 (3 CH_3), 25.24 & 25.21 (CH_2), 18.77 & 18.62 (CH_2).

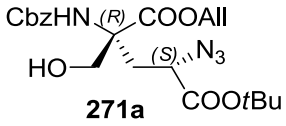
IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3417, 3033, 2943, 2875, 2853, 2121, 1738, 1498, 1456, 1370, 1324, 1245, 1216, 1187, 1154, 1127, 1066, 1036, 970, 907, 699.

MS (ESI): *m/z* = 555.2 $(M+Na)^+$, 533.3 $(M+H)^+$, 449.2 $(M+H\text{-}THP)^+$, 393.1 $(M+H\text{-}THP\text{-}t\text{Bu})^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{26}H_{36}N_4O_8Na$ $(M+Na)^+$ 555.24254, gef. 555.24252.

6.2.15 (2*R*,4*S*)- and (2*R*,4*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-4-azido-2-(benzyloxycarbonylamino)-2-(hydroxymethyl)pentanedioate (271)

270 (1.00 eq, 51.1 µmol, 27.2 mg) und PPTS (1.05 eq, 53.6 µmol, 76.2 mg) werden unter Ar-Atmosphäre in abs. EtOH (1.3 ml) gelöst und auf 40 °C erhitzt. Nach einer Reaktionszeit von 24 h wird das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in DEE (10 ml) aufgenommen und mit H_2O (5 ml) und ges. NaCl-Lösung (5 ml) gewaschen. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand mittels präparativer HPLC (t_R = 25.26 min, H_2O/MeOH, 60 auf 80 % MeOH in 30 min) aufgereinigt, wobei die zwei Diastereomerenpaare voneinander getrennt werden können. Man erhält **271a** und **271b** (28.3 µmol, 12.7 mg, 62 % d. Th.) als klares, farbloses Öl.



271a

DC (*n*-Hexan/EtOAc 3:1): R_f = 0.30.

Drehwert: $[\alpha]_D^{22}$ = +56.64 (c = 1, $CHCl_3$).

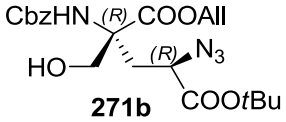
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.38-7.30 (m, 5 H), 6.00 (s br, 1 H), 5.95-5.85 (m, 1 H), 5.38-5.34 (m, 1 H), 5.29-5.26 (m, 1 H), 5.14-5.08 (m, 2 H), 4.69 (d, *J* = 4.57 Hz, 2 H), 4.18 (d, *J* = 12.09 Hz, 1 H), 3.88-3.81 (m, 2 H), 3.04 (s br, 1 H), 2.44-2.34 (m, 2 H), 1.48 (s, 9 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 171.14 (C_q), 168.53 (C_q), 155.52 (C_q), 135.97 (C_q), 131.17 (CH), 128.56 (2 CH), 128.28 (CH), 128.13 (2 CH), 119.38 (CH_2), 83.69 (C_q), 67.11 (CH_2), 66.83 (CH_2), 65.84 (CH_2), 63.93 (C_q), 59.04 (CH), 33.56 (CH_2), 27.94 (3 CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3508, 3400, 3033, 2979, 2935, 2894, 2114, 1730, 1500, 1455, 1369, 1301, 1247, 1215, 1151, 1055, 1028, 982, 935, 740, 698.

MS (ESI): *m/z* = 487.2 $(M+K)^+$, 471.2 $(M+Na)^+$, 449.2 $(M+H)^+$, 393.1 $(M+H-tBu)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{21}H_{28}N_4O_7Na$ $(M+Na)^+$ 471.18502, gef. 471.18434.



271b

DC (*n*-Hexan/EtOAc 3:1): R_f = 0.32.

Drehwert: $[\alpha]_D^{22}$ = -22.06 (c = 1, $CHCl_3$).

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.40-7.31 (m, 5 H), 6.16 (s br, 1 H), 5.99-5.89 (m, 1 H), 5.40-5.35 (m, 1 H), 5.30-5.27 (m, 1 H), 5.14-5.07 (m, 2 H), 4.77 (dd, *J* = 12.90, 5.91 Hz, 1 H), 4.65 (dd, *J* = 12.96, 5.98 Hz, 1 H), 4.27 (d, *J* = 11.01 Hz, 1 H), 3.84-3.76 (m, 2 H), 2.76 (d, *J* = 13.57 Hz, 1 H), 2.48 (s br, 1 H), 2.13 (dd, *J* = 14.64, 11.15 Hz, 1 H), 1.48 (s, 9 H).

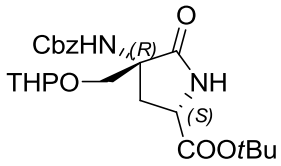
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 171.38 (C_q), 168.66 (C_q), 154.69 (C_q), 135.99 (C_q), 131.12 (CH), 128.62 (2 CH), 128.34 (CH), 128.08 (2 CH), 119.50 (CH_2), 83.45 (C_q), 67.19 (CH_2), 66.97 (CH_2), 65.46 (CH_2), 63.55 (C_q), 58.47 (CH), 32.88 (CH_2), 27.94 (3 CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3504, 3458, 3410, 3033, 2979, 2940, 2901, 2120, 1735, 1724, 1499, 1456, 1370, 1321, 1292, 1232, 1218, 1153, 1057, 1029, 1002, 937, 843, 743, 698.

MS (ESI): *m/z* = 487.2 $(M+K)^+$, 471.2 $(M+Na)^+$, 449.2 $(M+H)^+$, 393.1 $(M+H\text{-}t\text{Bu})^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{21}H_{28}N_4O_7Na$ $(M+Na)^+$ 471.18502, gef. 471.18381.

6.2.16 (2*S*,4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-5-oxo-4-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pyrrolidine-2-carbonsäure-*tert*-butylester (274)

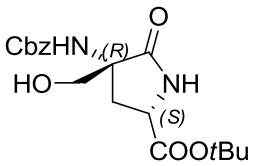


270a (1 eq, 30.0 µmol, 16.0 mg) und PPh_3 (2 eq, 60.0 µmol, 16.0 mg) werden unter Ar-Schutzatmosphäre in THF (400 µl) gelöst und mit H_2O (30.0 µl) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 23 h bei RT werden $NaHCO_3$ (2 eq, 60.0 µmol, 5.0 mg) und THF (200 µl) zugegeben und das Gemisch 42 h bei 40 °C und 34 h bei 70 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 1:1) aufgereinigt. Man erhält **274** (28.5 µmol, 12.8 mg, 95 % d. Th. über zwei Stufen) als farbloses Öl.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 1:1): R_f = 0.22.

MS (ESI): *m/z* = 471.4 $(M+Na)^+$, 449.3 $(M+H)^+$, 365.4 $(M+H\text{-}THP)^+$, 309.4 $(M+H\text{-}THP\text{-}t\text{Bu})^+$, 265.5 $(M+H\text{-}THP\text{-}Boc)^+$.

6.2.17 (2*S*,4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-4-(hydroxymethyl)-5-oxopyrrolidin-2-carbonsäure-*tert*-butylester (275)



274 (1.00 eq, 27.9 µmol, 12.50 mg) und PPTS (1.1 eq, 30.7 µmol, 7.70 mg) werden unter Ar-Atmosphäre in abs. EtOH (0.5 ml) gelöst und bei RT gerührt. Nach einer Reaktionszeit von 67 h wird weiteres PPTS (0.5 eq, 14.0 µmol, 3.50 mg) und abs. EtOH (0.5 ml) zugegeben und das Reaktionsgemisch auf 40 °C erhitzt. Nach einer Reaktionszeit von 20 h wird das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand mittels präparativer HPLC (t_R = 13.08 min, H_2O/MeOH, 50 auf 80 %

MeOH in 20 min) aufgereinigt. Man erhält **275** (25.5 µmol, 9.30 mg, 89 % d. Th.) als weißen Feststoff.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:2): R_f = 0.82.

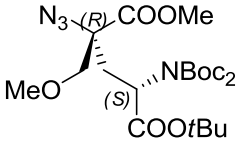
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.37-7.28 (m, 5 H), 6.72-6.60 (m, 1 H), 5.76 (s br, 1 H), 5.07 (dd, *J* = 19.21, 12.09 Hz, 2 H), 4.13 (t, *J* = 7.86 Hz, 1 H), 3.87-3.74 (m, 2 H), 3.24 (s br, 1 H), 2.84 (dd, *J* = 13.43, 8.46 Hz, 1 H), 2.50 (dd, *J* = 13.37, 7.46 Hz, 1 H), 1.46 (s, 9 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 175.41 (C_q), 170.06 (C_q), 155.72 (C_q), 136.00 (C_q), 128.53 (2 CH), 128.19 (CH), 128.04 (2 CH), 82.85 (C_q), 66.93 (CH_2), 65.66 (CH_2), 60.97 (C_q), 53.24 (CH), 34.43 (CH_2), 27.92 (3 CH_3).

MS (ESI): *m/z* = 403.1 $(M+K)^+$, 387.2 $(M+Na)^+$, 365.2 $(M+H)^+$, 309.1 $(M+H-t\text{Bu})^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{18}H_{25}N_2O_6$ $(M+H)^+$ 365.17071, gef. 365.17014.

6.2.18 (2*R*,4*S*)-5-*tert*-Butyl-1-methyl-2-azido-4-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-2-(methoxymethyl)pentanedioat (278)



Die von Dipl. Chem. Maik Henkel synthetisierte Ausgangsverbindung **277**[168] (1.0 eq, 0.65 mmol, 316 mg) wird unter Ar-Atmosphäre in abs. MeCN (800 µl) gelöst und mit Ag_2O (2.0 eq, 1.30 mmol, 300 mg) versetzt. MeI (20.0 eq, 12.95 mmol, 800.00 µl) und Me_2S (0.1 eq, 0.07 mmol, 5.00 µl) werden zugetropft. Das Gemisch wird 19 h unter Lichtausschluss bei -10 °C gerührt und anschließend filtriert. Die flüchtigen Komponenten des Filtrats werden unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 9:1) aufgereinigt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch (4.5:1) von **278** (0.65 mmol, 326 mg, 100 % d. Th.) als farbloses Öl.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 5:1): R_f = 0.40.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 5.09 (dd, *J* = 10.28, 2.75 Hz) & 4.96 (dd, *J* = 8.40, 3.83 Hz, 1 H), 3.85 (d, *J* = 9.40 Hz) & 3.78 (d, *J* = 9.40 Hz, 1 H), 3.80 & 3.77 (s, 3 H), 3.63 (d, *J* = 9.40 Hz) & 3.60 (d, *J* = 9.40 Hz, 1 H), 3.36 (s, 3 H), 2.61 (dd, *J* = 15.11, 3.96 Hz) & 2.39 (dd, *J* = 10.34, 14.91 Hz, 1 H), 2.23 (dd, *J* = 14.91, 2.82 Hz) & 2.14 (dd, *J* = 15.04, 8.46 Hz, 1 H), 1.51 (s, 18 H), 1.42 (s, 9 H).

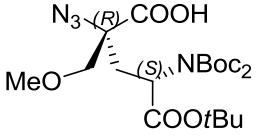
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 170.67 & 170.48 (C_q), 169.24 & 169.05 (C_q), 152.10 & 151.62 (2 C_q), 82.99 & 82.92 (C_q), 81.65 & 81.57 (C_q), 79.14 & 77.11 (CH_2), 68.43 & 67.89 (C_q), 59.44 (CH_3), 54.94 & 54.91 (CH), 53.10 & 52.97 (CH_3), 33.42 & 33.30 (CH_2), 28.00 & 27.94 (2 CH_3), 27.83 (CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 2979, 2955, 2934, 2831, 2115, 1739, 1700, 1457, 1478, 1393, 1380, 1367, 1317, 1254, 1238, 1202, 1150, 1095.

MS (ESI): *m/z* = 525.3 $(M+Na)^+$, 503.3 $(M+H)^+$, 403.2 $(M+H\text{-}Boc)^+$, 347.2 (M+H-Boc-*t*Bu)$^+$, 303.2 $(M+H\text{-}2Boc)^+$, 291.1 (M+H-Boc-2*t*Bu)$^+$, 247.1 (M+H-2Boc-*t*Bu)$^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{22}H_{38}N_4O_9$ $(M+Na)^+$ 525.25310, gef. 525.25440.

6.2.19 (2*R*,4*S*)-2-Azido-4-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-5-*tert*-butoxy-2-(methoxymethyl)-5-oxopentansäure (279)



278 (1.0 eq, 0.57 mmol, 286.5 mg) wird in einem THF/H_2O-Gemisch (1:1, 5.6 ml) gelöst und mit LiOH (1.1 eq, 0.63 mmol, 15.0 mg) versetzt. Die Emulsion wird 21 h bei RT kräftig gerührt. Das THF wird unter reduziertem Druck entfernt, der Rückstand mit H_2O (10 ml) verdünnt und mit EtOAc (3 x 10 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung (20 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Man erhält ein

Diastereomerengemisch von **279** (0.56 mmol, 275.7 mg, 99 % d. Th.) als farbloses Öl, welches ohne weitere Aufreinigung der nächsten Stufe zugeführt wird.
Für analytische Zwecke wurde eine geringe Menge mittels präparativer HPLC aufgereinigt (t_R = 21.73 min, H_2O/MeCN, 40 auf 80 % MeCN in 30 min), wobei die Diastereomere voneinander getrennt werden konnten. Im Folgenden sind lediglich die Analytikdaten des Hauptisomers angegeben.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:2): R_f = 0.33.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 5.00 (dd, *J* = 8.87, 3.49 Hz, 1 H), 3.79 (d, *J* = 9.54 Hz, 1 H), 3.68 (d, *J* = 9.54 Hz, 1 H), 3.40 (s, 3 H), 2.67 (dd, *J* = 15.18, 3.36 Hz, 1 H), 2.27 (dd, *J* = 15.25, 8.93 Hz, 1 H), 1.52 (s, 18 H), 1.43 (s, 9 H).

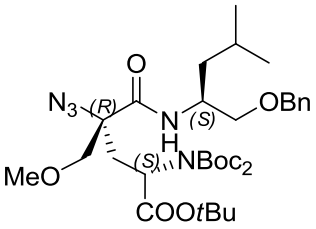
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 172.88 (C_q), 168.91 (C_q), 152.13 (2 C_q), 83.22 (2 C_q), 81.85 (C_q), 76.59 (CH_2), 68.17 (C_q), 59.46 (CH_3), 55.09 (CH), 33.14 (CH_2), 28.00 (2 CH_3), 27.86 (CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3182, 2980, 2934, 2829, 2116, 1785, 1737, 1477, 1457, 1393, 1382, 1368, 1257, 1147.

MS (ESI): *m/z* = 511.2 $(M+Na)^+$, 489.3 $(M+H)^+$, 433.2 (M+H-*t*Bu)$^+$, 389.2 (M+H-Boc)$^+$, 333.14 (M+H-Boc-*t*Bu)$^+$, 289.2 (M+H-2Boc)$^+$, 277.1 (M+H-Boc-2*t*Bu)$^+$, 233.1 (M+H-2Boc-*t*Bu)$^+$, 215.1 (M+H-2Boc-*t*Bu-H_2O)$^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{21}H_{36}N_4O_9$ $(M+Na)^+$ 511.23745, gef. 511.23575.

6.2.20 (2*S*,4*R*)-*tert*-Butyl-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanoat (287)



279 (1.0 eq, 0.54 mmol, 263 mg) und **286** (1.8 eq, 1.04 mmol, 216 mg) werden unter N_2-Atmosphäre in abs. DMF (7 ml) gelöst und auf -30 °C gekühlt. EDAC (3.0 eq, 1.74 mmol, 332 mg) und Cl-HOBt (3.3 eq, 1.91 mmol, 324 mg) werden sukzessive zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 14 h bei 10 °C und 6 h bei RT wird das Gemisch mit H_2O (20 ml) verdünnt und mit DEE (3 x 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung (20 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 7:1) aufgereinigt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch von **287** (0.45 mmol, 303 mg, 83 % d. Th.) als farbloses Öl. Im Folgenden sind lediglich die Analytikdaten des Hauptisomers aufgelistet.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 3:1): R_f = 0.50.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.25-7.36 (m, 5 H), 6.77 (d br, *J* = 8.87 Hz, 1 H), 4.90 (dd, *J* = 9.54, 2.15 Hz, 1 H), 4.50 (dd, *J* = 20.28, 12.09 Hz, 2 H), 4.10-4.18 (m, 1 H), 3.75 (d, *J* = 9.81 Hz, 1 H), 3.62 (d, *J* = 9.81 Hz, 1 H), 3.44-3.46 (m, 2 H), 3.33 (s, 3 H), 2.77 (dd, *J* = 15.58, 2.15 Hz, 1 H), 2.46 (dd, *J* = 15.65, 9.60 Hz, 1 H), 1.50 (s, 18 H), 1.43 (s, 9 H), 1.38-1.70 (m, 3 H), 0.92 (d, *J* = 1.07 Hz, 3 H), 0.90 (d, *J* = 1.21 Hz, 3H).

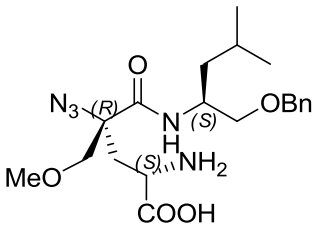
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 168.80 (C_q), 168.37 (C_q), 152.54 (2 C_q), 138.31 (C_q), 128.29 (2 CH), 127.55 (2 CH), 127.51 (CH), 82.86 (2 C_q), 81.70 (C_q), 76.15 (CH_2), 73.11 (CH_2), 71.85 (CH_2), 69.69 (C_q), 59.27 (CH_3), 55.61 (CH), 47.70 (CH), 40.57 (CH_2), 32.78 (CH_2), 27.99 (6 CH_3), 27.82 (3 CH_3), 24.78 (CH), 22.83 (CH_3), 22.38 (CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3415, 2979, 2957, 2933, 2869, 2124, 1738, 1699, 1679, 1518, 1476, 1455, 1392, 1381, 1366, 1272, 1258, 1234, 1152, 1127, 850.

MS (ESI): *m/z* = 700.4 $(M+Na)^+$, 678.4 $(M+H)^+$, 622.4 $(M+H\text{-}t\text{Bu})^+$, 578.4 $(M+H\text{-Boc})^+$, 522.3 $(M+H\text{-Boc-}t\text{Bu})^+$, 478.3 $(M+H\text{-2Boc})^+$, 422.2 $(M+H\text{-2Boc-}t\text{Bu})^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{34}H_{55}N_5O_9$ $(M+Na)^+$ 700.38920, gef. 700.39035.

6.2.21 (2*S*,4*R*)-2-Amino-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentansäure (288)



287 (1 eq, 0.43 mmol, 289 mg) wird in TIPS (10 eq, 4.26 mmol, 0.9 ml) gelöst und mit TFA (8.0 ml) und H_2O (0.2 ml) versetzt. Das Gemisch wird 19 h bei RT kräftig gerührt und daraufhin die flüchtigen Komponenten unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wird aus *n*-Hexan ausgefällt, filtriert und im Hochvakuum getrocknet. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch von **288** (0.43 mmol, 179 mg, 99 % d. Th.) als weißen Feststoff, welcher ohne weitere Aufreinigung der nächsten Stufe zugeführt wird. Im Folgenden sind lediglich die Analytikdaten des Hauptisomers aufgelistet.

DC (EtOAc/*n*-BuOH/H_2O/HOAc 2:1:1:1): R_f = 0.69.

^{1}H-NMR (400 MHz, $DMSO_6$): δ (ppm) = 7.38-8.73 (m, 3 H), 7.25-7.37 (m, 5 H), 4.44-4.46 (m, 2 H), 4.00-4.11 (m, 1 H), 3.25 (s, 3 H), 3.09-3.84 (m, 5 H), 2.43-2.46 (m, 1 H), 1.22-1.81 (m, 4 H), 0.81-0.86 (m, 6 H).

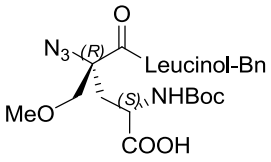
^{13}C-NMR (100 MHz, $DMSO_6$): δ (ppm) = 168.87 (C_q), 168.34 (C_q), 138.44 (C_q), 128.24 (2 CH), 127.50 (2 CH), 127.37 (CH), 76.10 (CH_2), 72.29 (C_q), 72.04 (CH), 69.49 (CH), 58.75 (CH_3), 50.63 (CH), 47.31 (CH), 39.73 (CH_2), 35.03 (CH_2), 24.15 (CH), 23.35 (CH_3), 21.60 (CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3404, 3320, 3063, 3031, 2955, 2928, 2868, 2124, 1656, 1525, 1497, 1470, 1454, 1387, 1366, 1259, 1202, 1175, 1111, 735, 700.

MS (ESI): *m/z* = 444.2 $(M+Na)^+$, 422.2 $(M+H)^+$, 230.6 $(M+H-C_{13}H_{20}O)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{20}H_{31}N_5O_5$ $(M+H)^+$ 422.23980, gef. 422.23906.

6.2.22 (2*S*,4*R*)-4-Azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentansäure (289)



288 (1.0 eq, 0.43 mmol, 327 mg) wird unter N_2-Atmosphäre in abs. DMF (2.1 ml) gelöst und mit TEA (4.0 eq, 1.71 mmol, 238 µl) und Boc_2O (1.5 eq, 0.64 mmol, 147 µl) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 17 h bei RT wird das Gemisch mit 0.1 %iger Zitronensäure aq (10 ml) verdünnt und mit DEE (3 x 10 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit H_2O (20 ml) und ges. NaCl-Lösung (20 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach Filtration über Kieselgel ($CHCl_3$/MeOH 9:0.2) erhält man ein nicht trennbares Diastereomerengemisch von **289** (172 mg) als farbloses Öl, welches ohne weitere Aufreinigung der nächsten Stufe zugeführt wird.

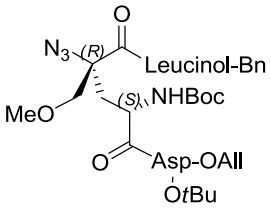
DC ($CHCl_3$/MeOH 9:2): R_f = 0.60.

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3406, 3338, 3088, 3064, 3031, 2957, 2931, 2869, 2607, 2540, 2127, 1716, 1667, 1523, 1472, 1454, 1392, 1367, 1256, 1202, 1164, 1116, 1052, 1028.

MS (ESI): *m/z* = 544.3 $(M+Na)^+$, 522.1 $(M+H)^+$, 478.4 $(M+H-CO_2)^+$, 466.1 $(M+H-t\text{Bu})^+$, 422.5 $(M+H\text{-Boc})^+$, 208.4 $(\text{Leucinol-Bn}+H)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{25}H_{39}N_5O_7$ $(M+H)^+$ 522.29223, gef. 522.29211.

6.2.23 1-Allyl-4-*tert*-butyl-2-((2*S*,4*R*)-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanamido)succinat (300)



289 (1.0 eq, 278 µmol, 145 mg) wird zusammen mit HCl·H-L-Asp(O*t*Bu)-OAll (2.0 eq, 556 µmol, 147 mg) und $NaHCO_3$ (2.2 eq, 612 µmol, 51.0 mg) unter N_2-Atmosphäre in abs. DMF (3.5 ml) gelöst und auf -30 °C gekühlt. EDAC (3.0 eq, 834 µmol, 160 mg) und Cl-HOBt (3.3 eq, 917 µmol, 156 mg) werden portionsweise zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 18 h bei 5 °C wird das Gemisch mit H_2O (10 ml) verdünnt und mit DEE (3 x 10 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung (20 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (SiO_2, $CHCl_3$/MeOH 9:0.2) aufgereinigt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch (3.5:1) von **300** (214 µmol, 157 mg, 77 % d. Th. über zwei Stufen) als farbloses Öl. Im Folgenden sind lediglich die Analytikdaten des Hauptisomers aufgelistet.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:0.5): R_f = 0.63.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.27-7.44 (m, 5 H), 6.91 (d, *J* = 8.73 Hz, 1 H), 5.83-5.93 (m, 1 H), 5.21-5.38 (m, 2 H), 4.76-4.81 (m, 1 H), 4.48-4.68 (m, 4 H), 4.00-4.33 (m, 2 H), 3.41-3.72 (m, 4 H), 3.34 (s, 3 H), 2.93 (dd, *J* = 17.06, 4.57 Hz, 1 H), 2.74 (dd, *J* = 17.06, 4.70 Hz, 1 H), 2.44 (dd, *J* = 15.11, 3.56 Hz, 1 H), 2.15 (dd, *J* = 15.04, 8.33 Hz, 1 H), 1.47-1.68 (m, 2 H), 1.73-1.84 (m, 1 H), 1.43 (s, 9 H), 1.42 (s, 9 H), 0.91 (d, *J* = 6.45 Hz, 6 H).

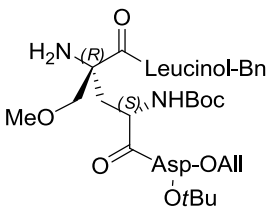
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 171.31 (C_q), 170.23 (C_q), 170.04 (C_q), 169.70 (C_q), 168.80 (C_q), 138.17 (C_q), 131.53 (CH), 128.35 (2 CH), 127.72 (CH), 127.62 (2 CH), 118.74 (CH_2), 81.72 (C_q), 76.22 (CH_2), 73.11 (CH_2), 71.71 (CH_2), 69.15 (C_q), 68.33 (C_q), 66.19 (CH_2), 59.26 (CH_3), 51.26 (CH), 48.81 (CH), 47.87 (CH), 40.29 (CH_2), 37.24 (CH_2), 36.08 (CH_2), 28.24 (3 CH_3), 27.97 (3 CH_3), 24.79 (CH), 22.84 (CH_3), 22.29 (CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3402, 3329, 3088, 3064, 3030, 2977, 2958, 2932, 2870, 2125, 1722, 1675, 1518, 1454, 1392, 1367, 1270, 1252, 1200, 1157, 1117, 1047.

MS (ESI): *m/z* = 755.4 $(M+Na)^+$, 733.4 $(M+H)^+$, 677.4 $(M+H\text{-}t\text{Bu})^+$, 633.4 $(M+H\text{-Boc})^+$, 577.3 $(M+H\text{-Boc-}t\text{Bu})^+$, 386.2 $(M+H\text{-Boc-}t\text{Bu-}C_{13}H_{20}O)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{36}H_{56}N_6O_{10}$ $(M+H)^+$ 733.41307, gef. 733.41291.

6.2.24 1-Allyl-4-*tert*-butyl-2-((2*S*,4*R*)-4-amino-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanamido)succinat (301)



300 (1 eq, 84.6 µmol, 62.0 mg) wird unter N_2-Atmosphäre in abs. THF (600 µl) gelöst. Unter Kühlung im Eisbad wird PBu_3 (3 eq, 253.8 µmol, 63.0 µl) und H_2O (10 eq, 846.0 µmol, 15.0 µl) zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 26 h bei RT wird mit DEE (5 ml) verdünnt. Das Gemisch wird sukzessive mit 1M $NaHCO_3$ (5 ml), H_2O (5 ml) und ges. NaCl-Lösung (5 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch von **301** (93.5 mg) als farbloses Öl, welches ohne weitere Aufreinigung der nächsten Stufe zugeführt wird.

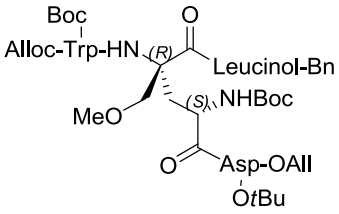
DC ($CHCl_3$/MeOH 9:0.5): R_f = 0.38.

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3358, 3294, 3066, 3064, 2959, 2932, 2871, 1730, 1675, 1515, 1468, 1455, 1392, 1367, 1275, 1252, 1226, 1157, 1110, 1049.

MS (ESI): *m/z* = 729.4 $(M+Na)^+$, 707.2 $(M+H)^+$, 689.5 $(M+H\text{-}H_2O)^+$, 633.5 $(M+H\text{-}H_2O\text{-}t\text{Bu})^+$, 577.2 $(M+H\text{-}H_2O\text{-}2t\text{Bu})^+$, 533.4 $(M+H\text{-}H_2O\text{-}t\text{Bu-Boc})^+$, 378.3 $(M+H\text{-Boc-[Asp(O}t\text{Bu)-OAll]})^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{36}H_{58}N_4O_{10}$ $(M+H)^+$ 707.42257, gef. 707.42215.

6.2.25 Peptid 305



Das Rohprodukt von **301** (93.5 mg) wird zusammen mit **304** (2 eq, 170 µmol, 66.0 mg) unter N_2-Atmosphäre in abs. DMF (800 µl) gelöst. Unter Kühlung im Eisbad wird DIPEA (6 eq, 510 µmol, 84.0 µl) und HATU (4 eq, 340 µmol, 129.0 mg) zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 28 h bei RT wird mit DEE (5 ml) verdünnt. Das Gemisch wird sukzessive mit 0.01M $KHSO_4$ (5 ml), 1M $NaHCO_3$ (3 x 5 ml), und ges. NaCl-Lösung (5 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 4:1, dann 2:1) aufgereinigt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch von **305** (55.0 µmol, 59.0 mg, 65 % d. Th. über zwei Stufen) als weißen Feststoff.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 1:1): R_f = 0.63.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.10-7.08 (m, 15 H), 5.91-5.81 (m, 2 H), 5.50-5.14 (m, 4 H), 4.78-4.73 (m, 1 H), 4.62-2.53 (m, 19 H), 3.26 (s, 3 H), 1.66 (s, 9 H), 1.61-1.36 (m, 3 H), 1.41 (s, 18 H), 0.90 (d, *J* = 3.36 Hz, 3 H), 0.89 (d, *J* = 3.36 Hz, 3 H).

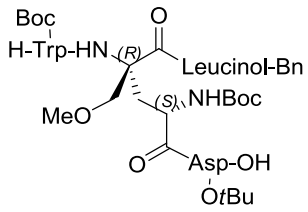
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 132.59 (CH), 131.65 (CH), 128.31 (2 CH), 127.73 (2 CH), 127.52 (CH), 124.52 (CH), 124.23 (CH), 122.61 (CH), 119.16 (CH), 118.62 (CH_2), 117.76 (CH_2), 115.24 (CH), 73.55 (CH_2), 72.86 (CH_2), 71.88 (CH_2), 66.13 (CH_2), 65.91 (CH_2), 59.02 (CH_3), 55.66 (CH), 48.95 (CH), 47.50 (CH), 40.58 (CH_2), 38.61 (CH), 37.49 (CH_2), 37.40 (CH_2), 28.31 (CH_3), 28.22 (CH_3), 27.99 (CH_3), 27.76 (CH_2), 24.78 (CH), 23.10 (CH_3), 22.22 (CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3335, 3084, 3065, 3029, 2977, 2956, 2932, 2870, 1730, 1682, 1508, 1454, 1368, 1338, 1308, 1270, 1256, 1228, 1160, 1120, 1089, 1048, 1018, 768, 748.

MS (ESI): *m/z* = 1099.6 $(M+Na)^+$, 1077.6 $(M+H)^+$, 977.5 $(M+H\text{-}Boc)^+$, 921.5 $(M+H\text{-}Boc\text{-}t\text{Bu})^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{56}H_{80}N_6O_{15}$ $(M+H)^+$ 1077.57544, gef. 1077.57423.

6.2.26 Peptid 85



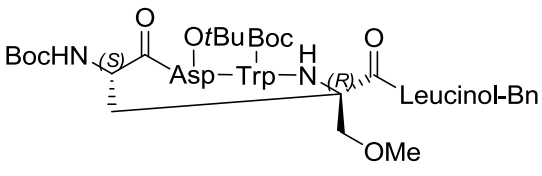
305 (1.0 eq, 56.2 µmol, 60.5 mg) wird unter Ar-Atmosphäre in abs. DCM (2.8 ml) gelöst. Unter Kühlung im Eisbad wird PhSiH (2.0 eq, 112.3 µmol, 14.0 µl) und $Pd(PPh_3)_4$ (0.2 eq, 11.2 µmol, 13.0 mg) zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 8 h bei RT werden die flüchtigen Komponenten unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 9:1) aufgereinigt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch von **306** (46.1 µmol, 43.9 mg, 82 % d. Th.) als weißen Feststoff. Aufgrund starker Signalverbreiterungen war eine Interpretation der NMR-Spektren nicht möglich.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:1): R_f = 0.58.

MS (ESI): *m/z* = 975.5 $(M+Na)^+$, 953.5 $(M+H)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{49}H_{73}N_6O_{13}$ $(M+H)^+$ 953.52301, gef. 953.52249.

6.2.27 Lactam 84



85 (1 eq, 16.3 µmol, 15.5 mg) wird unter Ar-Atmosphäre in abs. DCM (70 ml) gelöst. Unter Kühlung im Eisbad wird DIPEA (6 eq, 97.6 µmol, 16.0 µl) und HATU (4 eq, 65.0 µmol, 25 mg) zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 4 d bei RT wird das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 3:1, dann 1:1) aufgereinigt. Man erhält ein nicht trennbares Diastereomerengemisch von **84** (12.1 µmol, 11.3 mg,

74 % d. Th.) als weißen Feststoff. Aufgrund starker Signalverbreiterungen war eine Interpretation der NMR-Spektren nicht möglich.

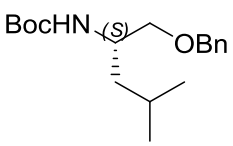
DC ($CHCl_3$/MeOH 9:0.5): R_f = 0.23.

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3362, 3292, 2954, 2923, 2852, 1734, 1706, 1675, 1518, 1450, 1369, 1254, 1161, 1120, 1086, 744.

MS (ESI): *m/z* = 957.5 $(M+Na)^+$, 935.5 $(M+H)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{49}H_{71}N_6O_{12}$ $(M+H)^+$ 935.51245, gef. 935.51251.

6.2.28 Boc-L-Leucinolbenzylether (285)



Boc-L-Leucinol (1.0 eq, 4.70 mmol, 1.02 g) wird in DCM (5 ml) gelöst und sukzessive mit H_2O (6 ml), *n*-Bu_4NHSO_4 (0.1 eq, 0.47 mmol, 0.16 g), NaOH (10.0 eq, 47.04 mmol, 1.88 g) und BnCl (2.0 eq, 9.41 mmol, 1.09 ml) versetzt. Die Emulsion wir 18 h bei 50 °C unter Rückfluss erhitzt, daraufhin mit H_2O (10 ml) verdünnt und mit DCM (3 x 10 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit H_2O (20 ml) und ges. NaCl-Lösung (20 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc 12:1) aufgereinigt. Man erhält **285** (3.16 mmol, 0.97 g, 67 % d. Th.) als farblose Flüssigkeit.

DC (*n*-Hexan/EtOAc 7:1): R_f = 0.40.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.37-7.27 (m, 5 H), 4.66 (d br, *J* = 8.87 Hz, 1 H), 4.52 (dd, *J* = 24.05, 12.09 Hz, 2 H), 3.88-3.77 (m, 1 H), 3.51-3.40 (m, 2 H), 1.44 (s, 9 H), 1.72-1.33 (m, 3 H), 0.93 (d, *J* = 2.55 Hz, 3 H), 0.91 (d, *J* = 2.69 Hz, 3 H).

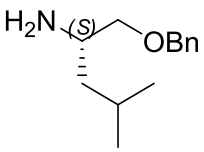
^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 155.53 (C_q), 138.28 (C_q), 128.32 (2 CH), 127.57 (CH), 127.50 (2CH), 78.97 (C_q), 73.10 (CH_2), 72.44 (CH_2), 48.48 (CH), 41.23 (CH_2), 28.38 (CH_3), 24.79 (CH), 22.94 (CH_3), 22.35 (CH_3).

IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3451, 3349, 3088, 3065, 3031, 3005, 2957, 2931, 2869, 1713, 1498, 1470, 1454, 1391, 1365, 1246, 1172, 1101, 1072, 1049, 1029, 1016, 737, 698.

MS (ESI): *m/z* = 330.2 $(M+Na)^+$, 308.2 $(M+H)^+$, 252.2 $(M+H\text{-}t\text{Bu})^+$, 208.2 $(M+H\text{-Boc})^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{18}H_{29}NO_3$ $(M+Na)^+$ 330.20396, gef. 330.20389.

6.2.29 L-Leucinolbenzylether (286)



285 (1.0 eq, 2.82 mmol, 867 mg) wird unter Ar-Atmosphäre in abs. Dioxan (5 ml) gelöst. Unter Kühlung im Eisbad wird 4M HCl in Dioxan (20 eq, 56.40 mmol, 14.0 ml) zugetropft. Nach einer Reaktionszeit von 5 h unter Kühlung im Eisbad wird das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand in H_2O (10 ml) aufgenommen. Mit 1M $NaHCO_3$-Lösung wird der pH-Wert auf 9 eingestellt und die wässrige Phase mit DEE (3 x 10 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung (20 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Man erhält **286** (2.82 mmol, 582 mg, 100 % d. Th.) als farbloses Öl, welches ohne weitere Aufreinigung der nächsten Stufe zugeführt wird.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:2): R_f = 0.60.

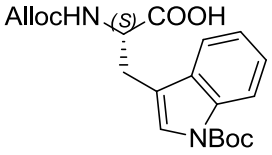
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.37-7.25 (m, 5 H), 4.53 (dd, *J* = 13.03, 12.09 Hz, 2 H), 3.46 (dd, *J* = 9.07, 3.56 Hz, 1 H), 3.23 (dd, *J* = 9.13, 7.79 Hz, 1 H), 3.12-3.06 (m, 1 H), 2.12 (s br, 2 H), 1.77-1.66 (m, 1 H), 1.28-1.17 (m, 2 H), 0.92 (d, *J* = 6.72 Hz, 3 H), 0.89 (d, *J* = 6.58 Hz, 3 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 138.32 (C_q), 128.35 (2 CH), 127.62 (2 CH), 127.57 (CH), 75.85 (CH_2), 73.21 (CH_2), 48.92 (CH), 42.96 (CH_2), 24.58 (CH), 23.28 (CH_3), 22.07 (CH_3).

MS (ESI): *m/z* = 208.1 $(M+H)^+$.

HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{13}H_{22}NO$ $(M+H)^+$ 208.16959, gef. 208.16909.

6.2.30 Alloc-L-Trp(Boc)-OH (304)



H-(L)-Trp(Boc)-OH (1.0 eq, 329 µmol, 100.0 mg) wird in Aceton (500 µl) suspendiert und im Eisbad gekühlt. $NaHCO_3$ (2.1 eq, 690 µmol, 58.0 mg) wird in H_2O (500 µl) gelöst und zugetropft. Nach 20 min wird AllocCl (1.0 eq, 329 µmol, 35.0 µl) langsam zugetropft und das Reaktionsgemisch 18 h bei RT gerührt. Nach erneuter Zugabe von AllocCl (0.1 eq, 33 µmol, 3.5 µl) wird weitere 10 h gerührt. Das Gemisch wird mit DEE (5 ml) verdünnt und mit 1M $NaHCO_3$-Lösung (3 x 5 ml) extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen werden mit 10 %iger HCl auf pH 2 eingestellt und mit EtOAc (3 x 10 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung (20 ml) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (SiO_2, *n*-Hexan/EtOAc, CombiFlash-Rf-Systems) aufgereinigt. Man erhält **137** (197 µmol, 77.0 mg, 60 % d. Th.) als weißen Feststoff.

DC ($CHCl_3$/MeOH 9:2): R_f = 0.41.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.10-8.08 (m, 1 H), 7.55-7.14 (m, 5 H), 5.93-5.83 (m, 1 H), 5.33-5.16 (m, 2 H), 4.74 (dd, *J* = 13.29, 7.25 Hz, 1 H), 4.57 (d, *J* = 4.97 Hz, 2 H), 3.35-3.19 (m, 2 H), 1.66 (s, 9 H).

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 175.30 (C_q), 155.86 (C_q), 149.86 (C_q), 135.35 (C_q), 132.44 (CH), 130.42 (C_q), 124.61 (CH), 124.29 (CH), 122.67 (CH), 118.83 (CH),

117.97 (CH_2), 115.31 (CH), 114.76 (C_q), 83.88 (C_q), 66.00 (CH_2), 53.73 (CH), 28.18 (CH_3), 27.54 (CH_2).

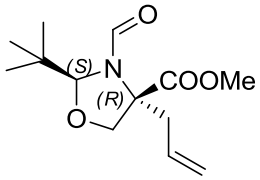
IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3335, 3124, 3068, 3055, 2978, 2933, 2875, 2601, 1729, 1525, 1453, 1370, 1340, 1309, 1271, 1257, 1228, 1156, 1087, 1059, 769, 747.

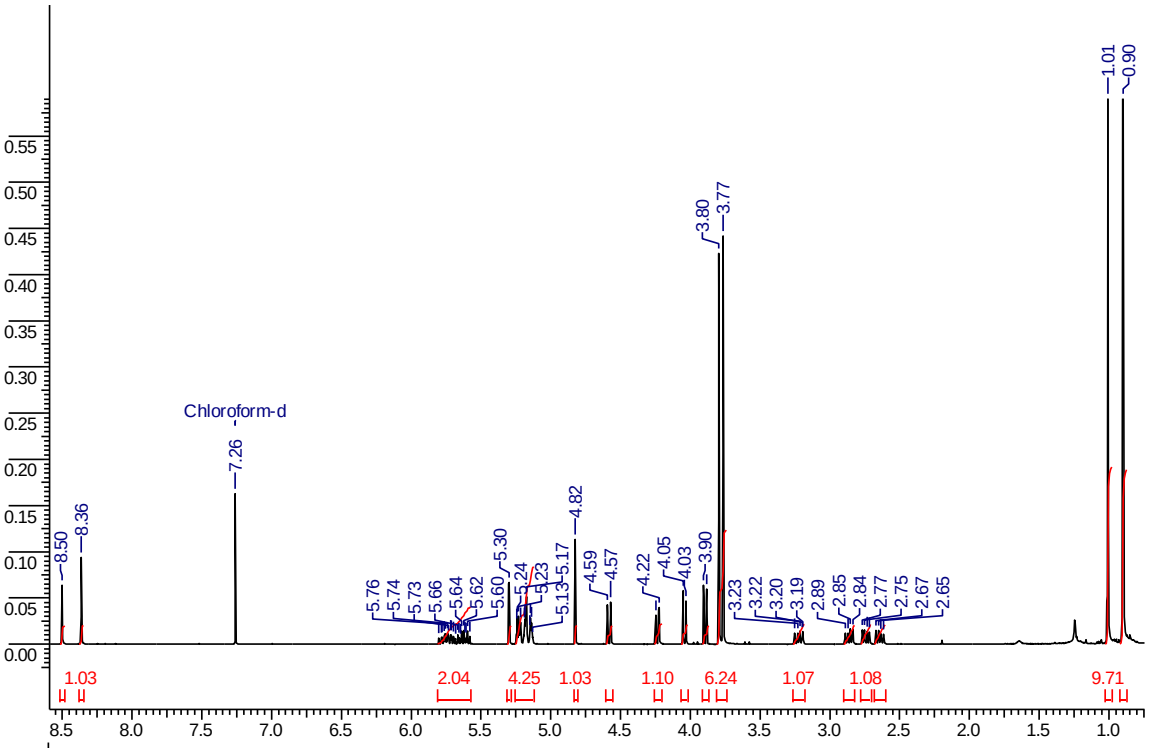
MS (ESI): *m/z* = 387.2 $(M-H)^-$, 329.1 $(M-H-t\text{Bu})^-$.

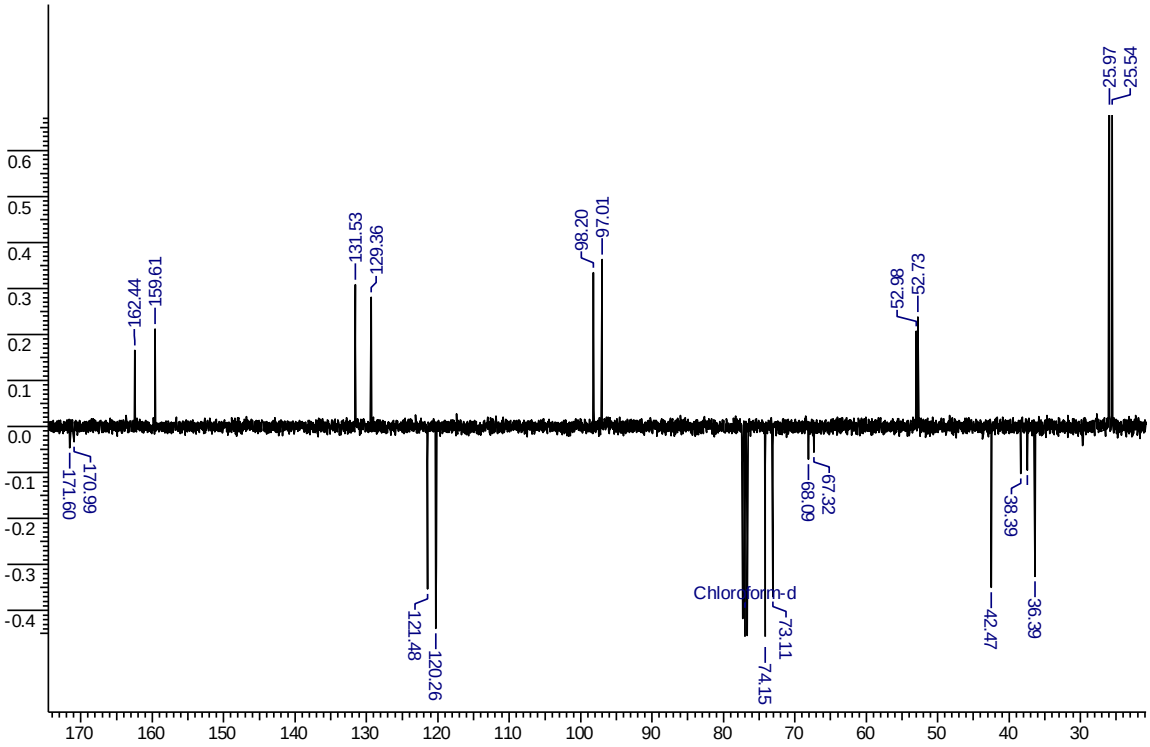
HRMS (ESI): *m/z* ber. Für $C_{40}H_{47}N_4O_{12}$ $(M-H)^-$ 387.15616, gef. 387.15533.

6.3 Spektren und Chromatogramme ausgewählter Verbindungen

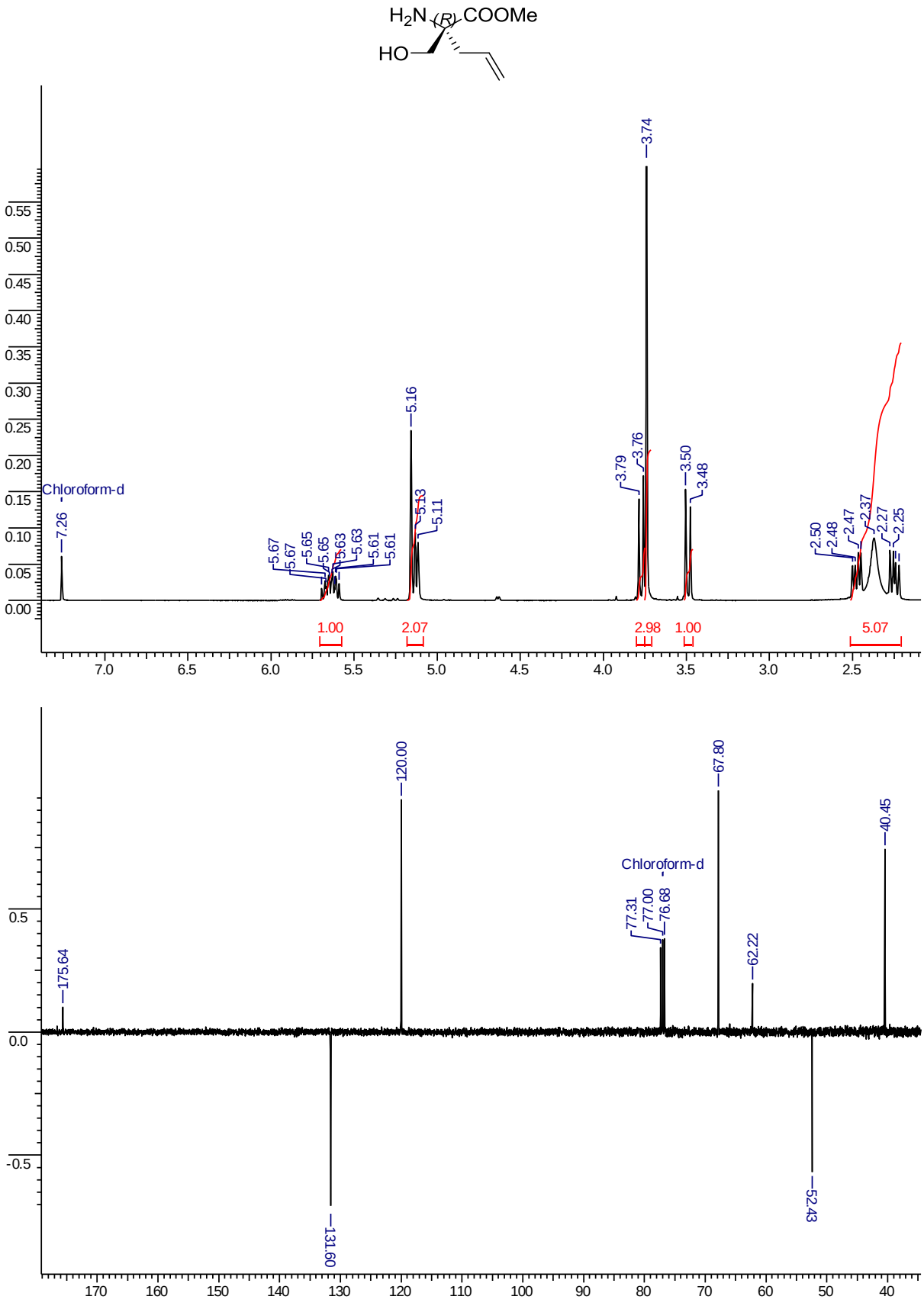
6.3.1 (2*S*,4*R*)-2-*tert*-Butyl-3-formyl-4-(2-propenyl)oxazolidin-4-carbonsäuremethylester (258)



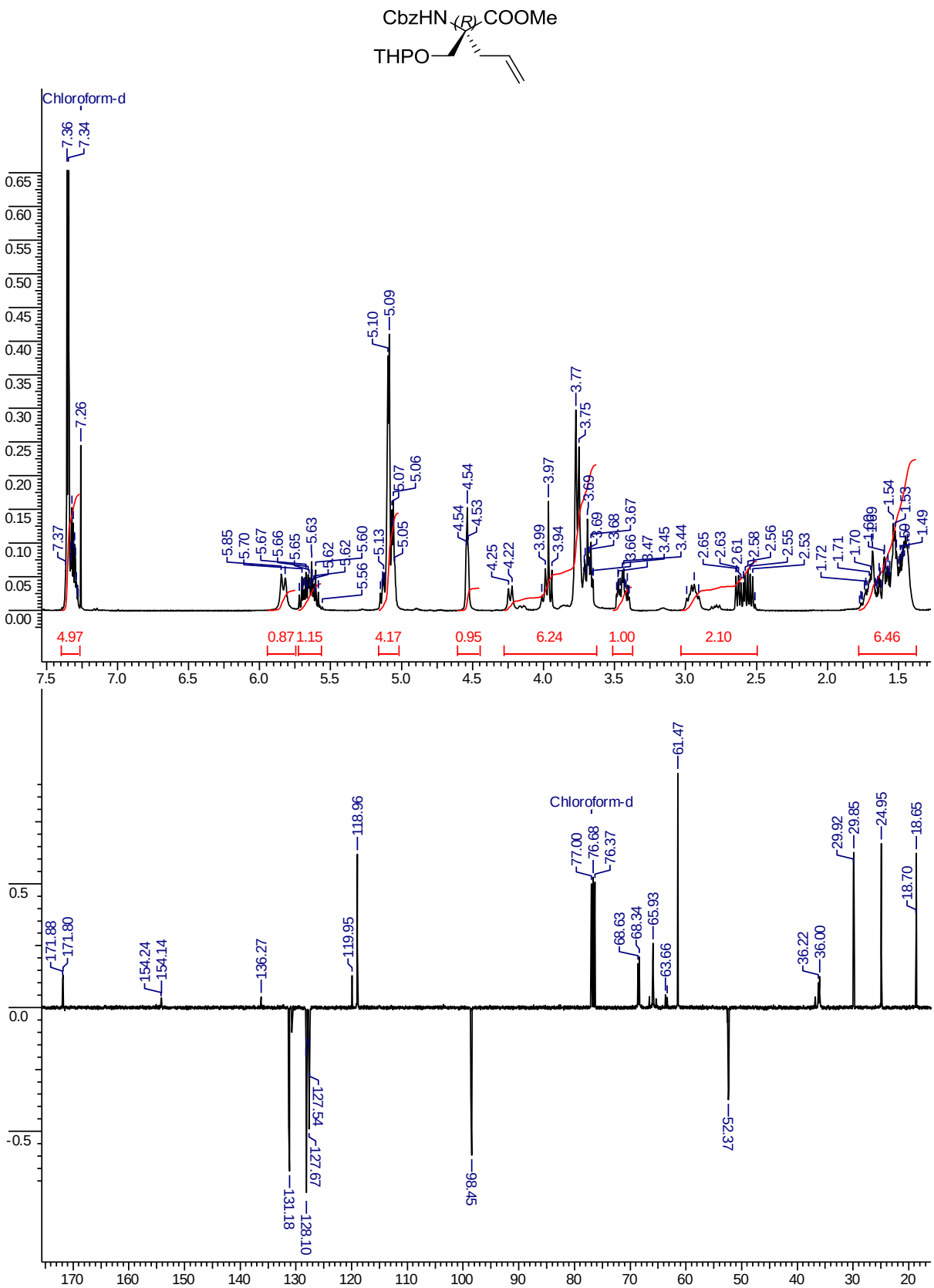


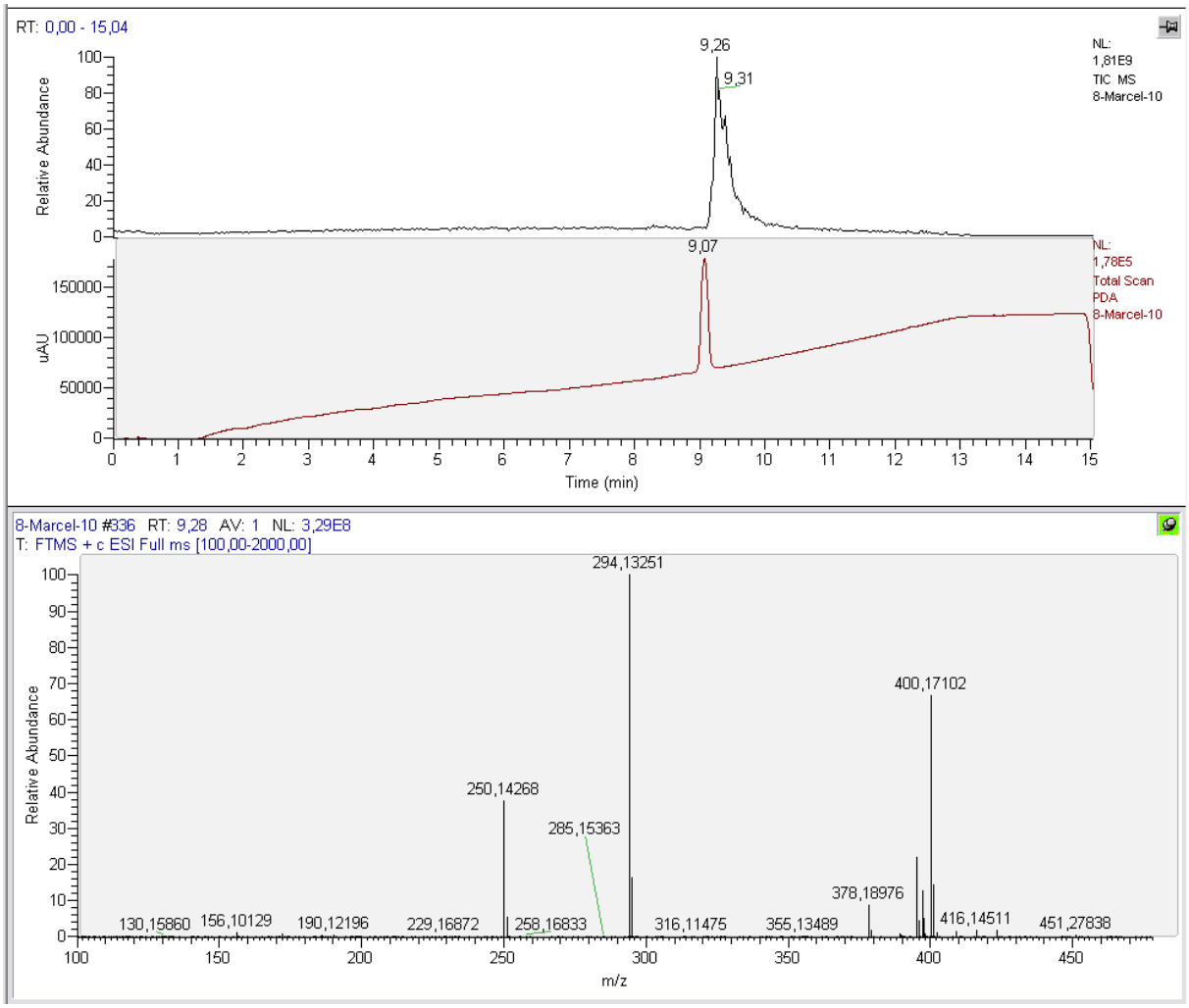


6.3.2 (*R*)-2-Amino-3-hydroxy-2-(2-propenyl)propansäuremethylester (259)

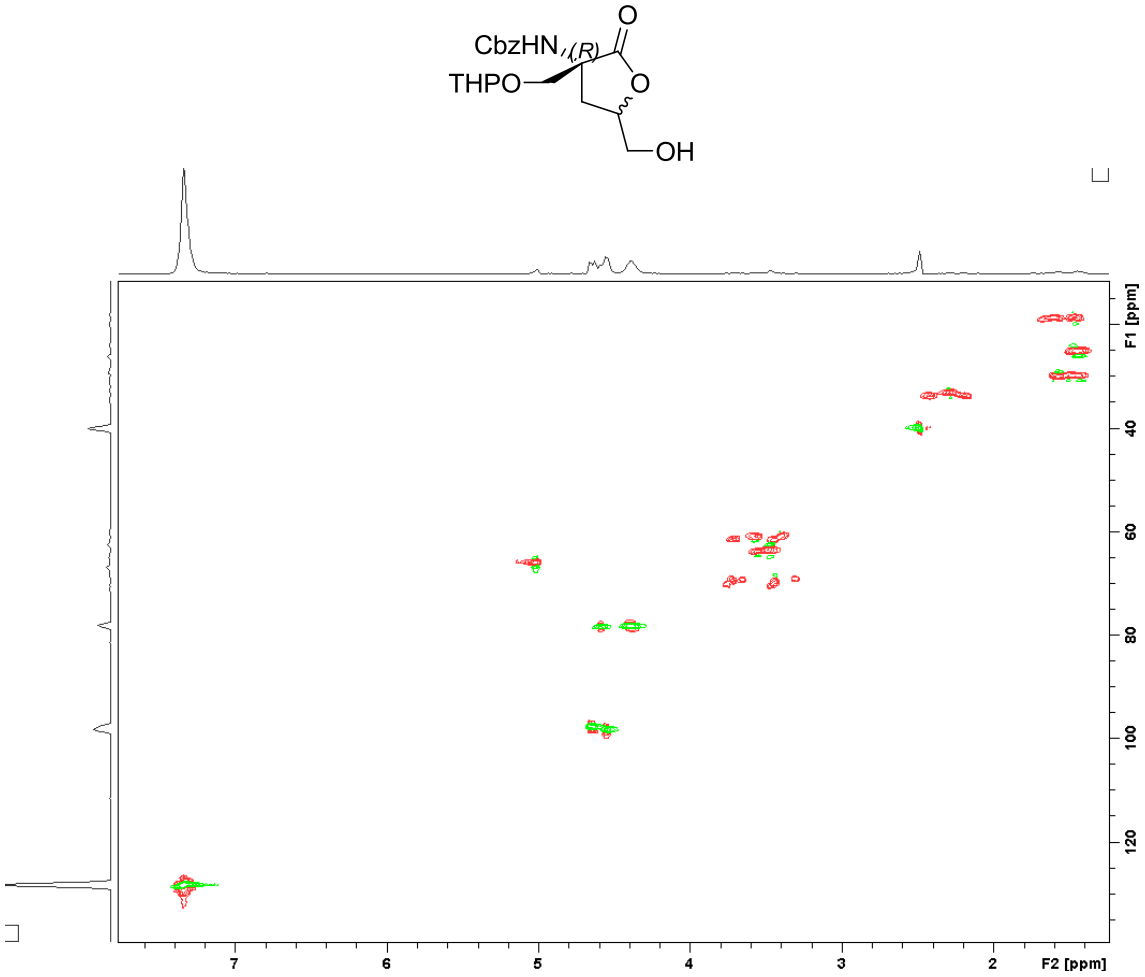


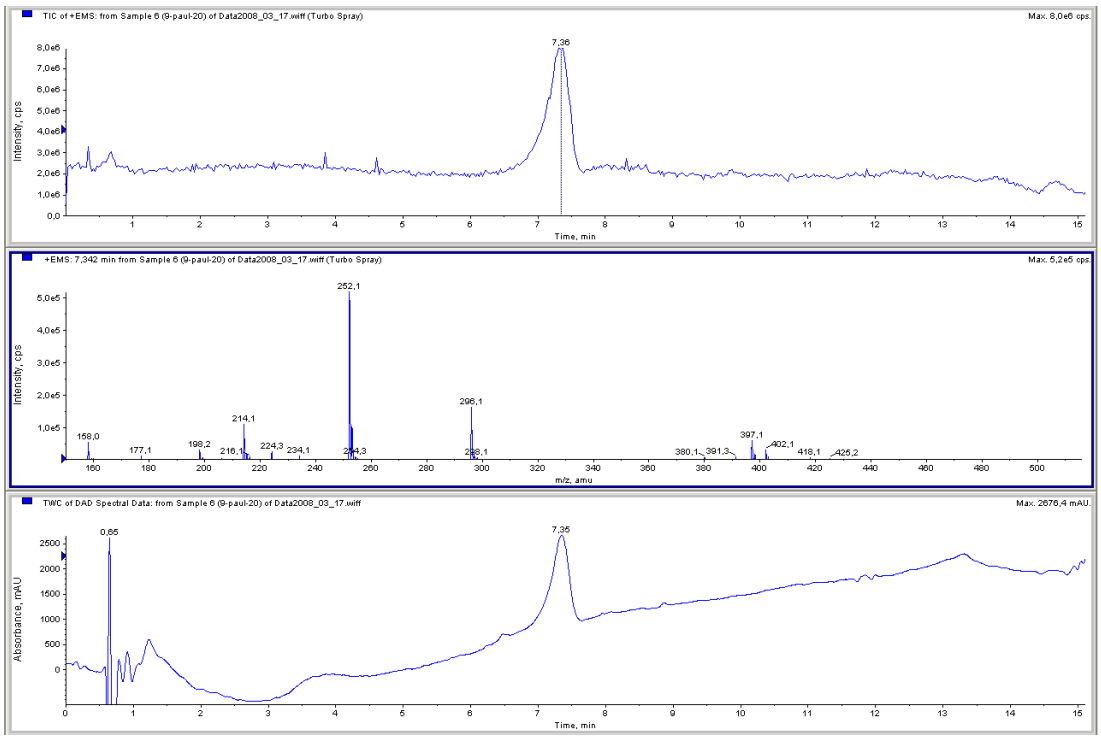
6.3.3 (2*R*)-2-(Benzyloxycarbonylamino)-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pent-4-ensäuremethylester (263)



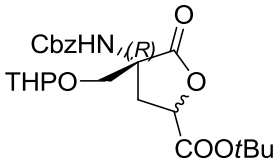

RT: 0,00 - 15,04
9,26
9,31
NL:
1,81E9
TIC MS
8-Marcel-10
Relative Abundance
9,07
NL:
1,78E5
Total Scan
PDA
8-Marcel-10
uAU
Time (min)
8-Marcel-10 #336 RT: 9,28 AV: 1 NL: 3,29E8
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
294,13251
400,17102
250,14268
285,15363
378,18976
130,15860
156,10129
190,12196
229,16872
258,16833
316,11475
355,13489
416,14511
451,27838
Relative Abundance
m/z

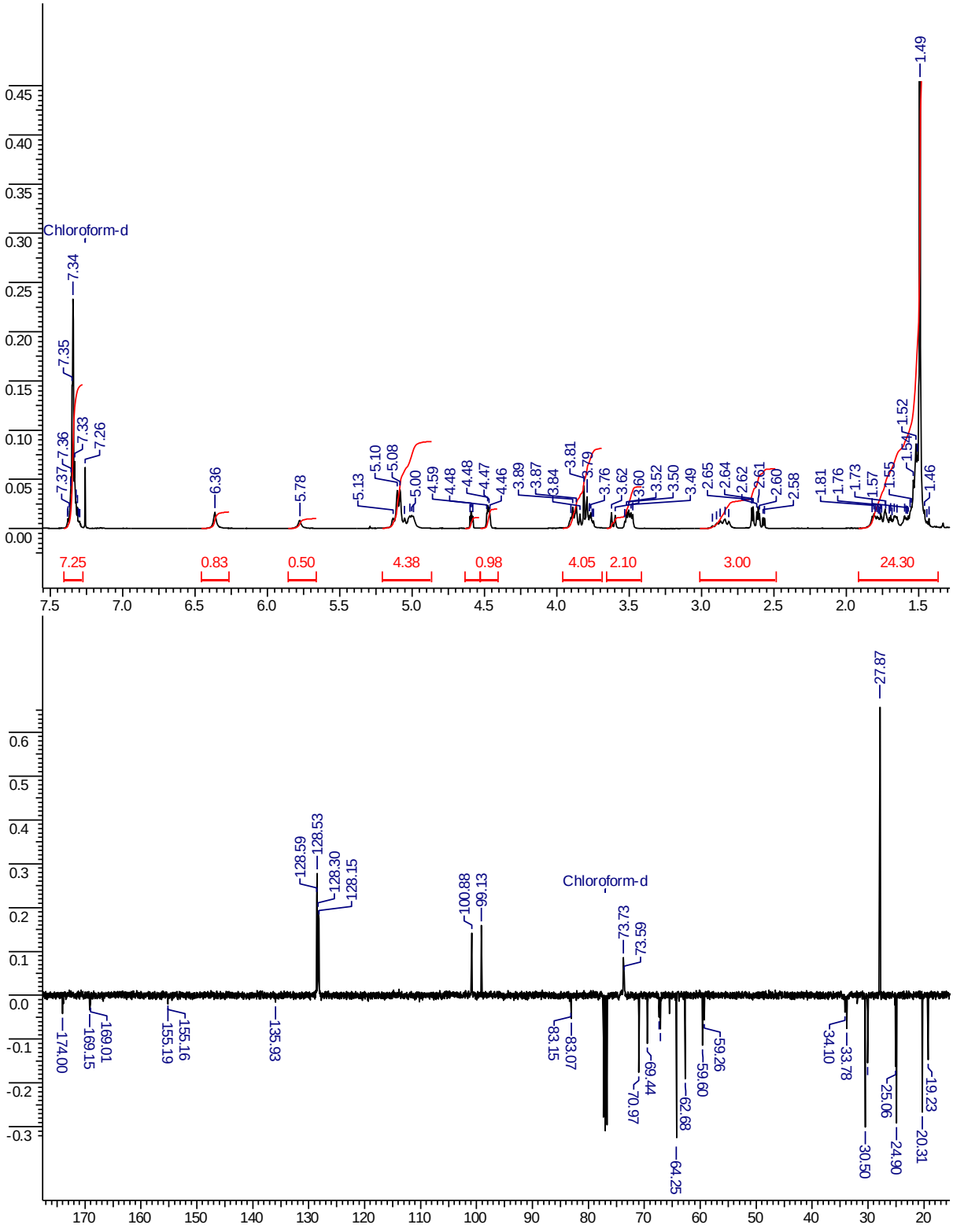
6.3.4 Benzyl-(3*R*)-5-(hydroxymethyl)-2-oxo-3-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)tetrahydrofuran-3-ylcarbamat (265)

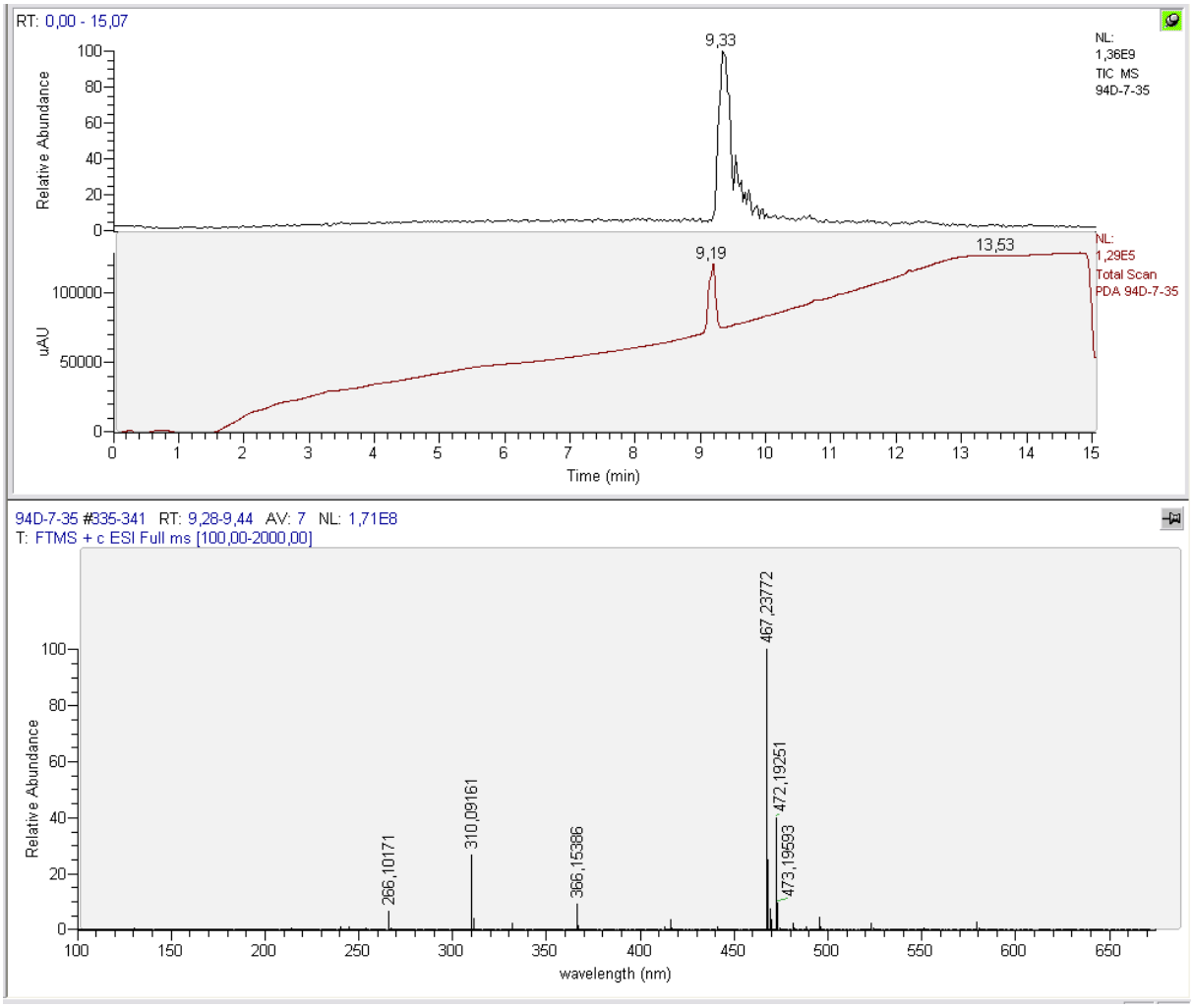




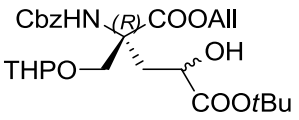
6.3.5 (4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-5-oxo-4-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-carbonsäure-*tert*-butylester (267)

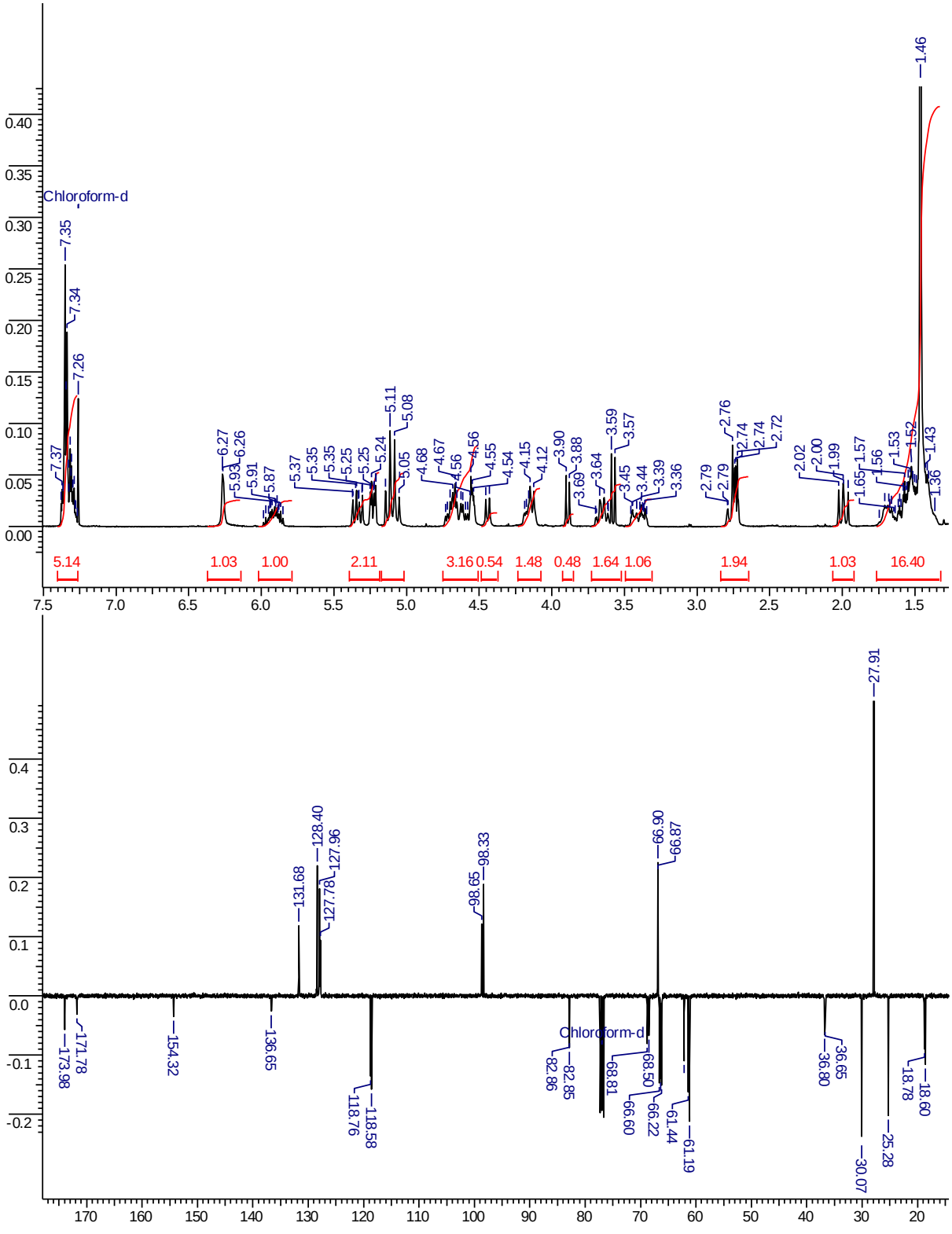


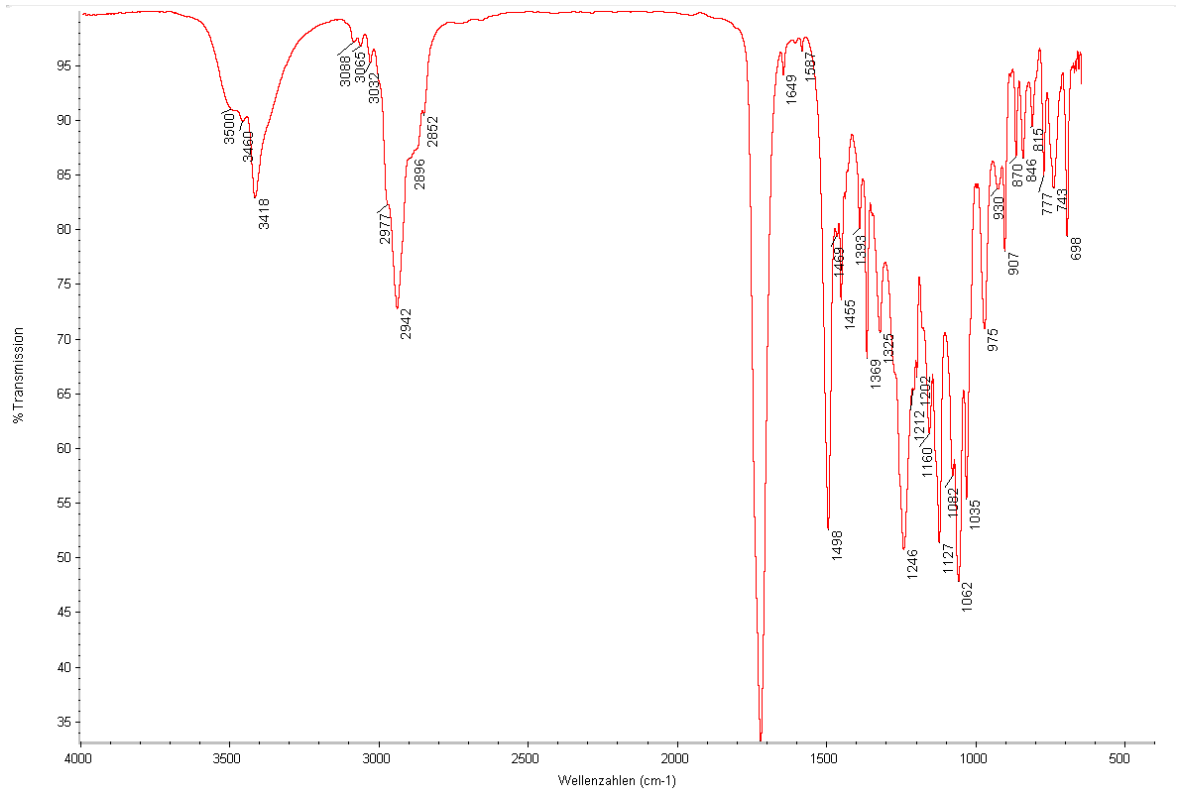


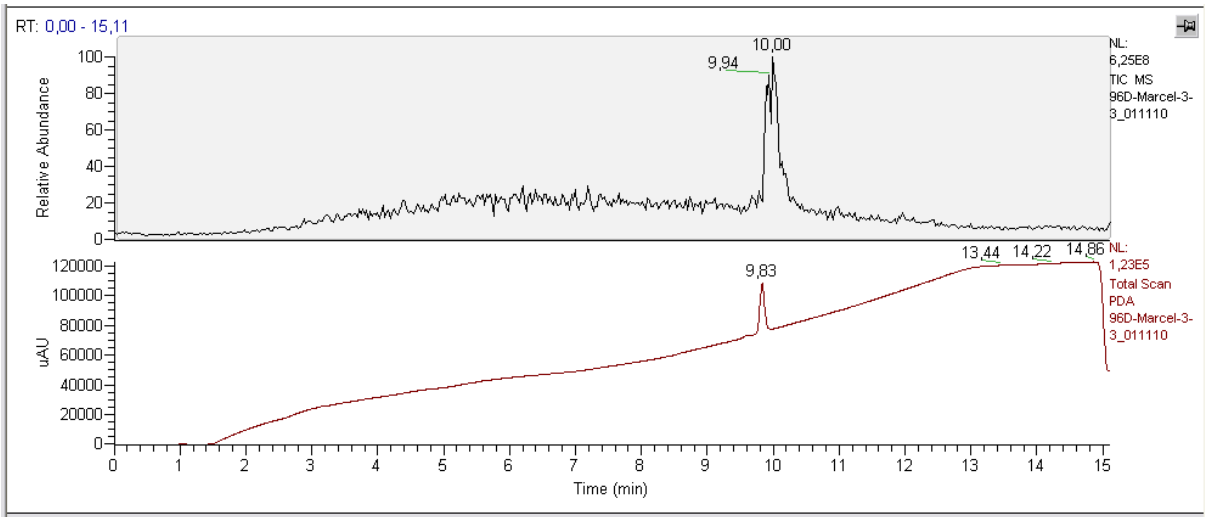

RT: 0,00 - 15,07
9,33
NL:
1,36E9
TIC MS
94D-7-35
Relative Abundance
9,19
13,53
NL:
1,29E5
Total Scan
PDA 94D-7-35
uAU
Time (min)
94D-7-35 #335-341 RT: 9,28-9,44 AV: 7 NL: 1,71E8
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
467,23772
472,19251
473,19593
310,09161
266,10171
366,15386
Relative Abundance
wavelength (nm)

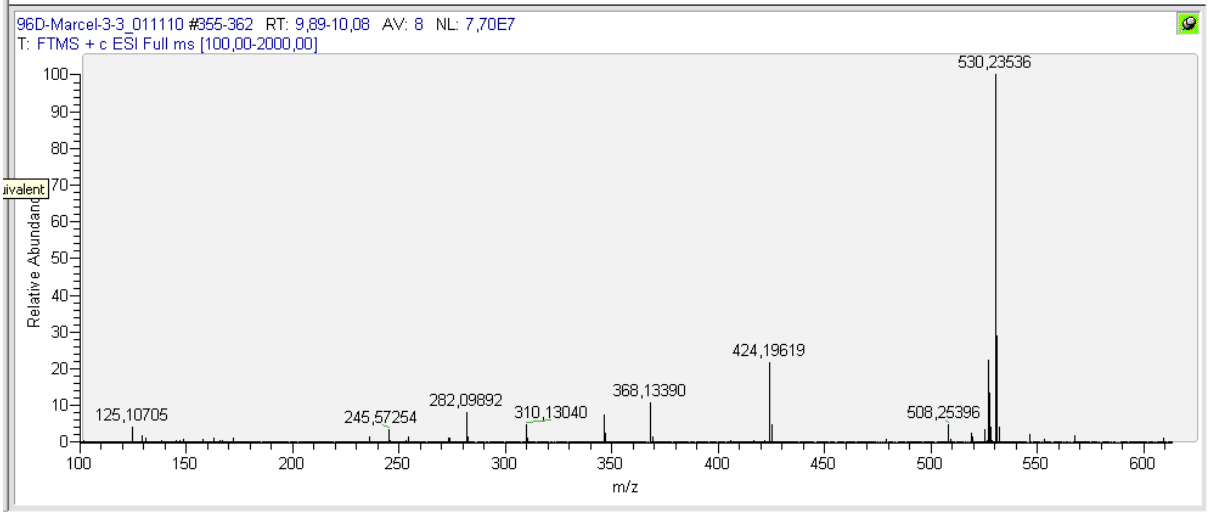
6.3.6 (2*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-2-(benzyloxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pentanedioat (269)



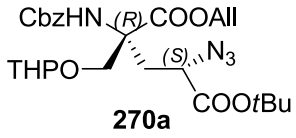



% Transmission
Wellenzahlen (cm-1)
3500
3460
3418
3088
3065
3032
2977
2942
2896
2852
1649
1587
1498
1469
1455
1393
1369
1325
1246
1212
1202
1160
1127
1082
1062
1035
975
930
907
870
846
815
777
743
698

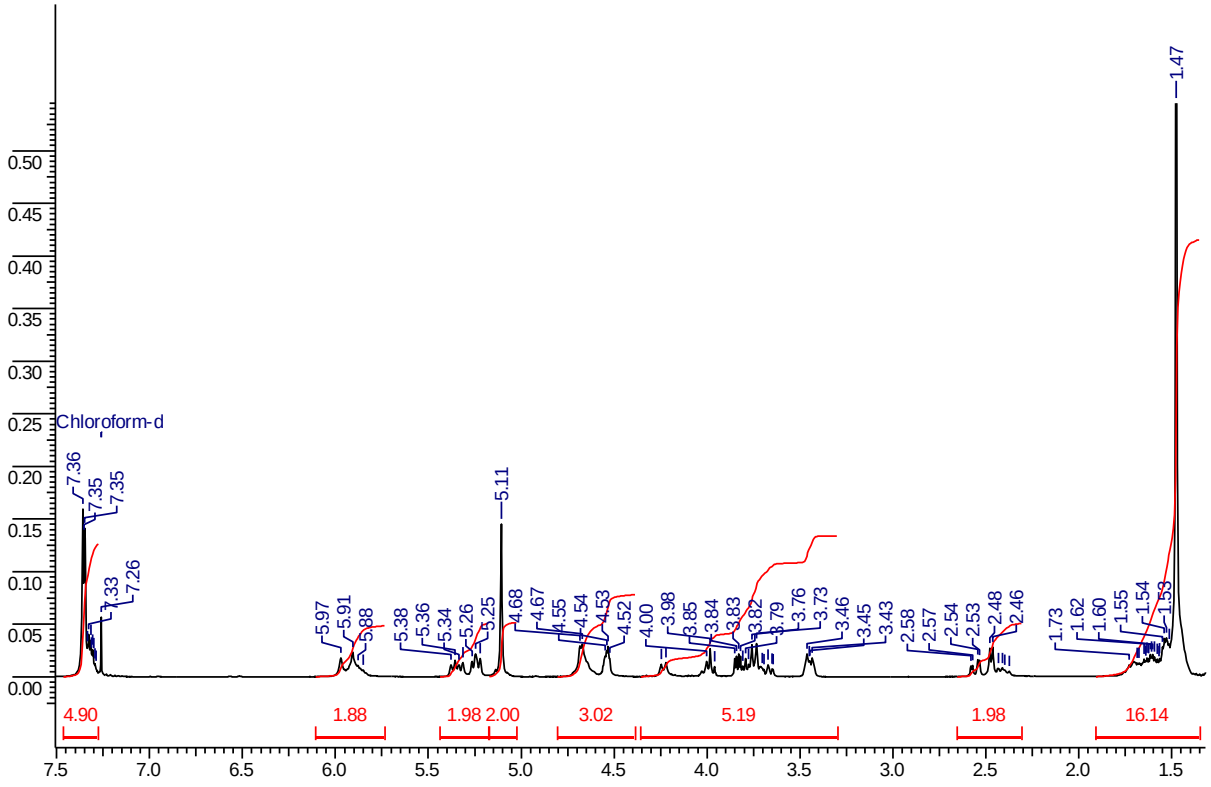

RT: 0,00 - 15,11
Relative Abundance
10,00
9,94
NL:
6,25E8
TIC MS
96D-Marcel-3-3_011110
uAU
9,83
13,44
14,22
14,86
NL:
1,23E5
Total Scan
PDA
96D-Marcel-3-3_011110
Time (min)

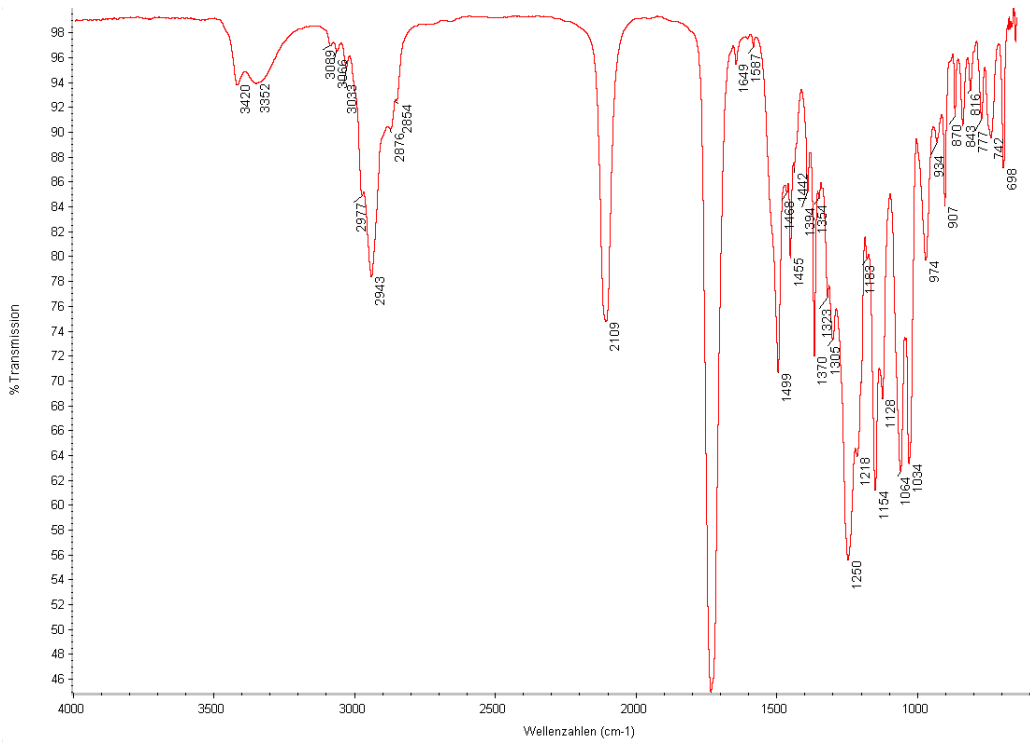

96D-Marcel-3-3_011110 #355-362 RT: 9,89-10,08 AV: 8 NL: 7,70E7
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
Relative Abundance
530,23536
424,19619
368,13390
282,09892
310,13040
245,57254
125,10705
508,25396
m/z

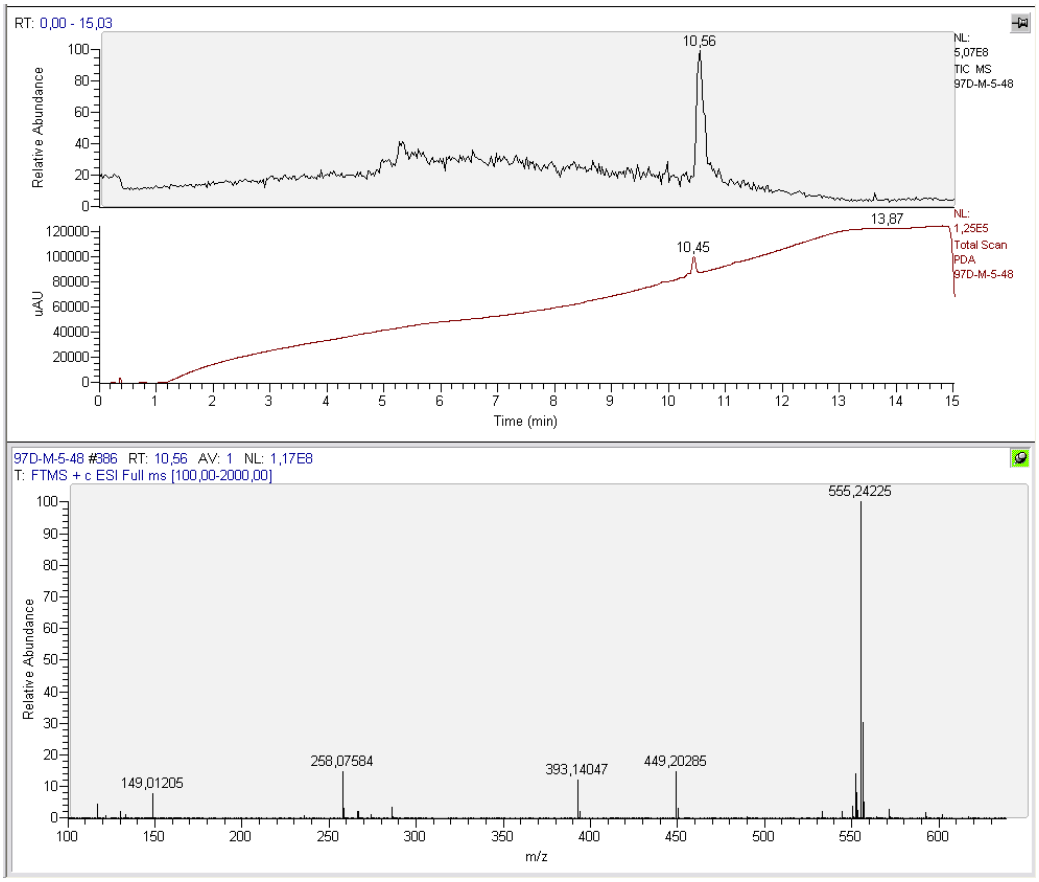
6.3.7 (2*R*,4*S*)- und (2*R*,4*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-4-azido-2-(benzyloxycarbonylamino)-2-((tetrahydro-*2H*-pyran-2-yloxy)methyl)pentanedioat (270)

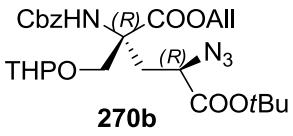


270a

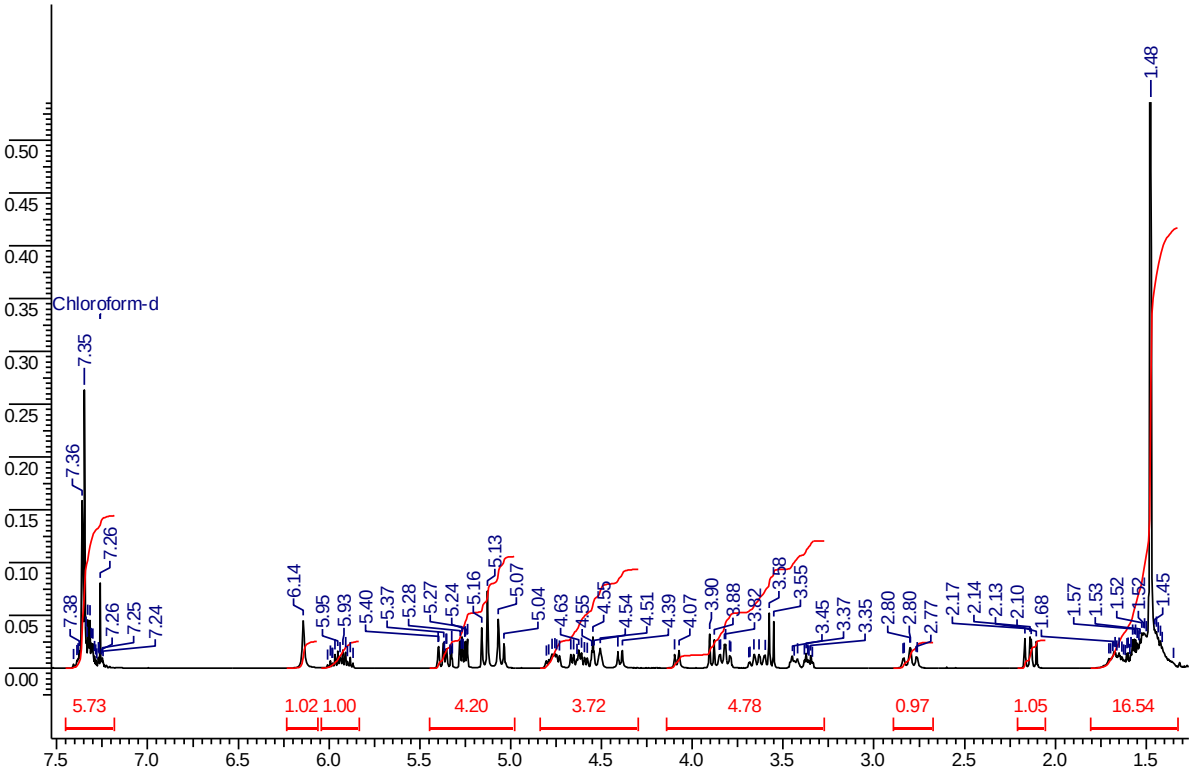


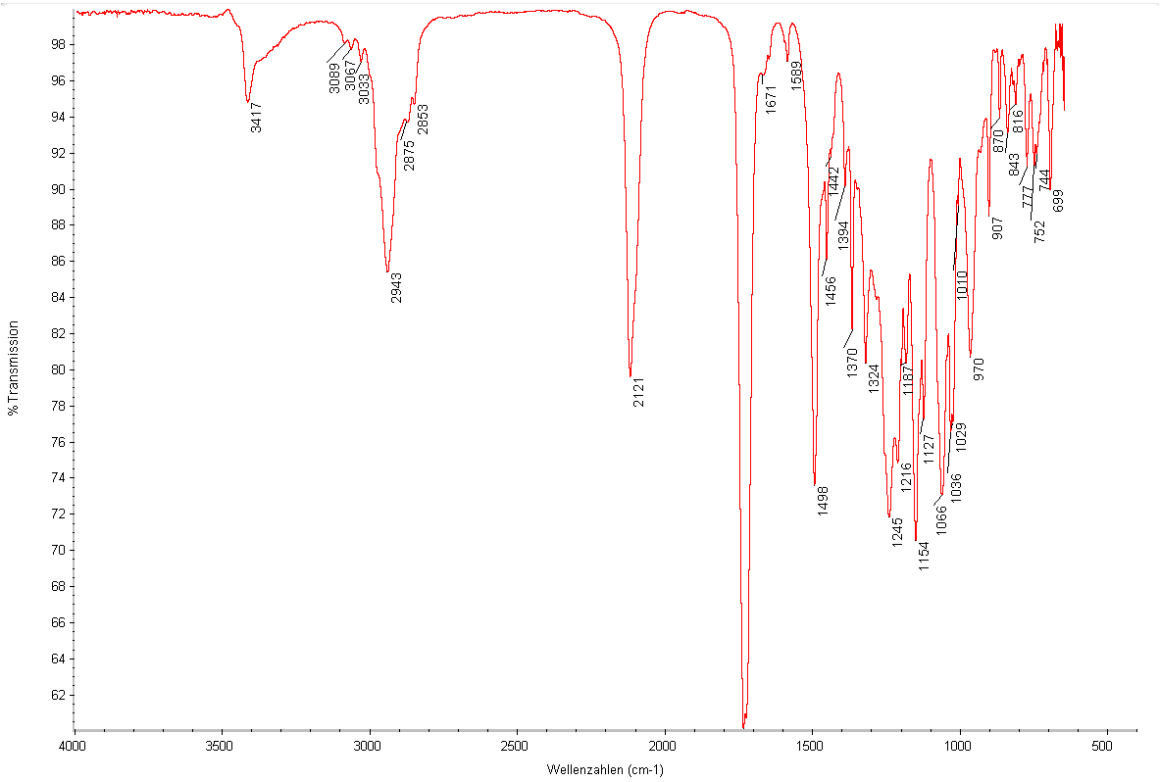


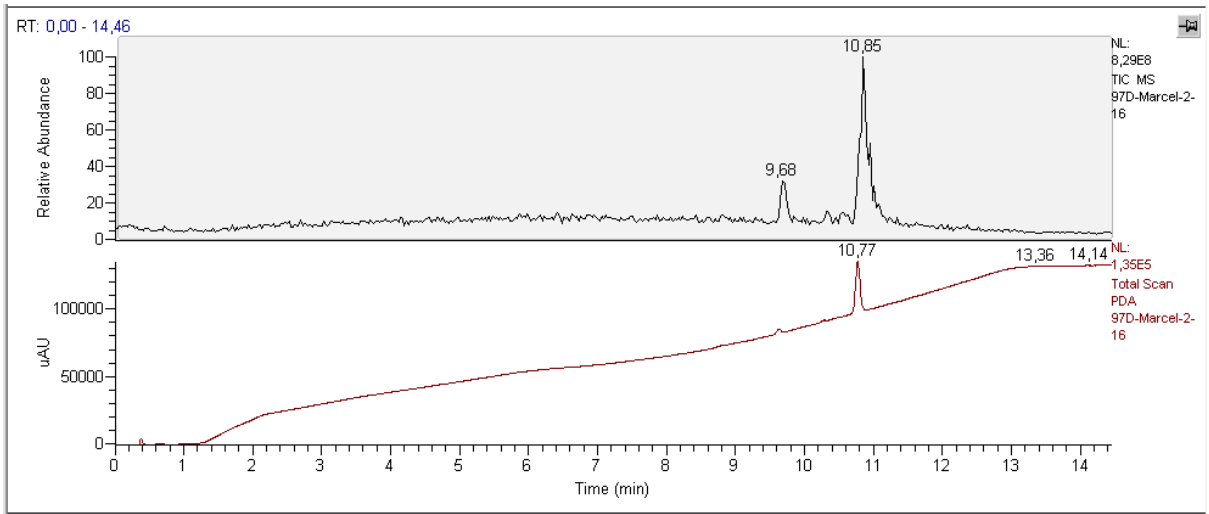

RT: 0,00 - 15,03
10,56
NL:
5,07E8
TIC MS
97D-M-5-48
Relative Abundance
13,87
10,45
NL:
1,25E5
Total Scan
PDA
97D-M-5-48
uAU
Time (min)
97D-M-5-48 #386 RT: 10,56 AV: 1 NL: 1,17E8
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
555,24225
258,07584
393,14047
449,20285
149,01205
Relative Abundance
m/z

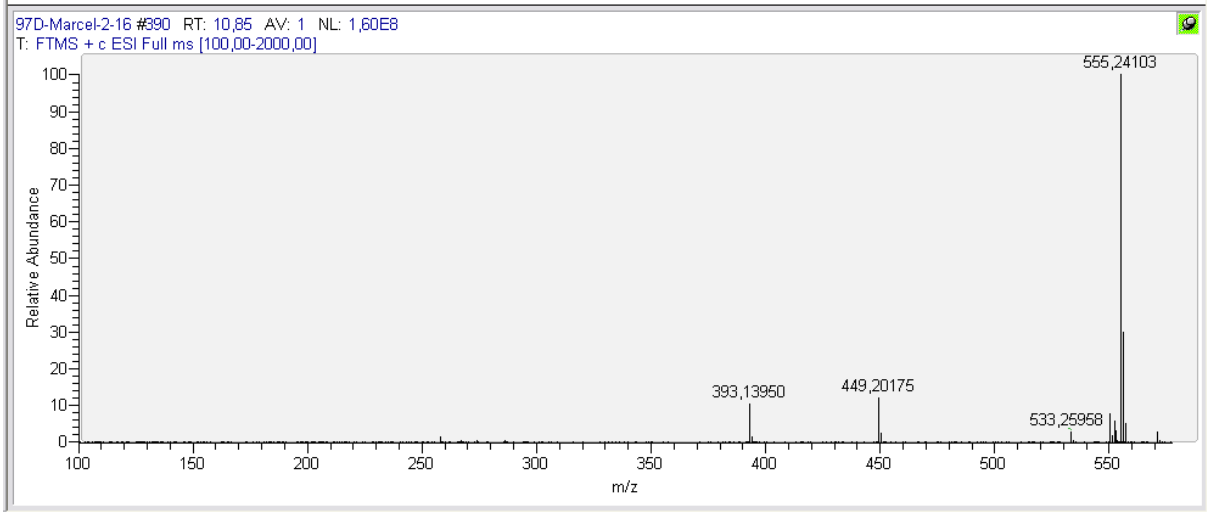

CbzHN
(R)
COOAll
THPO
(R)
N3
COOtBu

270b

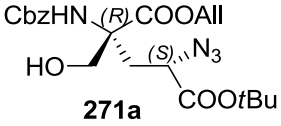

Chloroform-d
7.35
7.36
7.26
7.38
7.26
7.25
7.24
6.14
5.95
5.93
5.40
5.37
5.28
5.27
5.24
5.16
5.13
5.07
5.04
4.63
4.55
4.55
4.54
4.51
4.39
4.07
3.90
3.88
3.82
3.58
3.55
3.45
3.37
3.35
2.80
2.80
2.77
2.17
2.14
2.13
2.10
1.68
1.57
1.53
1.52
1.52
1.45
1.48
5.73
1.02
1.00
4.20
3.72
4.78
0.97
1.05
16.54


% Transmission
Wellenzahlen (cm-1)
3417
3089
3067
3033
2943
2875
2853
2121
1671
1589
1498
1456
1442
1394
1370
1324
1245
1216
1187
1154
1127
1066
1036
1029
1010
970
907
870
843
816
777
752
744
699

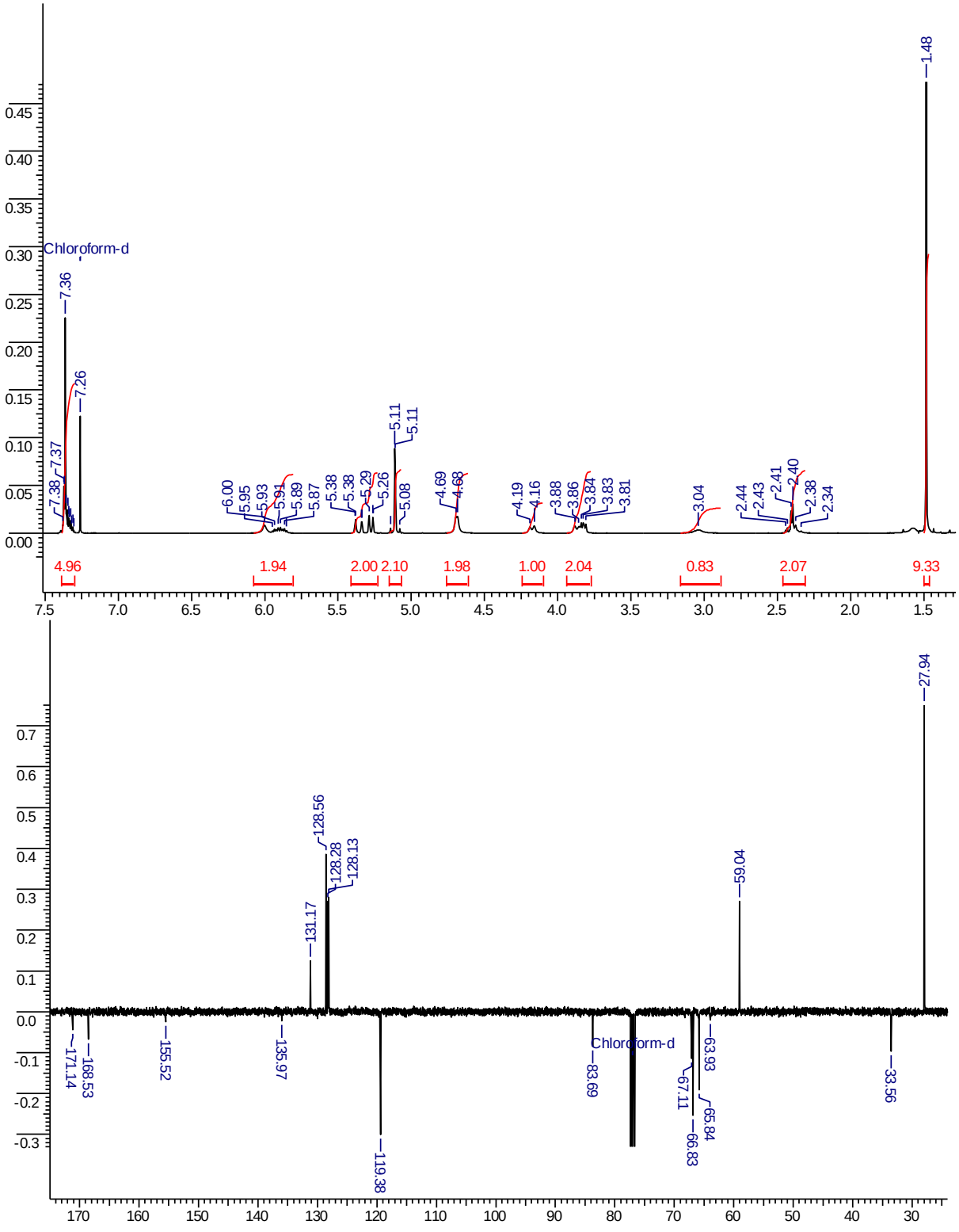

RT: 0,00 - 14,46
Relative Abundance
10,85
9,68
NL:
8,29E8
TIC MS
97D-Marcel-2-16
uAU
10,77
13,36
14,14
NL:
1,35E5
Total Scan
PDA
97D-Marcel-2-16
Time (min)

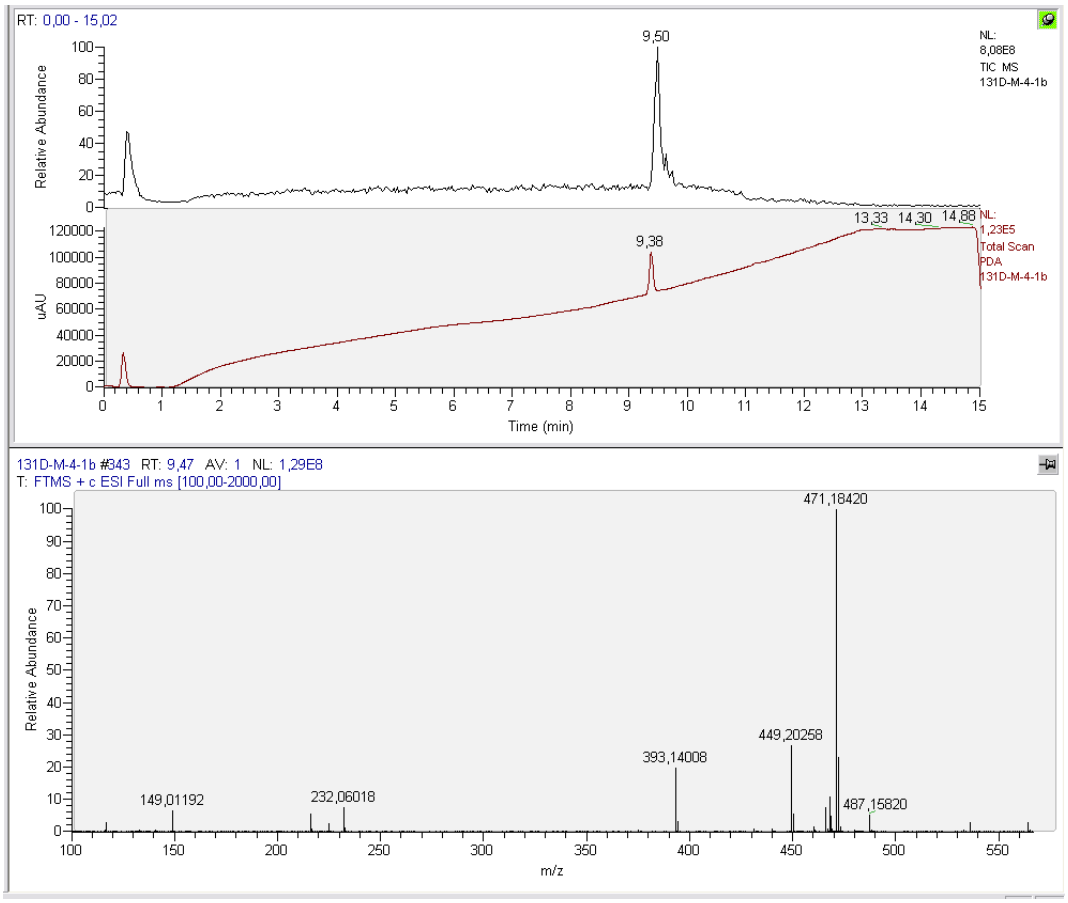

97D-Marcel-2-16 #390 RT: 10,85 AV: 1 NL: 1,60E8
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
Relative Abundance
555,24103
393,13950
449,20175
533,25958
m/z

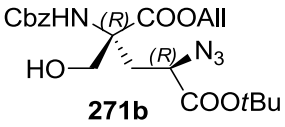
6.3.8 (2*R*,4*S*)- and (2*R*,4*R*)-1-Allyl-5-*tert*-butyl-4-azido-2-(benzyloxycarbonylamino)-2-(hydroxymethyl)pentanedioate (271)



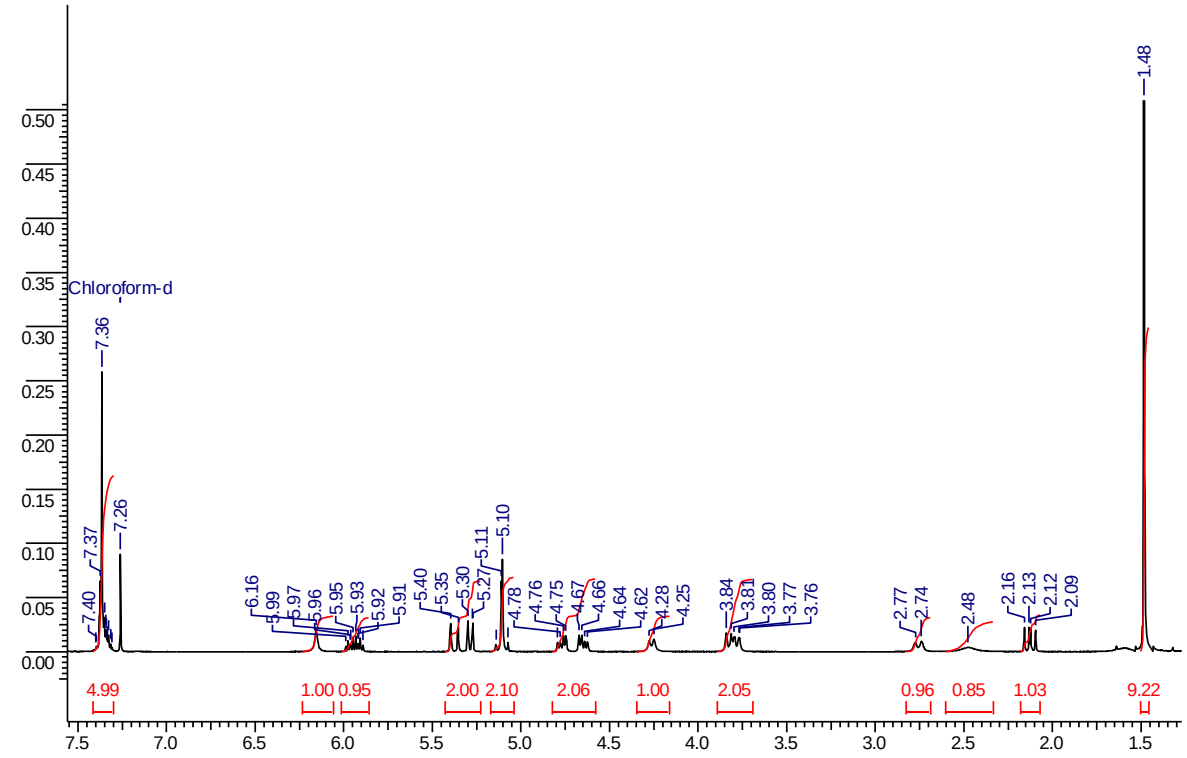
271a

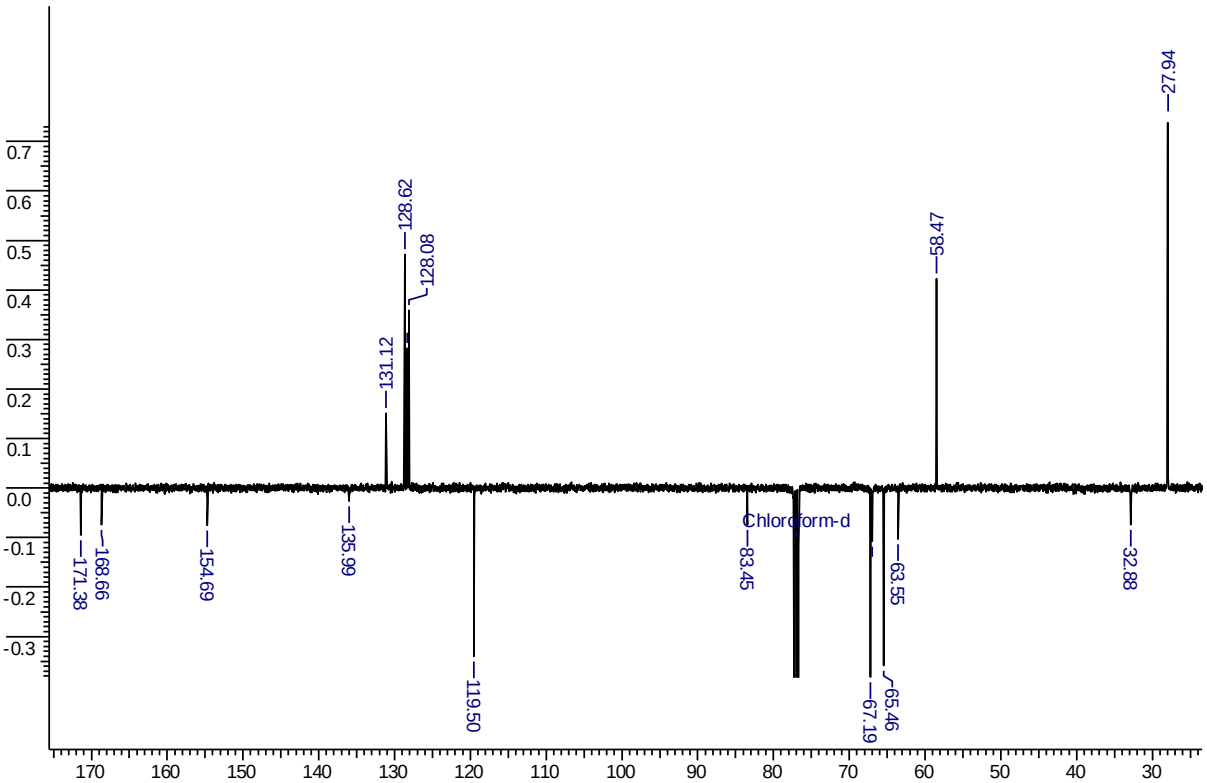


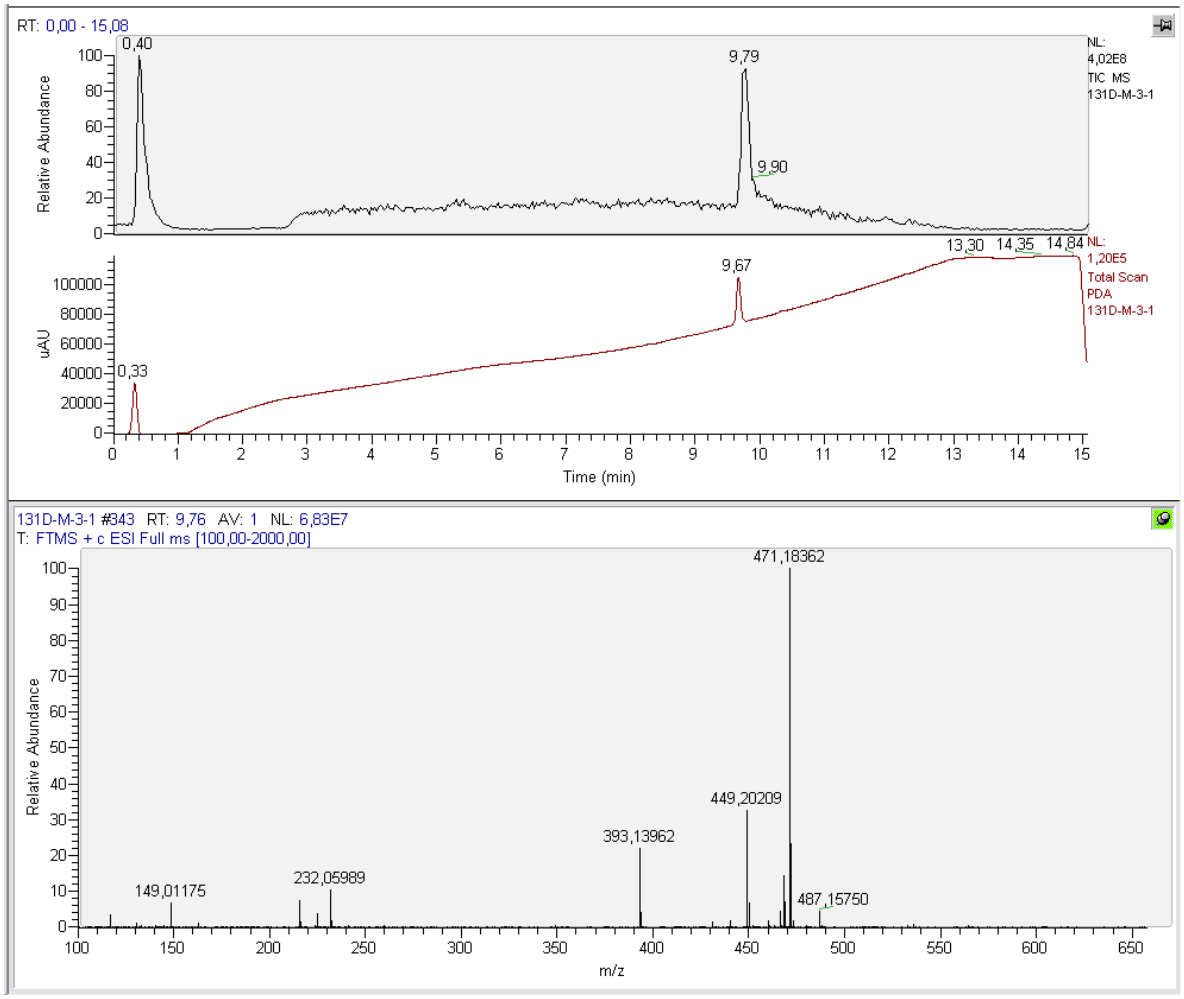

RT: 0,00 - 15,02
9,50
NL:
8,08E8
TIC MS
131D-M-4-1b
Relative Abundance
13,33
14,30
14,88
9,38
NL:
1,23E5
Total Scan
PDA
131D-M-4-1b
uAU
Time (min)
131D-M-4-1b #343 RT: 9,47 AV: 1 NL: 1,29E8
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
471,18420
449,20258
393,14008
149,01192
232,06018
487,15820
Relative Abundance
m/z


CbzHN
(R)
COOAll
HO
(R)
N3
COOtBu

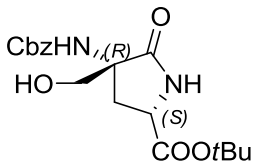
271b

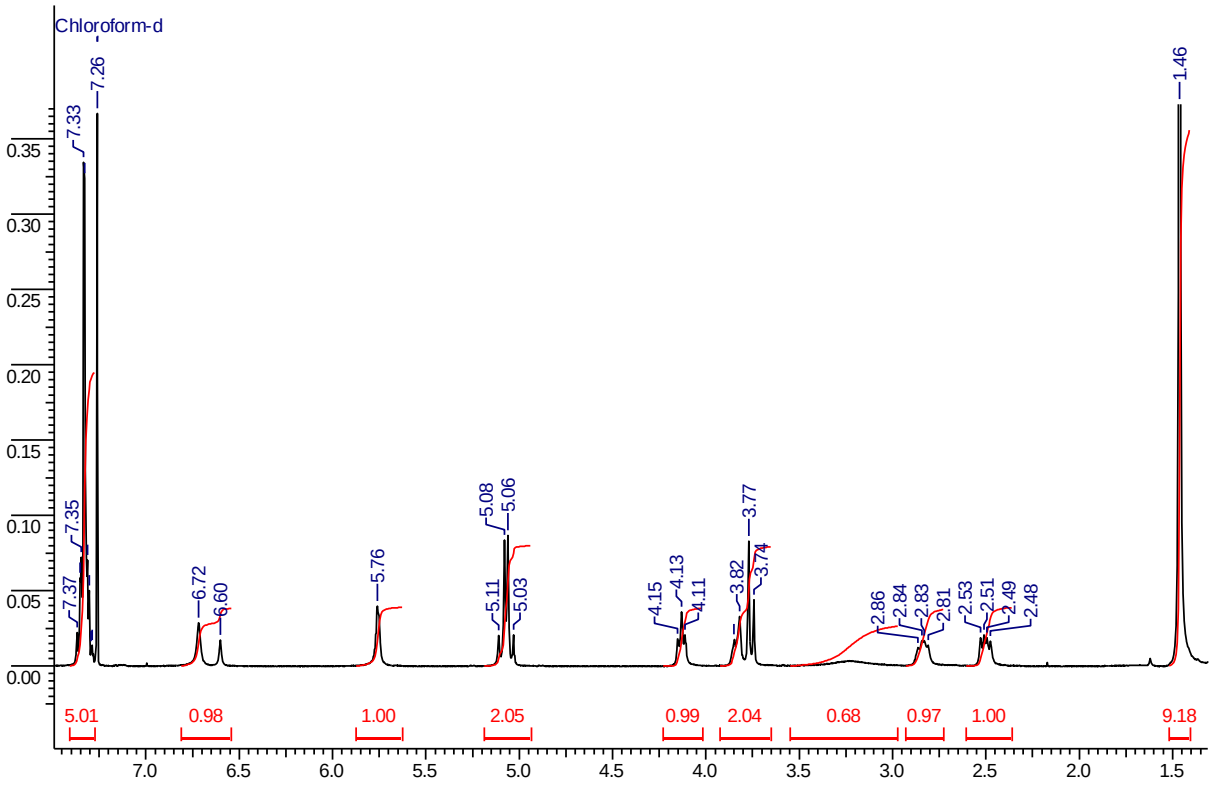

Chloroform-d
7.36
7.40
7.37
7.26
6.16
5.99
5.97
5.96
5.95
5.93
5.92
5.91
5.40
5.35
5.30
5.27
5.11
5.10
4.78
4.76
4.75
4.67
4.66
4.64
4.62
4.28
4.25
3.84
3.81
3.80
3.77
3.76
2.77
2.74
2.48
2.16
2.13
2.12
2.09
1.48
4.99
1.00
0.95
2.00
2.10
2.06
1.00
2.05
0.96
0.85
1.03
9.22

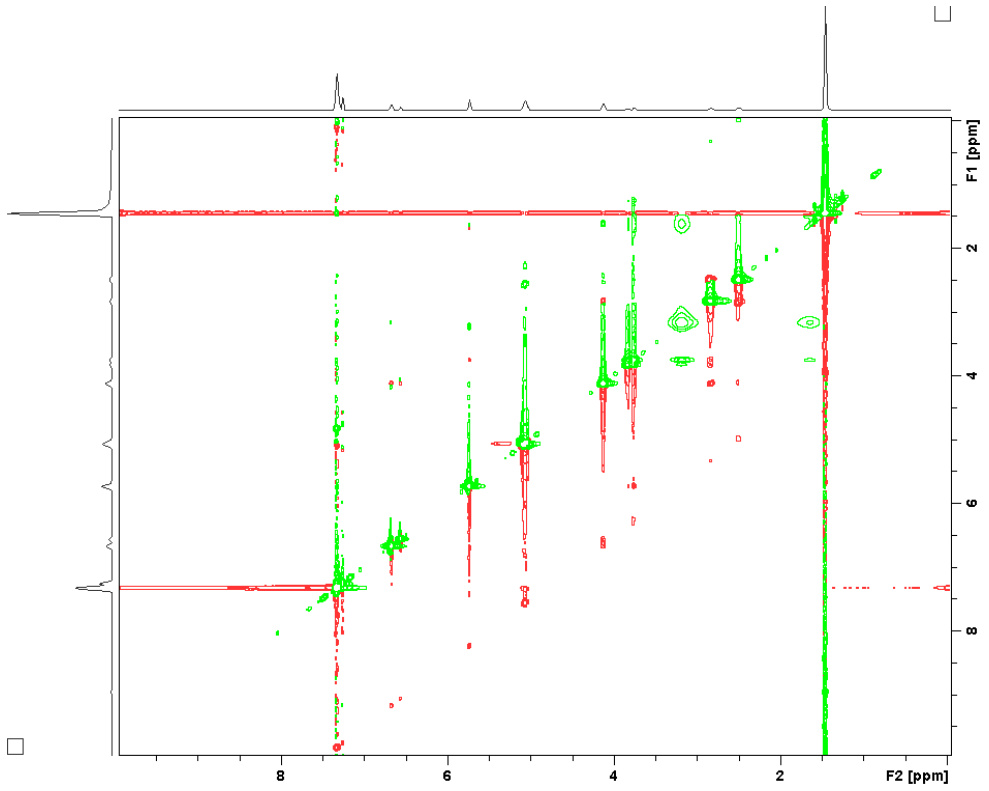

27.94
128.62
128.08
131.12
58.47
Chloroform-d
171.38
168.66
154.69
135.99
119.50
83.45
67.19
65.46
63.55
32.88

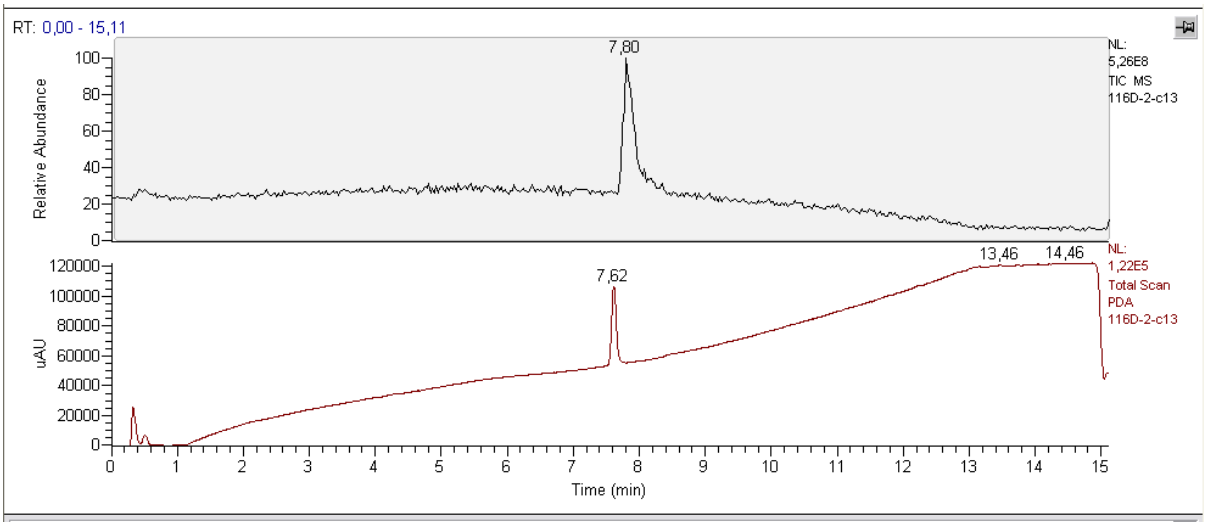

RT: 0,00 - 15,08
0,40
9,79
9,90
NL:
4,02E8
TIC MS
131D-M-3-1
Relative Abundance
9,67
13,30
14,35
14,84
NL:
1,20E5
Total Scan
PDA
131D-M-3-1
uAU
0,33
Time (min)
131D-M-3-1 #343 RT: 9,76 AV: 1 NL: 6,83E7
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
471,18362
449,20209
393,13962
232,05989
149,01175
487,15750
Relative Abundance
m/z

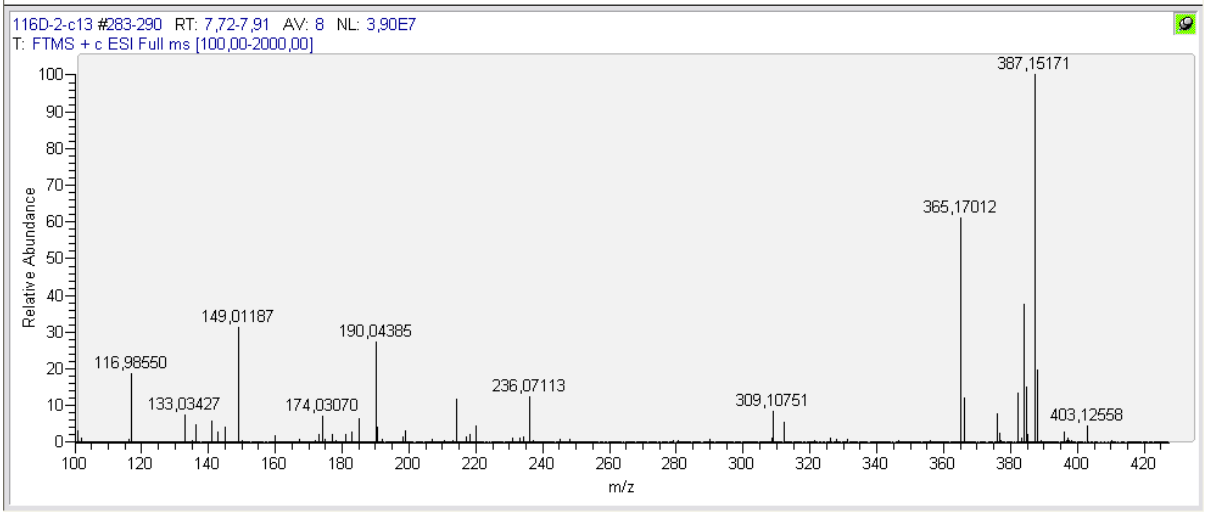
6.3.9 (2*S*,4*R*)-4-(Benzyloxycarbonylamino)-4-(hydroxymethyl)-5-oxopyrrolidin-2-carbonsäure-*tert*-butylester (275)



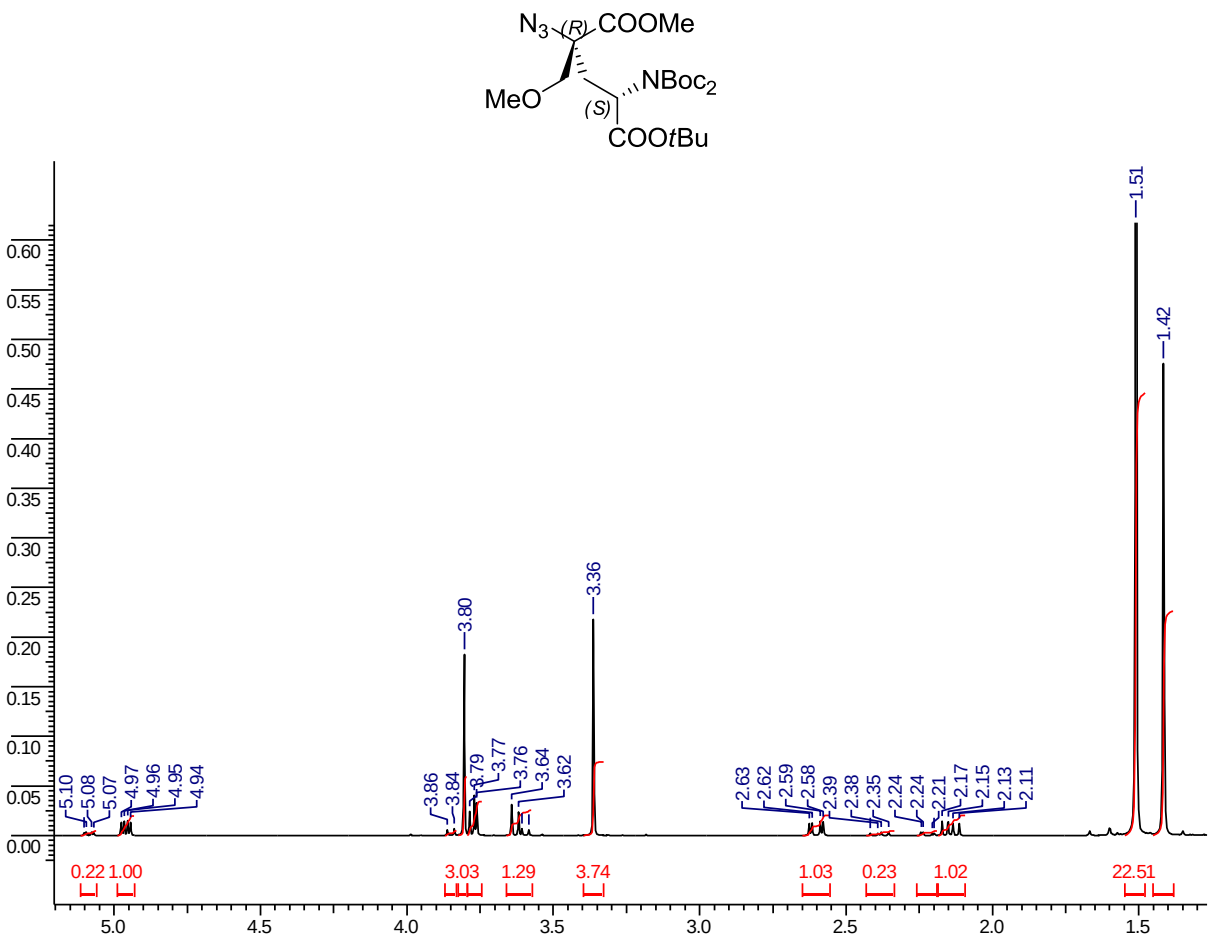


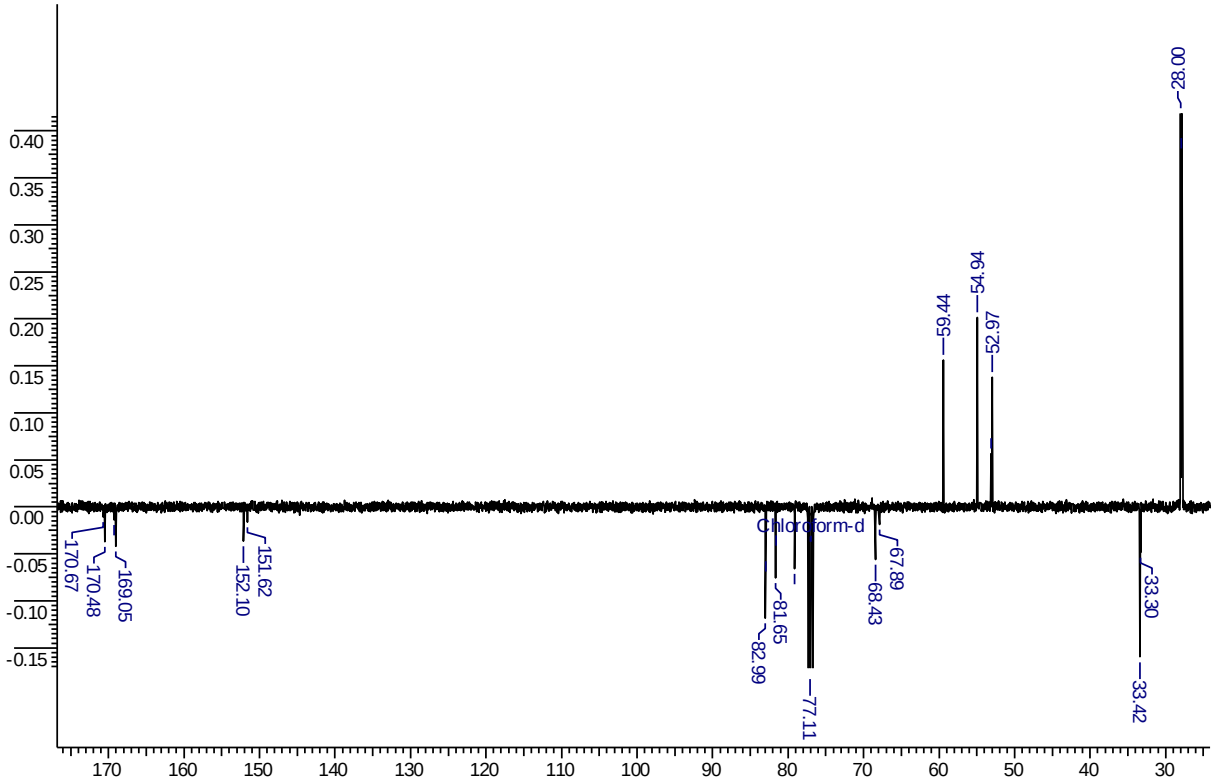


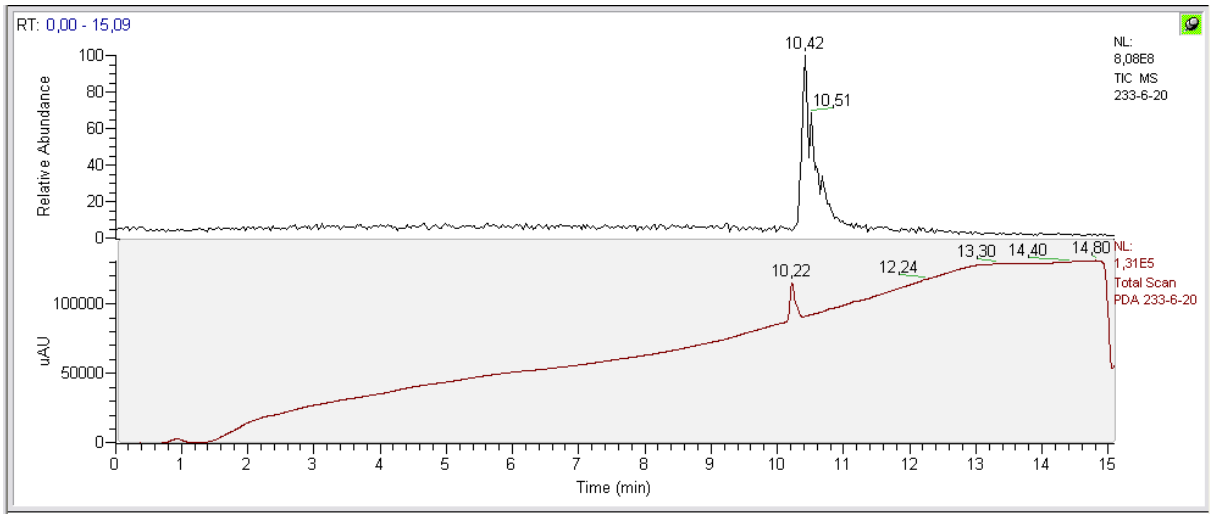

RT: 0,00 - 15,11
7,80
NL:
5,26E8
TIC MS
116D-2-c13
Relative Abundance
13,46
14,46
7,62
NL:
1,22E5
Total Scan
PDA
116D-2-c13
uAU
Time (min)

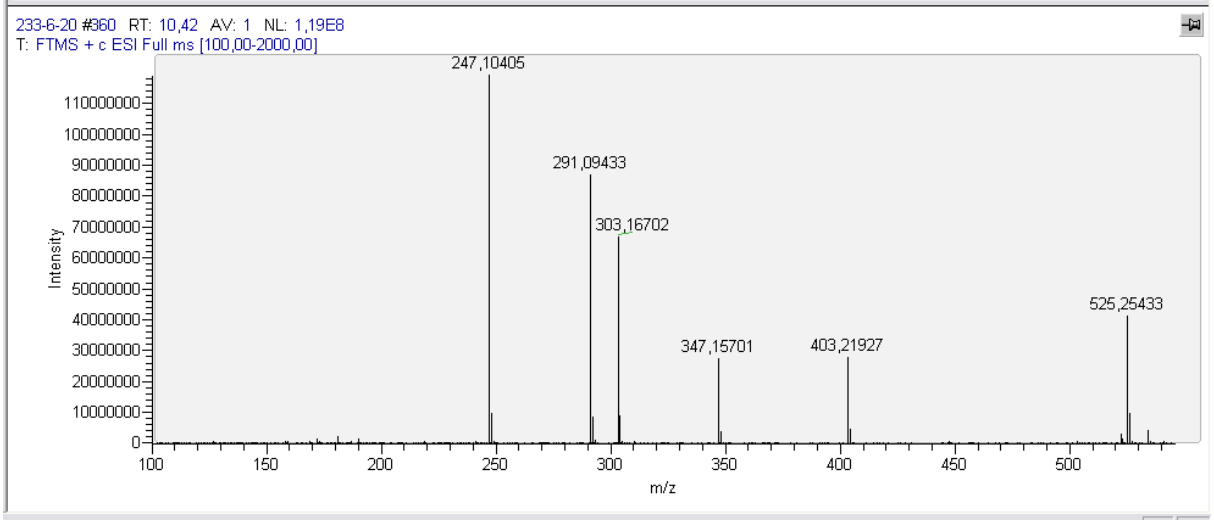

116D-2-c13 #283-290 RT: 7,72-7,91 AV: 8 NL: 3,90E7
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
387,15171
365,17012
149,01187
190,04385
116,98550
133,03427
174,03070
236,07113
309,10751
403,12558
Relative Abundance
m/z

6.3.10 (2*R*,4*S*)-5-*tert*-Butyl-1-methyl-2-azido-4-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-2-(methoxymethyl)pentanedioat (278)

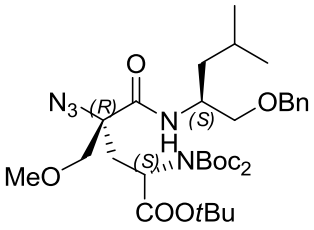


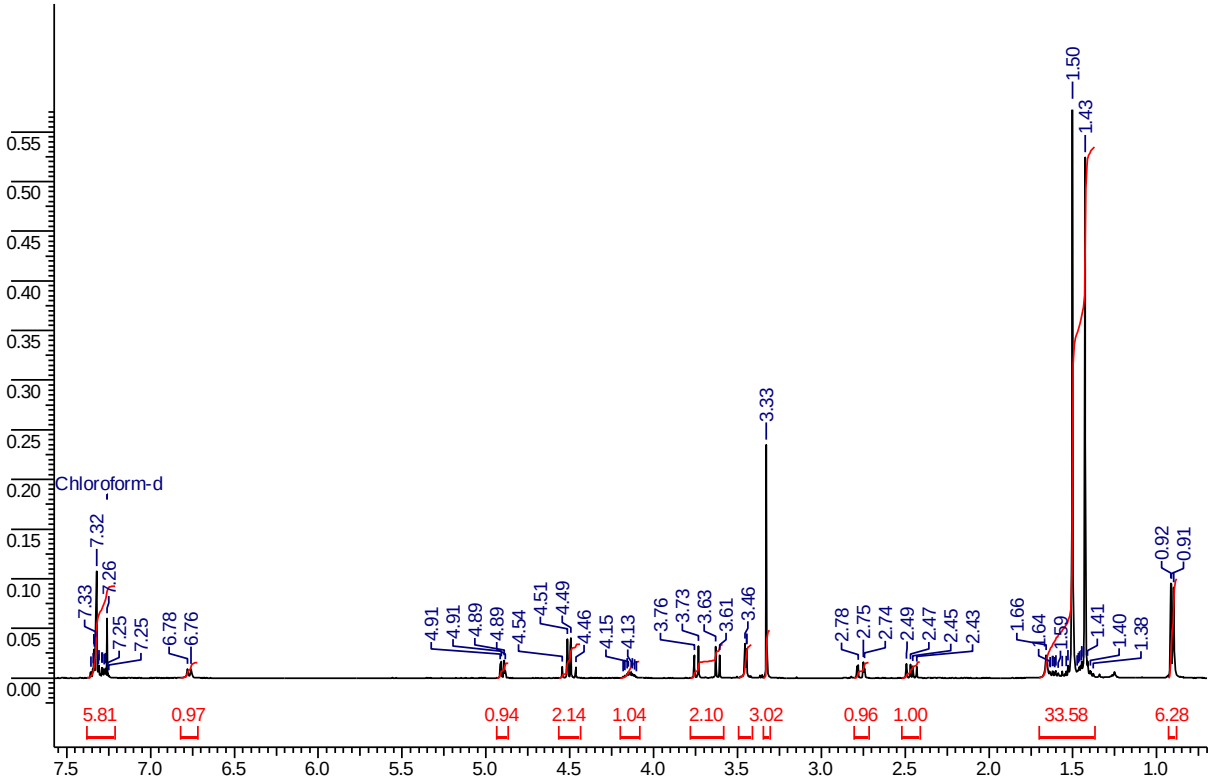

0.40
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
-0.05
-0.10
-0.15
170.67
170.48
169.05
152.10
151.62
82.99
81.65
77.11
Chloroform-d
68.43
67.89
59.44
54.94
52.97
33.42
33.30
28.00
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30

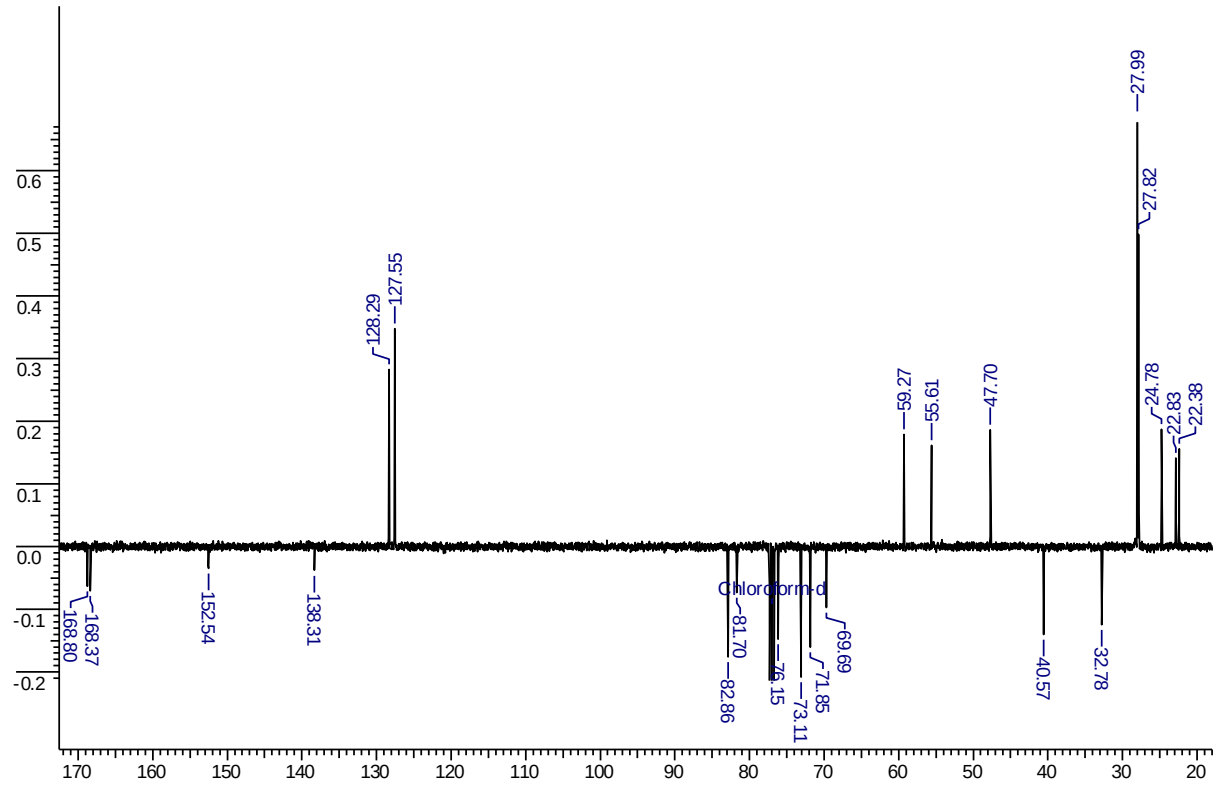

RT: 0,00 - 15,09
Relative Abundance
10,42
10,51
NL:
8,08E8
TIC MS
233-6-20
uAU
10,22
12,24
13,30
14,40
14,80
NL:
1,31E5
Total Scan
PDA 233-6-20
Time (min)

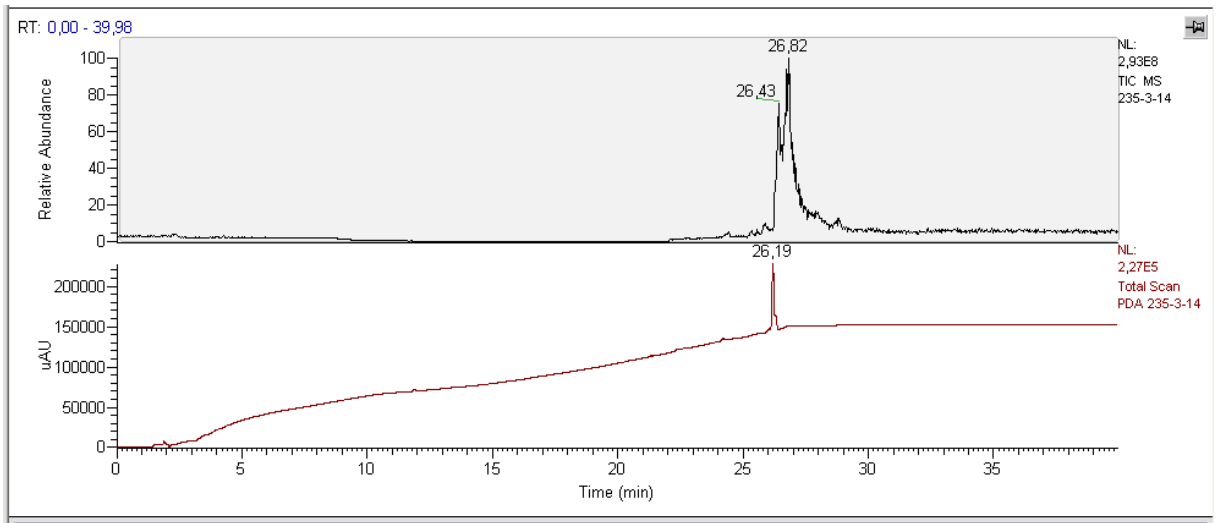

233-6-20 #360 RT: 10,42 AV: 1 NL: 1,19E8
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
Intensity
247,10405
291,09433
303,16702
347,15701
403,21927
525,25433
m/z

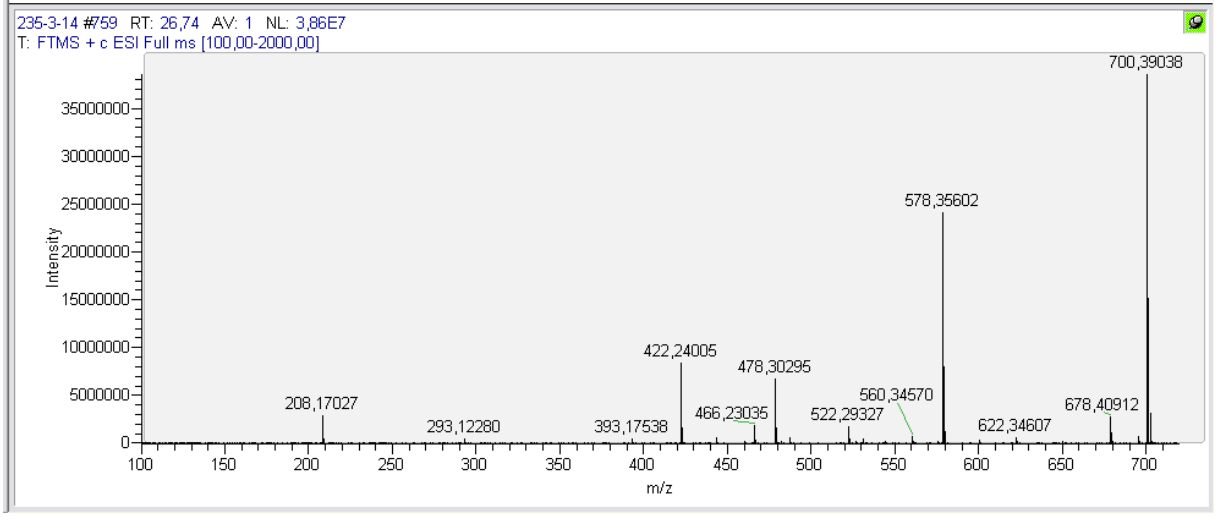
6.3.11 (2*S*,4*R*)-*tert*-Butyl-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanoat (287)



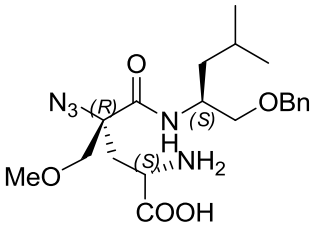


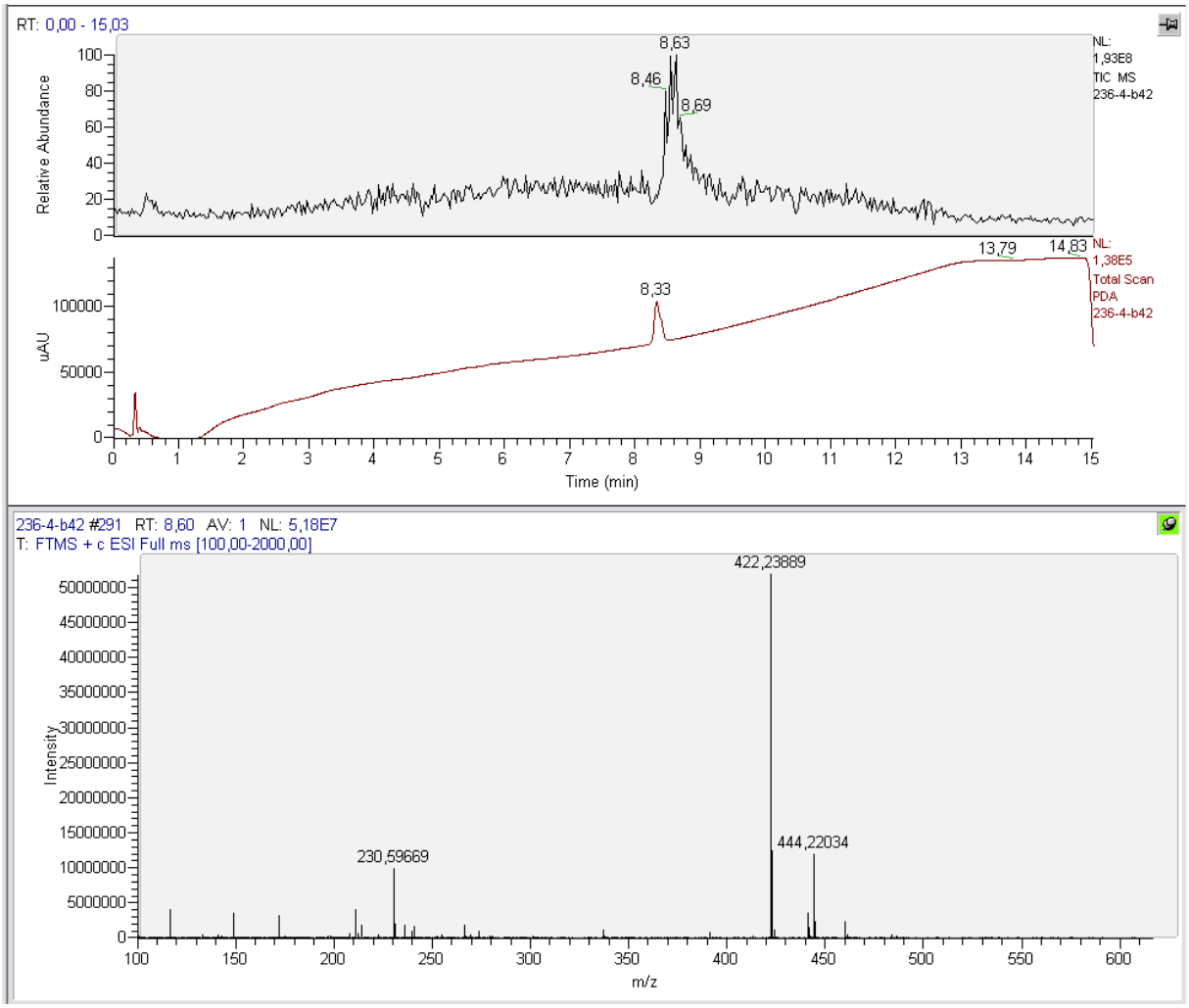

27.99
27.82
128.29
127.55
59.27
55.61
47.70
24.78
22.83
22.38
168.37
168.80
152.54
138.31
Chloroform-d
81.70
82.86
76.15
73.11
71.85
69.69
40.57
32.78


RT: 0,00 - 39,98
Relative Abundance
26,82
26,43
NL:
2,93E8
TIC MS
235-3-14
26,19
NL:
2,27E5
Total Scan
PDA 235-3-14
uAU
Time (min)

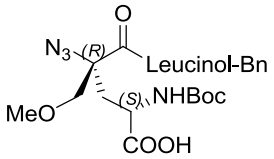

235-3-14 #759 RT: 26,74 AV: 1 NL: 3,86E7
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
700,39038
578,35602
422,24005
478,30295
560,34570
208,17027
466,23035
522,29327
678,40912
293,12280
393,17538
622,34607
Intensity
m/z

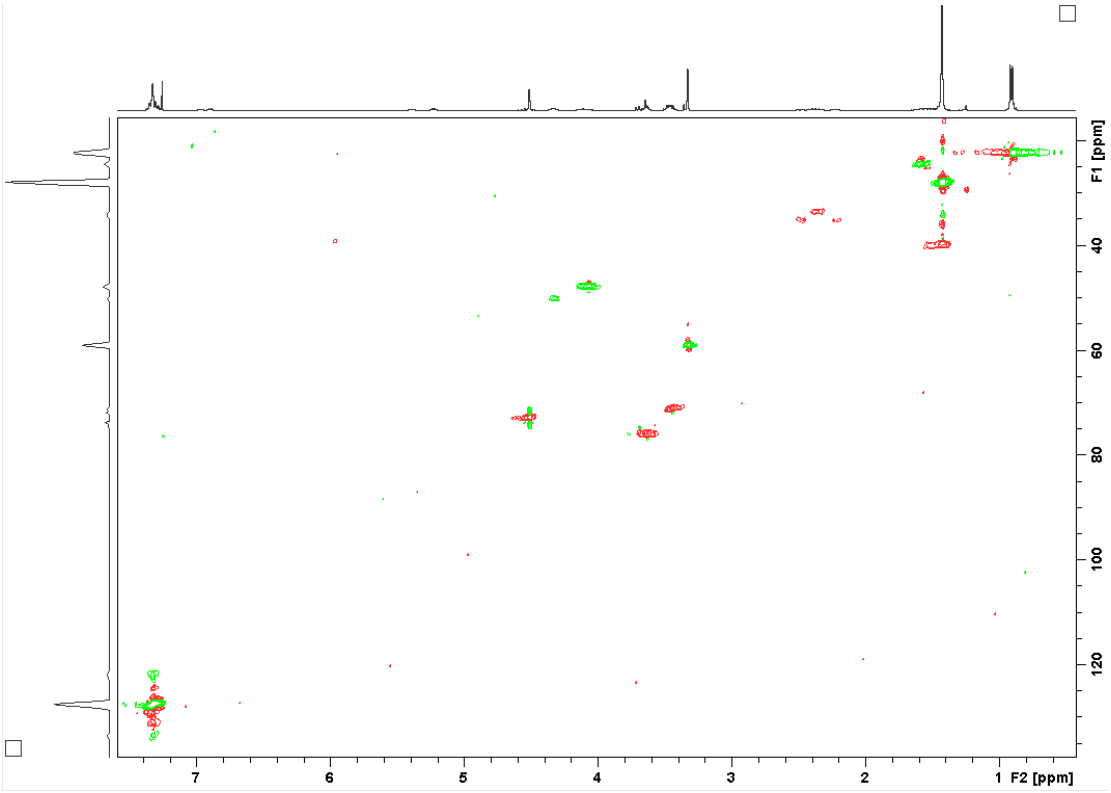
6.3.12 (2*S*,4*R*)-2-Amino-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentansäure (288)

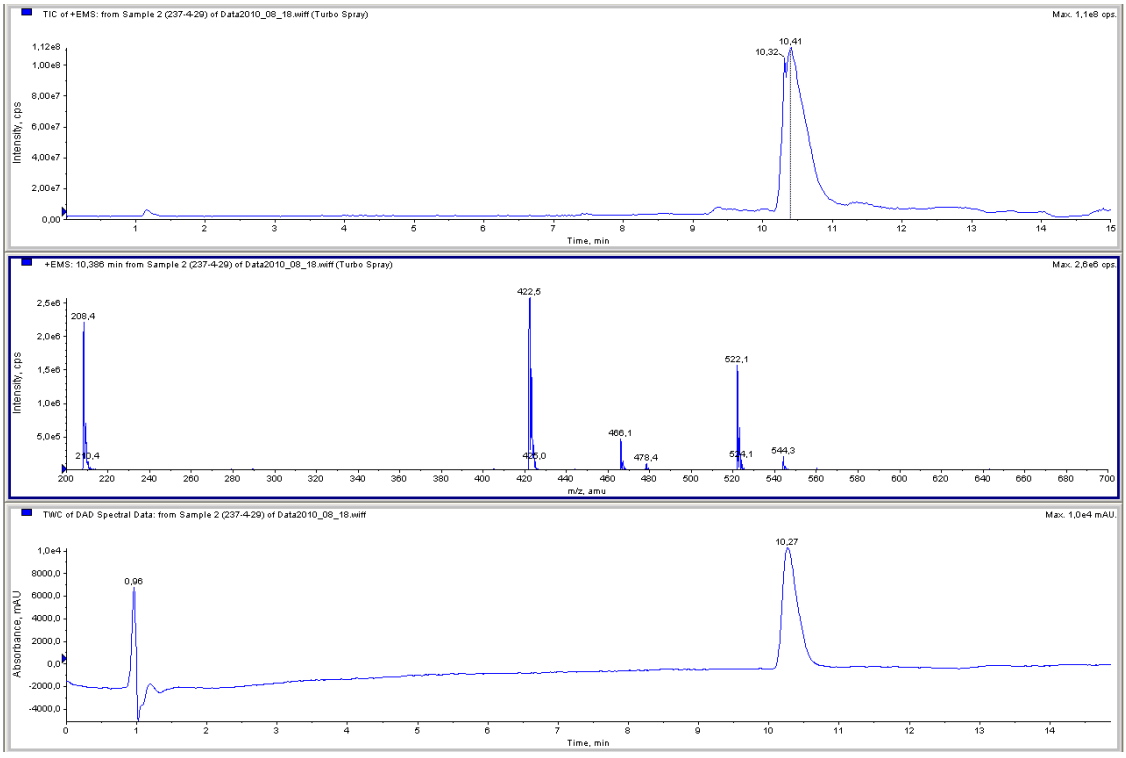




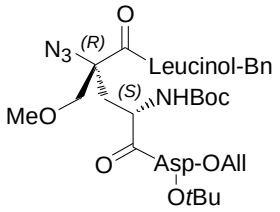
6.3.13 (2*S*,4*R*)-4-Azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentansäure (289)

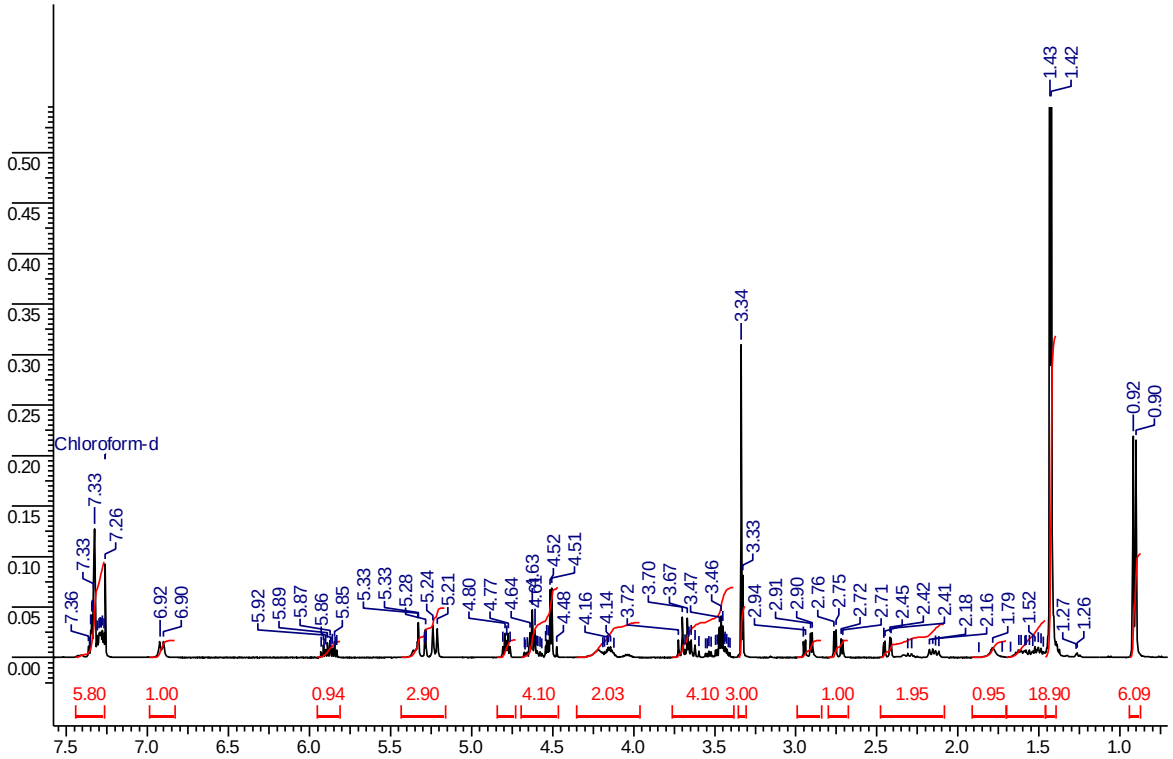


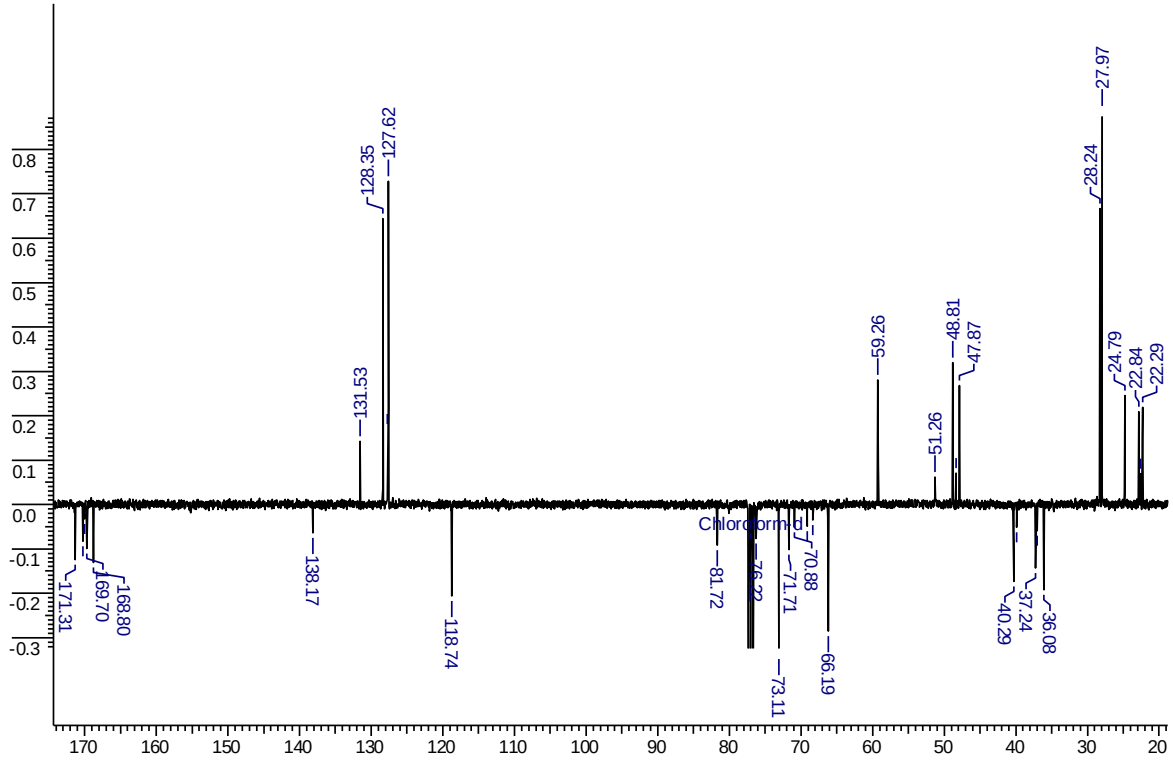


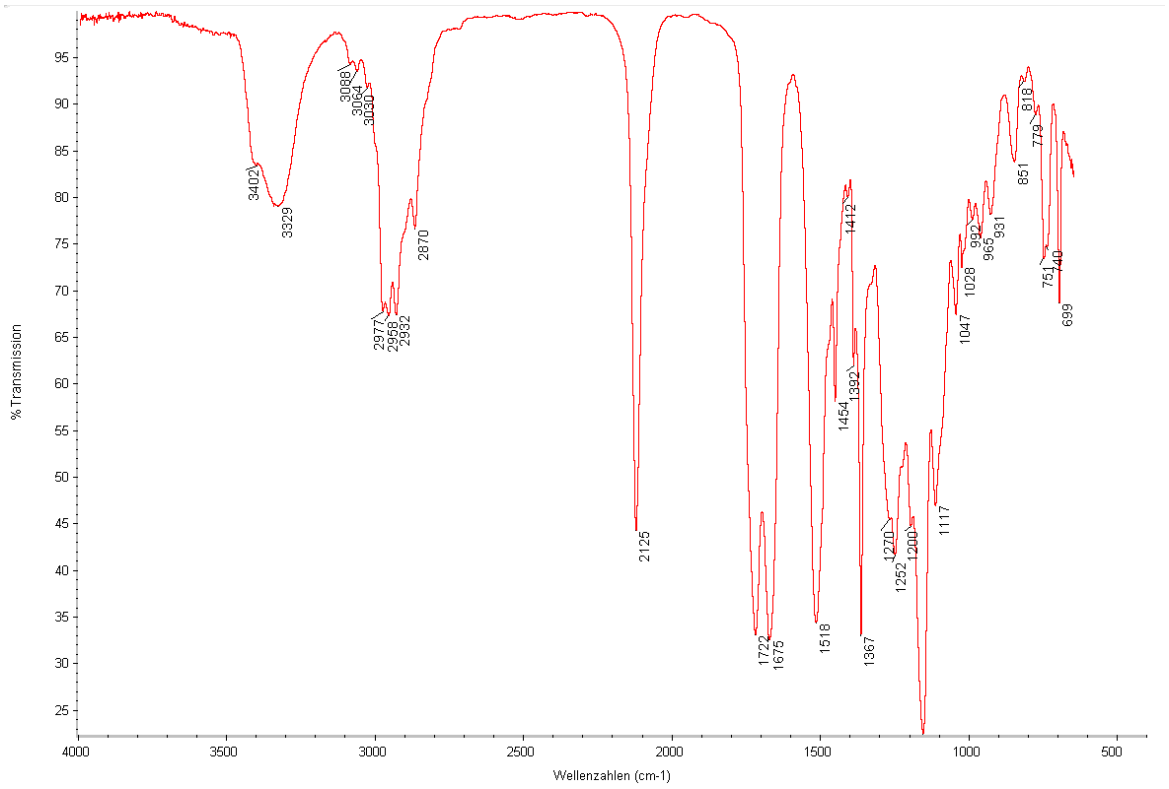


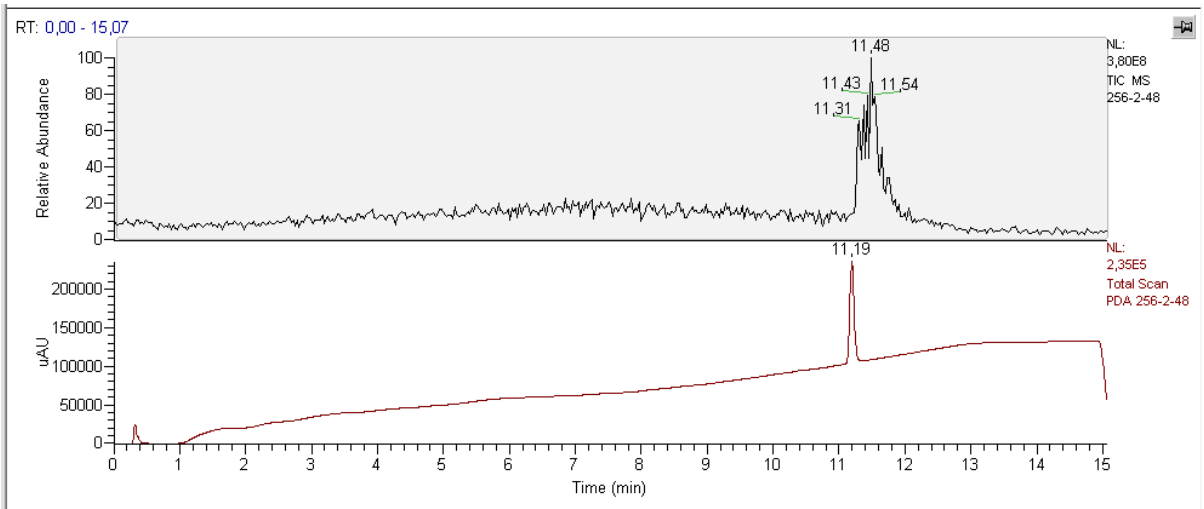
6.3.14 1-Allyl-4-*tert*-butyl-2-((2*S*,4*R*)-4-azido-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanamido)succinat (300)

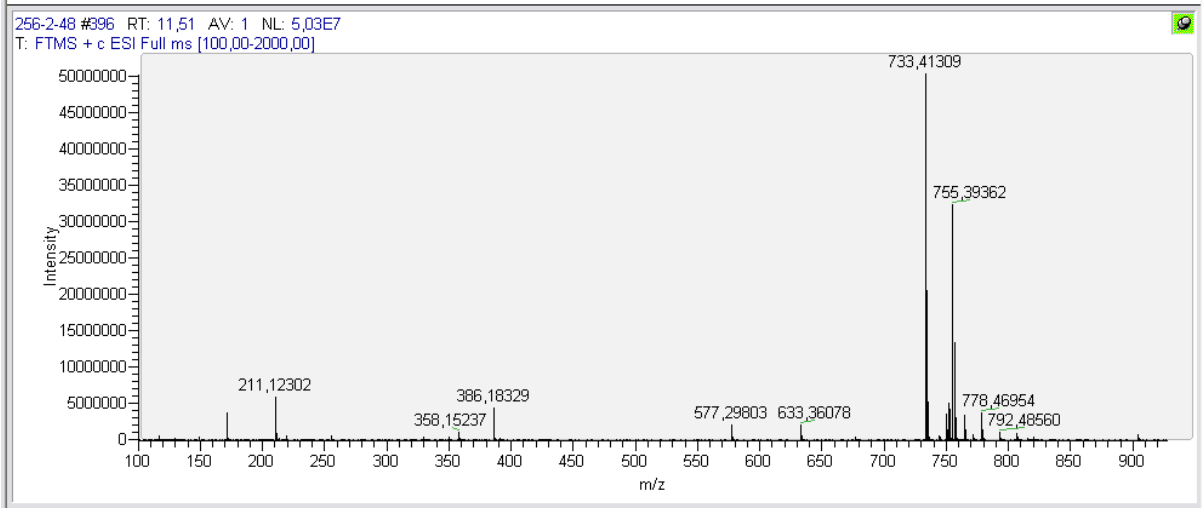




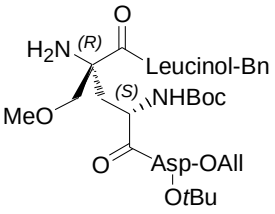


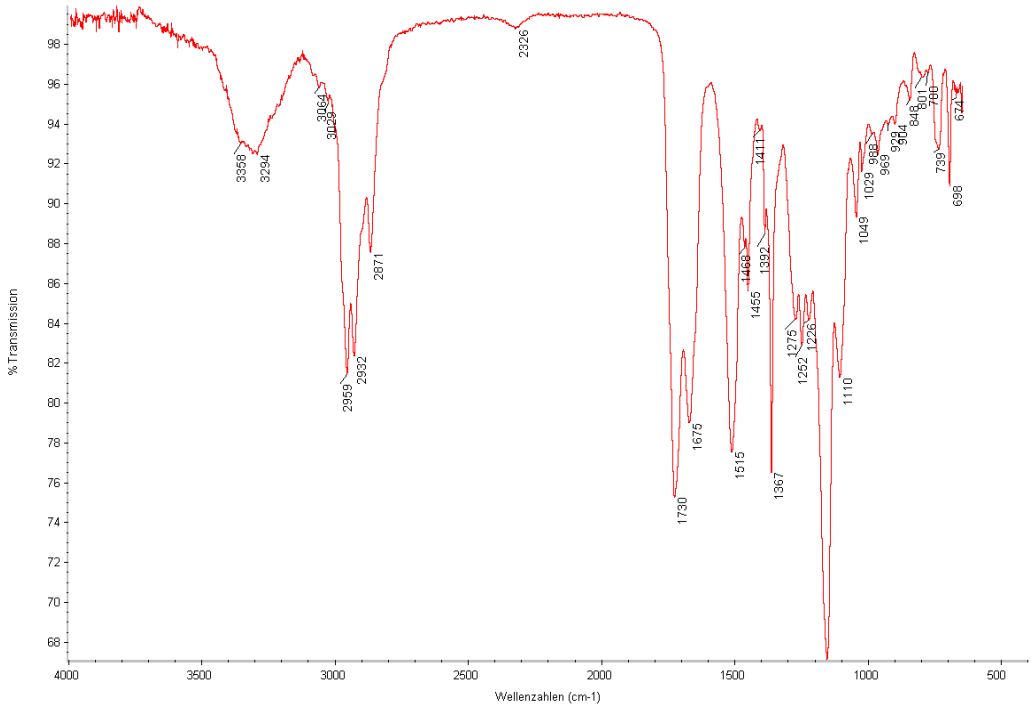

% Transmission
Wellenzahlen (cm-1)
3402
3329
3088
3064
3030
2977
2958
2932
2870
2125
1722
1675
1518
1454
1412
1392
1367
1270
1252
1200
1117
1047
1028
992
965
931
851
818
779
751
740
699

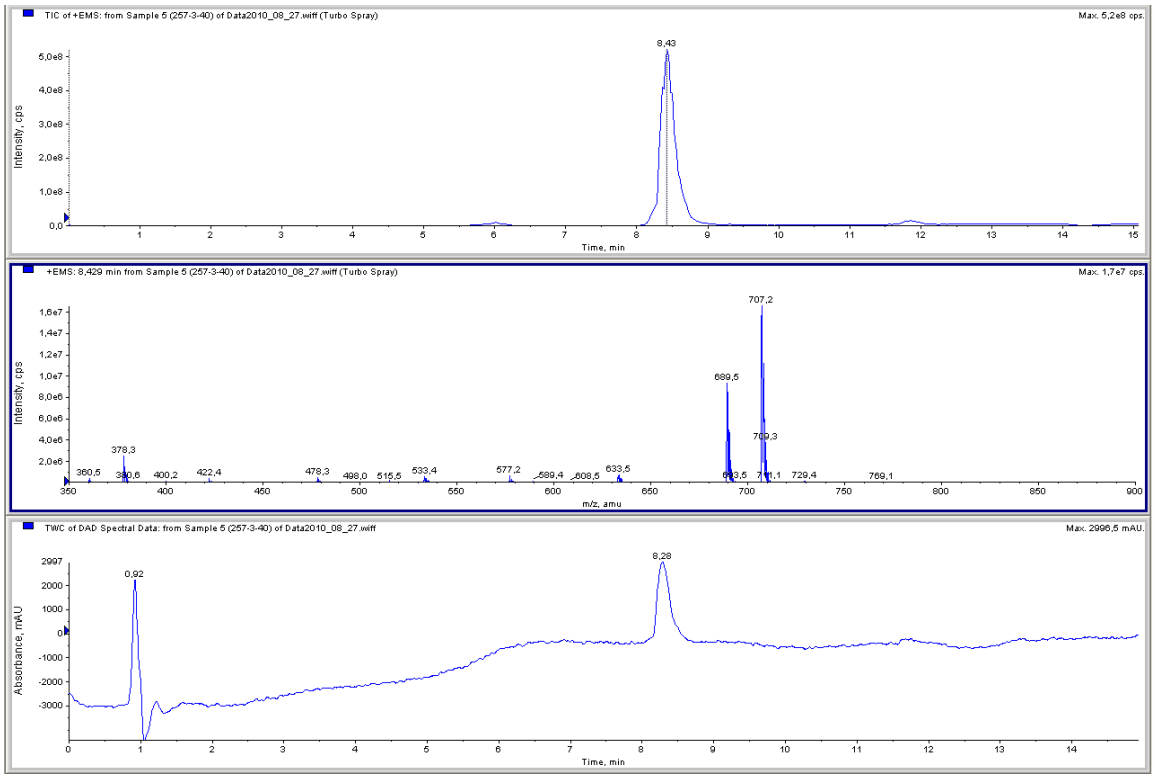

RT: 0,00 - 15,07
Relative Abundance
11,48
11,43
11,54
11,31
NL:
3,80E8
TIC MS
256-2-48
11,19
NL:
2,35E5
Total Scan
PDA 256-2-48
uAU
Time (min)


256-2-48 #396 RT: 11,51 AV: 1 NL: 5,03E7
T: FTMS + c ESI Full ms [100,00-2000,00]
733,41309
755,39362
211,12302
386,18329
358,15237
577,29803
633,36078
778,46954
792,48560
Intensity
m/z

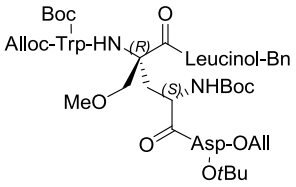
6.3.15 1-Allyl-4-*tert*-butyl-2-((2*S*,4*R*)-4-amino-5-((*S*)-1-(benzyloxy)-4-methylpentan-2-ylamino)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(methoxymethyl)-5-oxopentanamido)succinat (301)

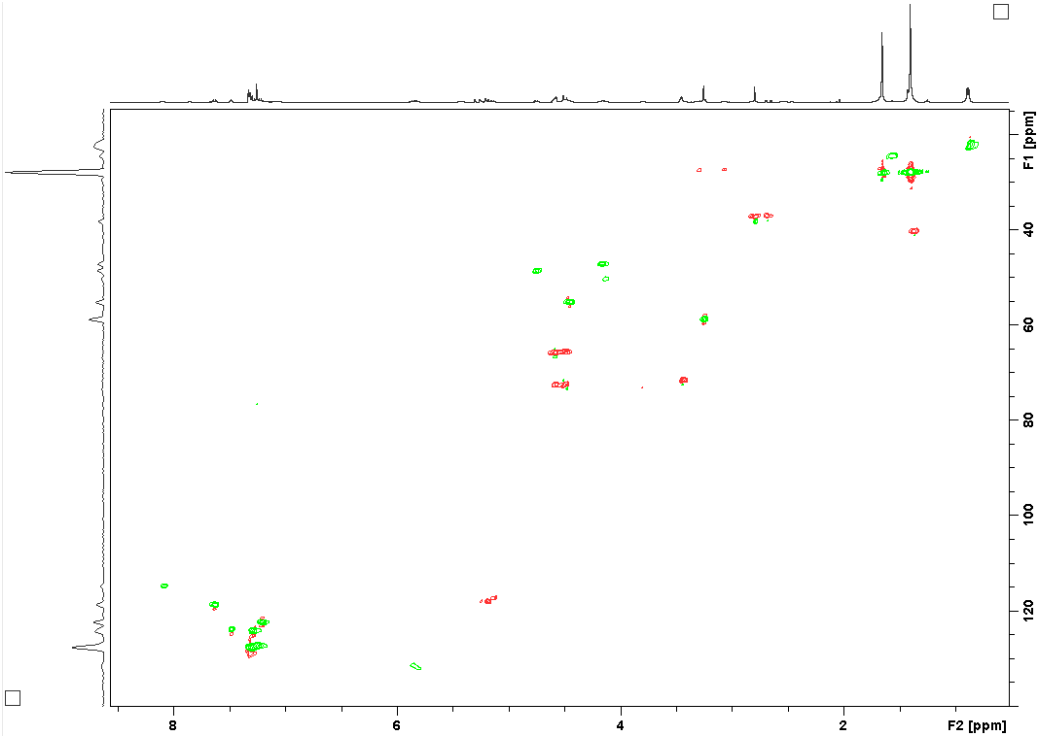


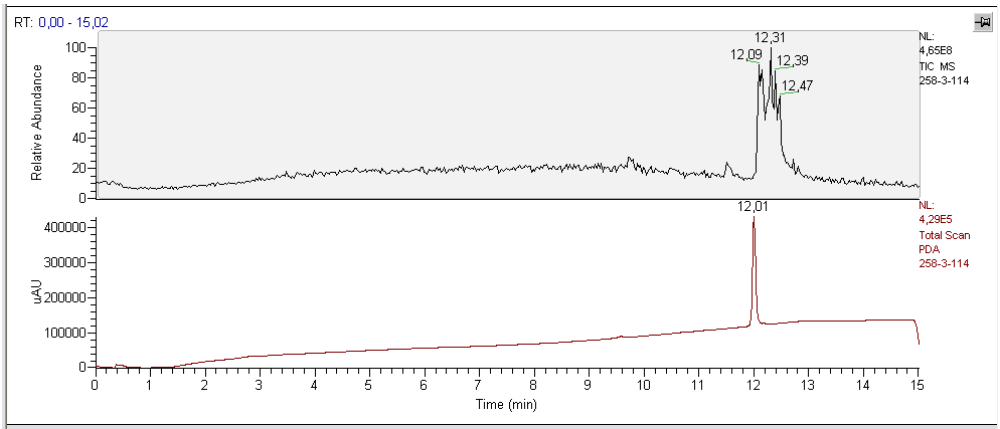


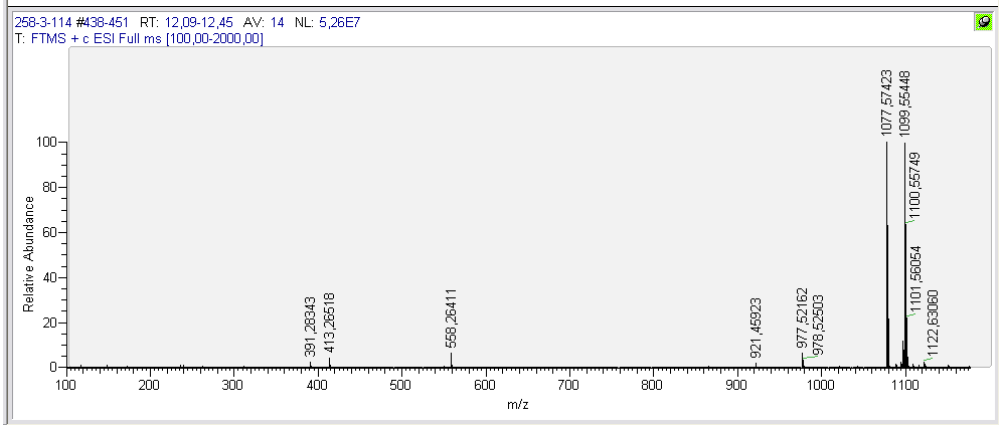


6.3.16 Peptid 305

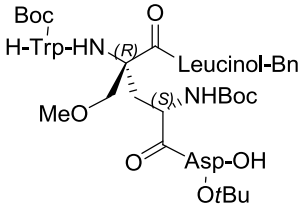


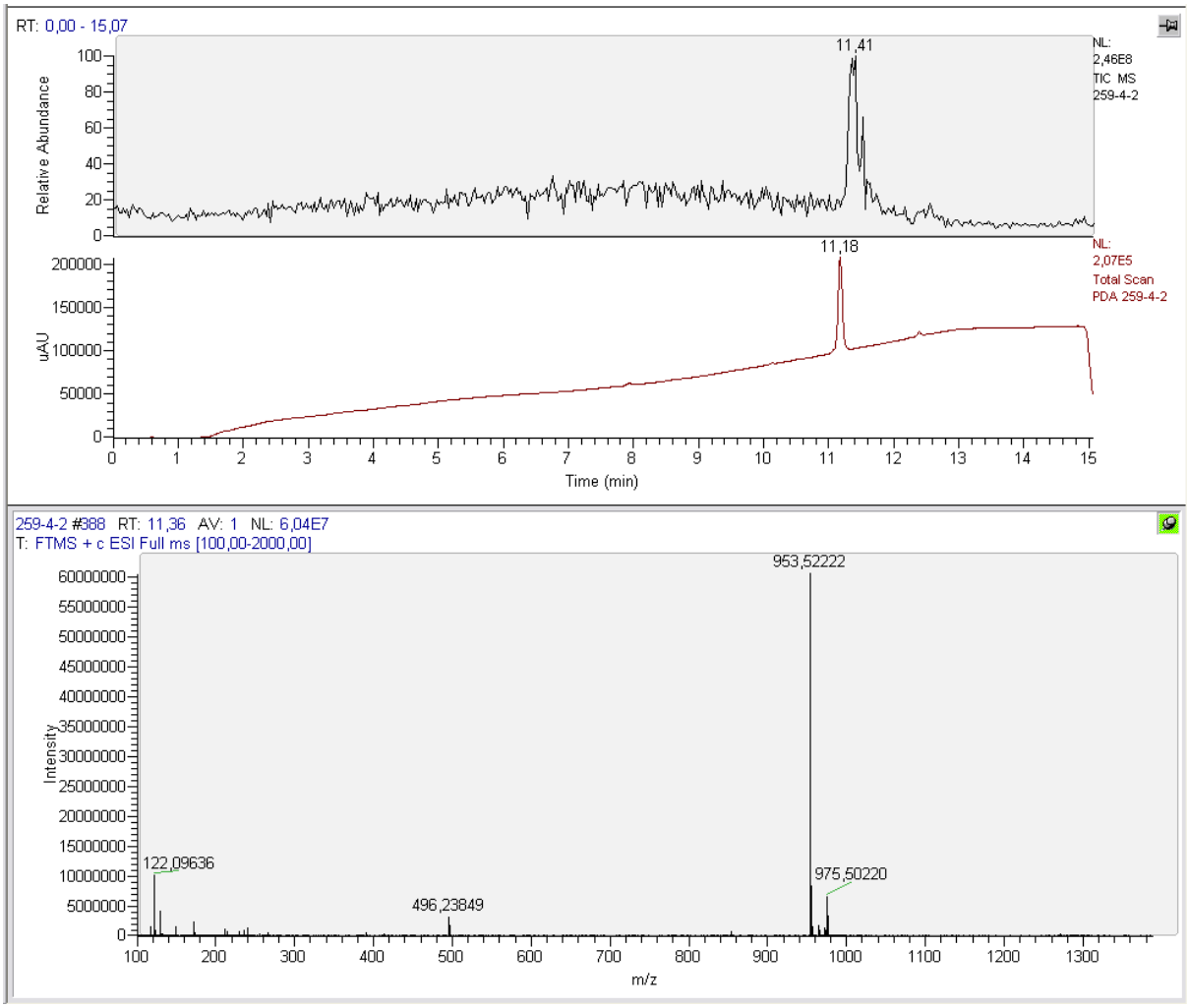




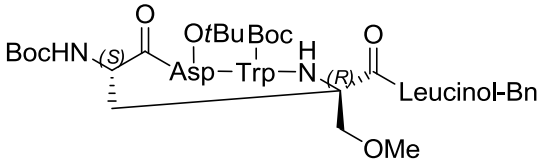


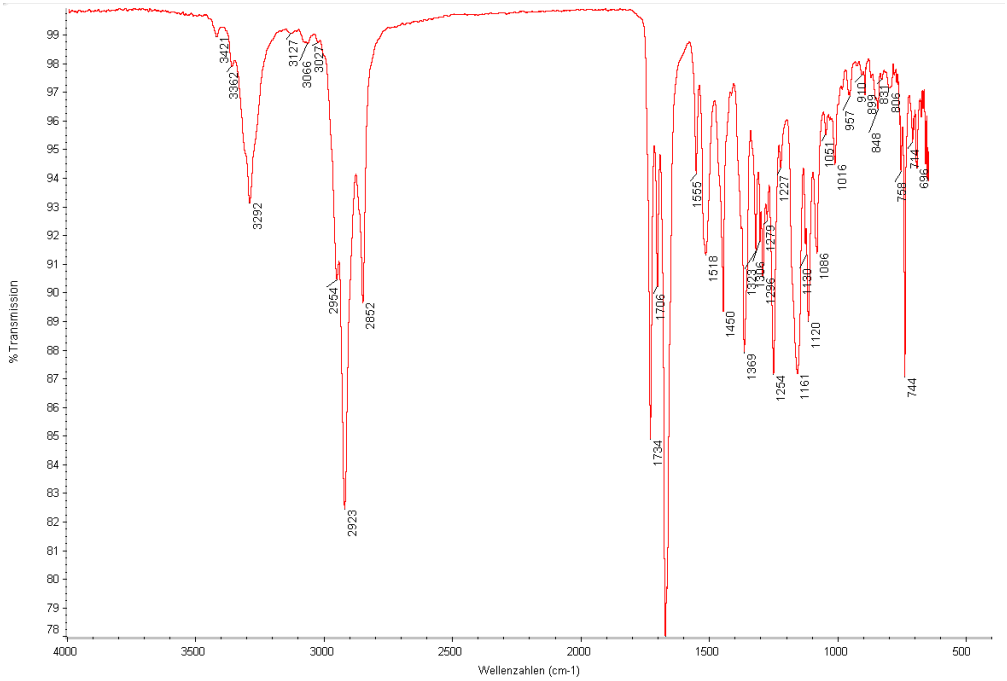
6.3.17 Peptid 85

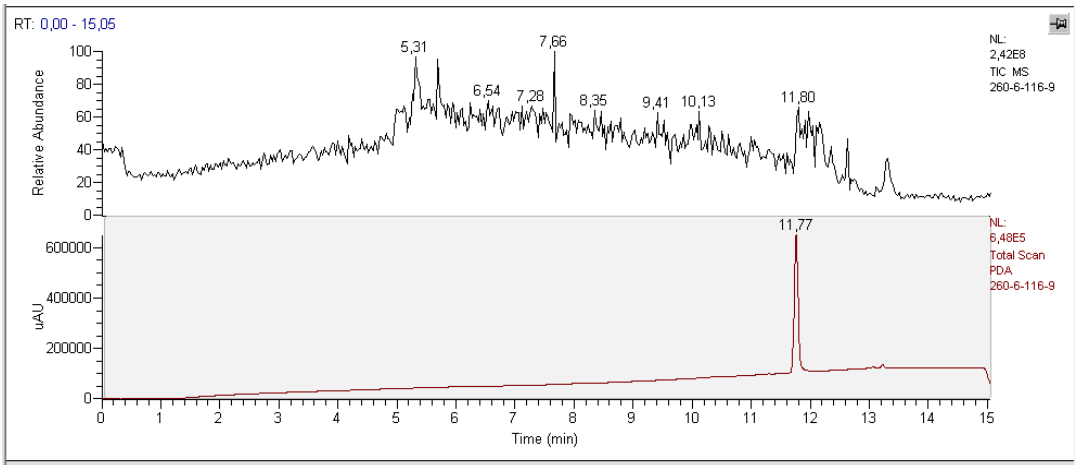


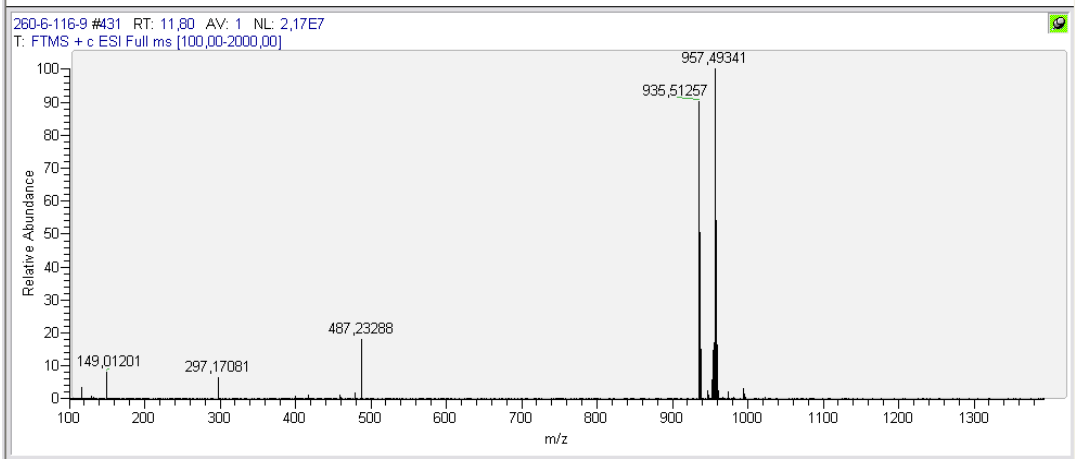


6.3.18 Lactam 84

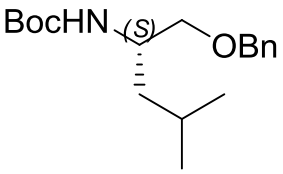


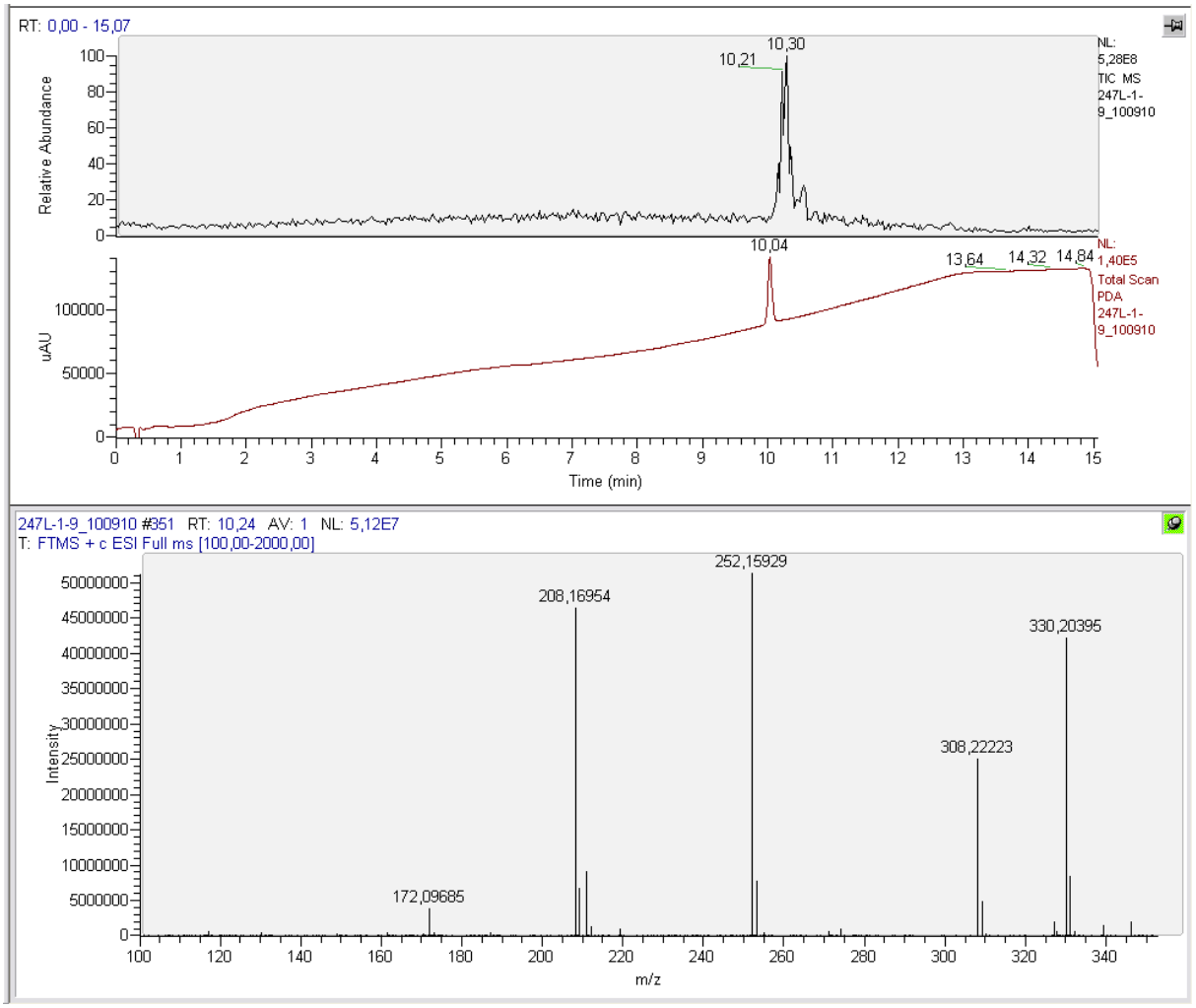




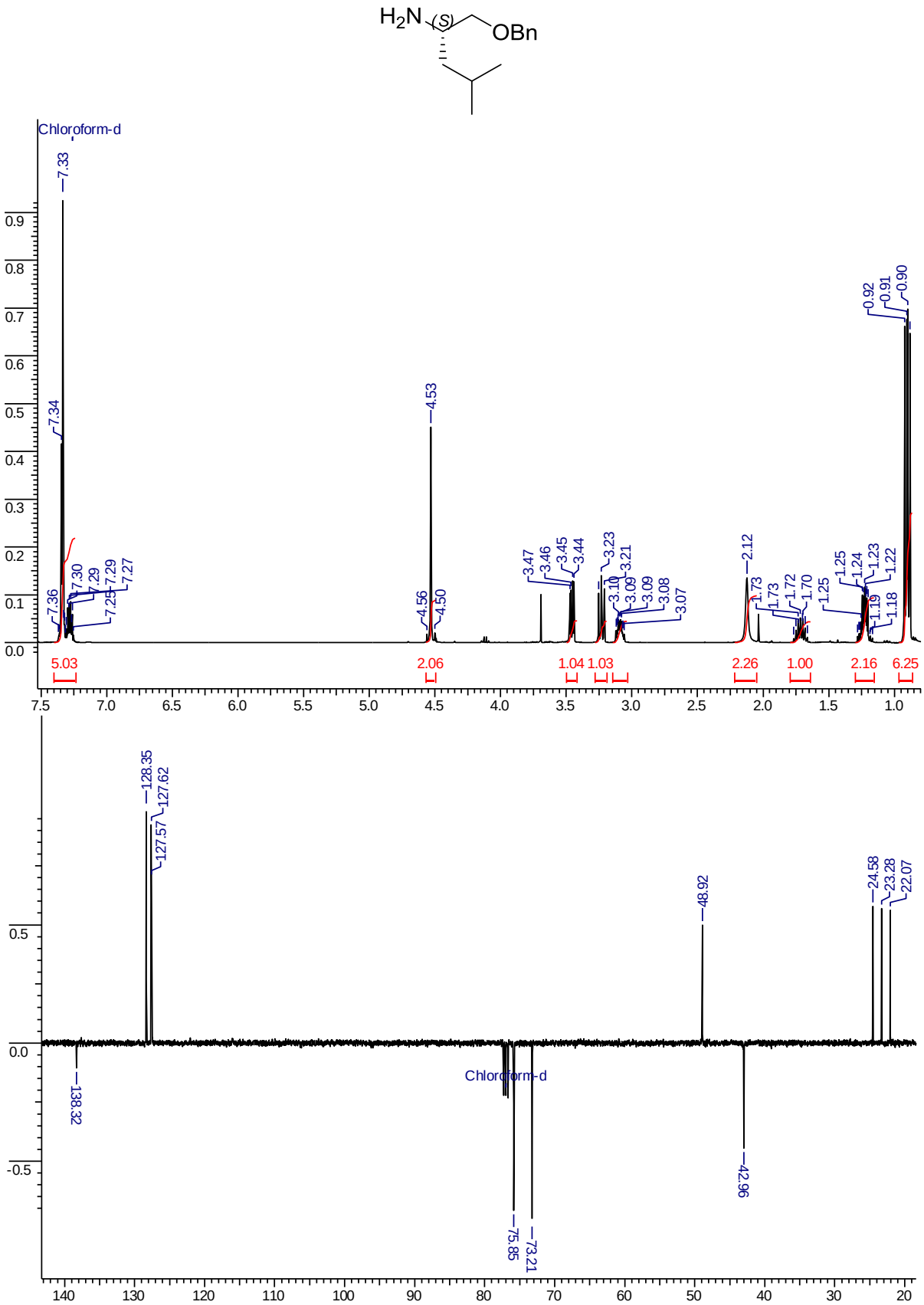


6.3.19 Boc-L-Leucinolbenzylether (285)

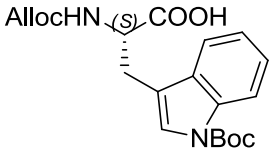


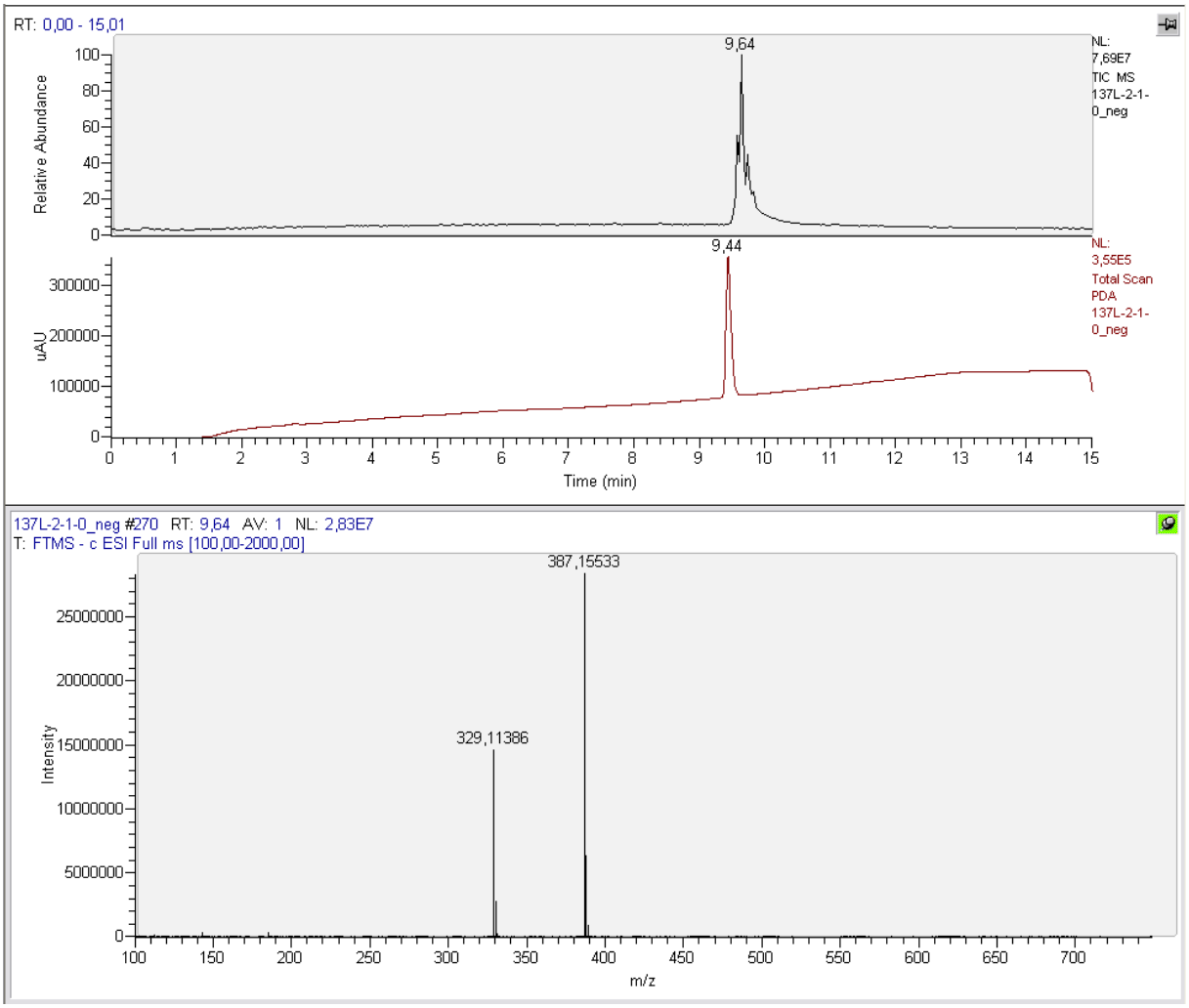


6.3.20 L-Leucinolbenzylether (286)



6.3.21 Alloc-L-Trp(Boc)-OH (304)





7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

A	Auxiliar
A/Ala	Alanin
AA	Asymmetrische Aminohydroxylierung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
AD	Asymmetrische Dihydroxylierung
ADDP	Dipiperididazodicarboxylat
Aib	Aminoisobuttersäure
All	Allyl
Alloc	Allyloxycarbonyl
APT	*attached proton test*
aq	wässrig
Arg	Arginin
Asn	Asparagin
Asp	Asparaginsäure
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	*attenuated total reflectance*
Avi	Aminovinyl
α	optische Rotation
BEMP	2-*tert*-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethylperhydro-1,3,2-diazaphosphorin
Bn	Benzyl
Boc	*tert*-Butyloxycarbonyl
BOM	Benzyloxymethyl
br	breit
Bu	Butyl
Cbz	Benzyloxycarbonyl
CI	chemische Ionisation
Cl-HOBt	6-Chlor-1-hydroxybenzotriazoldihydrat

C_q	quartäres Kohlenstoffatom
CSA	Camphersulfonsäure
Cys	Cystein
d	Tag bzw. Duplett
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
DAD	Diodenarray-Detektion
DAP	Diaminopimelinsäure
DAST	(Diethylamino)schwefeltrifluorid
DBU	Diazabicycloundecen
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
de	Diastereomerenüberschuss (*diastereomeric excess*)
DEAD	Diethylazodicarboxylat
DEE	Diethylether
DEPT	*distortion enhancement by polarization transfer*
Dha	2,3-Didehydroalanin
Dhb	2,3-Didehydrobutyrin
DHP	Dihydropyran
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	Dimethylformamid
DMPU	1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(*1H*)-pyrimidinon
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMSO-d_6	deuteriertes Dimethylsulfoxid
DPPA	Diphenylphosphorylazid
d. Th.	der Theorie
δ	chemische Verschiebung in ppm (NMR)
E	Elektrophil
ECOST	European Cooperation in the field of Scientific and Technical Research
ED	Effektivdosis
EDAC	1-Ethyl-3-(3-dimethyllaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid

ee	Enantiomerenüberschuss (*enantiomerical excess*)
EI	Elektronenstoß-Ionisation
eq	Äquivalent
ESI	Elektrospray-Ionisation
Et	Ethyl
et al.	und andere (*et alteri*)
EtOAc	Essigsäureethylester
EtOH	Ethanol
F/Phe	Phenylalanin
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
FTIR	Fourier-Transformations-Infrarotspektrometer
G/Gly	Glycin
Gln	Glutamin
Glu	Glutaminsäure
GTP	Guanosintriphosphat
HATU	*O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N‘,N‘*-tetramethyluronium Hexafluorophosphat
His	Histidin
HMPT	Hexamethylphosphortriamid
HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
HOBt	*N*-Hydroxybenzotriazol
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*high performance liquid chromat.*)
HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie (*high resolution mass spectrometry*)
HV	Hochvakuum
Ile	Isoleucin
IR	Infrarot
J	Kopplungskonstante
KHMDS	Kaliumhexamethyldisilazanid
konz.	Konzentriert
L	Abgangsgruppe (*leaving group*)
L/Leu	Leucin
Lab	Labionin
Lan	Lanthionin

LC	Flüssigchromatographie (*liquid chromatographie*)
LD	letale Dosis
LDA	Lithiumdiisopropylamid
LHMDS	Lithiumhexamethyldisilazanid
Lys	Lysin
λ	Wellenlänge
m	Multiplett
M	Molar
Me	Methyl
MeLan	Methyllanthionin
MS	Massenspektrometrie
Met	Methionin
MOM	Methyloxymethyl
Ms	Methylsulfonyl (Mesyl)
MW	Molekülmasse (*molecular weight*) [g/mol]
m/z	Masse/Ladungs-Verhältnis
N	normal
NaHMDS	Natriumhexamethyldisilazanid
NMM	*N*-Methylmorpholin
NMR	Kernmagnetische Resonanz *(nuclear magnetic resonance)*
NOESY	Kern-Overhauser-Effekt (*nuclear overhauser enhancement spectroscopy*)
NRPS	nichtribosomale Peptidsynthetasen
Nu	Nucleophil
Ts	*para*-Toluolsulfonyl (Tosyl)
p	*para*
PG	Schutzgruppe (*protecting group*)
Ph	Phenyl
Phg	Phenylglycin
PMB	*para*-Methoxybenzyl
ppm	*parts per million*
PPTS	Pyridinium-*para*-toluolsulfonat
Pro	Prolin

PWT	*paw withdrawal threshold*
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinphosphonium Hexafluorophosphat
Pyr	Pyridin
R	Rest
RCM	Ringschlussmetathese (*ring closing metathesis*)
R_f	R_f-Wert (*retention factor*)
RT	Raumtemperatur (23 °C)
q	Quartett
S	Singulett
SAR	Struktur-Wirkungs-Beziehungen (*structure activity relationship*)
Ser	Serin
S_N2	bimolekulare nucleophile Substitution
SNI	Nervenverletzungsmodell (*spared nerve injury*)
SPE	Festphasenextraktion (*solid phase extraction*)
SPPS	Festphasensynthese (*solid phase peptide synthesi*s)
SPS-CC	Zyklisierende Abspaltungen an fester Phase (*solid phase synthesis and cyclization cleavage*)
SRS	Selbstregeneration von Stereozentren
t	Triplett
t/*tert*	tertiär
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	*tert*-Butyldimethylsilyl
TCEP	Tris(carboxyethyl)-phosphin
TEA	Triethylamin
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethyl-piperidin-1-oxyl
TFA	Trifluoressigsäure
Tf	Trifluormethansulfonyl (Triflyl)
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyranyl
Thr	Threonin
TIPS	Triisopropylsilan

Trp	Tryptophan
Trt	Triphenylmethyl (Trityl)
UV	Ultraviolett
Val	Valin
X	Halogenid

7.2 Literaturverzeichnis

[1] http://www.seilnacht.com/Lexikon/Gifte.htm.
[2] http://www.wissenschaft-online.de/abo/lexikon/bio/4027.
[3] C. Gram, *Fortschritte der Medicin* **1884**, *2*, 185-189.
[4] R. W. Jack, G. Jung, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 310-317.
[5] N. Schnell, K. D. Entian, U. Schneider, F. Götz, H. Zähner, R. Kellner, G. Jung, *Nature* **1988**, *333*, 276-278.
[6] C. Chatterjee, M. Paul, L. L. Xie, W. A. van der Donk, *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2005**, *105*, 633-683.
[7] G. Jung, in *Nisin and Novel Lantibiotics* (Eds.: G. Jung, H. G. Sahl), ESCOM, Leiden, The Netherlands, **1991**, 1-34.
[8] U. Pag, H. G. Sahl, *Curr. Pharm. Des.* **2002**, *8*, 815-833.
[9] B. Li, J. P. J. Yu, J. S. Brunzelle, G. N. Moll, W. A. van der Donk, S. K. Nair, *Science* **2006**, *311*, 1464-1467.
[10] M. Upton, J. R. Tagg, P. Wescombe, H. F. Jenkinson, *J. Bacteriol.* **2001**, *183*, 3931-3938.
[11] P. S. Mead, L. Slutsker, L. F. McCaig, V. Dietz, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, R. V. Tauxe, *Emerging Infect. Dis.* **1999**, *5*, 607.
[12] J. C. Buzby, T. Roberts, *World Health Stat. Q.* **1997**, *50*, 57-66.
[13] S. Chatterjee, D. K. Chatterjee, R. H. Jani, J. Blumbach, B. N. Ganguli, N. Klesel, M. Limbert, G. Seibert, *J. Antibiot.* **1992**, *45*, 839-845.
[14] A. Fredenhagen, G. Fendrich, F. Marki, W. Marki, J. Gruner, F. Raschdorf, H. H. Peter, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 1403-1412.
[15] F. Marki, E. Hanni, A. Fredenhagen, J. Vanoostrum, *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *42*, 2027-2035.
[16] C. van Kraaij, W. M. de Vos, R. J. Siezen, O. P. Kuipers, *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 575-587.
[17] H. Grasemann, F. Stehling, H. Brunar, R. Widmann, T. W. Laliberte, L. Molina, G. Doring, F. Ratjen, *Chest* **2007**, *131*, 1461-1466.
[18] S. Kodani, M. E. Hudson, M. C. Durrant, M. J. Buttner, J. R. Nodwell, J. M. Willey, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, *101*, 11448-11453.
[19] M. J. Horn, D. B. Jones, S. J. Ringel, *J. Biol. Chem.* **1941**, *138*, 141.
[20] M. Paul, W. A. van der Donk, *Mini-Rev. Org. Chem.* **2005**, *2*, 23-37.
[21] C. Richaud, D. Mengin-Lecreulx, S. Pochet, E. J. Johnson, G. N. Cohen, P. Marliere, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 26827-26835.
[22] W. A. van der Donk, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9561-9571.
[23] Y. O. You, W. A. van der Donk, *Biochemistry* **2007**, *46*, 5991-6000.
[24] J. M. Probert, D. Rennex, M. Bradley, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1101-1104.
[25] S. Z. Luo, Y. M. Li, Z. Z. Chen, H. Abe, L. P. Cui, H. Nakanishi, X. R. Qin, Y. F. Zhao, *Lett. Pept. Sci.* **2003**, *10*, 57-62.
[26] R. Ramapanicker, R. Mishra, S. Chandrasekaran, *J. Pept. Sci.* **2010**, *16*, 123-125.
[27] K. Mattila, J. Siltainsuu, L. Balaspiri, M. Ora, H. Lonnberg, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3039-3044.
[28] A. Paquet, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5269-5272.
[29] M. D. Gieselman, L. L. Xie, W. A. van der Donk, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1331-1334.
[30] N. M. Okeley, Y. T. Zhu, W. A. van der Donk, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3603-3606.

[31] H. Zhou, W. A. van der Donk, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1335-1338.
[32] Y. T. Zhu, M. D. Gieselman, H. Zhou, O. Averin, W. A. van der Donk, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3304-3315.
[33] V. R. Pattabiraman, S. M. K. McKinnie, J. C. Vederas, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 9472-9475.
[34] R. R. S. Xiangming Zhu, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4069-4072.
[35] N. I. Martin, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 946-949.
[36] T. Seyberth, S. Voss, R. Brock, K. H. Wiesmüller, G. Jung, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1754-1765.
[37] M. F. M. Mustapa, R. Harris, J. Mould, N. A. L. Chubb, D. Schultz, P. C. Driscoll, A. B. Tabor, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8359-8362.
[38] S. Bregant, A. B. Tabor, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2430-2438.
[39] Y. Hata, M. Watanabe, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 3881-3888.
[40] C. Dugave, A. Menez, *Tetrahedron-Asymmetry* **1997**, *8*, 1453-1465.
[41] R. S. Narayan, M. S. VanNieuwenhze, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2655-2658.
[42] H. T. Li, X. H. Jiang, M. Goodman, *J. Pept. Sci.* **2001**, *7*, 82-91.
[43] S. V. Pansare, G. Huyer, L. D. Arnold, J. C. Vederas, *Org. Syn.* **1991**, *70*, 1-26.
[44] H. Shao, S. H. H. Wang, C. W. Lee, G. Osapay, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2956-2957.
[45] N. D. Smith, M. Goodman, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1035-1037.
[46] S. Ranganathan, P. Venkateshwarlu, S. M. Babu, N. S. Reddy, S. J. Basha, A. V. S. Sarma, D. Vijay, G. N. Sastry, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 3923-3929.
[47] V. Swali, M. Matteucci, R. Elliot, M. Bradley, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9101-9109.
[48] T. Wakamiya, K. Shimbo, A. Sano, K. Fukase, T. Shiba, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1983**, *56*, 2044-2049.
[49] M. F. M. Mustapa, R. Harris, N. Bulic-Subanovic, S. L. Elliott, S. Bregant, M. F. A. Groussier, J. Mould, D. Schultz, N. A. L. Chubb, P. R. J. Gaffney, P. C. Driscoll, A. B. Tabor, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8185-8192.
[50] R. E. Melenedz, W. D. Lubell, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 2581-2616.
[51] A. Avenoza, J. H. Busto, G. Jimenez-Oses, J. M. Peregrina, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1692-1695.
[52] A. Avenoza, J. H. Busto, G. Jimenez-Oses, J. M. Peregrina, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2855-2858.
[53] S. L. Cobb, J. C. Vederas, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1031-1038.
[54] W. M. Müller, T. Schmiederer, P. Ensle, R. D. Süssmuth, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 2436-2440.
[55] L. A. Rogers, E. O. Whittier, *J. Bacteriol.* **1928**, *16*, 211–229.
[56] L. A. Rogers, *J. Bacteriol.* **1928**, *16*, 321–325.
[57] A. Fleming, *Br. J. Exp. Path.* **1929**, *10*, 226-236.
[58] E. Gross, J. L. Morell, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 4634-4635.
[59] A. T. R. Mattick, A. Hirsch, *Lancet* **1947**, *253*, 5-8.
[60] N. J. Berridge, G. G. F. Newton, E. P. Abraham, *Biochem. J.* **1952**, *52*, 529-535.
[61] J. DelvesBroughton, P. Blackburn, R. J. Evans, J. Hugenholtz, *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology* **1996**, *69*, 193-202.
[62] M. K. Rayman, B. Aris, A. Hurst, *Appl. Environ. Microbiol.* **1981**, *41*, 375-380.

[63] E. Breukink, I. Wiedemann, C. van Kraaij, O. P. Kuipers, H. G. Sahl, B. de Kruijff, *Science* **1999**, *286*, 2361-2364.
[64] E. Breukink, B. de Kruijff, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2006**, *5*, 321-332.
[65] S. Walker, L. Chen, Y. N. Hu, Y. Rew, D. W. Shin, D. L. Boger, *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2005**, *105*, 449-475.
[66] H. E. Hasper, B. de Kruijff, E. Breukink, *Biochemistry* **2004**, *43*, 11567-11575.
[67] K. Fukase, M. Kitazawa, A. Sano, K. Shimbo, S. Horimoto, H. Fujita, A. Kubo, T. Wakamiya, T. Shiba, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, *65*, 2227-2240.
[68] I. Photaki, S. Caranikas, I. Samouilidis, L. Zervas, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1980**, 1965-1970.
[69] T. Zendo, M. Fukao, K. Ueda, T. Higuchi, J. Nakayama, K. Sonomoto, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2003**, *67*, 1616-1619.
[70] J. C. Piard, P. M. Muriana, M. J. Desmazeaud, T. R. Klaenhammer, *Appl. Environ. Microbiol.* **1992**, *58*, 279-284.
[71] J. C. Piard, O. P. Kuipers, H. S. Rollema, M. J. Desmazeaud, W. M. Devos, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 16361-16368.
[72] J. Novak, P. W. Caufield, E. J. Miller, *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 4316-4320.
[73] C. I. Mortvedt, J. Nissenmeyer, K. Sletten, I. F. Nes, *Appl. Environ. Microbiol.* **1991**, *57*, 1829-1834.
[74] W. L. Hynes, J. J. Ferretti, J. R. Tagg, *Appl. Environ. Microbiol.* **1993**, *59*, 1969-1971.
[75] K. F. Ross, C. W. Ronson, J. R. Tagg, *Appl. Environ. Microbiol.* **1993**, *59*, 2014-2021.
[76] D. Pridmore, N. Rekhif, A. C. Pittet, B. Suri, B. Mollet, *Appl. Environ. Microbiol.* **1996**, *62*, 1799-1802.
[77] B. Gonzalez, P. Arca, B. Mayo, J. E. Suarez, *Appl. Environ. Microbiol.* **1994**, *60*, 2158-2163.
[78] M. L. Kalmokoff, D. Lu, M. F. Whitford, R. M. Teather, *Appl. Environ. Microbiol.* **1999**, *65*, 2128-2135.
[79] S. H. Paik, A. Chakicherla, J. N. Hansen, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 23134-23142.
[80] K. Komiyama, K. Otoguro, T. Segawa, K. Shiomi, H. Yang, Y. Takahashi, M. Hayashi, T. Otani, S. Omura, *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 1666-1671.
[81] N. I. Martin, T. Sprules, M. R. Carpenter, P. D. Cotter, C. Hill, R. P. Ross, J. C. Vederas, *Biochemistry* **2004**, *43*, 3049-3056.
[82] M. Galvin, C. Hill, R. P. Ross, *Letters in Applied Microbiology* **1999**, *28*, 355-358.
[83] I. Wiedemann, T. Bottiger, R. R. Bonelli, A. Wiese, S. O. Hagge, T. Gutsmann, U. Seydel, L. Deegan, C. Hill, P. Ross, H. G. Sahl, *Mol. Microbiol.* **2006**, *61*, 285-296.
[84] H. E. Hasper, N. E. Kramer, J. L. Smith, J. D. Hillman, C. Zachariah, O. P. Kuipers, B. de Kruijff, E. Breukink, *Science* **2006**, *313*, 1636-1637.
[85] V. R. Pattabiraman, J. L. Stymiest, D. J. Derksen, N. I. Martin, J. C. Vederas, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 699-702.
[86] H. Liu, V. R. Pattabiraman, J. C. Vederas, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5574-5577.
[87] G. Seibert, L. Vertesy, J. Wink, I. Winkler, R. D. Süssmuth, G. M. Sheldrick, K. Meindl, M. Brönstrup, H. Hoffmann, H. Gühring, L. Toti, **2008**, *WO 2008/040469 A1*.
[88] J. Wink, R. M. Kroppenstedt, G. Seibert, E. Stackebrandt, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2003**, *53*, 721-724.

[89] K. Meindl, T. Schmiederer, K. Schneider, A. Reicke, D. Butz, S. Keller, H. Gühring, L. Vertesy, J. Wink, H. Hoffmann, M. Brönstrup, G. M. Sheldrick, R. D. Süssmuth, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 1151-1154.
[90] L. Ingram, *Biochim. Biophys. Acta* **1970**, *224*, 263-265.
[91] L. C. Ingram, *Biochim. Biophys. Acta* **1969**, *184*, 216-219.
[92] S. Banerjee, J. N. Hansen, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 9508-9514.
[93] L. L. Xie, L. M. Miller, C. Chatterjee, O. Averin, N. L. Kelleher, W. A. van der Donk, *Science* **2004**, *303*, 679-681.
[94] C. Chatterjee, L. M. Miller, Y. L. Leung, L. L. Xie, M. S. Yi, N. L. Kelleher, W. A. van der Donk, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15332-15333.
[95] S. P. Park, B. M. Kim, J. Y. Koo, H. Cho, C. H. Lee, M. Kim, H. S. Na, U. Oh, *Pain* **2008**, *137*, 208-217.
[96] R. J. Lewis, M. L. Garcia, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, *2*, 790-802.
[97] B. M. Olivera, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 31173-31177.
[98] K. Garber, *Nat. Biotechnol.* **2005**, *23*, 399-399.
[99] S. Feiertag, *Eberhard-Karls-Universität Tübingen* **1996**, Dissertation.
[100] D. F. Veber, R. M. Freidinger, D. S. Perlow, W. J. Paleveda, F. W. Holly, R. G. Strachan, R. F. Nutt, B. H. Arison, C. Homnick, W. C. Randall, M. S. Glitzer, R. Saperstein, R. Hirschmann, *Nature* **1981**, *292*, 55-58.
[101] W. C. Chan, P. D. White, *Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis - A Practical Approach*, Oxford University Press, Leeds, UK, **2000**.
[102] T. Messeri, D. D. Sternbach, N. C. O. Tomkinson, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1669-1672.
[103] T. Messeri, D. D. Sternbach, N. C. O. Tomkinson, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1673-1676.
[104] K. Sasaki, D. Crich, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3254-3257.
[105] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemie, 5. Auflage*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Deutschland, **2003**.
[106] J. M. H. Staudinger, *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635-646.
[107] M. Kohn, R. Breinbauer, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 3106-3116.
[108] B. L. Nilsson, L. L. Kiessling, R. T. Raines, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1939-1941.
[109] B. L. Nilsson, L. L. Kiessling, R. T. Raines, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 9-12.
[110] M. B. Soellner, B. L. Nilsson, R. T. Raines, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4993-4996.
[111] B. L. Nilsson, R. J. Hondal, M. B. Soellner, R. T. Raines, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5268-5269.
[112] O. David, W. J. N. Meester, H. Bieraugel, H. E. Schoemaker, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 4373-4375.
[113] J. T. Lundquist, J. C. Pelletier, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 781-783.
[114] N. Nishino, M. Xu, H. Mihara, T. Fujimoto, M. Ohba, Y. Ueno, H. Kumagai, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 180-181.
[115] W. F. DeGrado, E. T. Kaiser, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1295-1300.
[116] G. Osapay, A. Profit, J. W. Taylor, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 6121-6124.
[117] A. Zehnacker, M. A. Suhm, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 6970-6992.
[118] F. Urech, *Liebigs Ann. Chem.* **1872**, *164*, 255-279.
[119] J. Engelberth, T. Koch, F. Kuhnemann, W. Boland, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 1860-1862.
[120] C. Toniolo, G. M. Bonora, A. Bavoso, E. Benedetti, B. Diblasio, V. Pavone, C. Pedone, *Biopolymers* **1983**, *22*, 205-215.
[121] H. Schmitt, *Eberhard-Karls-Universität Tübingen* **1983**, Dissertation.

[122] C. E. Meyer, F. Reusser, *Experientia* **1967**, *23*, 85.
[123] R. O. Fox, F. M. Richards, *Nature* **1982**, *300*, 325-330.
[124] D. Maisch, *Universität Karlsruhe* **2004**, Diplomarbeit.
[125] S. J. O'Connor, Z. Liu, *Synlett* **2003**, 2135-2138.
[126] H. R. Almond, D. T. Manning, C. Niemann, *Biochemistry* **1962**, *1*, 243-249.
[127] D. Schirlin, F. Gerhart, J. M. Hornsperger, M. Hamon, J. Wagner, M. J. Jung, *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 30-36.
[128] D. M. Kiick, P. F. Cook, *Biochemistry* **1983**, *22*, 375-382.
[129] E. H. Flynn, J. W. Hinman, E. L. Caron, D. O. Woolf, *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 5867-5871.
[130] S. Hanessian, T. H. Haskell, *Tetrahedron Lett.* **1964**, 2451-2460.
[131] L. Banfi, M. G. Beretta, L. Colombo, C. Gennari, C. Scolastico, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1983**, 1613-1619.
[132] C. Toniolo, M. Crisma, F. Formaggio, G. Valle, G. Cavicchioni, G. Precigoux, A. Aubry, J. Kamphuis, *Biopolymers* **1993**, *33*, 1061-1072.
[133] C. Najera, J. M. Sansano, *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2007**, *107*, 4584-4671.
[134] C. Cativiela, M. D. Diaz-de-Villegas, *Tetrahedron-Asymmetry* **1998**, *9*, 3517-3599.
[135] C. Cativiela, M. D. Diaz-de-Villegas, *Tetrahedron-Asymmetry* **2000**, *11*, 645-732.
[136] H. Vogt, S. Bräse, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 406-430.
[137] D. Seebach, M. Boes, R. Naef, W. B. Schweizer, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5390-5398.
[138] M. Neveux, B. Seiller, F. Hagedorn, C. Bruneau, P. H. Dixneuf, *J. Organomet. Chem.* **1993**, *451*, 133-138.
[139] F. Gorla, L. M. Venanzi, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 690-697.
[140] D. Seebach, T. L. Sommerfeld, Q. Z. Jiang, L. M. Venanzi, *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 1313-1330.
[141] R. Naef, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 135-143.
[142] A. R. Sting, D. Seebach, *Encyclopedia of Reagents of Organic Synthesis* **1995**, *1*, 308-309.
[143] A. R. Sting, D. Seebach, *Encyclopedia of Reagents of Organic Synthesis* **1995**, *2*, 931-933.
[144] T. Oguri, N. Kawai, T. Shioiri, S. Yamada, *Chem. Pharm. Bull.* **1978**, *26*, 803-808.
[145] D. A. Evans, A. E. Weber, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6757-6761.
[146] A. Solladiecavallo, M. C. Simonwermeister, J. Schwarz, *Organometallics* **1993**, *12*, 3743-3747.
[147] H. E. Zimmerman, M. D. Traxler, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 1920-1923.
[148] L. M. Jackman, B. C. Lange, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 4494-4499.
[149] J. Wehbe, V. Rolland, A. Fruchier, M. L. Roumestant, J. Martinez, *Tetrahedron-Asymmetry* **2004**, *15*, 851-858.
[150] U. Schöllkopf, W. Hartwig, U. Groth, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1979**, *18*, 863-864.
[151] S. Vassiliou, P. A. Magriotis, *Tetrahedron-Asymmetry* **2006**, *17*, 1754-1757.
[152] D. T. Witiak, R. V. Nair, F. A. Schmid, *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1228-1234.
[153] E. Lewandowska, K. Wichlacz, A. J. Sobczak, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 152-156.
[154] D. Seebach, J. D. Aebi, M. Gandercoquoz, R. Naef, *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1194-1216.

[155] D. Seebach, A. Fadel, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 1243-1250.
[156] T. P. Loh, Y. K. Chok, Z. Yin, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7893-7897.
[157] V. Alezra, M. Bonin, A. Chiaroni, L. Micouin, C. Riche, H. P. Husson, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1737-1740.
[158] G. Jimenez-Oses, C. Aydillo, J. H. Busto, M. M. Zurbano, J. M. Peregrina, A. Avenoza, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5399-5402.
[159] http://www.chemgapedia.de/vsengine/topics/de/vlu/Chemie/index.html.
[160] K. C. Nicolaou, C. N. C. Boddy, H. Li, A. E. Koumbis, R. Hughes, S. Natarajan, N. F. Jain, J. M. Ramanjulu, S. Bräse, M. E. Solomon, *Chem.--Eur. J.* **1999**, *5*, 2602-2621.
[161] K. C. Nicolaou, A. E. Koumbis, M. Takayanagi, S. Natarajan, N. F. Jain, T. Bando, H. Li, R. Hughes, *Chem.--Eur. J.* **1999**, *5*, 2622-2647.
[162] K. C. Nicolaou, H. Li, C. N. C. Boddy, J. M. Ramanjulu, T. Y. Yue, S. Natarajan, X. J. Chu, S. Bräse, F. Rubsam, *Chem.--Eur. J.* **1999**, *5*, 2584-2601.
[163] K. C. Nicolaou, H. J. Mitchell, N. F. Jain, T. Bando, R. Hughes, N. Winssinger, S. Natarajan, A. E. Koumbis, *Chem.--Eur. J.* **1999**, *5*, 2648-2667.
[164] A. P. Kozikowski, D. Steensma, G. L. Araldi, W. Tuckmantel, S. M. Wang, S. Pshenichkin, E. Surina, J. T. Wroblewski, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1641-1650.
[165] H. Becker, M. A. Soler, K. B. Sharpless, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 1345-1376.
[166] M. Iwashima, T. Kinsho, A. B. Smith, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2199-2202.
[167] K. C. K. Swamy, N. N. B. Kumar, E. Balaraman, K. Kumar, *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2009**, *109*, 2551-2651.
[168] M. Henkel, *Technische Universität Berlin* **2011**, Dissertation.
[169] J. Kretz, *Technische Universität Berlin* **2010**, Diplomarbeit.
[170] T. Akiyama, H. Shima, S. Ozaki, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 5593-5596.
[171] E. Marcantoni, M. Massaccesi, E. Torregiani, G. Bartoli, M. Bosco, L. Sambri, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4430-4432.
[172] B. Faroux-Corlay, L. Clary, C. Gadras, D. Hammache, J. Greiner, C. Santaella, A. M. Aubertin, P. Vierling, J. Fantini, *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 223-260.
[173] K. C. Nicolaou, B. S. Safina, M. Zak, A. A. Estrada, S. H. Lee, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 5087-5092.
[174] Y. Rew, S. Malkmus, C. Svensson, T. L. Yaksh, N. N. Chung, P. W. Schiller, J. A. Cassel, R. N. DeHaven, J. P. Taulane, M. Goodman, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5414-5414.
[175] L. I. Krimen, *Org. Synth.* **1988**, *50-9*, 8-9.