



BAYRISCHE
JULIUS MAXIMILIANS UNIVERSITÄT
WÜRZBURG
FAKULTÄT FÜR CHEMIE UND PHARMAZIE

OKTAPEPTIDE ALS NEUE ORGANOKATALYSATOREN ZUR HYDROLYSE VON PHOSPHATEN UND ESTERN

DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES
NATURWISSENSCHAFTLICHEN DOKTORGRADES
DER JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG

Vorgelegt von
Diplom-Chemiker
Jürgen Dudaczek
aus Marburg / Michelbach

Würzburg 2009

Eingereicht am: _____

bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie

1. Gutachter: _____

2. Gutachter: _____

der Dissertation

1. Prüfer: _____

2. Prüfer: _____

3. Prüfer: _____

des öffentlichen Promotionskolloquiums

Tag des öffentlichen Promotionskolloquiums: _____

Doktorurkunde ausgehändigt am: _____

Nur ein mittelmäßiger Mensch ist immer in Hochform
(William Somerset Maugham)

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Prof. Dr. Carsten Schmuck von August 2003 bis Januar 2009 am Institut für Organische Chemie der Universität Würzburg angefertigt.

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurde bereits an nachfolgenden Stellen veröffentlicht:

C. Schmuck, J. Dudaczek: "New guanidinium based carboxylate receptors derived from 5-amino-pyrrole-2-carboxylate: synthesis and first binding studies", *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7101-7105.

C. Schmuck, J. Dudaczek: "Ion pairing between the chain ends induces folding of a flexible zwitterion in methanol", *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3326-3330.

C. Schmuck, J. Dudaczek: "Screening of a combinatorial library reveals peptide-based catalysts for phosphorester cleavage in water." *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5389-5392.

C. Schmuck, V. Bickert, M. Merschky, L. Geiger, D. Rupprecht, J. Dudaczek, P. Wich, T. Rehm, U. Machon: "A facile and efficient multi-gram synthesis of N-protected guanidinocarbonyl pyrrole carboxylic acids.", *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 324-329.

DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich bei Prof. Dr. Carsten Schmuck für das sehr interessante Thema im Bereich der Organokatalyse bedanken. Sehr zu Dank bin ich ihm verpflichtet wegen den stets hilfreichen, fachlichen und interessanten Gesprächen rund um die Arbeit und auch außerhalb der Arbeit. Die lockere Atmosphäre bei den Gesprächen und im Alltag hat zu dem Gelingen dieser Arbeit viel beigetragen.

Mein Dank gilt auch den Wissenschaftlern in der Analytik: Herrn Dr. M. Grüne, Frau E. Ruckdeschel und Herrn Dr. R. Bertermann für die Durchführung von NMR-Messungen sowie Herrn Dr. M. Büchner und Herrn F. Dadrich für die Aufnahmen von Massen-Spektren. Ebenfalls bedanke ich mich bei der Verwaltung und der Werkstatt des Instituts, besonders bei Herrn M. Braun und Herrn B. Brunner für die prompte, kompetente Abhilfe bei diversen Problemen.

Besonders danken möchte ich dem gesamten Arbeitskreis Schmuck für das gute Arbeitsklima rund um die Arbeit aber auch außerhalb der Arbeit. Dabei will ich jedoch einige hervorheben, die mir in dieser Zeit, vor allem durch ihre freundliche Art und Weise, sehr ans Herz gewachsen sind. Dies sind vorne weg Volker Bickert und Nicholas Walden, die mich seit dem ersten Semester des Chemiestudiums begleitet haben und immer für ein Späßchen bereit waren. Außerdem meine Laborkollegen Uwe Machon, Daniel Rupprecht, Martin Heil und Michael Schwegmann und mein Meßraumkollege Michael Merschky.

Auch möchte ich meinen Studienkollegen und Leidensgenossen Martin König und Stefan Dümmler danke, dass sie mich auf diesem Weg begleitet haben.

Für das sicherlich anstrengende Korrekturlesen meiner Doktorarbeit und die guten Ideen danke ich sehr Karsten Klemm der diese Aufgabe mit Bravur gemeistert hat.

Zu guter letzt, danke ich meinen Eltern und meinem Bruder Gerhard und vor allem meiner Familie, Stefanie und Sarah. Durch die Unterstützung meiner besseren Hälfte habe ich immer wieder die Kraft gefunden mit vollem Einsatz bei der Sache zu sein. In dem sie mir den Rücken frei gehalten hat, konnte ich mich voll meiner Arbeit und meiner Tochter widmen. Ohne sie wäre mein Leben recht farblos.

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
2	GRUNDLAGEN UND AUFGABENSTELLUNG.....	3
2.1	Organokatalyse.....	3
2.1.1	<i>Stand der Forschung: allgemeine Katalysatoren.....</i>	<i>3</i>
2.1.2	<i>Stand der Forschung: Oligopeptide als Organokatalysatoren.....</i>	<i>7</i>
2.1.3	<i>Phosphatasen und Esterasen.....</i>	<i>14</i>
2.2	Aufgabenstellung.....	19
3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	27
3.1	Modellsystem.....	28
3.1.1	<i>Synthese der Aminopyrrole.....</i>	<i>28</i>
3.1.2	<i>Synthese der Butylschleifen als Modellsysteme für die Schleifenbildung.....</i>	<i>34</i>
3.2	Oktapeptidbibliothek.....	42
3.2.1	<i>Synthese der C₁-Aminosäure.....</i>	<i>42</i>
3.2.2	<i>Synthese der Oktapeptidbibliothek.....</i>	<i>47</i>
3.3	Phosphatesterspaltung.....	52
3.3.1	<i>Screening.....</i>	<i>52</i>
3.3.2	<i>Katalyse in Lösung.....</i>	<i>58</i>
3.4	Esterspaltung.....	72
3.4.1	<i>Screening.....</i>	<i>72</i>
3.4.2	<i>Katalyse in Lösung.....</i>	<i>75</i>
4	AUSBLICK	87
5	ZUSAMMENFASSUNG	91
6	SUMMARY	99
7	EXPERIMENTELLER TEIL	107
7.1	Allgemeiner experimenteller Teil.....	107
7.2	Generelle analytische Methoden.....	108
7.3	Synthese der Aminopyrrole.....	110
7.3.1	<i>Synthese von 3-Ethyl-4-methyl-5-nitro-1H-pyrrol-2-carbonsäureethylester (126) [102].....</i>	<i>110</i>
7.3.2	<i>Synthese von Trichloracetylpyrrol (52) [130].....</i>	<i>111</i>
7.3.3	<i>Synthese von 5-Nitro-2-trichloracetylpyrrol (46) [107].....</i>	<i>112</i>
7.3.4	<i>Synthese von Methyl-5-nitro-1H-pyrrol-2-carboxylat (45) [107].....</i>	<i>113</i>
7.3.5	<i>Synthese von Methyl-2-amino-1H-pyrrol-5-carboxylat (44) [107].....</i>	<i>114</i>
7.3.6	<i>Synthese von Methyl-2-amido-1H-pyrrol-5-carboxylat (53) [101].....</i>	<i>114</i>
7.3.7	<i>Synthese von 2-acetamido-1H-pyrrol-5-carbonsäure (54) [101].....</i>	<i>116</i>
7.3.8	<i>Synthese von 2-Aminoacetyl-5-(Boc-guanidinio)-1H-carbonylpyrrol (56) [101].....</i>	<i>117</i>
7.3.9	<i>Synthese des 2-Aminoacetyl-1H-guanidiniocarbonylpyrrol (41) [101].....</i>	<i>118</i>
7.3.10	<i>Synthese von (S)-Methyl-2-acetylvalin-1H-pyrrol-5-carboxylat (58) [101].....</i>	<i>120</i>
7.3.11	<i>Synthese von (S)-2-Acetylvalin-1H-pyrrol-5-carbonsäure (59) [101].....</i>	<i>121</i>
7.3.12	<i>Synthese von (S)-2-Acetylvalin-5-(Boc-guanidinio)-1H-carbonylpyrrol (60) [101].....</i>	<i>122</i>

7.3.13	Synthese von (S)-2-Acetylvalin-1H-guanidiniocarbonylpyrrol (42) ^[101]	124
7.4	Synthese des C1-Arginin-Analogon	126
7.4.1	Synthese von N _α -Cbz-β-amino-L-alanin (74) ^[116]	126
7.4.2	Synthese von N _α -Cbz-β-amino-L-alaninmethylester hydrochlorid (75) ^[116]	127
7.4.3	Synthese von Cbz-geschütztem Methylester des Argininanalog (76) ^[116]	128
7.4.4	Synthese vom Methylester des Argininanalogon (78) ^[116]	129
7.4.5	Synthese des Fmoc-geschütztem Argininanalogon (C ₁) (72) ^[116]	129
7.4.6	Synthese des Cbz-geschützten Argininanalog (Z-C ₁) n = 1 (77)	131
7.5	Synthese der Schleifen	133
7.5.1	Synthese des mono-N-Boc-1,4-diaminobutan(mono-Boc-C ₄) (62) ^[108]	133
7.5.2	Synthese von mono-Boc-C ₄ -Val-Cbz (64) ^[108]	134
7.5.3	Synthese von Boc-Ala-C ₄ -Val-Cbz (66) ^[108]	135
7.5.4	Synthese von CBS-Ala-C ₄ -Val-Cbz (68) ^[108]	137
7.5.5	Synthese von CBS-Ala-C ₄ -Val-Pyrrol-Bn (70) ^[108]	138
7.5.6	Synthese vom Zwitterion CBS-Ala-C ₄ -Val-Pyrrol-OH (71) ^[108]	140
7.5.7	Synthese von Boc-Val-C ₄ -Val-Cbz (130)	142
7.5.8	Synthese von CBS-Val-C ₄ -Val-Cbz (131)	143
7.5.9	Synthese von Cbs-Val-C ₄ -Val-Pyrrol-Bn (132)	145
7.5.10	Synthese vom Zwitterion CBS-Val-C ₄ -Val-Pyrrol-OH (133)	147
7.5.11	Synthese von Boc-Val-Val-C ₄ -Val-Cbz (134)	148
7.5.12	Synthese von Boc-Val-Val-C ₄ -Val-Val-Cbz (135)	150
7.5.13	Synthese von CBS-Val-Val-C ₄ -Val-Val-Cbz (136)	152
7.5.14	Synthese von CBS-Val-Val-C ₄ -Val-Val-Pyrrol-Bn (137)	154
7.5.15	Synthese von Zwitterion CBS-Val-Val-C ₄ -Val-Val-Pyr-OH 138	156
7.6	Bibliothek	158
7.6.1	Synthese der 625 Mitglieder umfassenden Bibliothek (81)	158
7.6.2	Entschützung der 625 Mitglieder umfassenden Bibliothek (82)	161
7.7	Screening der Bibliothek	163
7.7.1	Screening zur Phosphatspaltung ^[1]	163
7.7.2	Screening zur Esterspaltung ^[131]	164
7.8	Allgemeine Reaktionsvorschriften für die Peptidsynthese ^[132, 133]	165
7.9	Synthese von Oktapeptiden für Katalysestudien in Lösung	168
7.10	Synthese eines Nitrophenolphosphatderivates als Substrat für die Katalyse	210
7.10.1	Synthese von Nitrophenylphosphat 94 ^[119]	210
8	ANHANG	213
8.1	Literaturverzeichnis	213
8.2	Abkürzungsverzeichnis	217

1 EINLEITUNG

In der Natur und in der Biotechnologie sind Enzyme wichtige Werkzeuge. Sie katalysieren entweder eine bestimmte oder eine ganze Klasse einer Reaktion, indem sie Substrate in ihrer Bindungstasche durch kovalente oder nicht kovalente Wechselwirkungen binden und diese Bindungstasche dann verändern. Enzyme kann man grob in drei Gruppen unterteilen, reine Protein-Enzyme, Holoenzyme und Metalloenzym, wobei die beiden letzten auch oft zusammengefasst werden. Sowohl die Holoenzyme als auch die Metalloenzyme sind aus einem Proteinteil und einem Cofaktor aufgebaut. Dieser Cofaktor kann im Falle der Holoenzyme zum Beispiel ein organisches Molekül und im Falle von Metalloenzyme ein Metallion sein. Die reinen Protein-Enzyme sind aufgebaut aus Aminosäuren. Ein wichtiger Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist, dass die Holoenzyme/Metalloenzyme den Cofaktor für das aktive Zentrum benötigen. Im Gegensatz dazu verwenden die Protein-Enzyme nur die bereits vorhandenen Aminosäurereste für die Umsetzung der Substrate. Etwa die Hälfte der Enzyme, die in der Natur vorkommen, sind Organokatalysatoren, also Enzyme die keine Metallionen benötigen.^[1]

Trotz dieser Erkenntnis ging lange Zeit die Forschung im Bereich der Katalyse vor allem in Richtung der Metallkatalyse. Auch als in den 70er Jahren die ersten Publikationen erschienen, in denen kleine organische Verbindungen als Katalysatoren dienten, wurde das Interesse der Industrie und der Forschungsgemeinschaft nicht geweckt.^[2-4] Ein Grund hierfür können neben den bis dahin eingeschränkten Möglichkeiten auch die teilweise erfolglosen Versuche sein, die Enzyme der Natur nachzuahmen. So ist erst in den letzten zehn Jahren der alte Begriff „organische Katalyse“^[5] von McMillan neu eingebracht und das Forschungsgebiet, das sich mit organischen Verbindungen als Katalysatoren beschäftigt als „Organokatalyse“ bezeichnet.^[6] Zahlreiche Arbeiten von *MacMillan*, *List*, *Miller* und *Barbas III* konnten zeigen, dass Organokatalysatoren ein viel größeres Reaktionsspektrum abdecken können als bis dato bekannt war.^[7-15] Seit dieser Zeit befinden wir uns, wenn man *Dalko* glauben mag im „Goldenen Zeitalter der Organokatalyse“.^[16]

Der Vorteil von Organokatalysatoren ist, dass man sie in Anwesenheit von Sauerstoff und Wasser verwenden kann. Durch das Fehlen der Metalle erhält man als große Vorteile unter anderem die Verringerung der Toxizität, der Verschmutzung und nicht zu vergessen der Kosten.^[17] Organokatalysatoren sind auch häufig wesentlich stabiler als Enzyme oder andere metallorganische Katalysatoren. Sie können auch sehr viel leichter an einer festen Phase

angebracht werden und neben der einfacheren Regeneration des Katalysators können sie so besser für das Hochdurchsatzscreening und für industrielle Prozesse verwendet werden.

Neben einfachen Aminosäuren wie zum Beispiel Prolin und anderen organischen Molekülen wie Oxazaborolidin sind einige Arbeitsgruppen sehr an Oligopeptiden interessiert, die entweder in kleinem Maßstab versuchen das aktive Zentrum nachzuahmen oder durch den Einsatz von künstlichen Aminosäuren andere Reaktionswege gehen können.

Um Organokatalyse zu betreiben, müssen die Katalysatoren fähig sein, eine Bindungstasche auszubilden, in der dann das Substrat komplexiert wird. Dadurch wird eine Preorientierung von wichtigen Gruppen, wie Hydroxide und Amine, erreicht, die dann für die Katalyse in der richtigen Position vorliegen. Für die Komplexierung sind supramolekulare Wechselwirkungen notwendig. Da aber biologisch relevante Systeme vor allem in den wässrigen Medien ihre Katalyse ablaufen lassen, ist das Problem, dass Wasserstoffbrückenbindungen alleine oftmals zu schwach sind, um eine starke Erkennung zu gewährleisten. So kann man bei dem Synthetisieren von Organokatalysatoren auf nichtkovalente Bindungen wie Salzbrücken und hydrophobe Effekte oder viele gerichtete Wasserstoffbrückenbindungen bei der Substraterkennung zurückgreifen. Auch eine Kombination mehrere dieser Effekte führt zu den gewünschten Erfolgen.

Ein großer Vorteil für das Finden eines Organokatalysators ist das Verwenden der kombinatorischen Chemie. Dadurch ist es in sehr kurzer Zeit möglich, eine große Anzahl an strukturell ähnlichen Verbindungen zu synthetisieren und diese auf mögliche Katalyseeigenschaften hin zu untersuchen. So kann man durch ein Screening der Bibliothek einen sehr guten Überblick über die Katalysefähigkeit einer jeden einzelnen Verbindung bekommen und diese dann gezielt in Lösung untersuchen und verbessern.^[18-20]

Das Ziel dieser Arbeit ist es, mit Hilfe der kombinatorischen Chemie eine Peptidbibliothek zu synthetisieren, die als Organokatalysatoren unterschiedliche Reaktionen katalysieren können. Dafür soll die Bibliothek für unterschiedliche Reaktionen, wie Phosphat- oder Esterspaltungen, zunächst untersucht werden und dann einzelne, potente Mitglieder der Bibliothek in Lösung zu untersuchen. Ein ebenfalls großes Ziel dieser Arbeit ist es, die Reaktionen in neutralem wässrigem Medium durchzuführen.

2 GRUNDLAGEN UND AUFGABENSTELLUNG

2.1 Organokatalyse

Im Folgenden sollen einige Vertreter von Organokatalysatoren beschrieben werden. Dabei sind die folgenden beiden Punkte unterteilt in allgemeine Organokatalysatoren und Oligopeptidkatalysatoren. Der letzte Punkt widmet sich anschließend noch den in der Natur vorkommenden Esterasen und Phosphatasen, da diese eine wichtige Klasse von Enzymen darstellen.

2.1.1 *Stand der Forschung: allgemeine Katalysatoren*

Obwohl metallfreie Katalyse bereits seit einem Jahrhundert bekannt ist, wurde sie lange Zeit vernachlässigt.^[21, 22] Ende des letzten Jahrhunderts hat das Gebiet der Organokatalyse durch ein wachsendes Einsatzgebiet stark an Bedeutung gewonnen. Auch die großen strukturellen Möglichkeiten der Organokatalysatoren waren ein Grund für das immense Interesse der letzten Jahre. In der Vergangenheit gab es unzählige neue Katalysatoren und Anwendungsgebiete der Organokatalyse, die in einigen sehr guten Übersichtsartikeln zusammen gefasst wurden.^[8, 12, 16, 23-28]

Neben einigen frühen Beispielen unter anderem von *Justus von Liebig* und *Bredig* und *Fiske* Mitte des 19. und Anfang des 20. Jahrhunderts wurde die erste wirklich relevante Organokatalyse in der *Hajos-Parrish-Eder-Sauer-Wiechert-Reaktion* gezeigt.^[2, 3, 29, 30] Dabei wurde eine Robinson-Anellierung durch Prolin vermittelt. Prolin katalysiert die intramolekulare Reaktion und kann dabei zwischen den zwei enantiotopen Carbonylgruppen des Cyclohexanderivates **1** unterscheiden (Abb. 2.1). Die Reaktion verläuft über eine Enamin-Zwischenstufe, bei der eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem protonierten Stickstoffatom der Prolineinheit und einer Carbonylgruppe die Voraussetzung für die asymmetrische Induktion ist. Die Lage der Wasserstoffbrückenbindung ist entscheidend für die Differenzierung zwischen den diastereotopen Carbonylgruppen. Durch anschließende saure Aufarbeitung, wobei die Hydroxygruppe eliminiert wird, entsteht das Wieland-Miescher-Keton, welches ein sehr wichtiger Baustein bei der Darstellung von Steroidverbindungen wie Cortison oder Progesteron ist.

Reaktionen erreichte man durch den Einsatz des Organokatalysators gute bis sehr gute Ausbeuten mit sehr hohen ee-Werten.

Außer Prolin und dessen Derivaten und den Imidazolidinonderivaten gibt es auch die Cinchona-Alkaloide. Diese Katalysatorengruppe gehört zu einer Substanzklasse, die folgende wichtige Voraussetzungen für die asymmetrische Katalyse erfüllen. Sie sind leicht erhältlich, preiswert und fallen in Form von Diastereomeren an, die Zugriff auf enantiomerenreine Isomere erlauben. Durch den hohen sterischen Anspruch des vorliegenden Ringsystems (siehe Abb. 2.3) ist ein solches Molekül zur asymmetrischen Katalyse sehr gut geeignet. Die Cinchona-Alkaloide können eine Vielzahl von Reaktionen katalysieren und dabei neben sehr guten Ausbeuten auch hohe ee-Werte erreichen.^[38-52]

Ein Beispiel für Cinchona-Alkaloide als Katalysator wird in Abb. 2.3 gezeigt. *Deng et al.* haben mit Hilfe des Katalysators **12** eine Michael-Addition von α , β -ungesättigten Carbonylverbindungen wie Cyclohexenon (**10**) und Arylthiolen wie **9** durchgeführt. Mit einer Katalysatorkonzentration von nur 1 mol % erreichte man gute Ausbeuten von 91 % und einen ee-Wert von 53 %, der sich durch die Wahl des richtigen Arylthiols auf 77 % steigern ließ.^[53]

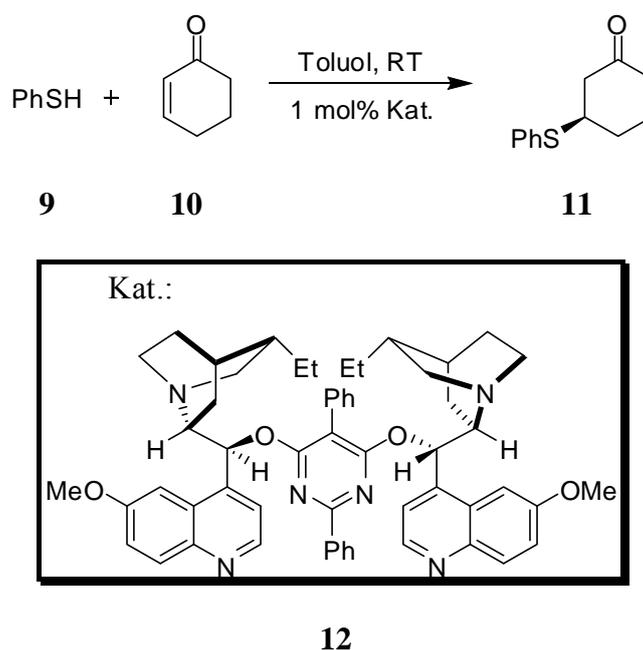


Abb. 2.3: Michael-Addition von Thiolen und α , β -ungesättigten Carbonylverbindungen in Gegenwart des Cinchona-Alkaloid **12** als Katalysator.^[53]

Eine letzte Katalysatorklasse die in diesem Abschnitt diskutiert werden soll, ist die Klasse der Harnstoff- und Thioharnstoff-Katalysatoren. Diese Verbindungen wurden ursprünglich als Liganden für Lewis-saure Metallzentren entworfen, und so kam es unerwartet, dass sie auch

ohne jeglichen Metallzusatz hohe Enantioselektivitäten lieferten. Harnstoffe und Thioharnstoffe, die Elektrophile durch Ausbildung von zwei Wasserstoffbrücken durch die NH-Protonen aktivieren, wurden als chirale Katalysatoren für eine Reihe von Synthesen genutzt und bilden derzeit die universellste Klasse auf der Basis von Wasserstoffbrückendonoren.^[54-63]

Ein Beispiel für den Einsatz solcher Thioharnstoff-Katalysatoren ist die Baylis-Hillman-Reaktion. Ausgehend von einem Vinylketon oder -ester, einem Aldehyd und einer Base konnte man α -Hydroxyvinylcarbonylverbindungen synthetisieren. Als Base werden normalerweise tertiäre aminhaltige Basen wie DABCO, DBU oder DMAP verwendet. Ein Beispiel für diese Reaktion wurde in der Gruppe von *Nagasawa* durchgeführt. Sie haben die Reaktion von Cyclohexancarbaldehyd (**13**) und Cyclohexenon (**10**) in Anwesenheit von DMAP als Base und dem Bisthioharnstoff **15** durchgeführt (siehe Abb. 2.4). Man vermutet, dass der Katalysator sowohl zum Aldehyd **13** als auch zum Enon **10** Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden kann und dadurch die Reaktion deutlich beschleunigt.

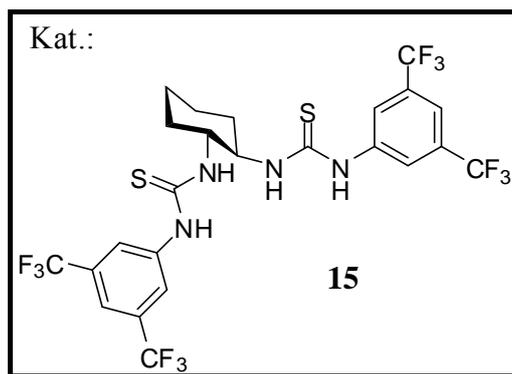
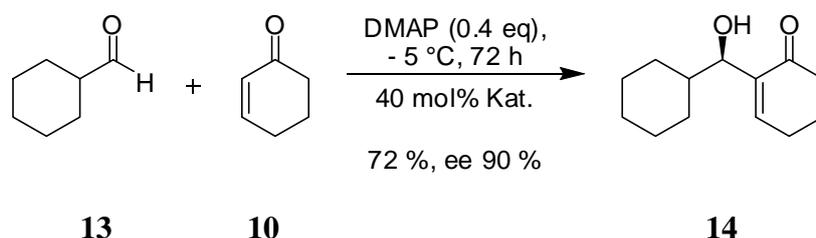


Abb. 2.4: Durch einen Bisthioharnstoff katalysierte asymmetrische Baylis-Hillman-Reaktion.^[60]

2.1.2 Stand der Forschung: Oligopeptide als Organokatalysatoren

Neben den oben erwähnten Katalysatoren haben auch Oligopeptide als Katalysatoren in den letzten Jahren stark an Bedeutung zugenommen. Der große Vorteil der Oligopeptide liegt darin, dass man ausgehend von den kommerziell erhältlichen Bausteinen, den geschützten Aminosäuren, durch eine Kupplung an eine Amidbindung vielfältige funktionalisierte Strukturen erhält. *Inoue* hat 1981 eine der ersten hoch enantioselektiven, oligopeptidkatalysierten Reaktionen gezeigt.^[64] Das Cyclo(*L*-phenylalanin-*L*-histidin) (18) katalysiert die Hydrocyanierung diverser Aldehyde wobei besonders hohe Enantiomerenüberschüsse mit elektronenreichen Benzaldehyden erzielt wurden (Abb. 2.5).

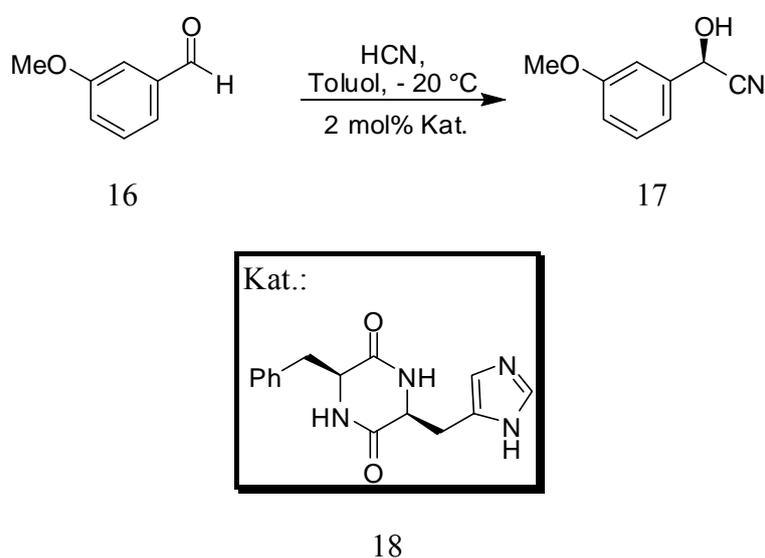


Abb. 2.5: Hydrocyanierung von Aldehyden mit Cyclo(*L*-phenylalanin-*L*-histidin) als Katalysator.^[64]

Der Mechanismus für diese Reaktion ist noch nicht endgültig bewiesen. Inzwischen geht man jedoch davon aus, dass es sich um eine Reaktion 2. Ordnung handelt und zwei Katalysatormoleküle 18 durch die Histidinreste die Reaktion katalysieren. Der eine Imidazolring aktiviert den Aldehyd, während der andere das Cyanidnucleophil aktiviert und sich dadurch die beiden Reaktionspartner nah genug für eine Reaktion befinden.^[65]

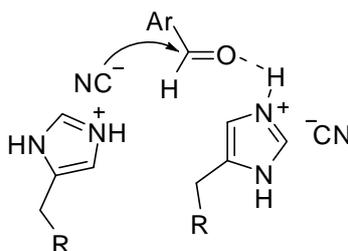
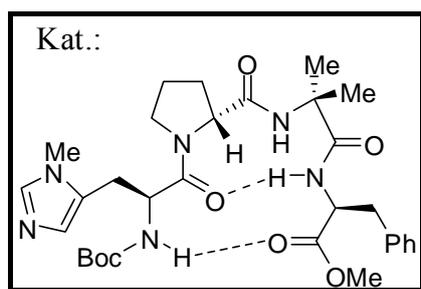
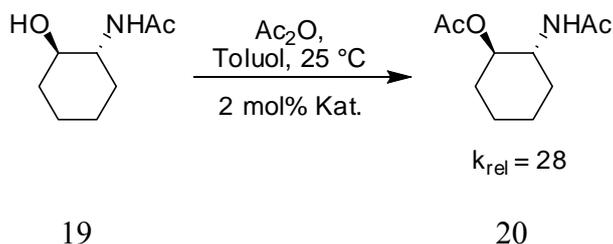


Abb. 2.6: Vermuteter Übergangszustand für Inoue's Hydrocyanierung von Aldehyden.^[65]

Ende der 90er Jahre konnte *Miller et al.* zeigen, dass kurze Oligopeptide mit *N*-alkylierten Histidinderivaten enantioselektiv Acylierungs- und Phosphorylierungsreaktionen katalysieren.^[66] Der Grundgedanke beim Aufbau der Oligopeptide war die Bildung einer Sekundärstruktur in Form eines β -Faltblattes durch die Einbringung des Dipeptides *D*-Pro-Aib, welches bereits aus der Literatur bekannt war, dass es einen β -Schleife ausbilden kann.^[66-69] Als Substrat wurde das Cyclohexanderivat 19 ausgesucht, da es mit dem Katalysator 21 Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden kann und dadurch der Übergangszustand in unpolarem Lösemittel besser stabilisiert ist (Abb. 2.7).^[70]



21

Abb. 2.7: Acylierung des Cyclohexanderivat 19 mit dem Tetrapeptid 21 als Organokatalysator von *Miller et al.*^[70]

Durch die β -Schleife und die Wasserstoffbrückenbindungen hat der Katalysator eine geringere Flexibilität, was eine Übertragung der Acylgruppe vereinfacht und eine höhere Enantioselektivität mit sich bringt. In Abb. 2.8 ist ein mechanistisches Modell gezeigt, wobei

rot das schneller reagierende und blau das langsamer reagierende Enantiomer darstellen soll.^[13] Man sieht sehr gut, dass die zusätzliche Wasserstoffbrückenbindung die Übertragung der Acylgruppe beschleunigt und dadurch nur ein Enantiomer bevorzugt reagieren kann.

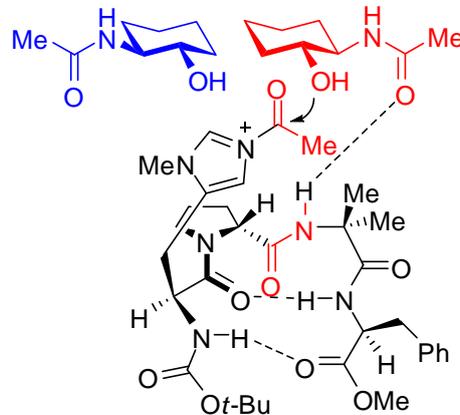


Abb. 2.8: Mechanistisches Modell der Acylierung von Cyclohexanderivat 19. In rot ist das schneller und in blau das langsamer reagierende Enantiomer dargestellt.^[13]

Miller hat ebenfalls eine kombinatorische Bibliothek von Oktapeptiden untersucht und dabei das Oktapeptid 22 gefunden, das die Acylierung von sekundären Alkoholen sogar noch stärker beschleunigt ($k_{rel} > 50$), obwohl es nicht das zentrale β -Schleifenelement *D*-Pro-Aib besitzt. Durch das Einbringen eines pH-empfindlichen Fluoreszenzsenors 23 direkt bei der Synthese der Peptide an das Harz, konnte eine „Sensor-on-the-bead“ Screeningmethode verwendet werden.^[71] Durch das Freisetzen von Essigsäure während der Reaktion änderte sich der pH-Wert lokal, wodurch der Fluoreszenzfarbstoff 23 protoniert wurde. Dadurch, dass nun das Amin protoniert vorlag, wurde der intramolekulare Quenchingeffekt aufgehoben, so dass eine Fluoreszenz beobachtet werden konnte.

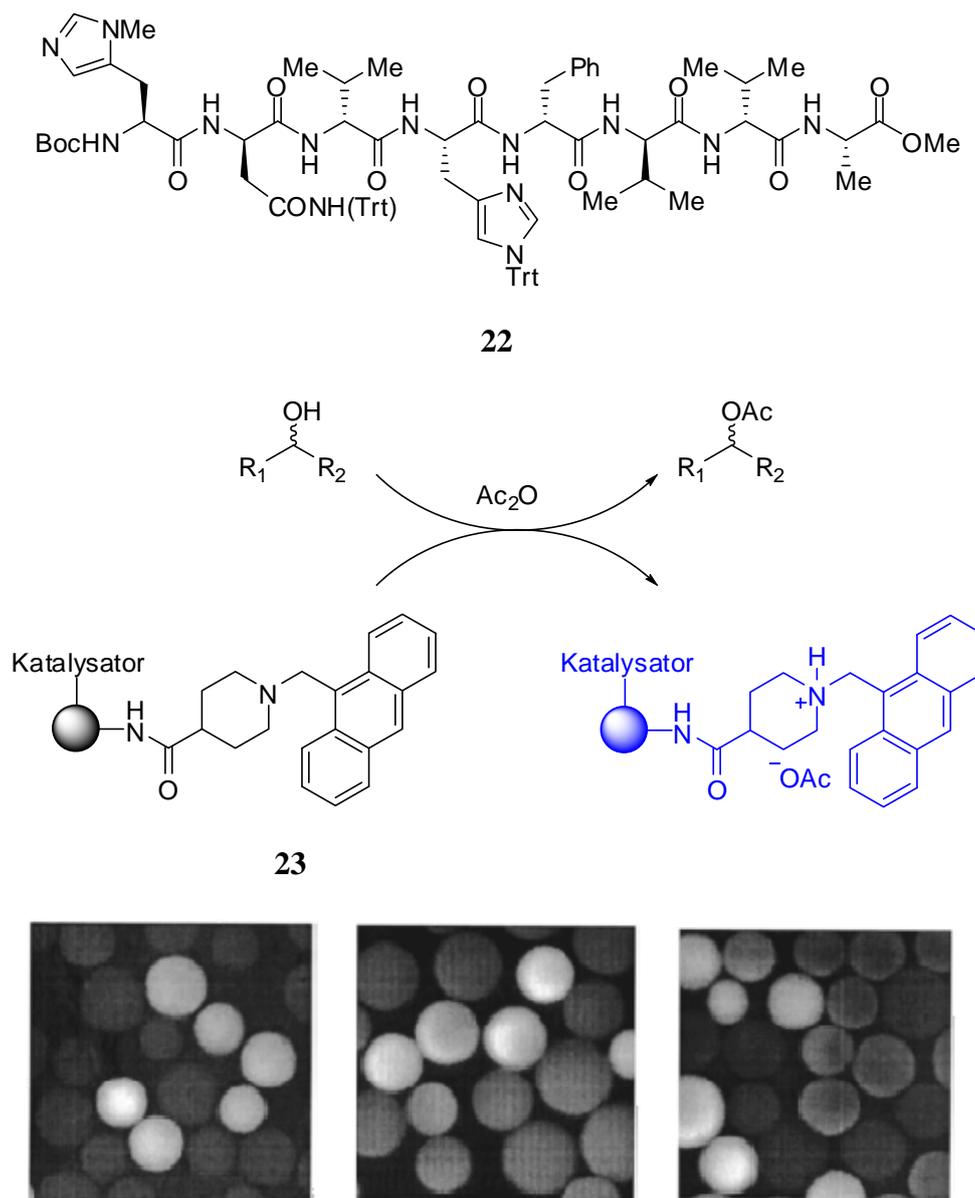


Abb. 2.9: Durch Fluoreszenzscreening (in der Mitte schematisch, unten Bilder von fluoreszierenden Harzkügelchen) ermitteltes Oktapeptid **22**.^[71] Reproduced with permission. Copyright 1999 American Chemical Society.

Miller *et al.* haben neben der asymmetrischen Acylierungsreaktion von sekundären Alkoholen auch asymmetrische Phosphorylierungsreaktionen, konjugierte Addition von Aziden an ein Michaelssystem und asymmetrische Morita-Baylis-Hillman-Reaktionen durchgeführt.^[66, 72-74] Im Schema in Abb. 2.10 sind weitere Reaktionen gezeigt sind, die durch die Oligopeptidkatalysatoren von Miller beschleunigt wurden.

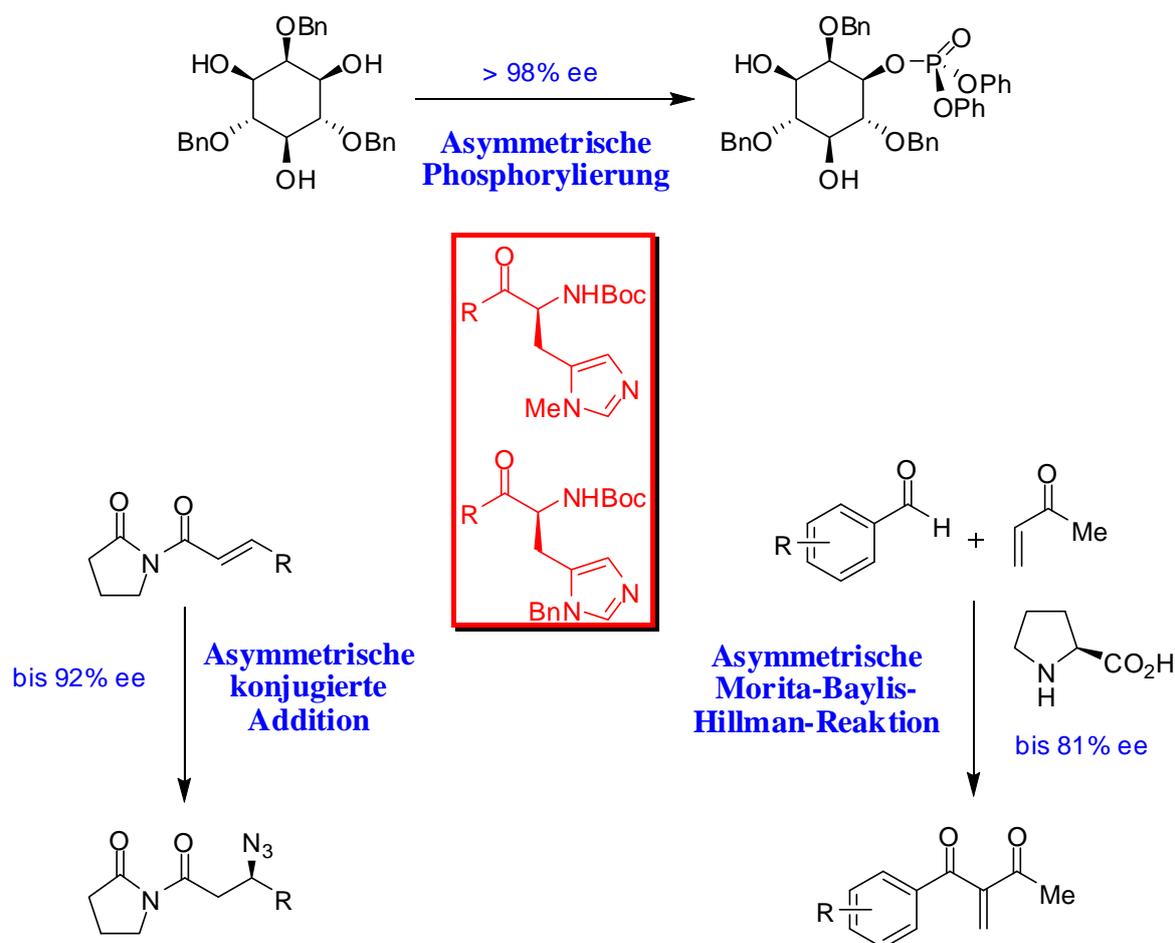


Abb. 2.10: Übersichtsschema für die von den Oligopeptidkatalysatoren von Miller katalysierten Reaktionen.

Zu den Anfängen der Organokatalysatoren gehört auch die von *Juliá* und *Colonna* 1983 entwickelte Juliá-Colonna Epoxidierung.^[4, 75] Bis dahin konnte man die Epoxidierung von Chalkon **24** zu linksdrehendem Epoxychalkon **25** ausschließlich über einen Phasentransferkatalysator erreichen, wobei man lediglich einen Enantiomerenüberschuß von 34 % erhielt. Durch den Einsatz von poly-*L*-Alanin **26** konnte eine Ausbeute von 85 % und eine ee-Wert von 93 % erhalten werden (Abb. 2.11). Die Reaktion läuft in einer dreiphasigen Mischung von organischem und wässrigem Medium und dem polymeren Katalysator, der zu einem Gel aufquillt, ab. Mechanistische Studien durch die Arbeitsgruppe von *Berkessel* haben gezeigt, dass bei der Reaktion die drei *N*-terminalen NH-Bindungen der Peptidhelix, die durch das poly-*L*-Alanin gebildet wird, essentiell für die Bindung und die Koordination des Hydroperoxid an die enantiotopen Seiten der Doppelbindung sind (Abb. 2.12).^[76]

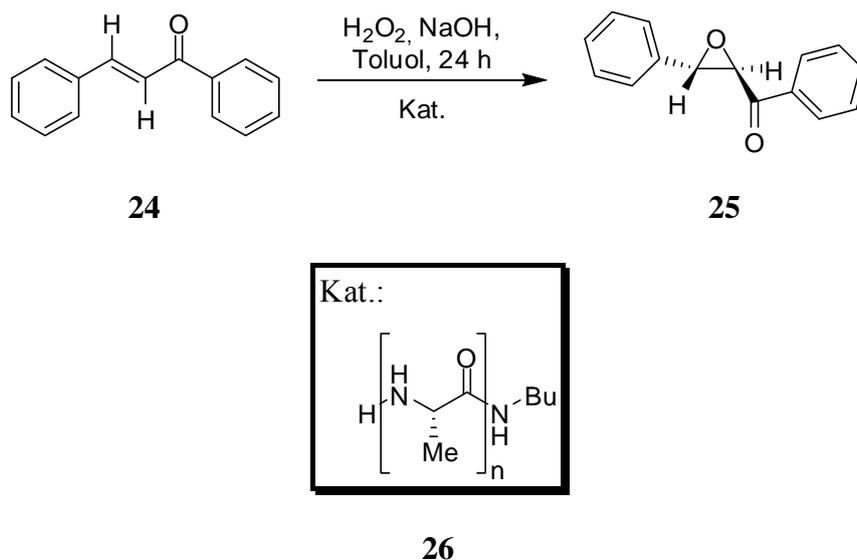


Abb. 2.11: Juliá-Colonna Epoxidierung von Chalkon **24** zu linksdrehendem Epoxychalkon **25** mit Poly-L-Ala **26** als Katalysator, wobei man eine Ausbeute von 85 % und einen ee-Wert von 93 % erhält.^[4, 75]

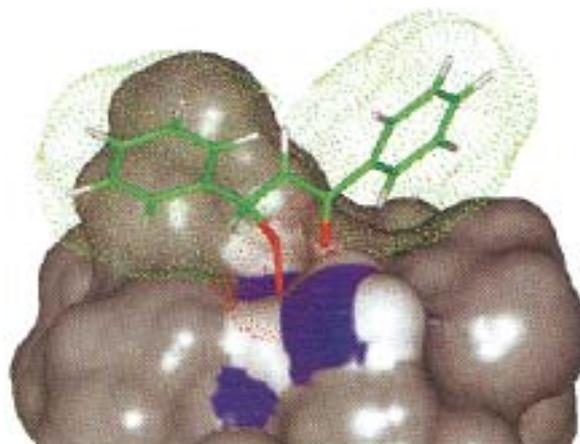


Abb. 2.12: Übertrag der OOH Gruppe vom NH an das vororientierte Substrat.^[76]
 Reproduced with permission. Copyright 2001 American Chemical Society.

Neben den reinen Peptidkatalysatoren gibt es auch noch Kombinationen von den in Abschnitt 2.1.1 vorgestellten Katalysatorklassen und den Peptiden. Ein Beispiel für solch einen Katalysator ist im Folgenden am Jacobsen-Katalysator gezeigt. Durch eine kleine kombinatorische Bibliothek von 132 Mitgliedern haben *Jacobsen* und seine Mitarbeiter den peptoiden Katalysator **29** gefunden. Neben dem Thioharnstoffteil setzt sich der Katalysator auch noch aus einer Peptideinheit zusammen. Dabei konnte der Jacobsen-Katalysator **29** nicht nur an fester Phase, sondern auch in Lösung die Reaktionen katalysieren. Durch den Jacobsen-Katalysator können asymmetrische Strecker- und Mannich-, Acyl-Pictet-Spengler-

und Hydrophosphonylierungs-Reaktion beschleunigt werden. Voraussetzung für die Verwendung des Katalysators ist das Vorhandensein von Iminen im Substrat. In Abb. 2.13 wird die Strecker-Reaktion des Imins **27** zum Aminonitrilderivat **28** gezeigt. Dabei erreichte man mit dem Jacobsen Katalysator **29** eine Ausbeute von 78 % und einen ee-Wert von 91 %. Durch die Variation des Substrates und des Jacobsen Katalysators **29** konnten Ausbeute und ee-Wert bis auf 99 % erhöht werden.^[55, 56, 63, 77]

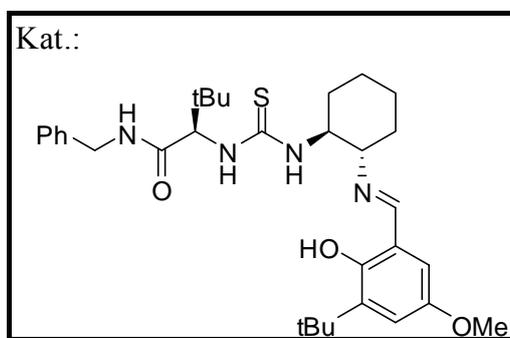
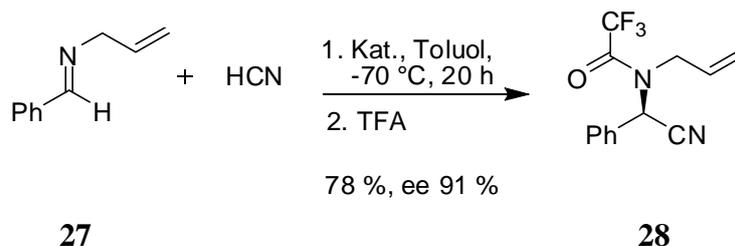


Abb. 2.13: Strecker-Reaktion mit dem Imin **27** und dem Jacobsen Katalysator **29**.^[77]

Reymond und seine Mitarbeiter haben durch Festphasensynthese 21 unterschiedliche Dendrimere **34** synthetisiert und damit erfolgreich im wässrigen Medium Esterspaltungen katalysiert. Die Dendrimere **34** bestehen aus zwei Teilen, die über eine Disulfidbrückenbindung miteinander verknüpft sind. Die einzelnen Teile sind wiederum aus Aminosäuren wie Histidin, Asparaginsäure und Serin aufgebaut, die mittels Diaminosäuren wie **32** als „Verzweigungsverbindung“ miteinander verbunden werden (Abb. 2.13).^[78, 79]

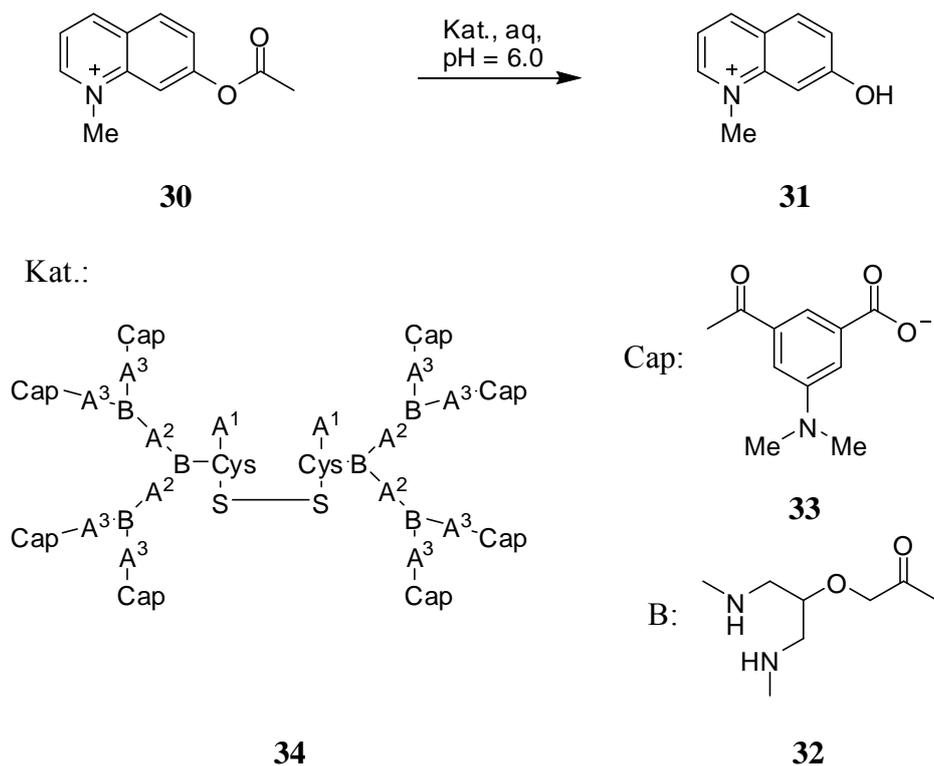


Abb. 2.14: Esterspaltung mit Hilfe der Dendrimere **34** von Reymond.^[78, 79]

Anhand von diesen wenigen Beispielen kann man bereits sehen, dass die Organokatalyse ein sehr großes und vielfältig einsetzbares Gebiet für die Chemie bietet. Auch wenn in den letzten Jahren einige Fortschritte auf diesem Gebiet erzielt wurden, befindet sich das Gebiet der Organokatalyse noch am Anfang.

2.1.3 Phosphatasen und Esterasen

Enzyme, die die Hydrolyse von Estern katalysieren, nennt man Hydrolasen oder auch Esterasen. Diese wiederum kann man in unterschiedliche substratspezifische Enzymgruppen unterteilen. So gehören zu den Esterasen zum Beispiel die Lipasen, welche Lipide spalten, Sulfatasen für Sulfatester, Nucleasen, Phosphordiesterasen und Phosphatasen. Letztere beiden spalten Phosphodi- und monoester. Im Folgenden soll an einigen Beispielen für Phosphatasen und Esterasen die Wichtigkeit dieser Enzyme gezeigt werden.

Phosphatasen dephosphorylieren eine Vielzahl von biologischen Molekülen wie Proteine, Nukleotide und Alkaloide. Beides, die Phosphorylierung und Dephosphorylierung, sind wichtige Komponenten der Signalweiterleitung, z. B. im Metabolismus, wo die betroffenen

Enzyme hierdurch in ihrer Aktivität moduliert werden. Bei Phosphatasen kann man zwischen sauren und alkalischen Phosphatasen unterscheiden. Die einen haben ihr pH-Optimum im sauren, die anderen im basischen Bereich. Saure Phosphatasen kommen in Lysosomen vor und spielen dort vor allem bei der Apoptose eine entscheidende Rolle. Die alkalischen Phosphatasen kommen vermehrt in der Leber, Knochen und Galle vor.^[80] In der Medizin kann über eine Blutuntersuchung der Wert für die alkalischen Phosphatasen bestimmt werden. Dadurch erhält man einen Hinweis auf vorliegende Erkrankungen der Leber oder des Skeletts. Eine wichtige Gruppe der Phosphatasen sind die Nukleotidasen. Sie katalysieren die Hydrolyse einer Phosphatgruppe von einem Nukleotid. Als Beispiel soll hier die 5'(3')-Desoxyribonukleotidase (Abb. 2.15) gezeigt, werden. In der Abbildung kann man auch das Substrat Desoxyguanosin -5'-monophosphat in der Bindungstasche sehen.

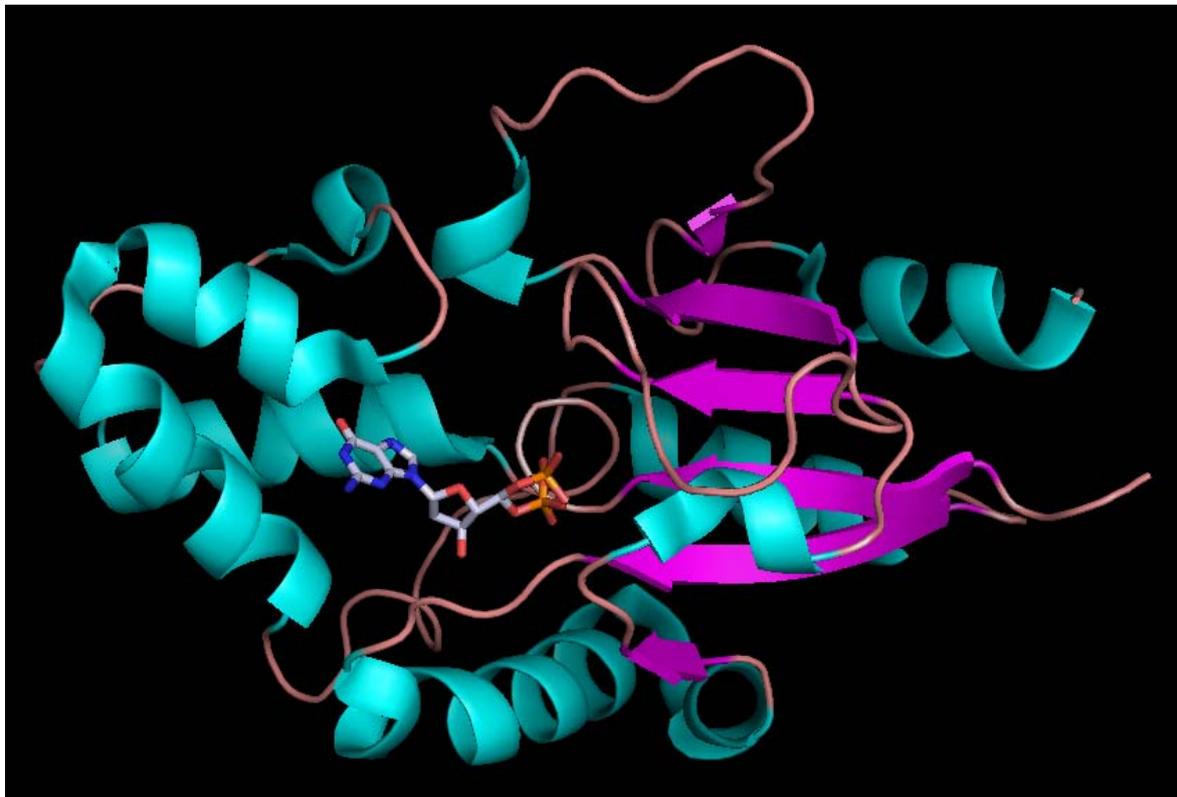


Abb. 2.15: Kristallstruktur der Phosphatase 5'(3')-Desoxyribonucleotidase. In der Bindungstasche kann man das gebundene Substrat Desoxyguanosin-5'-monophosphat sehen. Reproduced with permission. Copyright 2007 American Chemical Society.

Esterasen sind, wie oben bereits erwähnt, Enzyme die unterschiedliche Ester spalten. Hier sollen vor allem diejenige aufgegriffen werden, welche Carbonester zu Carbonsäuren und

Alkoholen hydrolytisch spalten. Zwei Beispiele für diese Esterasen sind die Lipasen und die Cholinesterasen. Lipasen wandeln Lipide wie z.B. Triglyceride in die freie Fettsäure und Glycerin um. Diese Enzymklasse spielt physiologisch eine wichtige Rolle z.B. im Verdauungstrakt beim Hydrolysieren des durch die Nahrungsaufnahme zu sich genommenen Fettes. Die Lipasen kann man je nach Vorkommen in unterschiedliche Arten unterteilen. So gibt es z.B. die Lipoproteinlipasen, die sich auf der extrazellulären Membranseite von Endothelzellen in verschiedenen Gewebearten aufhalten. Sie können die im Blut an Lipoproteine gebundenen Fette spalten und damit für die zelluläre Aufnahme vorbereiten. Eine weitere Lipasenart ist die Pankreaslipase, die in den Drüsenzellen der Bauchspeicheldrüse synthetisiert wird und anschließend in den Zwölffingerdarm gelangt. Dort spaltet sie die Nahrungsfette in Fettsäuren und Glycerin. Diese können dann in Form von Mizellen zusammen mit Hilfe von Gallensalzen in die Enterozyten aufgenommen werden. Nur ein kleiner Teil der Pankreaslipase geht ins Blut, da sie eine biologische Halbwertszeit von 7 – 14 Stunden hat. Eine andere wichtige Lipasenart ist die hormonsensitive Lipase. Diese wird durch einen Anstieg von cyclischem Adenosinmonophosphat an der Oberfläche der Fettzellen aktiviert und kann ihrerseits Fettsäure aus den Triglyceriden abspalten. Diese können dann aus den Zellen ausgeschleust und in die Blutbahn abgegeben werden. Auf diesem Wege gelangen sie z.B. zur Leber, wo sie zur Energiegewinnung verwendet werden können.

Ein anderes Beispiel für eine Esterase ist die Cholinesterase und im Speziellen die Acetylcholinesterase. Sie spielt eine wichtige Rolle bei der Signalübertragung durch die Nervenzellen.^[81] Dabei ist die Acetylcholinesterase an membranäre Glycolipide gebunden und wird in den synaptischen Spalt sezerniert. Dort ist sie für den Abbau des cholinergen Transmitters Acetylcholin **35** und damit für die Kontrolle der Reizweiterleitung zuständig (Abb. 2.16). Das Enzym wirkt dabei wie eine Art „Staubsauger“, der die ausgeschütteten Acetylcholin-Moleküle aufnimmt, umwandelt und dadurch abbaut. Acetylcholinesterase findet sich hauptsächlich in den Nerven-Muskel-Synapsen, in den autonomen Ganglien, dem Nebennierenmark und in den cholinergen Synapsen des Zentralnervensystems. Aber auch Drüsenaktivitäten der Haut, der Augen, des Verdauungstraktes und der Blase sowie die Aktivität des Herzmuskels und der glatten und quer gestreiften Muskulatur werden von der Acetylcholinesterase beeinflusst. In Abbildung Abb. 2.16 ist die Struktur der Acetylcholinesterase gezeigt.

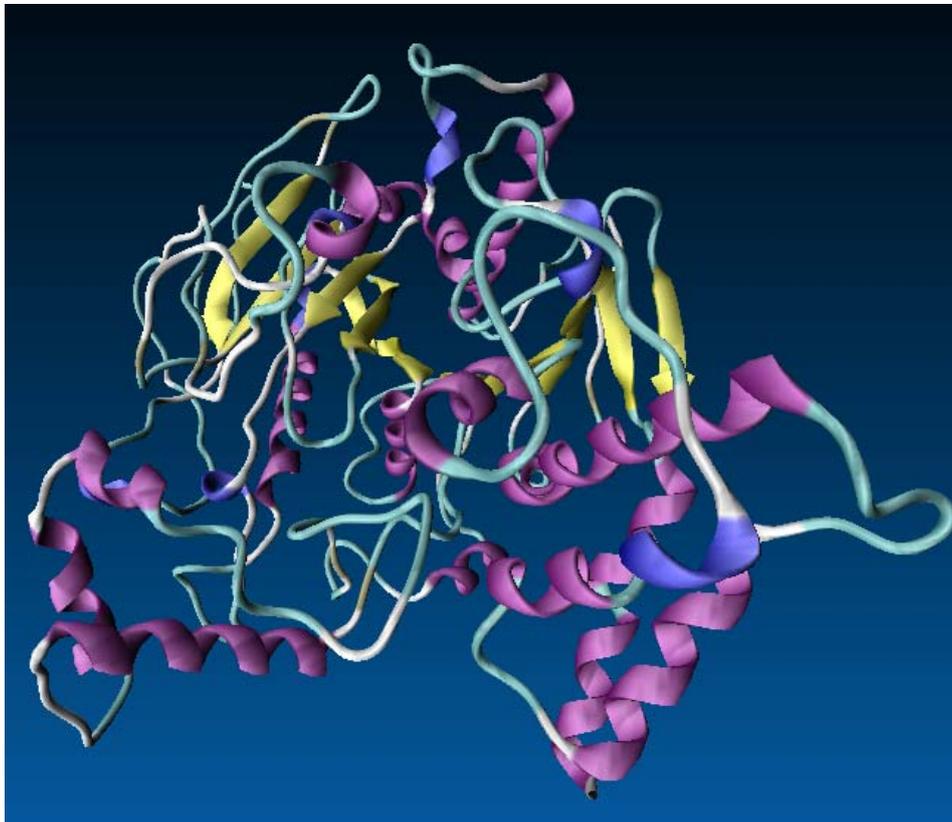
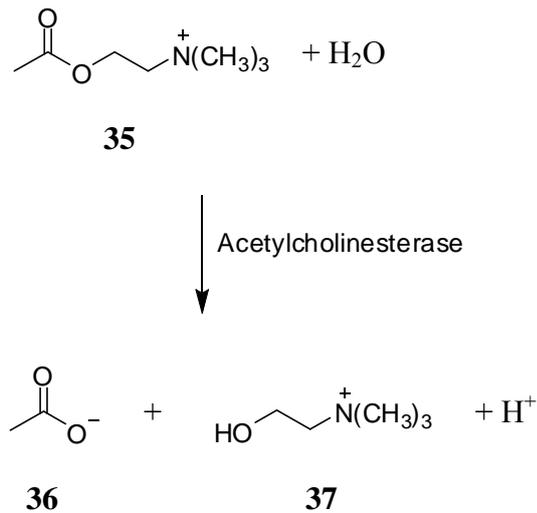


Abb. 2.16: oben: Hydrolyse von Acetylcholin **35** zu Cholin **37** und Acetat **36** katalysiert durch die Acetylcholinesterase. unten: Struktur der Acetylcholinesterase.

Die wenigen oberen Beispiele zeigen bereits, wie wichtig diese Gruppe der Enzyme ist. Der Einsatz solcher Enzyme in chemischen Reaktionen gestaltet sich jedoch relativ schwierig, da sie spezielle „Bedingungen“ benötigen (Temperatur, pH-Wert, etc.). Auch ist deren Wirkung meist auf einzelne Substrate beschränkt. Deshalb wäre es für das chemische Arbeiten im Labor von großem Interesse Esterasen zu besitzen, die kleiner und leichter zu handhaben sind.

Auch ist es im Zuge der immer größeren Bedeutung der „Green Chemistry“ wichtig, dass sie Reaktionen im wässrigen Medium mit ähnlich guten Katalyseeigenschaften katalysieren, so dass eine teure Entsorgung der organischen Lösungsmittel wegfällt. Ein anderer Vorteil von Wasser als Reaktionsmedium wäre, dass man so die in der Natur stattfindenden Reaktionen auch in einem Reaktionsgefäß im Labor ablaufen lassen könnte. Dabei würde man keine höhere Temperatur oder Druck benötigen. Im folgenden Abschnitt soll mit Bezug zu den Esterasen das Ziel dieser Arbeit nähergebracht werden.

2.2 Aufgabenstellung

Fast alle der in den Punkten 2.1.1 und 2.1.2 gezeigten Beispielen haben den Nachteil, dass sie vor allem in aprotischen organischen Lösemittel wie Chloroform oder Toluol funktionieren aber nicht in protischen Lösemitteln. Deshalb soll sich diese Arbeit mit der Entwicklung von Organokatalysatoren auf Peptidbasis beschäftigen, die in polarem Lösemittel wie Wasser Reaktionen beschleunigen können.

Beim Entwickeln neuer Organokatalysatoren ist es wichtig zu wissen, wie die Struktur des Katalysators im aktiven Schritt aussieht. Dabei kann man die Struktur von Enzymen und Peptiden in unterschiedliche Kategorien unterteilen (Abb. 2.17).^[82] Die erste Kategorie ist die Primärstruktur. Dabei handelt es sich um die Sequenz der einzelnen Bausteine. Im Falle der Peptide sind dies die Aminosäuren. Die nächst höhere Stufe der Strukturinformation wird von der Sekundärstruktur wiedergegeben. Die Sekundärstruktur ergibt sich durch die relative Anordnung der an der Peptid-Bindung beteiligten Atom-Gruppen, die das Rückgrat der Peptid-Kette bilden und durch die Wechselwirkungen benachbarter Aminosäurereste. Wenn mehrere dieser Elemente miteinander aggregieren nennt man dies Supersekundärstrukturen. Die Tertiärstruktur der Peptide lagert sich aus mehreren Elementen der Sekundärstruktur, wie z.B. α -Helix, β -Faltblatt und β -Schleife und weniger regulären Bereichen zusammen. Innerhalb eines Proteinmoleküls bilden sich strukturell abgegrenzte, meist dichtere Bereiche mit besonderen Funktionen. Lagern sich mehrere Proteinmoleküle zusammen spricht man von der Quartärstruktur. Die Proteinmoleküle halten durch nichtkovalente Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrückenbindungen, ionische Bindungen und van-der-Waals-Kräfte.

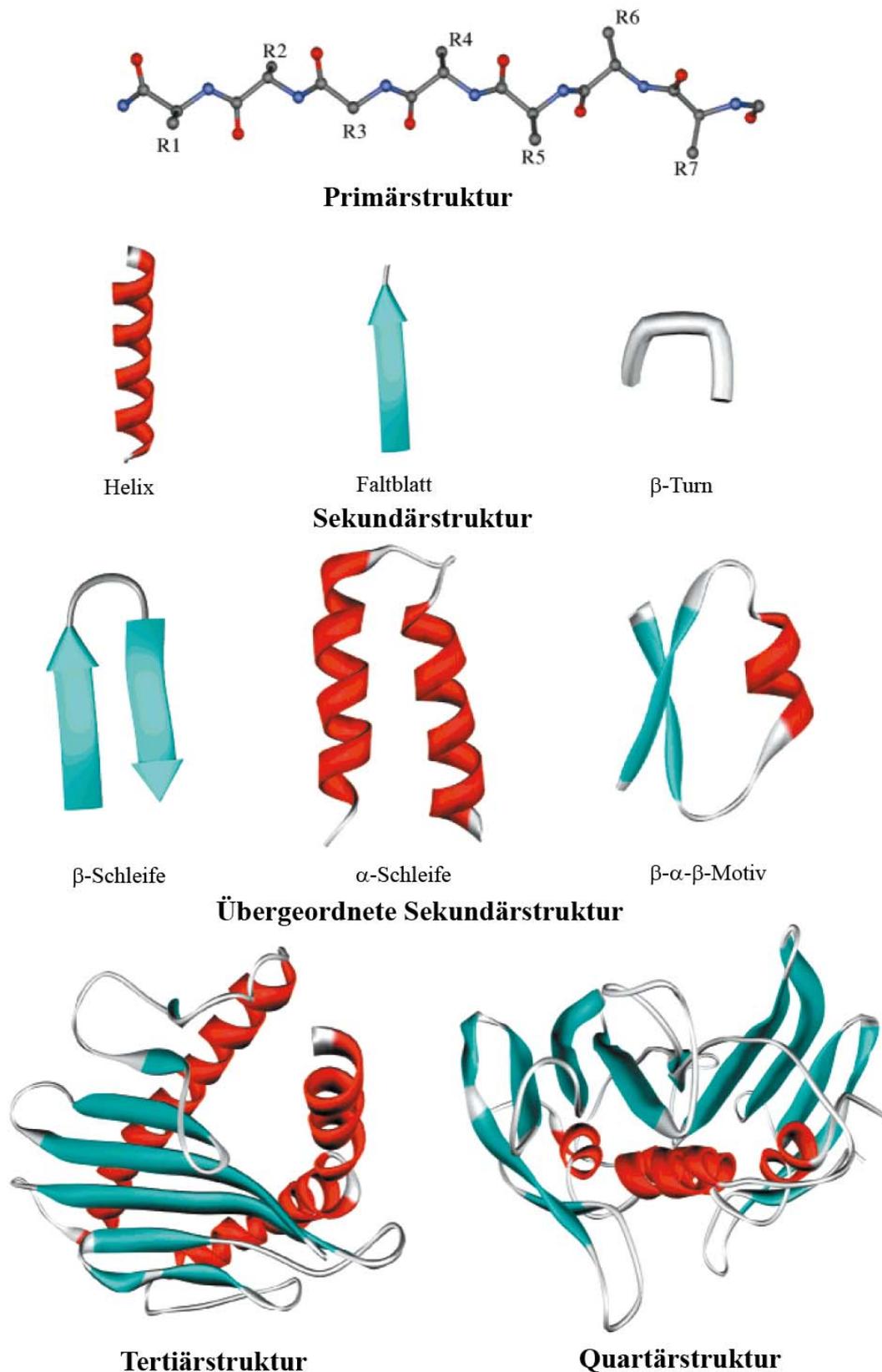


Abb. 2.17: Unterschiedliche Kategorien der strukturellen Einheit in der Proteinstruktur. Reproduced with permission. Copyright 2001 American Chemical Society.

Neben den anderen Sekundärstrukturen gibt es wie oben bereits erwähnt die β -Schleife. Sie setzt sich aus vier Aminosäuren zusammen, wobei die Aminosäure i und $(i+3)$ eine Wasserstoffbrückenbindung ausbilden, welche die Schleife stabilisiert (Abb. 2.18). Es gibt unterschiedliche Typen von β -Schleifen die als I, I', II, II', III, III', IV, V, VI und VII bezeichnet werden.^[83, 84] Die einzelnen Typen der β -Schleife unterscheiden sich vor allem durch die Diederwinkeln ϕ und ψ in den Aminosäuren $(i+1)$ und $(i+2)$.

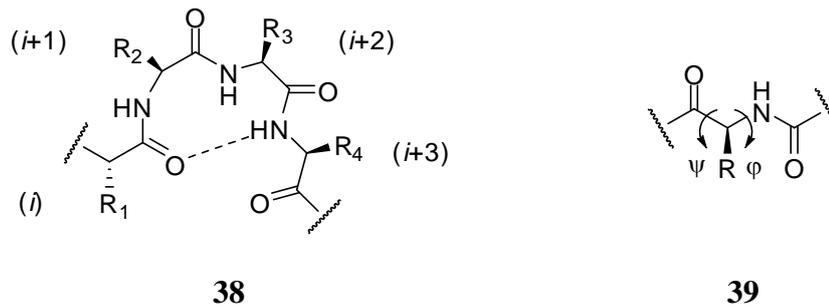
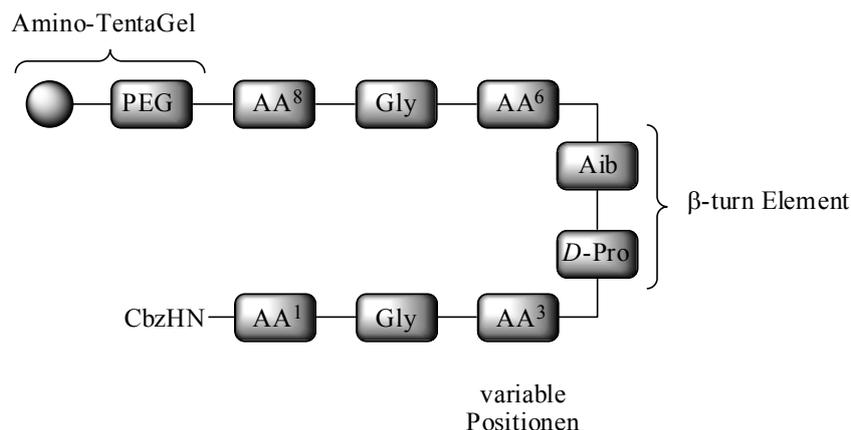


Abb. 2.18: Wichtige Bedingungen für die β -Schleife. Links: Darstellung der bei der β -Schleife wichtigen Aminosäuren. Rechts: Diederwinkel, der für die unterschiedlichen Typen einer β -Schleife von Bedeutung ist.^[83, 84]

In der Vergangenheit gab es viele Arbeitsgruppen, die versucht haben eine, in Lösung stabile β -Schleife zu synthetisieren. *Balaram et al.* hat bereits in den 80er Jahren eine β -Schleife synthetisiert, die neben einer Disulfidbrücke vor allem auf einem Prolin-X-Fragment aufgebaut war. Die Aminosäure X war dabei Glycin, Alanin, Aib und Leucin und dies sowohl in der L- wie auch D-Form. Die Aminosäuren Prolin und X haben dabei die Positionen $(i+1)$ und $(i+2)$ in der β -Schleife eingenommen.^[85] *Gellmann et al.* haben gezeigt, dass die Sequenz *D*-Pro-Gly ein sehr starker Promoter für eine β -Schleife ist.^[86]

In dieser Arbeit soll mit Hilfe der kombinatorischen Chemie eine Bibliothek von Oktapeptiden als Organokatalysatoren synthetisiert werden. Als zentrales Strukturelement soll das Dipeptid *D*-Pro-Aib als Schleifen-Element dafür sorgen, dass ein antiparalleles β -Faltblatt erhalten werden kann. In Abb. 2.19 ist eine schematische Darstellung des Aufbaus eines solchen Oktapeptides gezeigt.

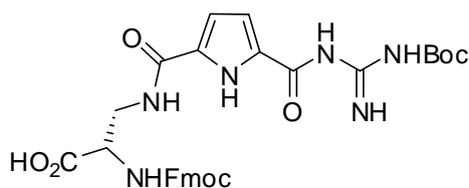


40

AA¹, AA³, AA⁶, AA⁸ = His, Val, Ser, Asp, Glu, Phe, C1

Abb. 2.19: Schematische Darstellung der Bibliothek 40. Ausgehend vom TentaGel werden die einzelnen Aminosäuren an die feste Phase gekuppelt.

Ein Oktapeptid besitzt neben der β -Schleife als Element noch sechs andere Aminosäuren, die das Faltblatt bilden. Um einen größeren Abstand der Reste zwischen den Aminosäuren zu gewährleisten, soll an den Positionen AA² und AA⁷ Glycin als Aminosäure verwendet. Die restlichen Positionen werden so besetzt, dass man durch richtige Auswahl der Aminosäuren eine breite Diversität erreicht. So sollen die beiden Aminosäuren Valin und Phenylalanin gewählt werden, um dadurch auch eine hydrophobe Umgebung für die Substrate zu gewährleisten. Asparagin und Glutamin sollen als Protonenlieferanten in der Katalyse dienen und da Serin und Histidin für viele in der Natur vorkommende katalytische Prozesse sehr wichtig sind und auch *Miller* und *Reymond* gezeigt haben, dass Histidin ein wichtiger Bestandteil der Organokatalysatoren sein kann, sollen auch diese beiden Aminosäuren eingesetzt werden.^[13, 87, 88] Das im Arbeitskreis *Schmuck* entwickelte künstliche Argininanalogon **72** ist die letzte Aminosäure, die in der Synthese der kombinatorischen Bibliothek verwendet wurde.^[89] Diese Aminosäure soll deshalb verwendet werden, da sie durch ihre Guanidinocarbonylpyrroleinheit sehr gut Carboxylate binden kann und dadurch einen wichtigen Beitrag zur Katalyse beisteuern soll. Es konnte bereits gezeigt werden, dass diese künstliche Aminosäure sich für die Synthese an eine feste Phase eignet.^[89]



72

Abb. 2.20: Künstliches Argininanalogon aus der Gruppe von Schmuck.

Für die Synthese der Oktapeptide wurde als polymerer Träger Amino-TentaGel verwendet, da dieses Harz sehr gute Quelleigenschaften in Wasser besitzt. Die Verknüpfung der einzelnen Bausteine an die feste Phase erfolgte nach der sogenannten „Split and Mix“ Methode.^[90-93] Wie in Abb. 2.19 gezeigt, sind die Positionen AA¹, AA³, AA⁶ und AA⁸ variabel. An jeder dieser Positionen sollen 5 unterschiedliche Aminosäuren angebracht werden, so dass man 625 (5⁴) Mitglieder der Bibliothek erhält.

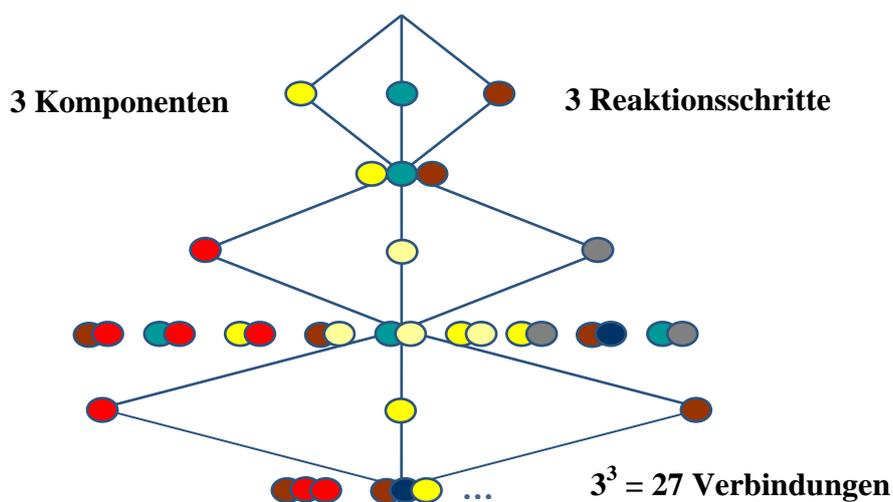


Abb. 2.21: Schematische Darstellung der „Split and Mix“ Methode.

Um die einzelnen Mitglieder der Bibliothek im Screening ohne größeren Aufwand schnell und exakt zu identifizieren, soll die Radiofrequenzkodierung nach IRORI verwendet werden.^[94-96] Diese Methode erlaubt auch die Nutzung von Kunststoffmikroreaktoren, die ca. 30 mg des polymeren Trägers fassen können (Abb. 2.22). Damit erhält man von jedem Mitglied der Bibliothek einige Mikromol an Substanz, das so dann zur Katalyseuntersuchungen zur Verfügung steht. Zusätzlich zum Harz wird noch ein in Glas geschmolzener Radiofrequenzchip in den Mikroreaktor gegeben, auf dem sich ein binärer

Code befindet, der mit Hilfe einer Lesestation gelesen und dadurch jeder Mikroreaktor eindeutig einer Verbindung zugewiesen werden kann. Die Synthese der einzelnen Mitglieder soll nach Standardprotokoll mit Fmoc-geschützten Aminosäuren erfolgen.^[90, 97]



Abb. 2.22: Links: IRORI MikroKan mit Radiofrequenzchip, durch den man die einzelnen Bibliotheksmitglieder einfach identifizieren kann. Rechts: „well-plates“ für das Arbeiten mit Mikroplatten-Lesegeräten.

Nach der Synthese der einzelnen Oktapeptide soll ein „on-bead“ Katalyseassay entwickelt werden, mit dem man qualitativ die Katalysiefähigkeiten der unterschiedlichen Mitglieder der Bibliothek bestimmen kann. Auch sollen auf diese Weise die optimalen Bedingungen für die Katalyse in Lösung gefunden werden. Für die Bestimmung von qualitativen Daten bieten sich mehrere Möglichkeiten an. Eine wäre, dass man die einzelnen Mitglieder in sogenannten „well-plates“ mit einer Lösung inkubiert, und dabei eine Farbveränderung beobachtet (Abb. 2.23). Ein Beispiel für solch eine Möglichkeit hat die Gruppe von *Berkessel et al.* gezeigt.^[98] Bei ihrer Arbeit haben sie eine Phosphatspaltung an einem Indolderivat durch Undecapeptide mit Zirconium beobachten können. Dabei ist nach Abspaltung der Phosphatgruppe ein Indigoderivat entstanden, das als Flocken in der Lösung oder am Bead ausgefallen ist. Über die zeitliche Entstehung des Indigoderivates kann man eine qualitative Auswertung der einzelnen Mitglieder der Bibliothek machen.

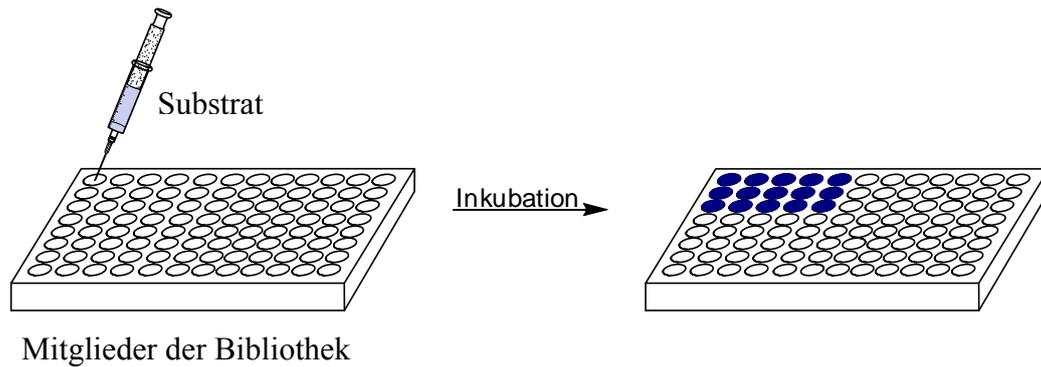


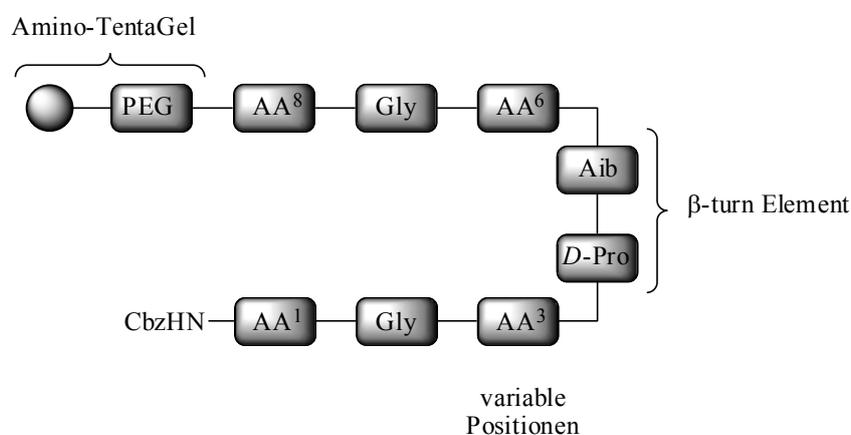
Abb. 2.23: Schematische Darstellung eines „on-bead“ Assays, wobei man eine Farbveränderung beobachten kann.

Durch den Einsatz eines Substrates, welches entweder vor oder nach der Katalyse fluoresziert kann man mit Hilfe eines Fluoreszenzspektrometers und einem Mikroplatten-Lesegerät die Zu- oder Abnahme der Fluoreszenz beobachten. Dadurch würde man nicht nur ein qualitatives sondern gleich ein quantitatives Ergebnis erhalten.

In dieser Arbeit wurden vor allem zwei Katalysereaktionen beobachtet. Die eine ist die Phosphatspaltung die andere die Esterspaltung. Beides sind Hydrolysereaktionen die in der Natur eine wichtige Rolle spielen. Deshalb soll zusätzlich zur Reaktion auch darauf geachtet werden, dass die verwendeten Bedingungen so nah wie möglich an der Natur angelehnt sind. Die Ergebnisse dieser Arbeit werden in den folgenden Kapiteln wiedergegeben und diskutiert.

3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In der hier vorliegenden Arbeit wurde eine Rezeptorbibliothek von Oktapeptiden synthetisiert und anschließend auf Katalyseeigenschaften an fester Phase und auch in Lösung untersucht. Die 625 Mitglieder umfassende Bibliothek wurde auf TentaGel als feste Phase synthetisiert und setzte sich aus zehn unterschiedlichen Aminosäuren zusammen. Im Einzelnen waren dies Glycin (Gly), *D*-Prolin (*D*-Pro), α -Aminoisobutyrsäure (Aib), Histidin (His), Valin (Val), Serin (Ser), Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Phenylalanin (Phe) und das im Arbeitskreis *Schmuck* hergestellte künstliche Arginin-Analogon (C_1).



40



Abb. 3.1: Schematische Darstellung der Bibliothek 40.

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in drei Teile. Zunächst wurden die für die Bibliothek notwendigen Bausteine synthetisiert und anschließend die Bibliothek selbst. Der zweite Teil befasst sich mit der Phosphatspaltung als erste Katalysereaktion. Der letzte Teil beschäftigt sich mit der zweiten Katalysereaktion, der Esterhydrolyse. Für beide Katalysereaktionen wurden zunächst die Reaktionen mit dem Katalysator an fester Phase durchgeführt. Dies hatte den Vorteil, dass man zusätzlich zu qualitativen und quantitativen Ergebnissen auch die richtigen Reaktionsbedingungen für die anschließenden Reaktionen in Lösung erhielt. Dafür wurden potentielle Katalysatorkandidaten erneut an fester Phase synthetisiert. Da das Oktapeptid leicht von der festen Phase abspaltbar sein musste, wurde dafür RinkAmid-Harz als feste Phase verwendet.

3.1 Modellsystem

Im Folgenden ist ein Modellsystem einer Schleife beschrieben, die als Ausgangs-Modellsystem für das in Abschnitt 3.2 beschriebene Konzept der Oktapeptidkatalysatoren dienen sollte. Dazu wurden auch zwei neue Aminopyrrole synthetisiert um die Möglichkeit einer parallelen und antiparallelen Anordnung der Stränge zu erreichen.

3.1.1 Synthese der Aminopyrrole

Es gibt unterschiedliche Möglichkeiten die Carboxylat-Bindungseinheit **67** an ein Molekül zu kuppeln. Bei der Synthese der beiden beschriebenen Argininanaloge **72** und **77** in Abschnitt 3.2.1 findet die Kupplung der Verbindung **67** über die Carbonsäurefunktion statt. Eine andere Möglichkeit ist, dies durch eine Kupplung einer Aminfunktion an das pyrrolgebundene 'Boc-Guanidin durch eine Mitsunobo-Reaktion stattfinden kann. Solche Reaktionen konnten bereits in der Diplomarbeit von *Bickert* erfolgreich gezeigt werden.^[99, 100] Um eine andere Kupplungsmöglichkeit bei der Synthese der Bibliothek zu nutzen, wurden die zwei Aminopyrrole **41** und **42** synthetisiert.^[101] Die energieminierte Struktur (Macromodel 8.0, Amber*, GB/SA Wasser als Solvent, Monte Carlo Suche mit 50.000 Schritten) zeigt im Falle des Aminopyrrols **41** sehr gut, wie die Bindung zu einem Carboxylat, in diesem Fall Acetyl-L-Alanin ausgebildet wird. Ähnlich kann auch im Oktapeptid eine Präorganisation des Substrates stattfinden indem durch das im Oktapeptid eingebaute Aminopyrrol ein Oxoanion wie zum Beispiel ein Carboxylat gebunden werden kann.

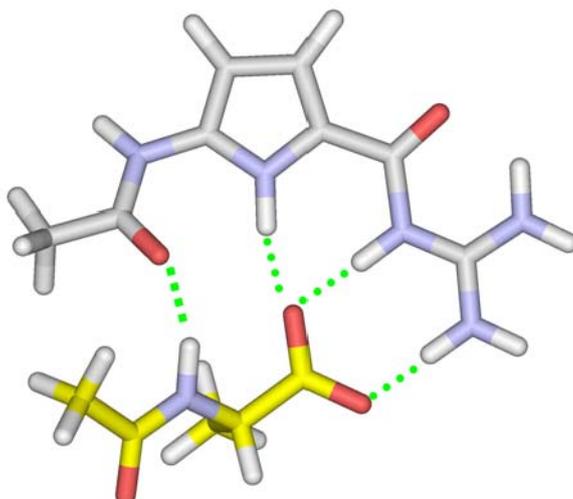


Abb. 3.2: Berechnete Komplexstruktur (Macromodel 8.0, Amber*, GB/SA Wasser als Solvent, Monte Carlo Suche mit 50.000 Schritten) des Aminopyrrols **41** und dem Carboxylat von Acetyl-L-Alanin. Reproduced with permission. Copyright 2005 Elsevier.

In der folgenden Abbildung ist ein Retrosyntheseschema für die Darstellung der beiden Verbindungen gezeigt.

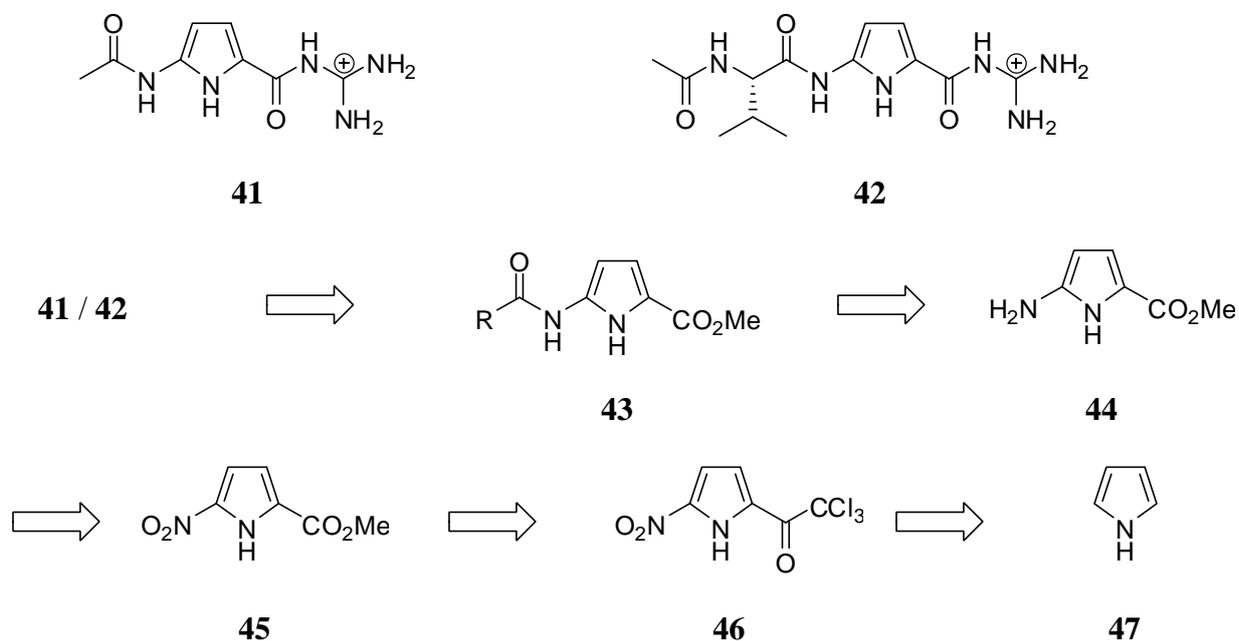


Abb. 3.3: Retrosyntheseschema für die Darstellung der beiden Aminopyrrole **41** und **42**.

Zunächst wurde versucht, durch Nitrierung des Pyrrolmethylesters **48** das 5-Nitropyrrol **45** mit Salpetersäure als Nitrierungsreagenz und Essigsäureanhydrid als Lösungsmittel zu erhalten. Dabei bekam man neben dem gewünschte Produkt **45** mit einer sehr schlechten

Ausbeute von maximal 10 % auch das unerwünschte 4-Nitropyrrol **49** mit einer ebenfalls schlechten Ausbeute von 7 %.

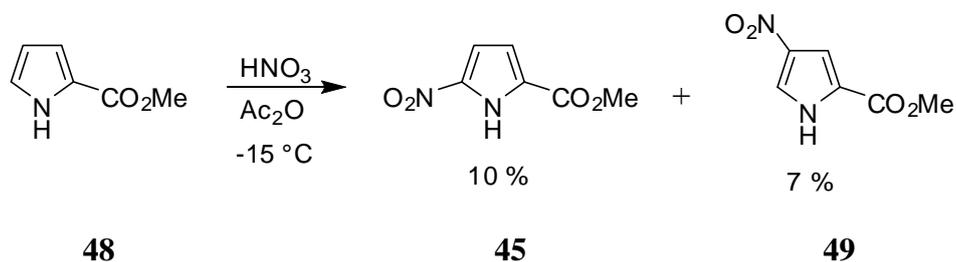


Abb. 3.4: Nitrierung des Pyrrolmethylesters **48** ergibt nur ein Gemisch von **45** und **49** mit schlechten Ausbeuten.

Das Hauptproblem jedoch lag bei der Zersetzung des Produktes unter den Reaktionsbedingungen.^[102] Auch in der Literatur liegen die Ausbeuten für solche Reaktionen in einem mäßigen Bereich zwischen 10 % und 30 %.^[103-106] Bessere Ausbeuten würde man im Falle von *N*-alkylierten Pyrrolen erhalten, was jedoch für diese Arbeit nicht von Vorteil gewesen wäre, da man somit den Beitrag des Pyrrols bei der Bindung von Carboxylaten verloren hätte. Ein anderer Grund für die schlechten Ausbeuten liegt darin, dass bei Anwesenheit des Methylesters in der 2-Position die Reaktion in der 5-Position kinetisch und die 4-Position thermodynamisch kontrolliert ist, so dass unter kinetischen Bedingungen die Reaktion sehr langsam abläuft.^[107] Auch das Blockieren der 3- und 4-Position im Pyrrol durch Methylgruppen führte trotz des Variierens der Nitrierungsreagenzien und Temperaturbedingungen nur zu Ausbeuten von 4 bis 40 %.

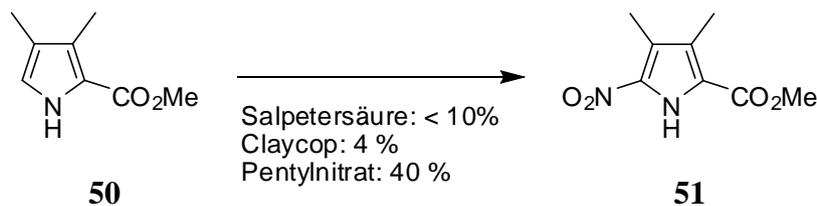


Abb. 3.5: Nitrierung des Pyrrolderivates **50** nach Blockierung der 3- und 4-Position mit unterschiedlichen Nitrierungsreagenzien und Bedingungen.

Eine Nitrierung mit guten Ausbeuten und ohne Einführung von Gruppen wie im vorher gezeigten Beispiel kann man erreichen, indem man das Trichloracetylpyrrol **52**, das man leicht im Multigrammmaßstab ausgehend vom käuflich erwerblichen Pyrrol herstellen kann,

mit Salpetersäure in Essigsäureanhydrid nitriert und somit mit Ausbeuten von bis zu 61 % das 2-Nitropyrrolderivat **46** erhält.

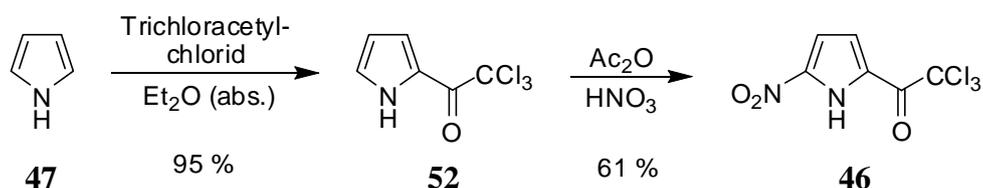


Abb. 3.6: Darstellung der Nitroverbindung **46**.

Das Trichloroacetylpyrrol ist eine stark elektronenziehende Gruppe, was die Nitrierung in der 5 Position sehr erleichtert. Die anschließende Nucleophile Substitution der Trichloroacetylgruppe durch Natriummethanolat und Erhalt der gewünschten Esterverbindung **45** verlief in sehr guten Ausbeuten von 97 %. Diese Nitropyrrolverbindung **45** ist die Schlüsselverbindung zur Darstellung der Aminopyrrole, da man sie nach der oben beschriebenen Syntheseroute im Grammmaßstab darstellen kann und sie sehr gut lagerbar ist.

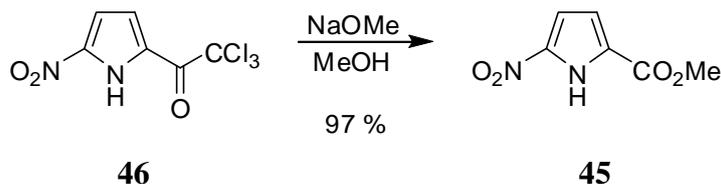


Abb. 3.7: Nucleophile Substitution der Trichloroacetylgruppe durch Natriummethanolat.

Das Aminopyrrol **44** ist bei Anwesenheit von UV-Strahlen und Raumtemperatur nicht stabil, so dass eine Reduktion der Nitrogruppe zum Amin in situ erfolgte und sofort im Anschluss die weitere Umsetzung stattfand. Die Reduktion der Nitrogruppe konnte man mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie beobachten und somit eine quantitative Umsetzung erhalten. Für das Aminopyrrol **53** musste zunächst die Aminfunktion des Pyrrolderivates **44** mit Essigsäureanhydrid acetyliert werden, was in guten Ausbeuten von 88 % zu der Pyrrolverbindung **53** führte.

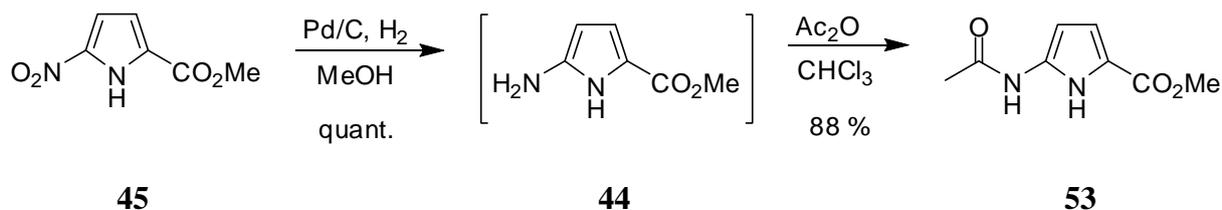


Abb. 3.8: Darstellung des acetylierten Aminopyrrols **53**.

Nach der Verseifung des Methylesters mit Lithiumhydroxid in Methanol bei 60-80 °C wurde die Pyrrolcarbonsäure **54** mit Boc-Guanidin **55** und PyBOP als Kupplungsreagenz mit einer Ausbeute von 30 % gekuppelt. Die anschließende Entschützung der Boc-Gruppe mit TFA in Dichlormethan erfolgte quantitativ und nach Umsalzen mit 5 %iger Salzsäure erhielt man **41** als Chloridsalz.

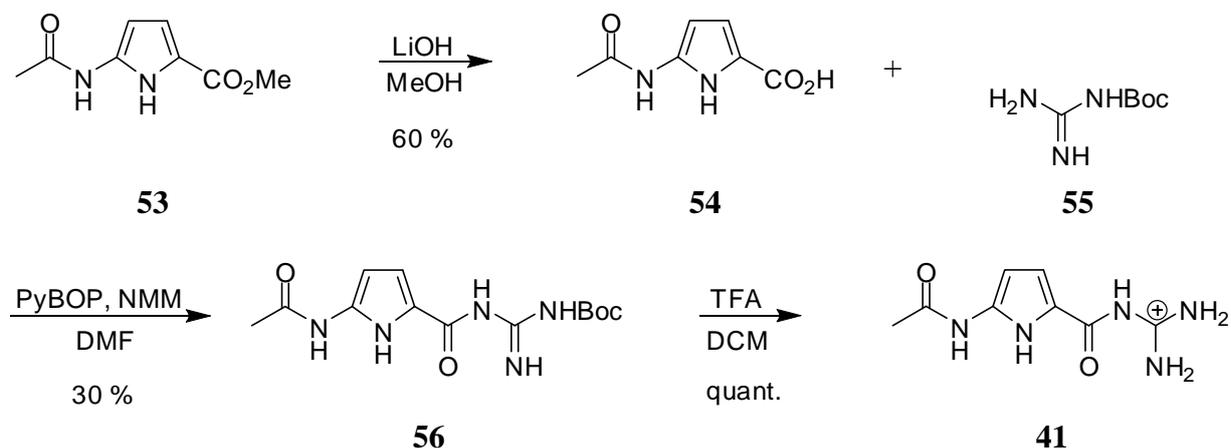


Abb. 3.9: Darstellung des Aminoguanidiniocarbonylpyrrols **41** als ein Baustein für die Synthese der Bibliothek.

Die Synthese der zweiten Aminoguanidiniocarbonylpyrrols **42** wurde ebenfalls ausgehend von der Nitroverbindung **45** durch Reduktion der Nitrogruppe begonnen. Nach Erhalt der Aminoverbindung **44** wurde gleich im Anschluss die Kupplung mit *N*-Ac-Val-OH **57** und DCC als Kupplungsreagenz durchgeführt. Dabei erhielt man das *N*-Acetylvalin-aminopyrrol **58** mit einer guten Ausbeute von 74 % über beide Stufen.

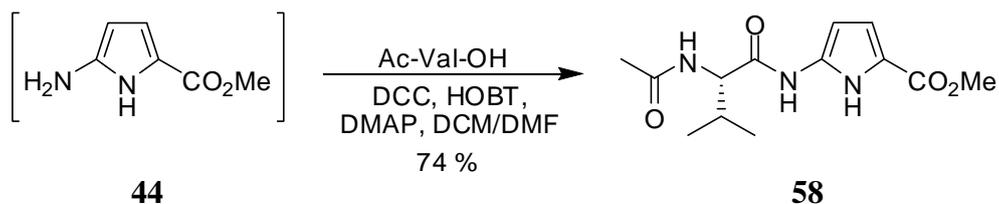


Abb. 3.10: Darstellung des N-Acetylvalin-aminopyrrol **58** durch Kupplung von N-Ac-Val-OH und DCC als Kupplungsreagenz in einer Mischung aus DCM/DMF.

Die anschließende Verseifung des Methylesters in **58** erfolgte mit 45 Äqu. Natriumhydroxid und eine Reaktionszeit von 48 h bei Raumtemperatur. Auch nach dieser Zeit musste in Kauf genommen werden, dass noch Edukt vorhanden war. Sowohl eine Verlängerung der Reaktionszeit als auch eine Erhöhung der Temperatur war nicht möglich, da sich hierbei das gewünschte Produkt zersetzte. Die gewünschte Aminopyrrolcarbonsäure **59** erhielt man dennoch mit einer guten Ausbeute von 65 %.

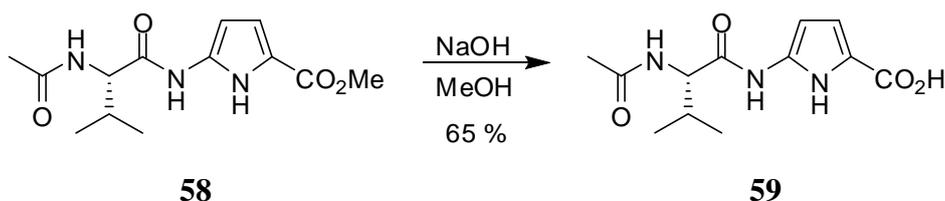


Abb. 3.11: Verseifung des Methylesters mit 45 eq NaOH zu der Aminopyrrolcarbonsäure **59**.

Danach wurde die Carbonsäure **59** mit Boc-Guanidin (**55**) und PyBOP als Kupplungsreagenz gekuppelt. Man erhielt das Boc-Guanidinopyrrol **60** mit einer mäßigen Ausbeute von 35 %. Die anschließende Entschützung der Boc-Gruppe mit TFA und die nachfolgende Umsalzung mit 5 %iger Salzsäure erhielt man **42** als Chloridsalz in quantitativer Ausbeute.

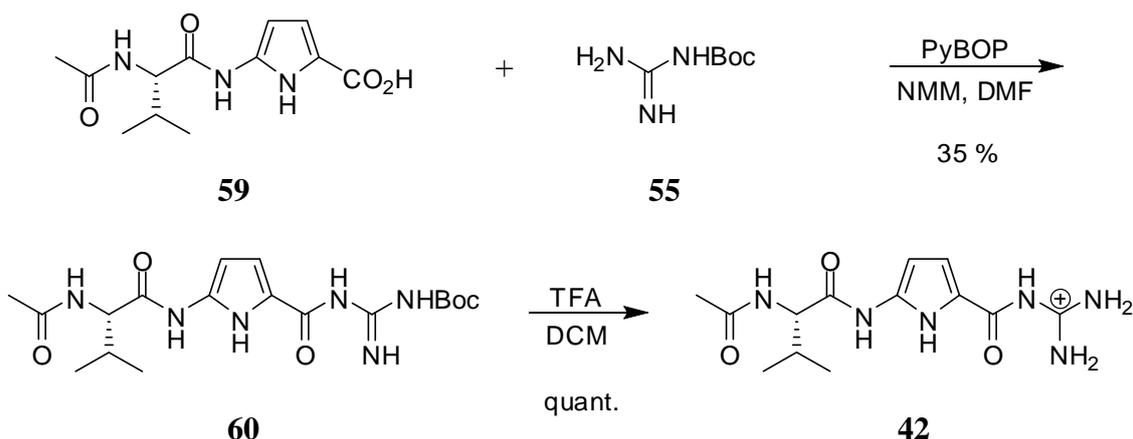


Abb. 3.12: Kupplung von Boc-Guanidin mit der Carbonsäure **59** und anschließende Entschützung der Boc-Schutzgruppe mit TFA.

3.1.2 Synthese der Butylschleifen als Modellsysteme für die Schleifenbildung

Vor der Synthese der Bibliothek der Oktapeptide wurde wie oben bereits erwähnt ein Modellsystem für die Bildung einer Schleife untersucht.^[108] Dabei wurde kein starres Turnelement wie bei der späteren Bibliothek verwendet. Es sollte weiterhin ein Zwitterion sein, so dass durch die Bildung von Ionenpaaren die Verbindung in Lösung als Schleife vorliegt.

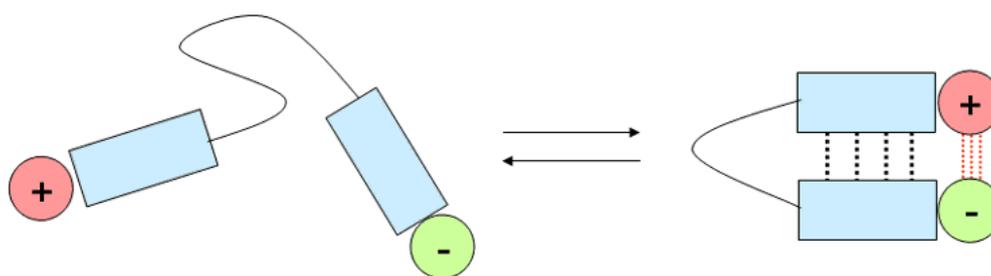


Abb. 3.13: Schematische Darstellung eines Zwitterions und Bildung einer Schleife durch Ionenpaarbindung. Reproduced with permission. Copyright 2007 Wiley InterScience.

Als negativ geladener Teil wurde eine Pyrrolcarbonsäure verwendet und für die Bindung der Carboxylatgruppe das in unserer Gruppe gut etablierte Guanidiniocarbonylpyrrol, welches für die Bindung von Carboxylaten sehr gut geeignet ist.^[109] Mit Hilfe der beiden orthogonalen

Schutzgruppen Boc und Cbz konnte eine einfache Syntheseroute entwickelt werden, bei der man abwechselnd die beiden Schutzgruppen entschützen und so gezielt die Reaktionen durchführen konnte.

Für die Darstellung eines solchen Testsystems wurde zunächst das Butyldiamin **61** in sehr guten Ausbeuten von 92 % mono-Boc geschützt.^[110] Die anschließende Kupplung des mono-Boc geschützten Amins **62** und Cbz-L-Val-OH **63** in Anwesenheit von HCTU ergab **64** in exzellenter Ausbeute von 98 %.

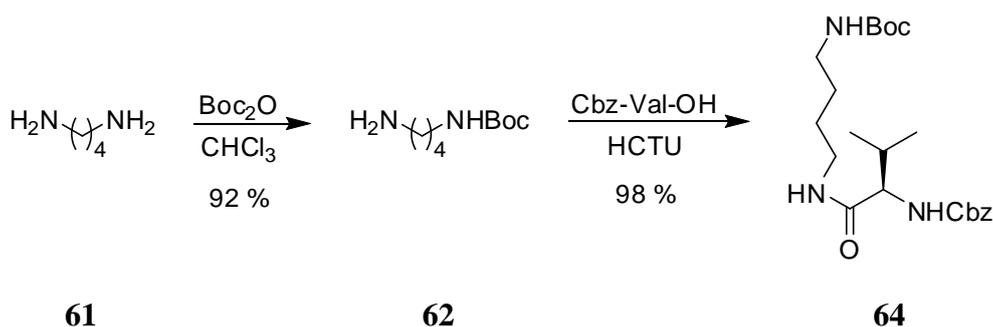


Abb. 3.14: Synthese des mono-Boc-C₄-Val-Cbz **64**.

Nach dem Entfernen der Boc-Gruppe mit TFA wurde die zweite Aminosäure Boc-L-Ala-OH **65** erneut mit HCTU als Kupplungsreagenz angebracht und man erhielt **66** mit einer Ausbeute von guten 50 % über beide Schritte.

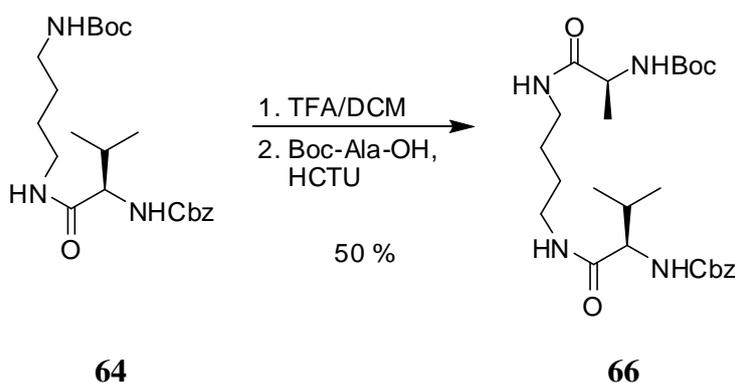


Abb. 3.15: Darstellung des Boc-L-Ala-C₄-Val-Cbz **66** Bausteins.

Anschließend wurde zunächst die Boc-Gruppe entschützt und mit PyBOP als Kupplungsreagenz der CBS-Baustein **67** gekuppelt. Man erhielt **68** mit einer Ausbeute von 72 % über beide Stufen. Des Weiteren wurde nach erneuter Entschützung der Cbz-Gruppe durch Einleiten von Wasserstoff in die Reaktionslösung und Anwesenheit des Pd-Katalysators die

Pyrrolcarbonsäure **69** an die nun freie Aminfunktion von **68** gekuppelt, so dass man den Baustein **70** mit einer Ausbeute von 59 % über beide Stufen erhielt. Als letzter Schritt für die Darstellung des Testsystemes wurden beide Schutzgruppen entfernt und man erhielt **71** in quantitativer Ausbeute. Das Zwitterion **71** erhielt man durch Ausfällen der Verbindung aus basischem Milieu mit Zugabe von 0.1 N Salzsäure.

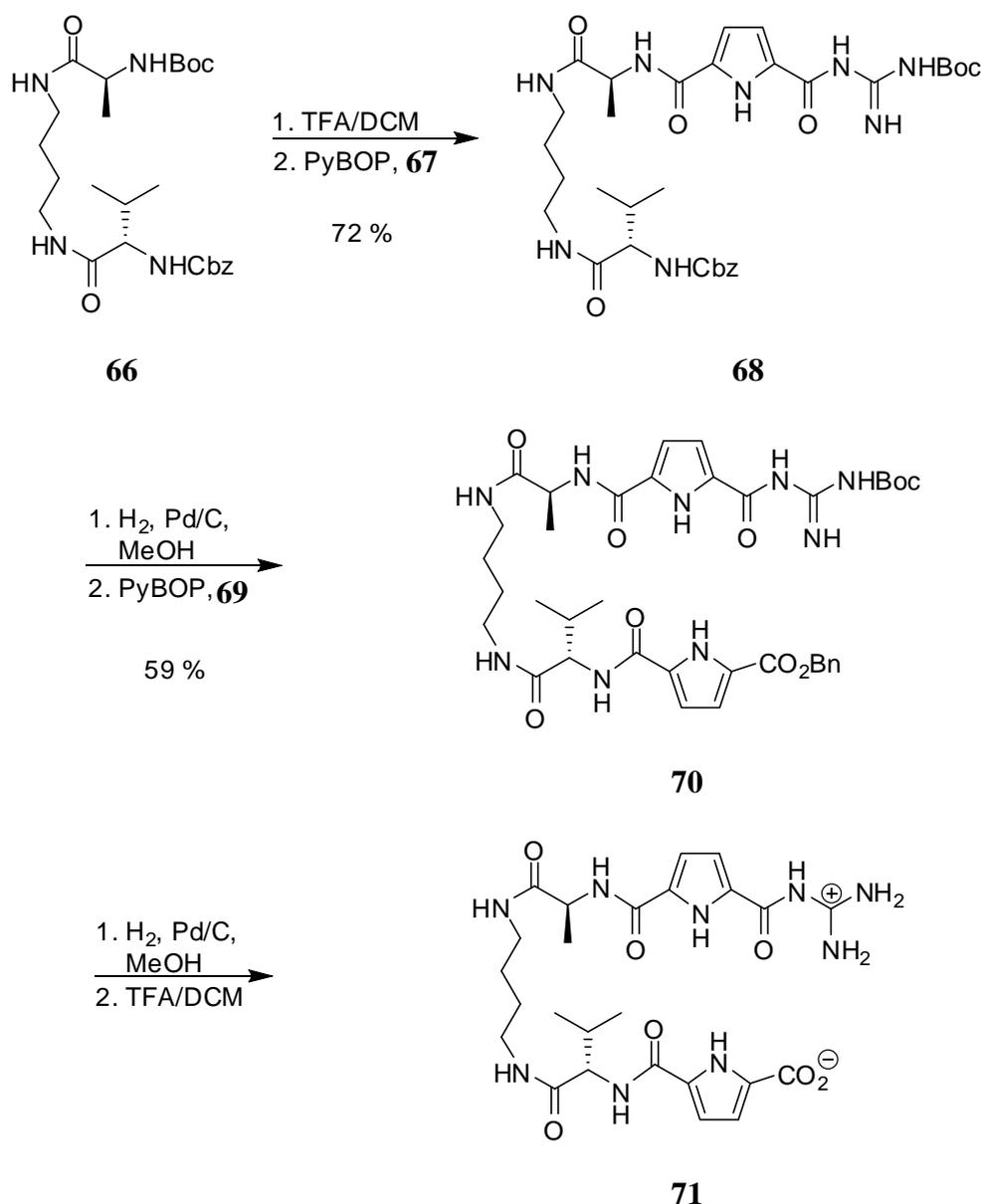


Abb. 3.16: Synthese des flexiblen Zwitterions **71**.

Nachdem das Zwitterion **71** erfolgreich synthetisiert wurde, sollte gezeigt werden, dass es auch bei einem solch einfachen Testsystem zur Ausbildung einer Ionenpaarbindung kommen kann. Dafür wurde das Zwitterion **71** mit CD₃OH als deuteriertes Lösungsmittel gelöst und

die NMR-Daten mit denen von der geschützten Verbindung **70** verglichen. Eine Verdünnungsreihe zeigte, dass die NMR-Verschiebungen für das Zwitterion **71** konzentrationsunabhängig in einem Bereich von 0.1-25 mM sind. Das bedeutet, dass keine intermolekularen Wechselwirkungen vorliegen und somit das Zwitterion **71** mindestens in diesem Konzentrationsbereich als Monomer vorliegt. Im Gegenzug dazu kam es bei der geschützten Verbindung **70** zu kleinen konzentrationsabhängigen NMR- Verschiebungen, was auf eine schwache intermolekulare Wechselwirkung hindeutet. Einen weiteren Hinweis für die Ausbildung einer intramolekularen Schleife im Falle des Zwitterions ergibt der Vergleich zwischen den unterschiedlichen Verschiebungen der NMR-Signale für die Guanidin-NH's. Die Verschiebung des Guanidiniumamid-NH des Zwitterions, das man bei $\delta = 11.78$ beobachten kann, lässt darauf schließen, dass eine Ionenpaarwechselwirkung vorliegt, was aufgrund der vorher gezeigten Tatsache (Konzentrationsversuch) nur zu dem Oxoanion der Pyrrolcarbonsäure im gleichen Molekül ausgebildet werden kann. Bei der geschützten Verbindung **70** hat das Guanidiniumamid-NH eine NMR-Verschiebung von $\delta = 10.86$. Im Vergleich dazu hat, wie oben bereits beschrieben, die ungeschützte Form **71** eine deutlich höhere NMR-Verschiebung des Guanidiniumamid-NHs von $\delta = 11.78$. Bei den anschließenden NOESY-Experimenten konnten beim Zwitterion **71** Signale gefunden werden, die eindeutig auf die Wechselwirkung der beiden sich gegenüberliegenden Rückgrate zurückzuführen sind, die bei der geschützten Form **70** fehlen. Beispielsweise konnte man im Zwitterion **71** starke Signale zwischen den beiden Alkylgruppen der Aminosäureseitenketten beobachten. Außerdem fand sich ebenfalls ein Signal zwischen den beiden Pyrrol-NHs. Der größte Unterschied zwischen der geschützten und ungeschützten Form zeigte sich beim Vergleich der Aminosäureamid-NHs. Während man beim Valinamid-NH Signale sowohl zu der Methylgruppe des Alanin als auch zu den beiden unterschiedlichen Typen der Methylengruppen in dem Butyllinker findet, ist beim Alaninamid-NH nur ein Signal zu der Methylgruppe des Alanins zu finden. Weder zu der Isopropylgruppe des Valins noch zu den Methylengruppen des Linkers kann man Signale finden.

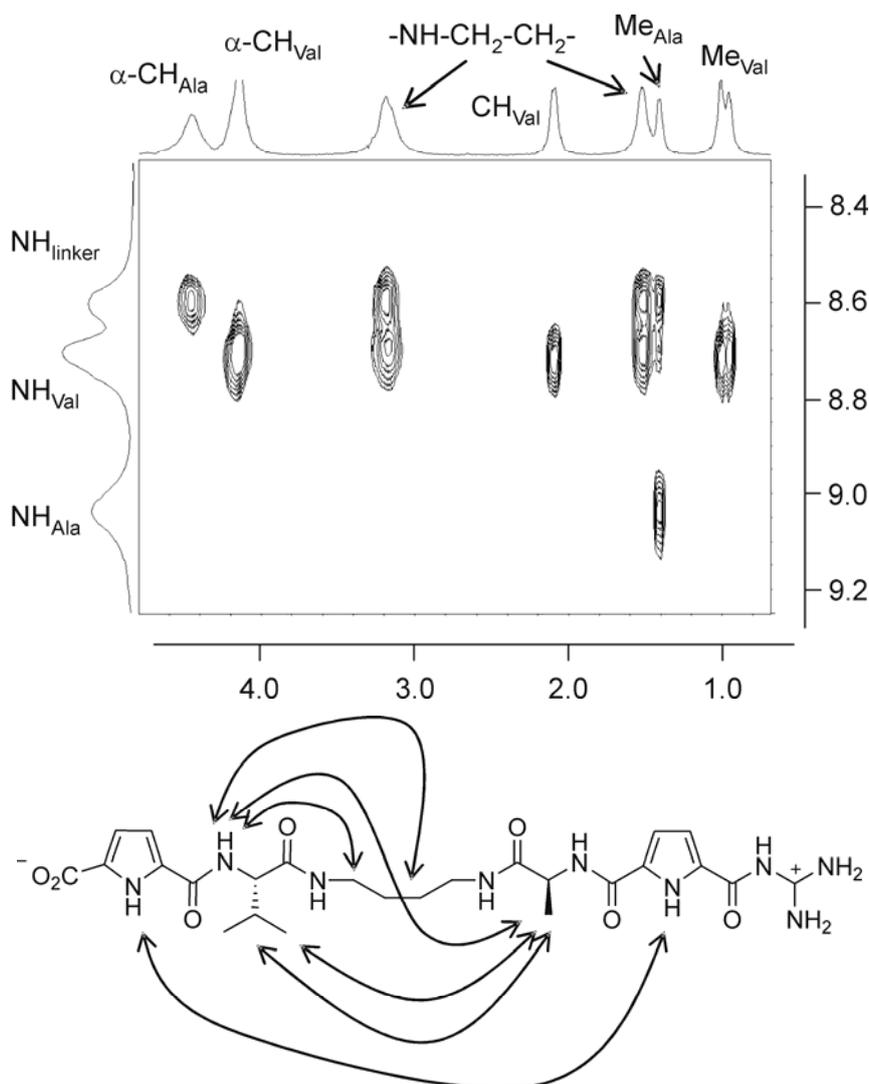


Abb. 3.17: Oben: Teil des NOESY-Spektrums von **71** (600 MHz, CD_3OH , Raumtemperatur) zeigt für die beiden Aminosäureamide die unterschiedlichen NOEs. Unten: Schematische Darstellung der einzelnen Wechselwirkungen im Molekül. Reproduced with permission. Copyright 2007 Wiley InterScience.

Die Ergebnisse der NOESY-Experimente zeigen eindeutig, dass eine Schleife vorliegen muss, andernfalls könnte man keine NOE-Signale zwischen den beiden Pyrrol-NHs oder den beiden Alkylgruppen der Aminosäureseitenketten beobachten. Keine der in Abb. 3.17 gezeigten Wechselwirkungen findet man im NOESY der geschützten Form **70**.

Auch durch die Kopplungskonstanten konnte man Informationen zur Struktur der beiden Verbindungen **70** und **71** erhalten. Während man zwischen dem Valinamid-NH und dem $\alpha\text{-CH}$ des Valins des Zwitterions **71** einen starken Anstieg der Kopplungskonstante von $^3J = 7.3$ zu 8.6 Hz (in CD_3OH) beobachten kann, verändert sich die Kopplungskonstante der geschützten Form gerade mal von 7.9 auf 7.6 Hz. Dies ist ein Indiz, dass bei der entschützten Form eine größere Ordnung im Molekül vorliegt als in der geschützten Verbindung.

Ein H/D-Austauschexperiment konnte auch die unterschiedliche chemische Umgebung der Aminosäureamid-NHs belegen. Die Kinetik, mit der ein Amid-NH mit dem Solvents austauscht, hängt davon ab, wie das Wasserstoffatom abgeschirmt ist.^[111] In der Tat konnte beobachtet werden, dass das Alaninamid-NH bei Zugabe von D₂O zu einer NMR-Probe der entschützten Verbindung **71** schneller das Proton gegen ein Deuterium austauschte als es beim Valinamid-NH der Fall war. Dies lässt vermuten, dass das Valinamid-NH Wasserstoffbrückenbindungen wie in Abb. 3.19 gezeigt ausbildet, wohingegen das Alaninamid-NH nur mit dem Solvents wechselwirkt. Auch die beiden Butylen-NHs wechselwirken mit dem Lösungsmittel viel langsamer und beide mit der gleichen Kinetik. Aufgrund dessen, dass sie weniger azide sind als die Aminosäureamid-NHs, kann man keinen direkten Vergleich zwischen diesen beiden Gruppen anstellen, jedoch kann man wegen des gleich schnellen Austausches mit dem Solvents vermuten, dass die beiden Butylen-NHs eine ähnliche Umgebung haben.

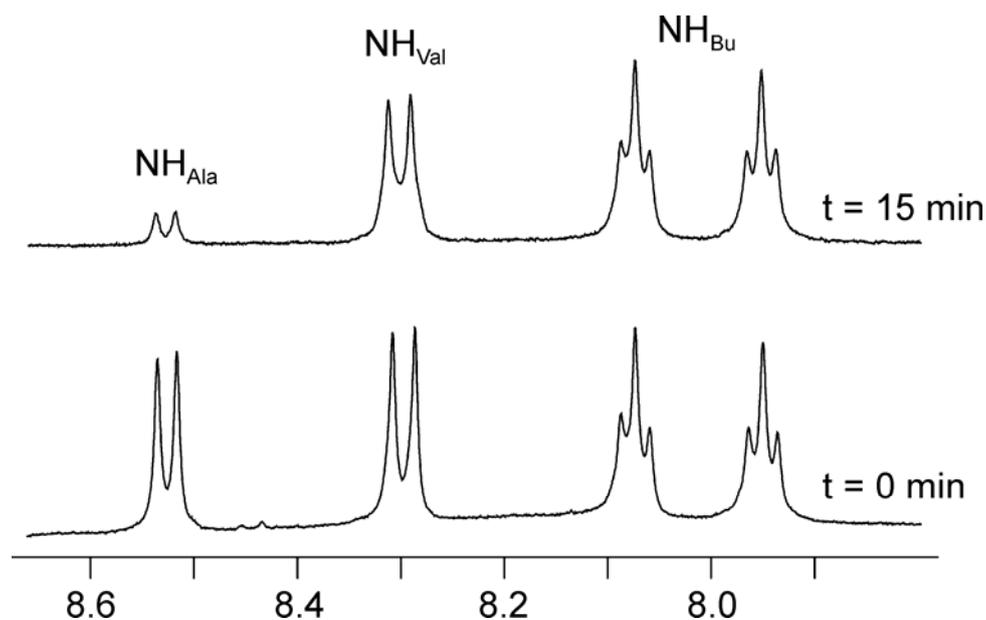


Abb. 3.18: H/D Austauschexperiment von **71** (D₂O wurde zu einer 10 mM Lösung von **71** in [D₆]DMSO bei Raumtemperatur gegeben, 400 MHz). Reproduced with permission. Copyright 2007 Wiley InterScience.

Mit Hilfe von Kraftfeld-Berechnungen [Macromodel V8.0, MMFFs Kraftfeld, GB/SA Wasser als Solvents, MC Konformationssuche mit 100.000 Schritten] konnte eine Struktur berechnet werden, die mit den experimentellen Daten im Einklang steht. Die energieminierte Struktur, welche in Abb. 3.19 gezeigt ist, stimmt mit den Erkenntnissen aus den oben beschriebenen Experimenten überein. Die beiden Alkylgruppen der Aminosäureseitenketten

zeigen beide zueinander und ergeben somit im NOESY ein Signal. Wohingegen das Valinamid-NH nach innen gerichtet ist und eine Wasserstoffbrückenbindung zu dem Carbonylsauerstoffatom des Pyrrols am anderen Ende ausbildet, zeigt das Alaninamid-NH nach außen. Wie das H/D-Austausch Experiment es auch deutlich gemacht hat, kann dadurch das Alaninamid-NH viel leichter mit dem Solvents wechselwirken und kein Signal im NOESY zu dem Valinamid-NH zeigen. Nur das Valinamid-NH hatte ein Kreuzsignal im NOESY zu der Methylgruppe des Alanins. Auch die unterschiedlichen 3J Kopplungskonstanten in der geschützten Form **70** und der ungeschützten Form **71** zwischen den beiden Amind-NHs können wie in Abb. 3.19 gezeigt auf die unterschiedliche Umgebung zurückgeführt werden. Während sie sich beim Alaninamid-NH nicht stark ändert, findet beim Valinamid-NH eine Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung statt.

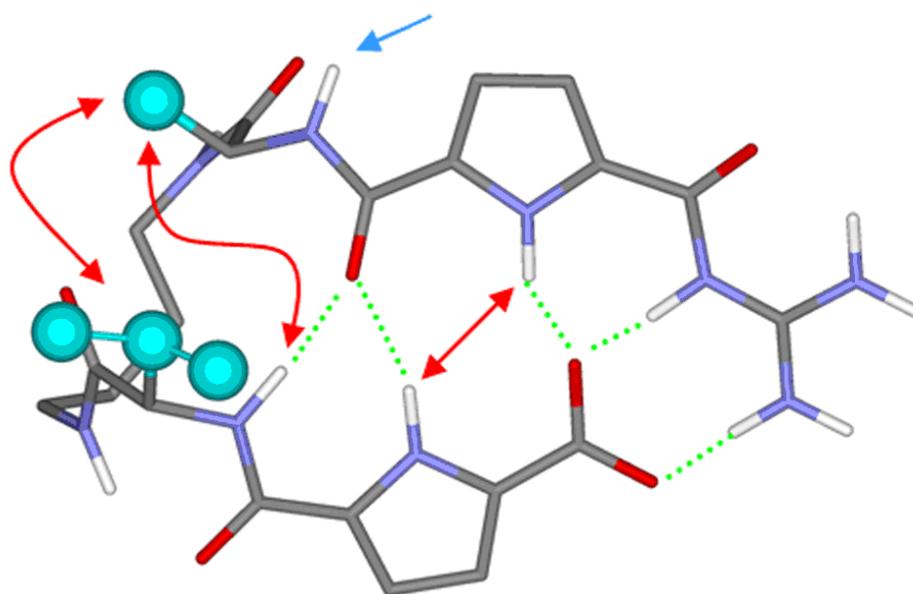


Abb. 3.19: Gerechnet Struktur des Zwitterions **71**. Die grün gestrichelten Linien zeigen die intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen. Die roten Pfeile markieren die im NOESY-Experiment gesehenen Signale. Durch den blauen Pfeil ist das schnell austauschende Alaninamid-NH, das nach außen gerichtet ist, gezeigt. [nicht-polare Wasserstoffatome wurden wegen der besseren Übersicht weggelassen]. Reproduced with permission. Copyright 2007 Wiley InterScience.

Es ist bemerkenswert, dass die Schleifenstruktur des Zwitterions **71** auch in polaren und protischen Lösemittel wie Methanol ausgebildet werden kann. Eine MD-Simulation (300 K, 500 ps, Wasser als Solvents) wurde ebenfalls durchgeführt, um festzustellen wie flexibel die Schleife ist. Wie in Abb. 3.20 gezeigt bleibt die Grundstruktur auch über einen größeren

Zeitraum von 500 ps erhalten. Die Wechselwirkungen zwischen der Carboxylat- und Guanidiniogruppe bleiben über den gesamten Zeitraum erhalten.

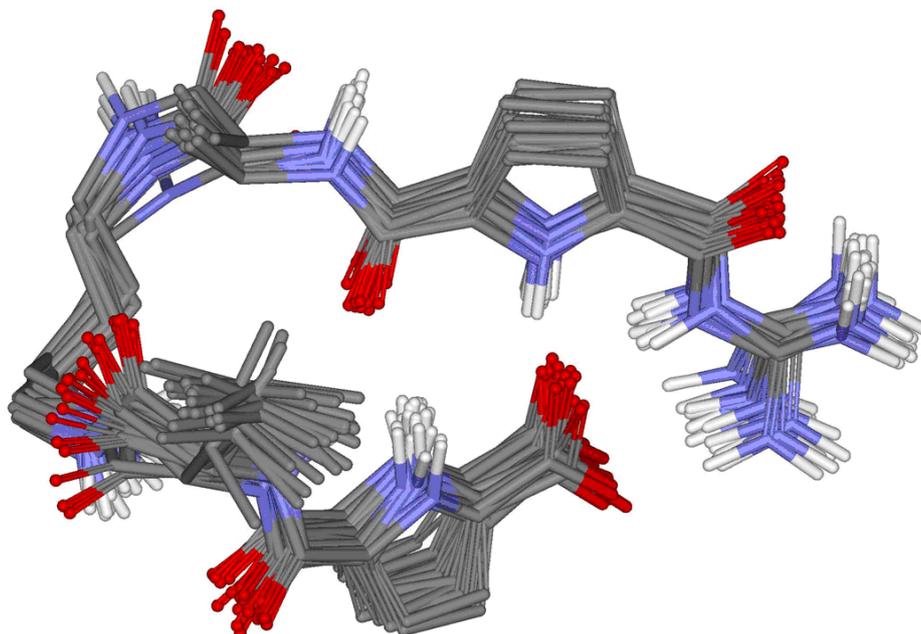


Abb. 3.20: MD-Simulation (500ps bei 300 K) der Zwitterionenstruktur 71. Jede 20 ps wurde eine Aufnahme gemacht und die in dieser Darstellung zusammengefasst. [nicht-polare Wasserstoffatome wurden wegen der besseren Übersicht weggelassen]. Reproduced with permission. Copyright 2007 Wiley InterScience.

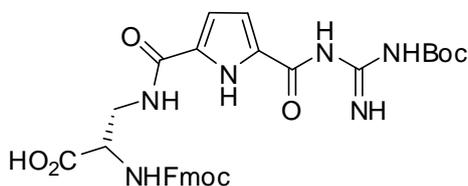
In diesem Abschnitt wurde erfolgreich zunächst ein flexibles lineares Molekül synthetisiert, das nach Abspaltung der Schutzgruppen sogar in protischen Lösemittel selbstständig eine Schleifenstruktur einnimmt. Durch das Verwenden eines Oxoanionenrezeptors, in Form des in unserem Arbeitskreis entwickelten Guanidiniocarbonylpyrrol konnte eine Ionenbindung zu einer Carboxylatgruppe ausgebildet werden. Zusätzlich zu den Erkenntnissen für die im Anschluss folgenden Oligopeptide kann man solche Systeme durch Einsetzen von photolabilen Linkern zu sogenannten Schalterverbindungen weiterentwickeln. Dabei sollte es möglich sein, die Struktur der Verbindungen mit Hilfe von unterschiedlichem Licht zu verändern und so zwischen einer „offenen“ und „geschlossenen“ Verbindung wie in Abb. 3.13 schematisch gezeigt zu steuern.

3.2 Oktapeptidbibliothek

Nach erfolgreicher Darstellung des Modellsystems wurde anschließend mit der Synthese der Oktapeptidbibliothek fortgefahren. Dafür wurde zunächst die für die Bibliothek benötigte künstliche C₁-Aminosäure **72** wie im folgenden Abschnitt synthetisiert.

3.2.1 Synthese der C₁-Aminosäure

Peptidomimetika haben in den letzten Jahren ein großes Interesse erlangt.^[112] Bei der Suche solcher Mimetika ist es Ziel, biologisch relevante Prozesse wie die Katalyse durch einfachere Moleküle nachzuahmen. Die natürlich vorkommende Aminosäure *L*-Arginin spielt eine wichtige Rolle bei den unterschiedlichsten physiologischen und metabolischen Prozessen und bei Enzymen. In der Arbeitsgruppe *Schmuck* wurde das Argininanalogon **72** entwickelt. Die Tatsache, dass Guanidiniocarbonylpyrrole eine viel stärkere Bindung zu Carboxylaten ausbilden als z.B. einfache Guanidine, macht diesen Baustein sehr interessant für die Einbindung in ein Oligopeptid. Dadurch sollten bei Katalysereaktionen Substrate mit Carboxylat-Gruppen viel besser gebunden werden als reine Guanidinreste dies können.^[109]



72

Abb. 3.21: Künstliches Argininanalogon **72** aus der Gruppe von *Schmuck*.

Das Fmoc-geschützte Argininanalogon **72** und das Cbz-geschützte Argininanalogon **77** wurden dabei nach folgendem Schema synthetisiert.^[89]

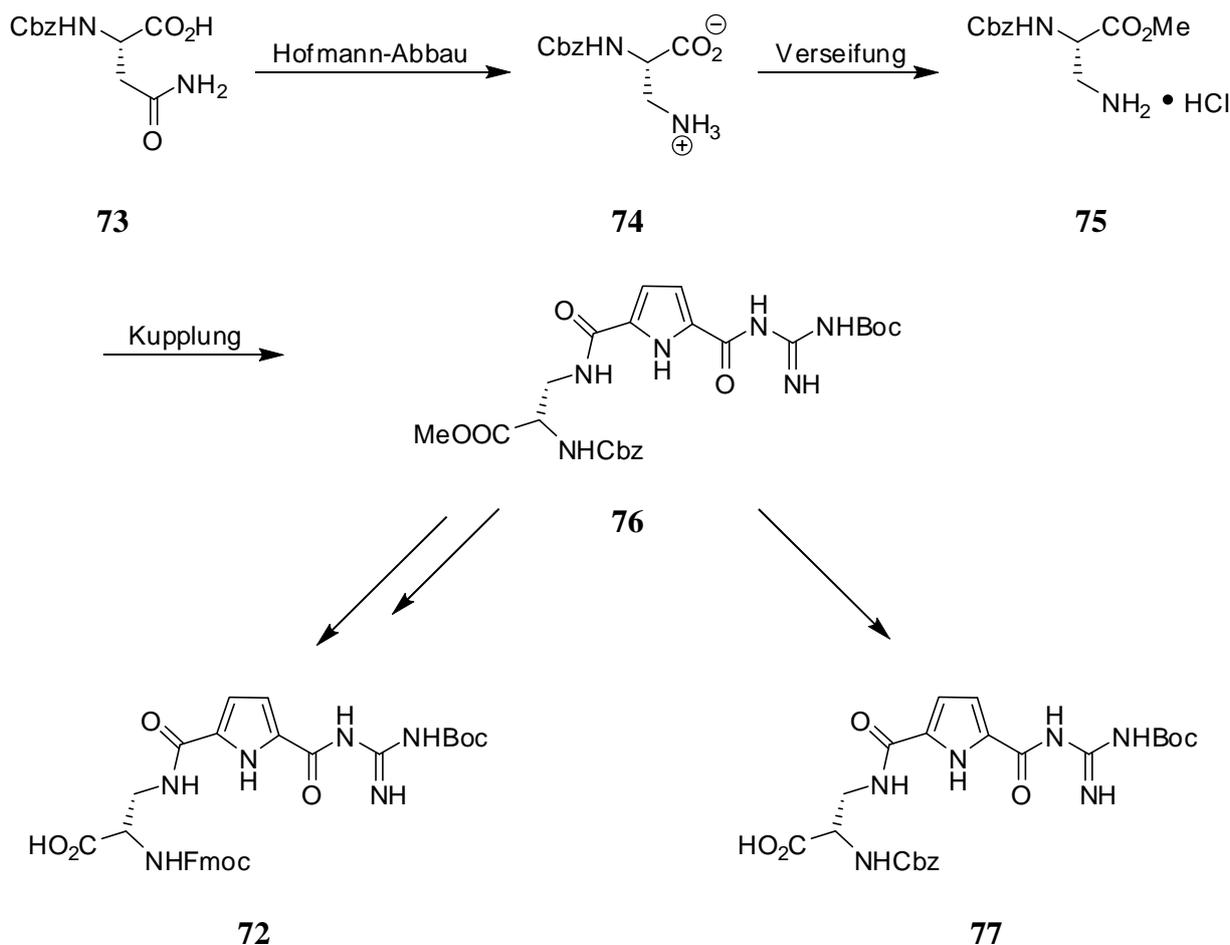


Abb. 3.22: Synthese der C₁-Analogons **72** und **77** als Bausteine für die Katalysatorbibliothek.

Bei der Synthese des Fmoc-geschützten Argininanalogons **72** ging man vom Cbz-geschützten Asparagin **73** aus. Durch die in der Literatur beschriebenen Bedingungen für den Hofmann-Abbau erhielt man mit Hilfe von Jodbenzoldiacetat (PIDA) die Aminoverbindung **74** in sehr guten Ausbeuten von 93 %.^[113]

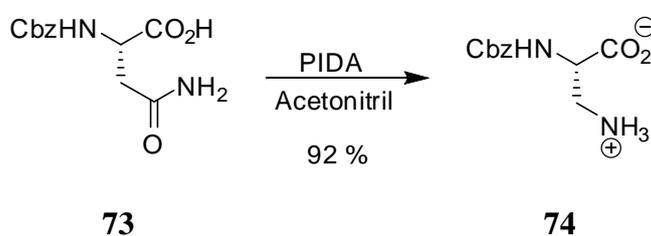


Abb. 3.23: Hoffman-Abbau des Cbz-geschützten Asparagins (**73**).

Anschließend wurde die Carbonsäure im Hoffman-Produkt **74** mit Thionylchlorid und katalytische Mengen an DMF über das Säurechlorid in Anwesenheit von Methanol als

Lösungsmittel und Nucleophil zum Methylester verestert. Dabei wurde **75** in sehr guten Ausbeuten von 90 % erhalten.^[114]

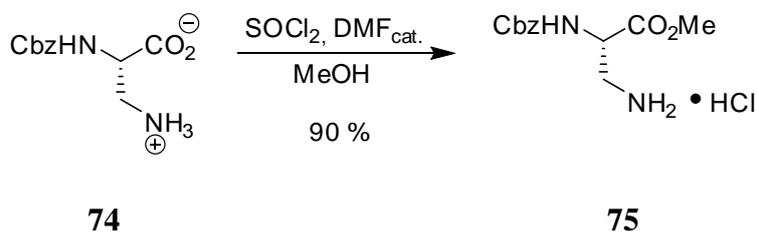


Abb. 3.24: Darstellung des Methylesters mit Thionylchlorid und katalytischen Mengen DMF.

Nach der Darstellung des Methylesters **75** wurde durch Hilfe des Kupplungsreagenzes PyBOP die Carbonsäurefunktion der Pyrrolverbindung **67** mit der Aminfunktion von **75** gekuppelt. Nach Rühren über Nacht erhielt man die Pyrrolverbindung **76** in sehr guter Ausbeute von 91 %.

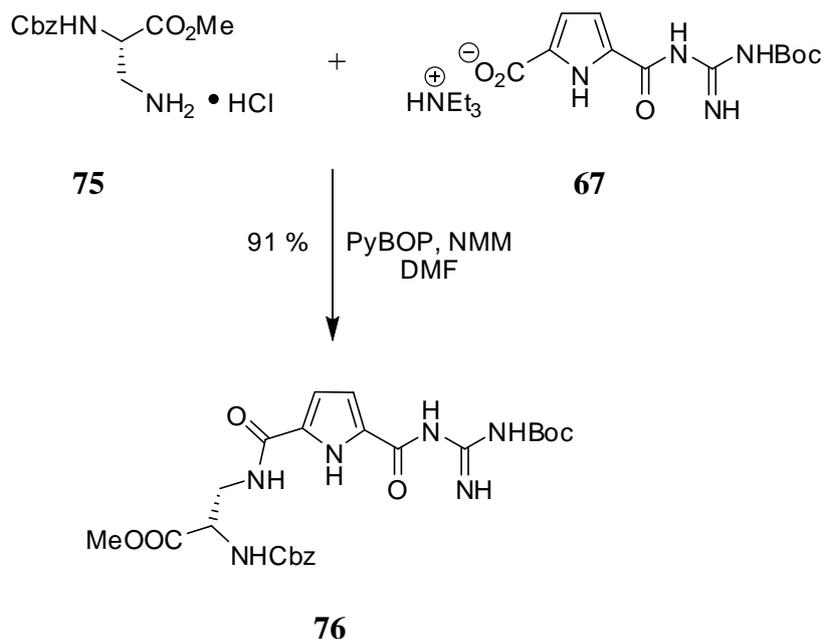


Abb. 3.25: Kupplung der beiden Bausteine **75** und **67** mit PyBOP als Kupplungsreagenz.

Für die Synthese der Oligopeptide an fester Phase war es notwendig, ausgehend von **76** nun zwei unterschiedliche Bausteine für die Synthese der Bibliothek zu synthetisieren. Die erste Verbindung ist die Fmoc-geschützte Verbindung **72**. Die andere ist die Cbz-geschützte Verbindung **77**. Die Fmoc-geschützte Verbindung **72** eignet sich sehr gut für die Anbringung an die feste Phase. Nach erfolgter Kupplung konnte man die Fmoc-Schutzgruppe leicht mit

Hilfe von Piperidin entfernen, so dass man im Anschluss eine weitere Aminosäure daran kuppeln konnte. Nach Kupplung der zweiten Verbindung (**77**) ließen sich keine weiteren Aminosäuren an die feste Phase anbringen, da die hier vorhandene Cbz-Schutzgruppe sich nicht mehr so leicht entfernen ließ.

Um das erste Argininanalogon **72** zu erhalten, musste zunächst der Benzylester des Pyrrolderivates **76** mit 10 % Pd/C als Katalysator durch Einleiten von Wasserstoff hydriert werden. Dabei erhielt man **78** mit einer Ausbeute von 97 %.

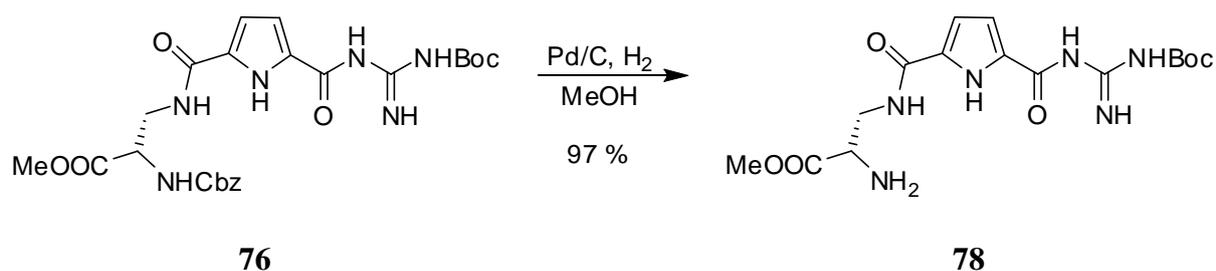


Abb. 3.26: Hydrierung des Benzylesters mit 10 % Pd/C.

Ausgehend von **78** erhielt man das Argininanalogon **72** in einer zwei Stufen Eintopfsynthese. Dafür wurde zunächst der Methylester mit Lithiumhydroxid in einer Mischung von THF und Wasser verseift. Nach Neutralisation der Lösung und anschließendem Lyophilisieren wurde die Aminfunktion zunächst mit einer Natriumcarbonatlösung deprotoniert und dann durch Zugabe von FmocCl die Aminfunktion geschützt. So erhielt man das Argininanalogon **72** nach mehrmaligem Extrahieren und säulenchromatographischer Reinigung mit einer mäßigen Ausbeute von 53 % über beide Stufen. Die mäßige Ausbeute kann man auf die aufwendigeren Reinigungsschritte (siehe Experimenteller Teil 7.4.5) und die weiter unten beschriebenen Probleme bei der Verseifung des Methylesters in der ersten Stufe zurückführen.

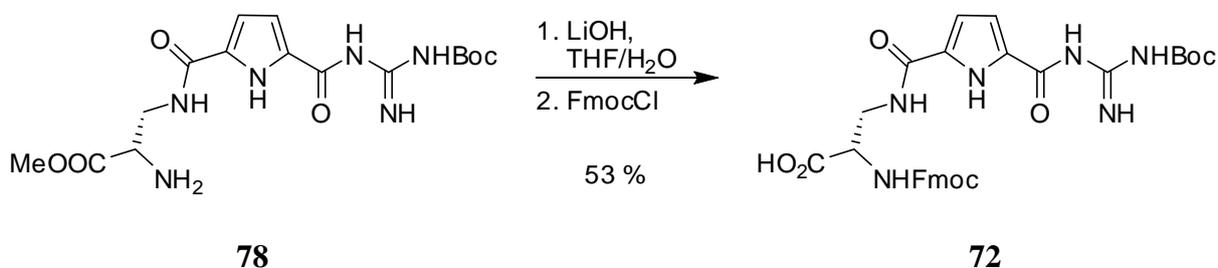


Abb. 3.27: Hydrolyse des Methylesters und anschließende Fmoc-Schützung der Aminfunktion.

Ausgehend von **76** konnte man das Cbz-geschützte Argininanalogon **77** leicht durch Verseifung des Methylresters mit Lithiumhydroxid in einer THF/Wasser Mischung erhalten. Dabei erhielt man **77** mit einer guten Ausbeute von 72 %. Im Reaktionsgemisch war noch Edukt vorhanden, das durch anschließend Reinigung entfernt wurde. Eine Verlängerung der Reaktionsdauer führte jedoch dazu, dass man weder das gewünschte Produkt **77** erhielt noch das Edukt reisolieren konnte, stattdessen wurden Zersetzungsprodukte erhalten. Die klare farblose Lösung wurde bei Verlängerung der Reaktionszeit trüb und schwarz. Auch nach Aufreinigung der in der Lösung befindlichen Substanzen konnten nur noch Teilfragmente von **76** und/oder **77** erhalten werden.

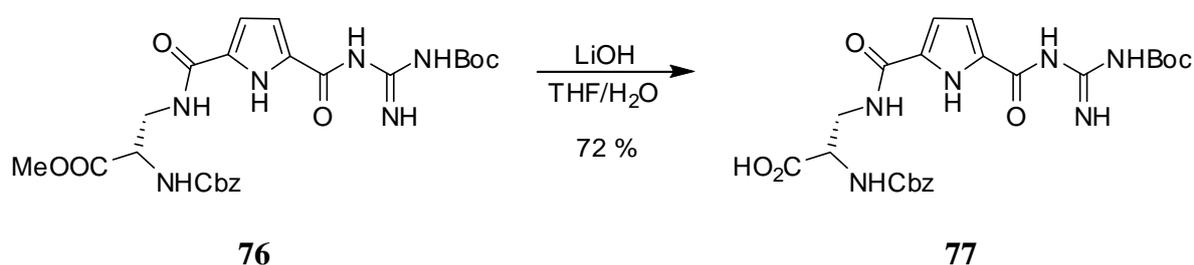


Abb. 3.28: Darstellung des Cbz-geschützten Argininanalogons **77**.

Wie in anderen Arbeiten unserer Gruppe bereits gezeigt wurde, ist das ^tBoc-geschützte Guanidin in Anwesenheit von Nucleophilen eine gute Abgangsgruppe, so dass auch hier ein nucleophiler Angriff der Hydroxygruppe auf das Carbonylkohlenstoff, an dem das geschützte Guanidin gebunden ist, vermutet werden kann.^[115, 116]

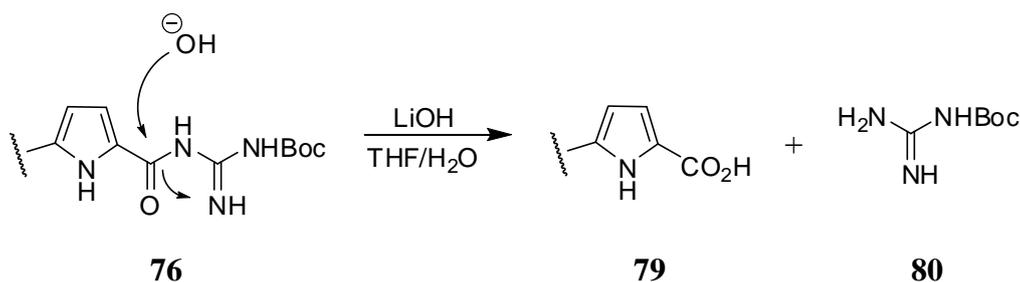


Abb. 3.29: Nucleophiler Angriff eines Hydroxidions und Abspaltung der ^tBoc-geschützten Guanidineinheit.

3.2.2 *Synthese der Oktapeptidbibliothek*

Die Synthese der 625 Mitglieder (5^4) umfassenden Oktapeptidbibliothek wurde mit der in unserem Arbeitskreis gut erprobten „Split and Mix“ Methode durchgeführt.^[90-93, 117] Das Amino-TentaGel diente dabei als feste Phase. Zur einfacheren Identifizierung der einzelnen Mitglieder wurde das Amino-TentaGel in 30 mg Portionen aufgeteilt und in IRORI *MikroKans* gegeben. Diese Kunststoffreaktoren bestehen aus Polyethylen, das mit einem feinen Gitter mit einem Durchmesser von 74 μm durchzogen ist. Dadurch können das zugegebene Lösemittel und die für die Reaktion benötigten Reagenzien durch diese Poren hindurchwandern. Wegen dieser Poren musste darauf geachtet werden, dass die Harzkügelchen nicht kleiner waren als der oben genannten Durchmesser, da sonst bei der Synthese der Bibliothek Harzverlust und somit Substanzverlust aufgetreten wäre. Außerdem hätte man so eine Durchmischung der Verbindungen innerhalb der unterschiedlichen Kunststoffreaktoren erhalten. Durch Vorversuche konnte gezeigt werden, dass eine durchschnittliche Größe der Harzkügelchen von 130 μm ausreicht, um das Durchschreiten der Harzkügelchen durch das Netz zu verhindern. Neben dem Harz wurde auch noch in jeden Kunststoffreaktor eine IRORI Radiofrequenzkodierung dazugegeben, wodurch die einzelnen Mitglieder identifizierbar waren. Die Radiofrequenzcodierung beruht auf einem Mikrochip, auf dem sich ein binärer elfstelliger Code befindet, der über einen speziellen Radiofrequenzpuls abgefragt werden kann. Um den Chip gegen Lösemiteleinflüsse und Temperaturänderungen inert zu machen, wurde er in eine Glashülle eingeschmolzen. Durch den Einsatz von 30 mg des Harzes kann man so leicht mikromolare Mengen jedes Mitglieds der Bibliothek erhalten.

Die Synthese der Oktapeptide erfolgte nach dem Standardprotokoll mit Fmoc-geschützten Aminosäuren und PyBOP als Kupplungsreagenz. Das Design der einzelnen Mitglieder ist in Abb. 3.30 gezeigt. Das zentrale Strukturelement der Oktapeptide an den Positionen 4 und 5 ist das Dipeptid *D*-Pro-Aib, das für die Faltung des Oktapeptides zu einem antiparallelen β -Faltblatt verantwortlich ist.^[85, 86, 117] An den Positionen 1, 3, 6 und 8 wurden jeweils fünf unterschiedliche Aminosäuren eingesetzt. Durch den Einsatz von Glycin in den Positionen 2 und 7 sollte verhindert werden, dass die Reste der benachbarten Aminosäure sich sterisch behindern, so dass sich ein β -Faltblatt besser ausbilden sollte. Bei den variablen Positionen (1, 3, 6 und 8) wurde darauf geachtet, dass ein breiteres Spektrum an Polarität, Hydrophobie und sterischem Anspruch abgedeckt wurde. Als polare Aminosäuren wurden Histidin, Serin,

Glutamin und Asparagin verwendet. Diese Aminosäuren können entweder mit ihren Resten in der Katalyse direkt einwirken oder bei der Ausbildung der Sekundärstruktur, wie zum Beispiel durch Ausbilden von Ionenwechselwirkungen oder Ähnlichem, helfen. Die beiden unpolaren Aminosäuren Phenylalanin und Valin können eine kleine unpolare Microumgebung schaffen oder auch durch ihre größeren Reste zwischen unterschiedlichen Substraten unterscheiden. Neben den genannten Aminosäuren wurde auch das in unserer Gruppe entwickelte Argininanalogon **72**, das ebenfalls als Fmoc-geschützte Form vorlag, eingesetzt.

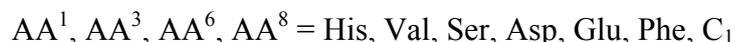
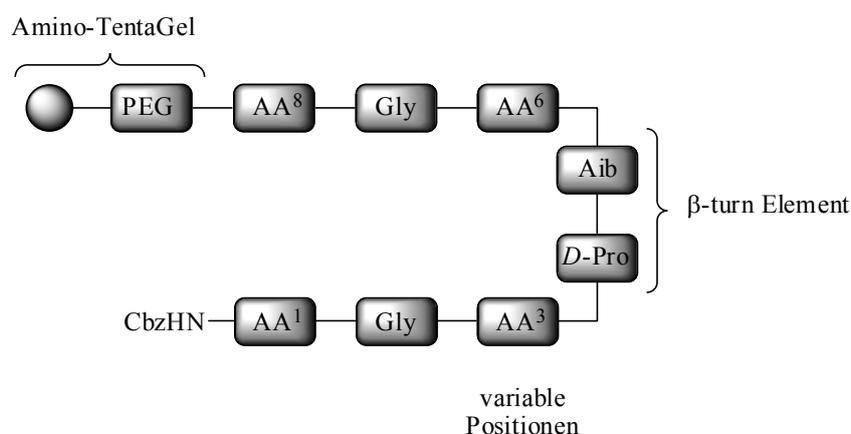


Abb. 3.30: Schematischer Aufbau der Oktapeptide.

Zunächst wurde eine isopyknotische Lösung (die Dichte des Lösemittels entspricht exakt der Dichte des Harzes) aus Amino-TentaGel in Dichlormethan und Hexan (1:8) hergestellt und zwar so, dass jeweils 30 mg Harz in 300 μL Lösung enthalten waren. Anschließend wurden in jedes *MikroKan* 400 μL der isopyknotischen Lösung gegeben, damit alle Reaktoren die gleiche Menge an Harz enthielten. Auf der Basis von Amino-TentaGel (130 μM) wurden nach Standardprotokoll mit Fmoc-geschützten Aminosäuren und PyBOP als Kupplungsreagenz die ersten sieben Aminosäuren jeder Verbindung an die feste Phase gebunden.^[90, 97] Die achte Aminosäure verlief ebenfalls nach Standardprotokoll, jedoch wurde statt der Fmoc-geschützten die Cbz-geschützte Aminosäure verwendet. Die Cbz-Schutzgruppe stellt auf der einen Seite eine Gruppe dar, die mit den weiter unten beschriebenen Bedingungen nicht abgespalten werden konnte. Außerdem wäre es jederzeit dennoch möglich, durch Verwenden einer Lösung bestehend aus 0.1 % TFMSA in TFA die vorhandene Cbz-Schutzgruppe abzuspalten, wobei man eine neue funktionelle Gruppe

erhalten würde, die sich dann bei der Katalyse beteiligen kann.^[118] Für die schnelle, qualitative Analytik wurde ein Kaisertest durchgeführt, mit dem man freie Aminofunktionen am polymeren Träger detektieren kann. Bei Anwesenheit von freien Aminofunktionen färben sich die Polymerkügelchen tiefblau. Jeder Kupplungsschritt hatte eine Reaktionszeit von 24 h. Vor dem nächsten Kupplungsschritt wurde die Fmoc-Schutzgruppe mit eine 20 %igen Lösung von Piperidin in DMF abgespalten. In der unten folgenden Tabelle sind die Aminosäuren gezeigt, die bei jeder Position zum Einsatz kamen.

Tab. 3.1: Darstellung der bei den unterschiedlichen Positionen verwendeten Aminosäuren.

Position	Verwendete Aminosäuren
1	Fmoc-C ₁ , Fmoc-His, Fmoc-Glu, Fmoc-Val, Fmoc-Ser
2	Fmoc-Gly
3	Fmoc-C ₁ , Fmoc-His, Fmoc-Asp, Fmoc-Phe, Fmoc-Ser
4	Fmoc-D-Pro
5	Fmoc-Aib
6	Fmoc-C ₁ , Fmoc-His, Fmoc-Glu, Fmoc-Phe, Fmoc-Ser
7	Fmoc-Gly
8	Fmoc-C ₁ , Fmoc-His, Fmoc-Asp, Fmoc-Val, Fmoc-Ser

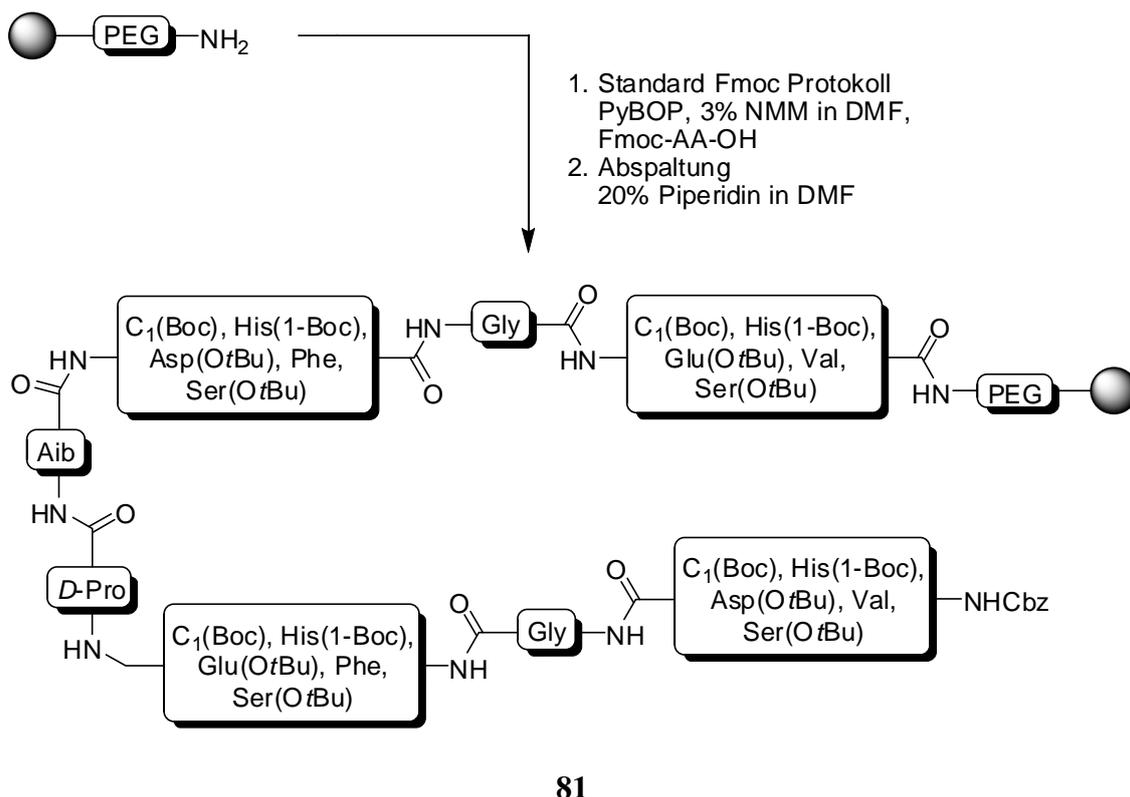


Abb. 3.31: Synthese der 625 Mitglieder umfassenden Bibliothek **81** auf Amino-TentaGel.

Nach erfolgreicher Synthese der Bibliothek wurden die in den *MikroKans* befindlichen Harzkügelchen intensiv mit Dichlormethan, Diethylether und Methanol gewaschen, um letzte Reste an Reagenzien und DMF zu entfernen. Danach wurden noch alle *t*Bu- und Boc-Schutzgruppen in den Seitenketten mit einer Lösung von 50 % Trifluoressigsäure in Dichlormethan 4 h bei Raumtemperatur abgespalten. Nach erneutem intensivem Waschen der Harzkügelchen mit Dichlormethan wurden die *MikroKans* im Membranpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wurden die einzelnen Mitglieder der Bibliothek mittels der Scanning Station *AccuTag*TM 100 sortiert, archiviert und unter Argonatmosphäre im Kühlschrank gelagert.

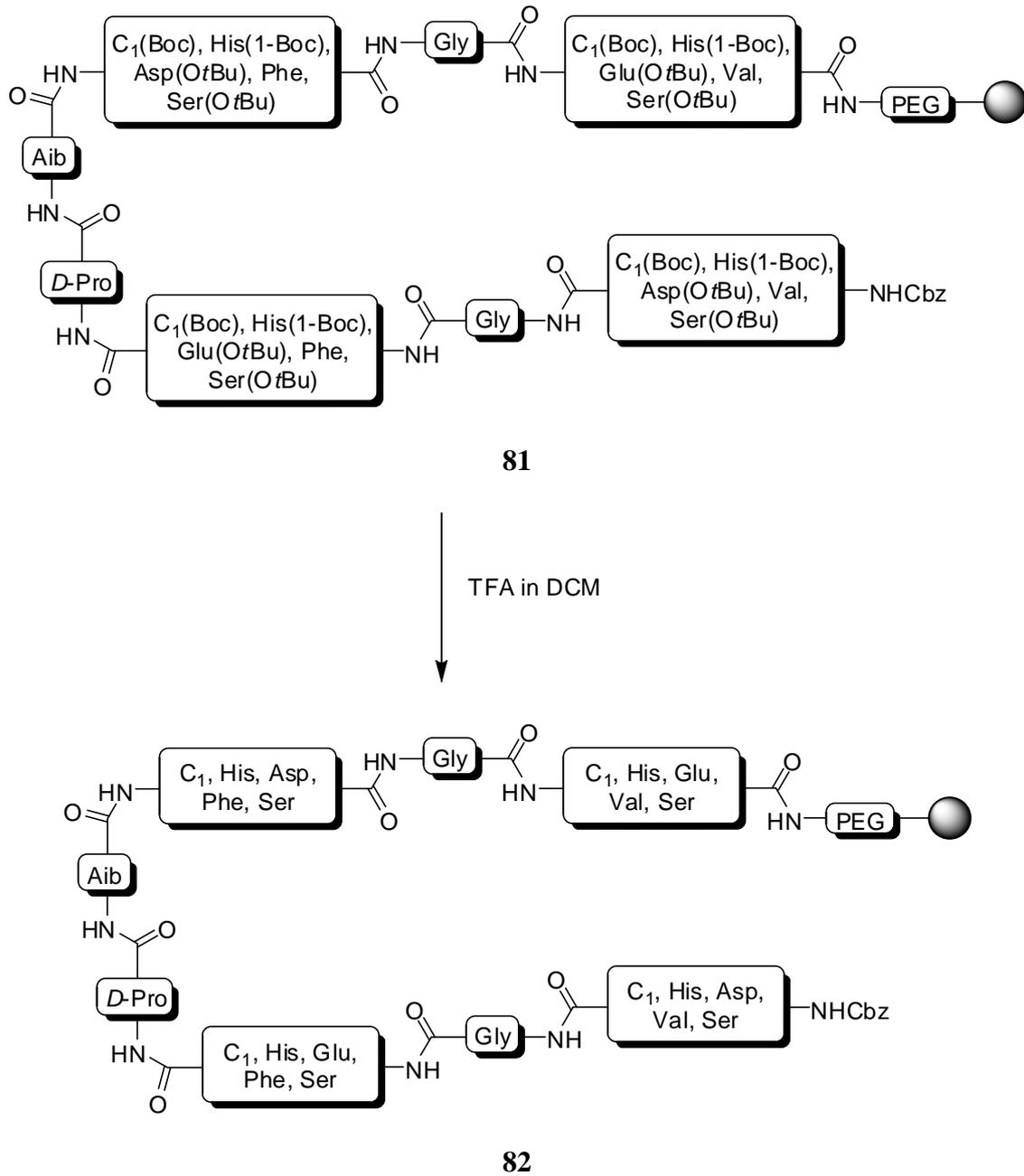


Abb. 3.32 Entschützung der Bibliothek mit TFA in Dichlormethan.

3.3 Phosphatesterspaltung

Nach der erfolgreichen Synthese der Katalysatorbibliothek **82**, wurden mit Hilfe von Fluoreszenz- und UV-Spektroskopie die Katalyseeigenschaften der einzelnen Bibliotheksmitglieder für unterschiedliche Reaktionen untersucht. Bevor man einzelne Oktapeptide in Lösung auf Ihre Katalyseeigenschaften hin testen konnte, mussten folgende zwei Probleme gelöst werden. Zunächst musste man herausfinden, welche Oktapeptide die beste katalytische Aktivität besitzen und welches die besten Bedingungen wie Konzentration, pH-Wert und Temperatur sind. Dies ist notwendig, da bei einem falschen pH-Wert zum Beispiel die Reaktion unter Umständen gar nicht abläuft. Auch ist es möglich eine Katalyse zu beobachten, die jedoch lediglich auf eine Basenkatalyse bedingt durch den pH-Wert zurückzuführen ist. Deshalb musste vor den Messungen in Lösung die Bibliothek gescreent werden, um die besten Katalysatoren und die besten Bedingungen herauszufinden.

In den beiden folgenden Abschnitten werden zwei Hydrolysereaktionen vorgestellt, deren Reaktion mit Hilfe von Oktapeptiden stark beschleunigt werden kann. Die erste Reaktion ist die Phosphatabspaltung, eine in der Natur weit verbreitete Reaktion, die meistens durch Phosphatasen katalysiert wird. Die zweite Reaktion, die im Abschnitt 3.4 diskutiert wird, ist die Esterhydrolyse.

3.3.1 Screening

Im Arbeitskreis *Berkessel* wurde ein Indigo-Screening entwickelt, in welchem das Indolderivat **83** durch Hydrolyse und anschließender Luftoxidation zu einem Indigoderivat **84** umgewandelt wird (Abb. 3.33).^[98] Dieser intensiv blaue Farbstoff bleibt teilweise an den Harzkügelchen hängen oder schwimmt als Flocken im wässrigen Milieu herum.

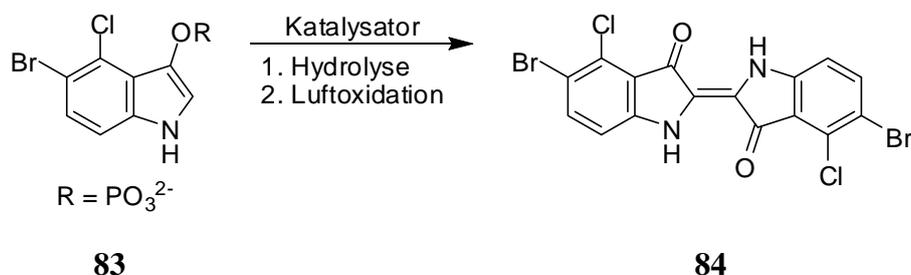


Abb. 3.33: Bildung des Indigoderivates **84** durch Hydrolyse und anschließende Luftoxidation.

Für das Vorscreening wurden einige *MikroKans* geöffnet, aus jedem eine geringe Menge Harz entnommen und in ein paar „well-plates“ hineingegeben, so dass man dadurch bereits geeignete Bedingungen für die Katalyse erhielt. Danach wurde zu den Harzkügelchen das gelöste Indolderivat **83** hinzugegeben. Für die Indollösung wurde das Indolderivat in unterschiedliche Puffer bei unterschiedlichen pH-Werten gelöst. Die besten Unterschiede zwischen den eingesetzten Mitgliedern hat man bei einem pH-Wert von 6.0 erhalten. Für diesen Bereich eignet sich sehr gut der BisTris-Puffer. Beim Vorscreening wurde auch festgestellt, dass eine Inkubationszeit von mehr als 48 h keinen Sinn macht, weil ab diesem Zeitpunkt alle Harzkügelchen anfangen sich bläulich zu verfärben und eher davon ausgegangen werden kann, dass hier eine Katalyse eingesetzt hat, die mit den Oktapeptiden auf den Harzkügelchen nichts mehr zu tun hat.

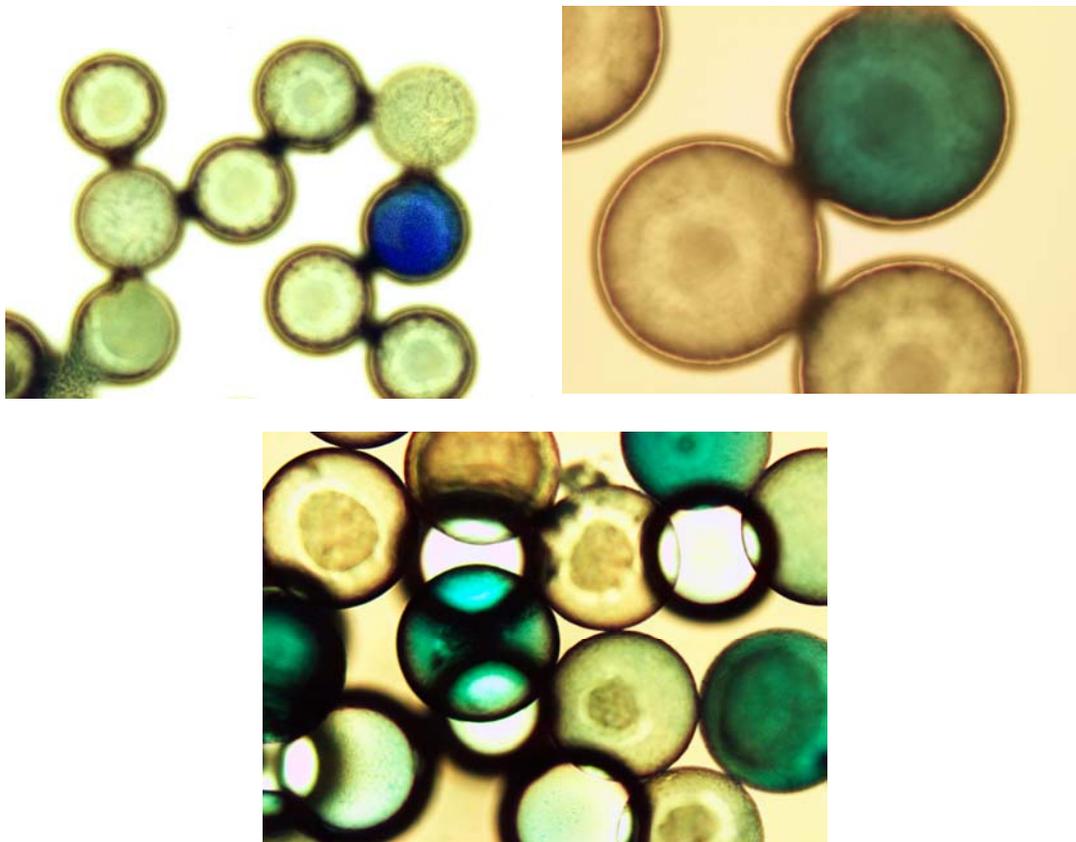
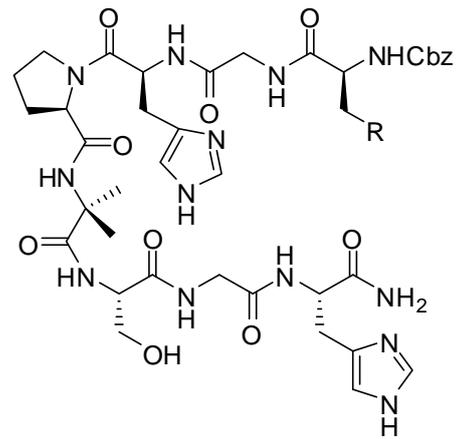
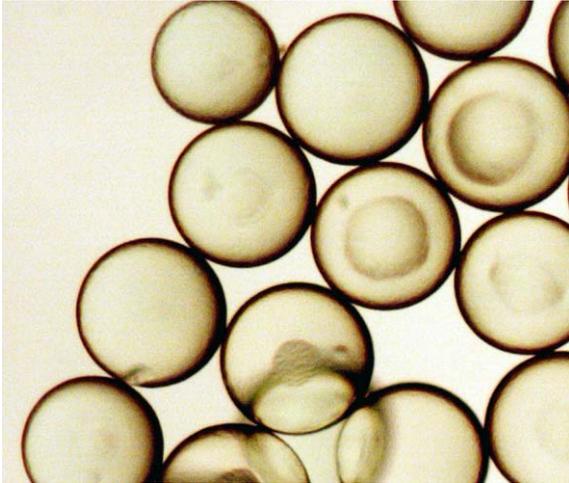


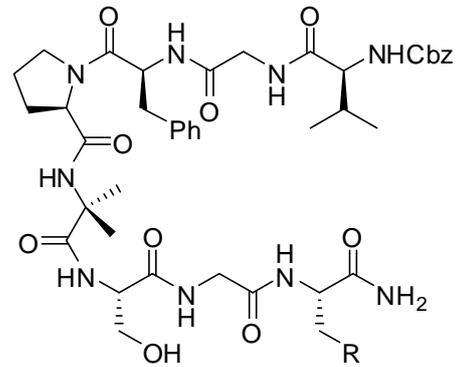
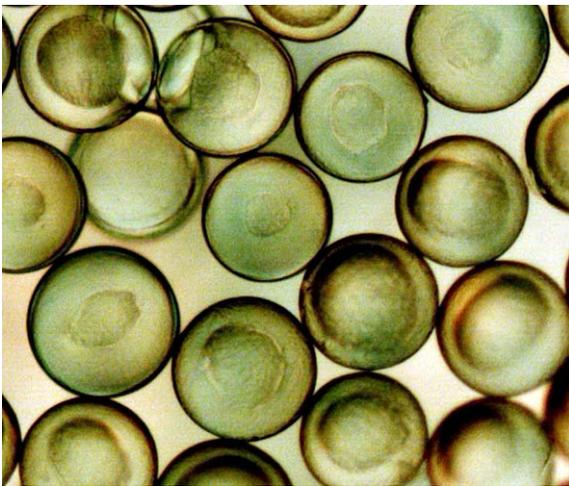
Abb. 3.34: Bilder vom Vorscreening. Als Lösemittel wurde BisTris-Puffer 10 mM in Wasser verwendet. Das Indigoderivat wurde zum Puffer dazugegeben, so dass man eine 1 mM Lösung erhielt. Die Bilder stellen unterschiedliche Zeitpunkte dar.

Danach musste herausgefunden werden, welche der 625 Mitglieder potente Katalysatoren sind. Für das Screening wurden einige Harzkügelchen der Mitglieder auf durchsichtige 96er Mikroplatten verteilt. Das Indolderivat **83** wurde in BisTris-Puffer gelöst, so dass man eine

1 mM Lösung erhielt und dann erst wurde der pH-Wert auf 6.0 eingestellt. In jedes „well-plate“ wurden 350 μ L dieser Lösung gegeben und die Harzkügelchen zwei Tage bei 30 °C inkubiert. Dabei musste jedoch darauf geachtet werden, dass die einzelnen Platten nicht verschlossen waren, da sonst kein Sauerstoff in Berührung mit der Reaktionslösung kommt und damit die Reaktion nicht ablaufen konnte. In unterschiedlichen Zeitabständen wurden die Kügelchen auf Blauverfärbungen untersucht und mit Hilfe eines Mikroskops mit aufgesetzter Kamera der Firma *Olympus* der jeweilige Stand festgehalten. Dadurch konnten einige potenzielle Kandidaten gefunden werden. Durch die Bewegung und Erschütterung der Mikroplatten kommt es dazu, dass das Indigo von den Harzkügelchen abfällt und dabei als Flocken in der Lösung schwimmt. Die Anzahl und Größe der Flocken ist neben der Blaufärbung der Harzkügelchen ebenfalls ein Indiz für die Stärke des Katalysators und damit eine größere Umsetzung des Substrates. In Abb. 3.35 und Abb. 3.36 sind Harzkügelchen von drei unterschiedlichen Katalysatoren nach 37 Stunden Inkubationszeit gezeigt. Diese zeigen das Wirkungsspektrum von keiner oder schwacher bis hin zu starker katalytischen Aktivität. Der Katalysator **87** zeigte bereits nach 14 Stunden deutlich gefärbte Harzkügelchen (Abb. 3.36a).



85



86

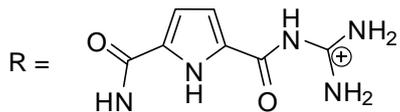


Abb. 3.35: Inkubation der Harzkügelchen in 1 mM Substratlösung in BisTris-Puffer bei pH 6.0 und 30 °C. Bilder sind nach 37 h aufgenommen. Oben: keine Katalyse vorhanden. Unten: mäßige Katalyse vorhanden.

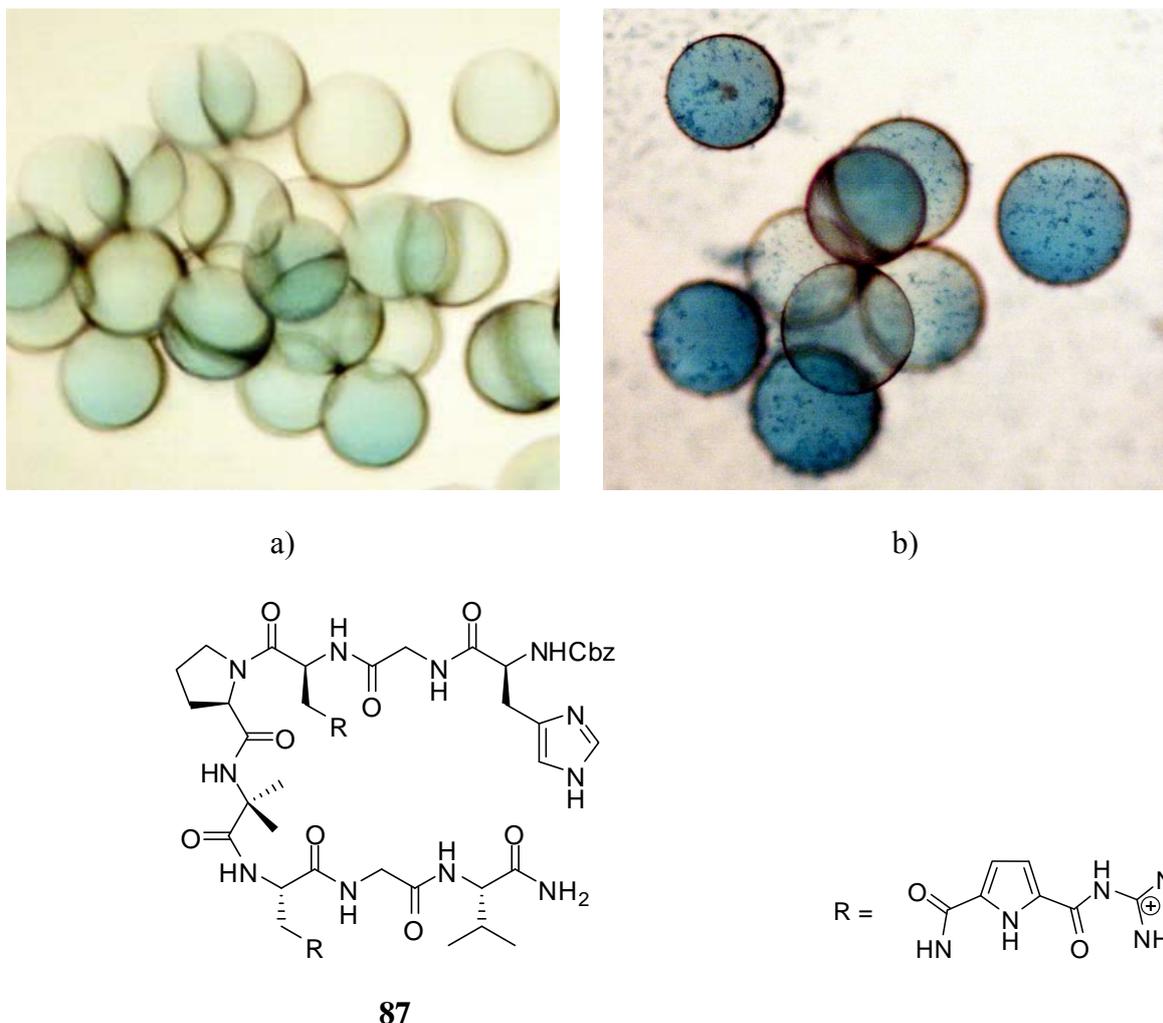


Abb. 3.36: *Bester Katalysator im Indigo-Screening. Inkubation der Harzkügelchen in 1 mM Substratlösung in BisTris-Puffer bei pH 6.0 und 30 °C. Bilder sind nach 37 h aufgenommen. a) Harzkügelchen nach 14h und b) Harzkügelchen nach 37h Inkubationszeit.*

Wie man in den obigen Abbildungen sehen kann, ist es mit einzelnen Mitgliedern der Bibliothek durchaus möglich die Hydrolyse des Monophosphatesters **83** zu katalysieren und damit zu beschleunigen. Interessanter Weise enthielten die meisten aktiven Sequenzen unser Argininanalogon **72** in Kombination mit entweder Serin oder Histidin. Zum Beispiel enthalten die in den Abb. 3.35 und Abb. 3.36 gezeigten beiden Katalysatoren **86** und **87** einmal beziehungsweise sogar zweimal unserer Argininanalogon **72** und entweder ein Serin (**86**) oder ein Histidin (**87**). Aufgrund dessen, dass das verwendete Substrat **83** eine negative Ladung besitzt, ist davon auszugehen, dass für die Bindung des Substrates eine kationische Bindungsstelle benötigt wird. Die beiden Aminosäuren Serin und Histidin scheinen die katalytisch aktiven Reste zu sein, denn bei Austausch dieser beiden Aminosäuren in den

Oktapeptiden **86** und **87** durch Valin oder Phenylalanin verlieren sie die gesamte katalytische Aktivität. Außerdem hängt die katalytische Aktivität von der Sequenz der Aminosäuren ab, was darauf schließen lässt, dass die Katalyse nach der Bindung des Substrates stattfindet und nicht nach einem unspezifischen Säure/Base-Mechanismus funktioniert. Dies sieht man an dem Oktapeptide **85**, das genauso wie die beiden anderen Oktapeptide **86** und **87** neben dem Argininanalogon aus der Gruppe von *Schmuck* auch die beiden wichtigen Aminosäuren Serin und Histidin enthält. Trotz dieser Gemeinsamkeiten besitzt dieses Oktapeptid keine katalytische Aktivität. Auch wenn man bei den beiden aktiven Organokatalysatoren **86** und **87** die Sequenz verändert, stellt man fest, dass keine Katalyse mehr stattfindet. In Abb. 3.37 ist die gerechnete Struktur des Organokatalysators **87** mit dem gebundenen Indolderivat gezeigt. Wie die Rechnung zeigt bildet das Oktapeptid ein β -Faltblatt aus. Eine mögliche Ursache für die gute Katalyseeigenschaft des Oktapeptides **87** ist die Kombination der beiden C₁-Aminosäuren in den Positionen AA³ und AA⁶ und des Imidazolringes des Histidins in Position AA¹ sein. Durch die beiden C₁-Aminosäuren kann die Phosphatgruppe sehr gut vorkoordiniert werden. Der Imidazolring wird hierbei als Base fungieren, wodurch das Lösungsmittel in geringen Mengen deprotoniert werden kann, das dann den Phosphatester spalten und damit die Reaktion zum beobachteten Indigofarbstoff auslösen kann.

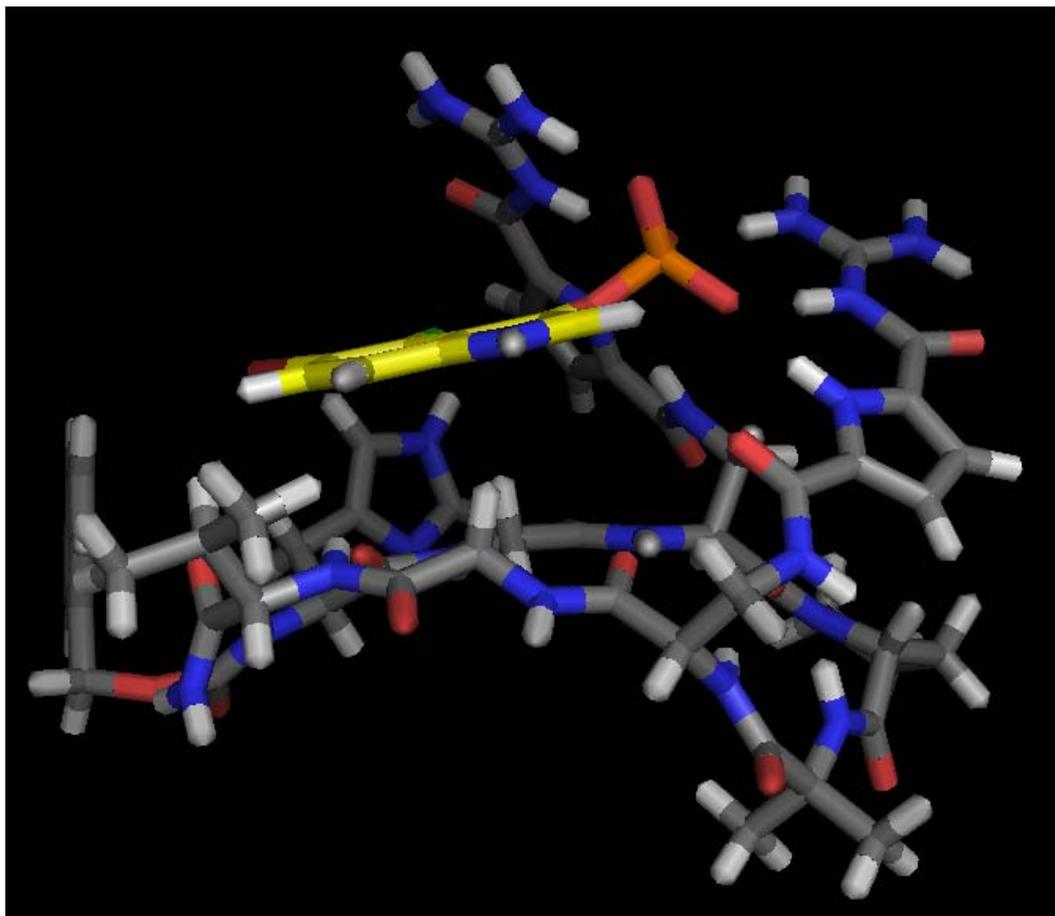


Abb. 3.37: Berechnet Struktur (Macromodel 8.0, Amber*, GB/SA Wasser als Solvent, Monte Carlo Suche mit 50.000 Schritten) des Oktapeptides **87** mit dem Substrat **83** (gelb).

3.3.2 Katalyse in Lösung

Nach dem das erfolgreiche Screening beendet war, wurden neben dem im Screening sehr guten Katalysator **87** noch die beiden Oktapeptide **92** und **93** für die Katalyse in Lösung in größeren Mengen nachsynthetisiert. Die Wahl fiel aus folgenden Gründen auf die beiden Oktapeptide. Mit dem Peptid **92** sollte man feststellen können, ob die im Katalysator **87** vorherrschende Sequenz wichtig bei der Katalyse ist. Mit dem zweiten Oktapeptid **93** müsste man erkennen, ob das in unserer Gruppe verwendete Argininanalogon **77** besser ist als das in der Natur vorkommende Arginin.

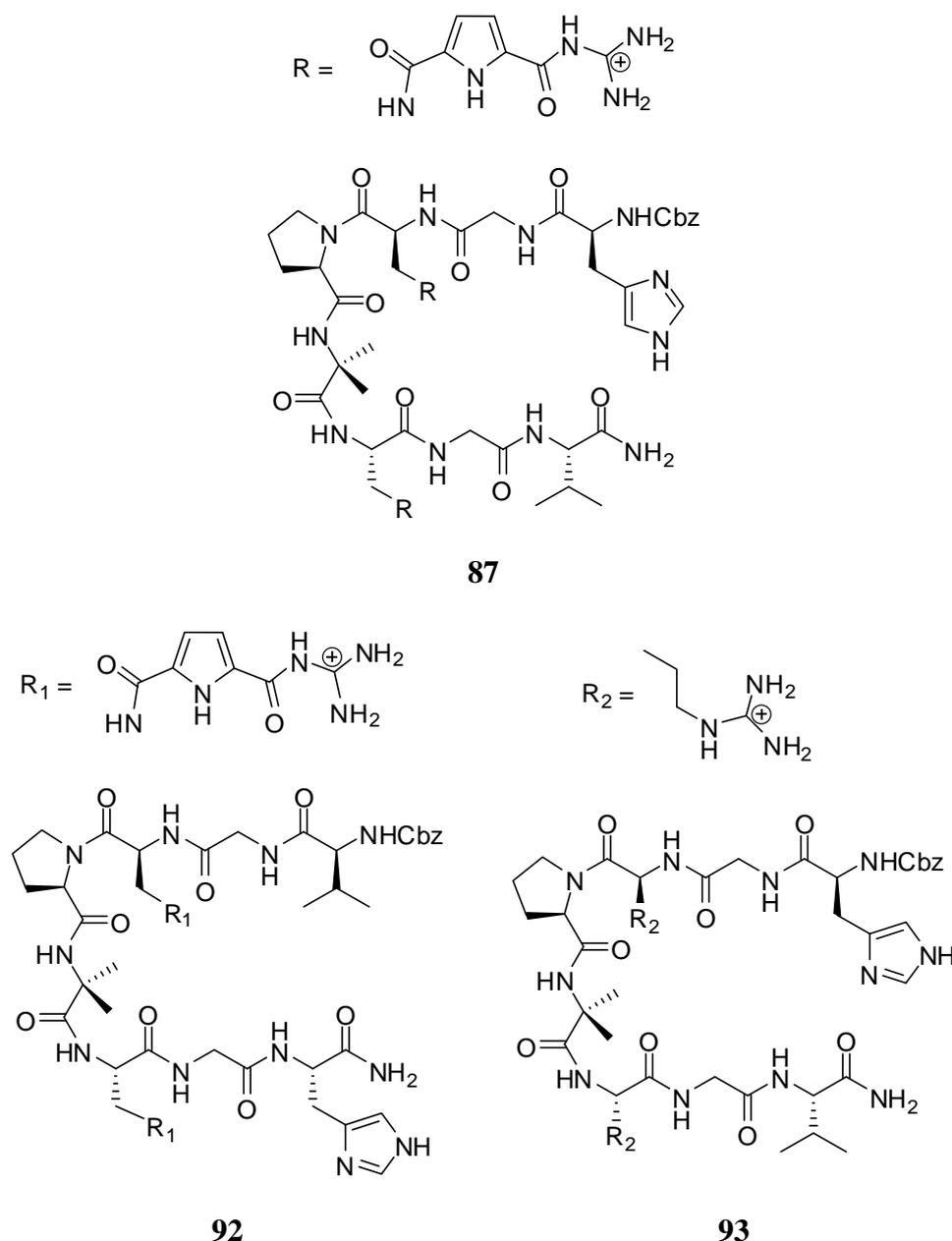


Abb. 3.38: Darstellung der drei Oktapeptide die für die Katalyse in Lösung an fester Phase nachsynthetisiert wurden.

Die drei Oktapeptide wurden wie die einzelnen Mitglieder der Bibliothek an fester Phase synthetisiert, jedoch wurde hier kein Amino-TentaGel als Harz verwendet, da man die Peptide so nicht mehr von der festen Phase abspalten könnte. Deshalb wurde als feste Phase RinkAmid-Harz verwendet. Nach dem Abspalten der Verbindung vom Harz bleibt eine Amidfunktion über, was den Bedingungen an der festen Phase nahe kommt. Es wurde auch hier nach Standardprotokoll gearbeitet und Fmoc-geschützten Aminosäuren benutzt. Die Organokatalysatoren wurden mit einer Lösung von 95 % TFA in Dichlormethan vom Harz

abgespalten und nach Aufarbeitung als farblose Feststoffe erhalten, die für die Katalysereaktionen eingesetzt werden konnten.

Für die Katalysereaktion in Lösung konnte nicht das Indolderivat **83** eingesetzt werden, da das Produkt wie oben beschrieben aus der Reaktionslösung ausfällt und somit eine quantitative Auswertung unmöglich wäre.

Deshalb wurde zunächst das Nitrophenolderivat **94** verwendet. Die Synthese des Nitrophenolderivat **94** ging aus vom Nitrophenol **95**. Nach mehrmaligem Behandeln mit einem Ionenaustauscher wurde eine nucleophile Addition der Phosphatgruppe an das 1,2-Epoxypropan **96** durchgeführt, so dass man das Nitrophenolderivat **94** in mäßigen Ausbeuten, die jedoch der Literatursausbeute nahe kommen, erhielt.^[119] Trotz dieser schlechten Ausbeute konnte genug Substanz synthetisiert werden, um die Katalysereaktionen durchführen zu können.

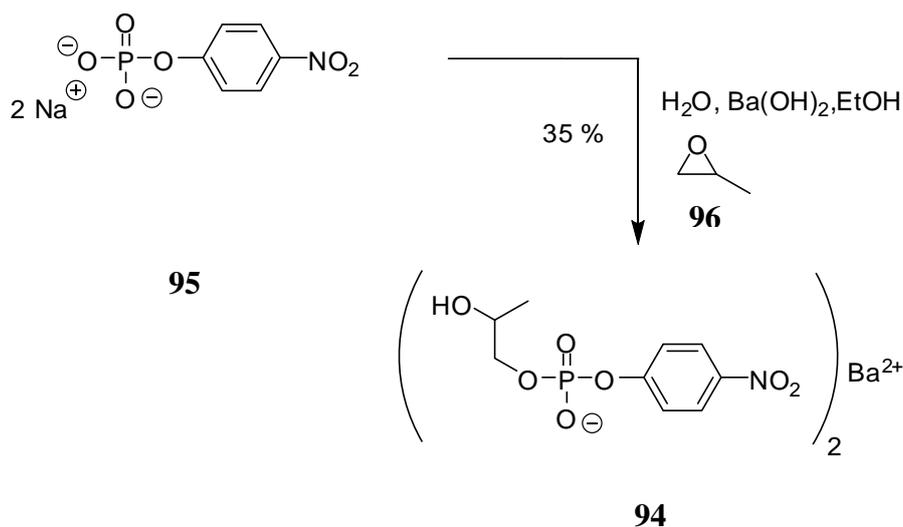


Abb. 3.39: Synthese des Substrates für die Katalyse in Lösung.

Dieses Substrat wurde gewählt, weil es bereits in anderen Arbeitsgruppen für die Hydrolyse von Phosphoestern erprobt und das Produkt bei der Hydrolyse mit Hilfe der UV-Spektroskopie leicht zu detektieren war (Abb. 3.40).^[120-123] Als Mechanismus bei der Reaktion nimmt man an, dass die Hydroxylfunktion des Nitrophenylderivates **94** entweder im deprotonierten oder protonierten Zustand die Phosphatgruppe nucleophil angreift und dabei das Nitrophenol **97** als Abgangsgruppe fungiert. Dabei entsteht auch ein cyclisches Phosphat **98**, das aber im UV-Spektrometer nicht sichtbar ist.

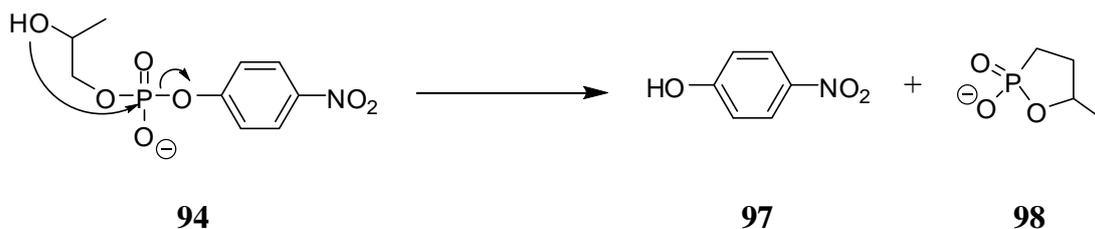


Abb. 3.40: Mechanismus bei der Hydrolyse des Phosphordiesters.

Bei der Katalysereaktion entsteht als Produkt das Nitrophenol, welches charakteristische UV-Banden abhängig vom pH-Wert hat. So zeigt das Nitrophenol **97** im Sauren ein Absorptionsmaximum bei 317 nm, wohin gegen das Absorptionsmaximum im Basischen bei 400 nm liegt (siehe Abb. 3.41) Aus unserer Arbeitsgruppe ist bekannt, dass Guanidiniocarbonylpyrrole eine Absorptionsbande um 300 nm haben. Nachdem beide UV-Banden, Substrat und Guanidiniocarbonylpyrrol, nahe beieinander liegen, macht es eine Messung der Veränderung dieser Substratbande (317 nm) schwierig. Nachdem aber bereits im Screening ein pH-Wert von 6.0 verwendet wurde und es das Ziel war, die Katalyse unter physiologischen Bedingungen durchzuführen wurde entschieden, die Veränderung der schwächeren UV-Bande bei 400 nm zu messen und damit die Auswertung der Spektren auch durchzuführen.

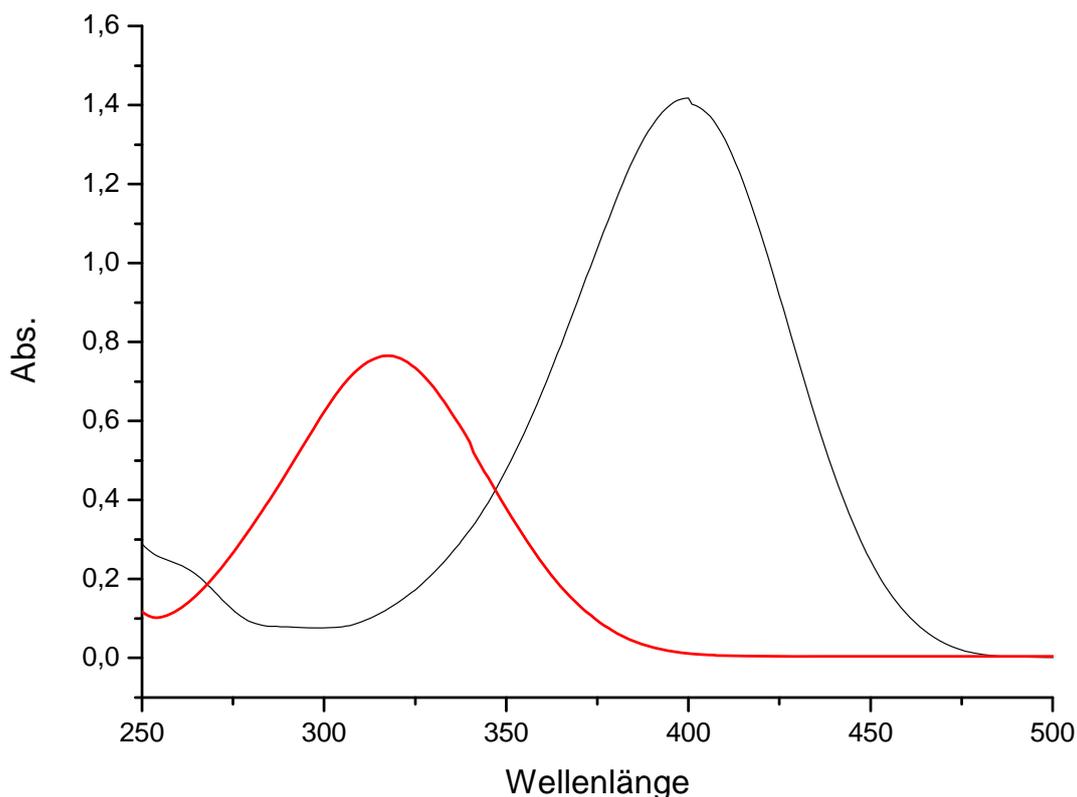


Abb. 3.41: UV-Spektrum des Nitrophenols im sauren (rot) und basischen (schwarz) pH-Bereich.

Obwohl die gleichen Bedingungen wie beim Screening verwendet wurden und trotz der oben gezeigten Vorteile dieses Substrates, konnte beim Einsatz der Peptide keine Katalyse beobachtet werden. Dies könnte daran liegen, dass die verwendeten Bedingungen beim Screening nicht die idealen Bedingungen in Lösung waren. Deshalb wurde versucht zunächst die Bedingungen zu variieren. So wurden neben Temperatur und Konzentration des Katalysators auch der pH-Wert und die Konzentration des Substrates verändert. Bei einem basischerem pH-Wert trat natürlich durch eine ganz normale Basenkatalyse der Pufferlösung eine Spaltung des Phosphordiesters auf, die jedoch im gleichen Ausmaß auch in der gemessenen Backgroundreaktion auftrat. Um den Katalysator als Fehlerquelle auszuschließen, wurde deshalb die gleiche Reaktion wie beim Screening wiederholt. Dafür wurde eine 10 mM BisTris-Pufferlösung mit einem pH-Wert von 6,0 angesetzt in der das Indolderivat **83** gelöst wurde, so dass die Endkonzentration des Substrates 1 mM betrug. Zum Schluss wurde noch so viel Katalysator **87** zugegeben, dass die Endkonzentration 0,3 mM war und damit 30 mol % bezogen auf das Substrat hatte. Die gesamte Lösung wurde bei 30 °C in einem Präparategläschen inkubiert. Wie im Screening gezeigt wurde, musste darauf geachtet

werden, dass das Präparategläschen nicht verschlossen sein durfte, da sonst kein Luftsauerstoff an die Lösung kam und dadurch auch keine Reaktion möglich war. Nach ca. 26 Stunden konnte man in dem Präparategläschen mit dem Katalysator eine Blaufärbung der Lösung beobachten, was den Katalysator als mögliche Fehlerquelle ausschloss.



*Abb. 3.42: Phosphathydrolyse des Indolderivates **83** mit **87** als Katalysator. Rechts ist das Präparategläschen mit Katalysator deutlich an der Blaufärbung zu erkennen und links ist die Background als Referenz ohne Katalysator, die keine Färbung nach dieser Zeit aufweist.*

Somit wurde die mögliche Ursache beim Substrat vermutet, da im Screening nur ein Monophosphat verwendet wurde und in den ersten Versuchen der Katalyse in Lösung mit dem Nitrophenolderivat **94** ein Phosphordiester. Dies lässt die Vermutung nahe, dass der Katalysator **87** eine Substratelektivität zeigt.

Deshalb wurde nach einem Substrat gesucht, welches ebenfalls in Wasser löslich ist, mit einer spektroskopischen Methode das Substrat selber oder dessen Hydrolyseprodukt detektierbar ist und noch dazu ein Phosphormonoester ist. Hierfür bot sich das Edukt **95**, welches bei der Synthese von **94** verwendet wurde, an.

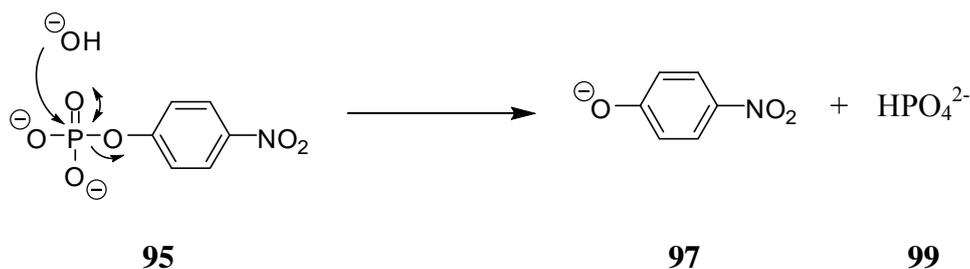


Abb. 3.43: Mechanismus der Hydrolyse des Substrates **95**.

Bei den einzelnen Katalysereaktionen konnte man das Nitrophenol mit Hilfe der UV-Spektroskopie verfolgen. Dabei wurde das Entstehen der Absorptionsbande bei 400 nm beobachtet. Ein solches UV-Spektrum ist in Abb. 3.44 gezeigt. Die Bedingungen für die Katalysemessung waren der beim Screening ähnlich. Als Puffer wurde erneut der BisTris-Puffer verwendet mit einem pH-Wert von 6.0. Das Substrat hatte eine Endkonzentration von 0.1 mM. Entsprechend dazu wurden 30 mol % des Katalysators dazugegeben und die Reaktion bei einer Temperatur von 50 °C inkubiert. Die Zunahme der Absorptionsbande wurde mit Hilfe des UV-Spektrometers zu unterschiedlichen Zeiten beobachtet. Bei längerer Reaktionsdauer konnte man sogar mit bloßem Auge eine Gelbfärbung der Lösung, die vom entstehenden Nitrophenol herrührt, in der Küvette beobachten.

Wie man in der unten gezeigten Abb. 3.44 sehen kann, ist ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Reaktionen (mit und ohne Katalysator) zu beobachten. So ist nach ca. 160 Stunden eine mehr als doppelt so große Absorption bei der katalysierten Reaktion zu beobachten. Ebenfalls bemerkenswert war, dass die beiden anderen Katalysatoren (**92** und **93**) keine Katalyseaktivität zeigten. Somit kann man sagen, dass auf der einen Seite die Sequenz im Katalysator sehr entscheidend ist, denn schon allein durch das Vertauschen der beiden Aminosäuren Valin und Histidin in den Positionen AA¹ und AA⁸ verliert der Katalysator seine ganze Wirkung. Die Katalysefähigkeit in **87** kann also nicht alleine auf die Anwesenheit des in unserem Arbeitskreis entwickelten Argininanalogas zurückgeführt werden. Auf der anderen Seite müssen jedoch genau an diesen beiden Stellen die Argininanalogons im Molekül vorhanden sein, da durch den Austausch dieser beiden künstlichen Aminosäuren gegen das natürliche Arginin ebenfalls jegliche Katalyse verloren geht. Mit diesen Erkenntnissen kann man sich als möglichen Mechanismus eine Koordination der Oxoanionen des Phosphates an die Carboxylatbindungstasche der Guanidiniocarbonylpyrrole vorstellen. Nach der Positionierung des Substrates kann die Katalyse durch folgende beiden Möglichkeiten stattfinden. Entweder fungiert das Histidin selber oder aber ein deprotoniertes

Wassermolekül als Nucleophil. Durch einen nucleophilen Angriff einer dieser beiden Verbindungen wird die Phosphatgruppe abgespalten und das zu beobachtende Nitrophenol **97** entsteht.

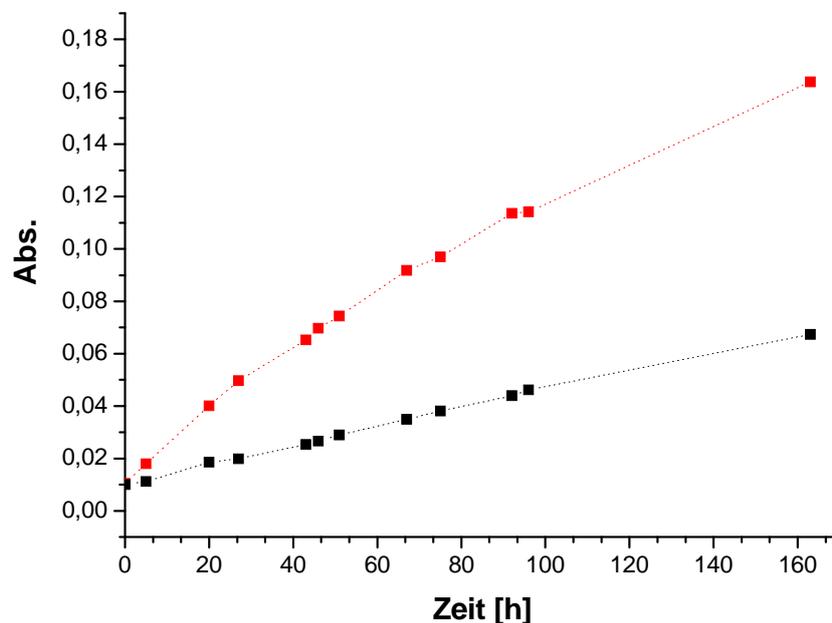


Abb. 3.44: Absorptions-Zeit-Profil der Hydrolyse von **95** (0.1 mM) mit (rote Kurve) und ohne (schwarze Kurve) Organokatalysator **87** (30 mol %) (1 mM wässriger BisTris-Puffer, pH 6.0, Temp. 50 °C).

Nachdem gezeigt wurde, dass ein Unterschied zwischen der katalysierten und nicht katalysierten Reaktion vorhanden ist, musste als nächstes festgestellt werden, welcher pH-Bereich für den Katalysator **87** am geeignetsten ist. Dafür wurde ein pH-Profil aufgenommen, wobei die gleichen Bedingungen wie oben (1 mM BisTris-Puffer, 0.1 mM Substrat, 30 mol % Katalysator bei 50 °C) verwendet wurden, jedoch wurde hierbei immer ein unterschiedlicher pH-Wert verwendet, so dass man im Idealfall eine Kurve mit einem Maximum zu erwarten ist. Dieses Maximum stellt dann das pH-Optimum dar. Um ein pH-Profil und damit ein pH-Optimum zu erhalten, wird zunächst je ein Absorptions-Zeit-Profil für die einzelnen pH-Werte, wie in Abb. 3.44 gezeigt, gemessen. Ausgehend von diesen Messwerten wurde dann anschließend das pH-Profil-Diagramm erstellt. Wie man in Abb. 3.45 sehen kann erhält man für den Katalysator **87** ein pH-Maximum bei einem pH-Wert von 6.0. Neben dem ersten Maximum erhält man auch noch ein zweites bei pH 6.8, was jedoch wesentlich kleiner ist. Dies lässt darauf schließen, dass die Ladung des Katalysators sich bei

höherem pH-Wert ändert und dadurch ein zweiter Reaktionsweg stattfindet. Aufgrund dieses pH-Profiles wurden die nun folgenden Sättigungsmessungen bei pH 6.0 durchgeführt.

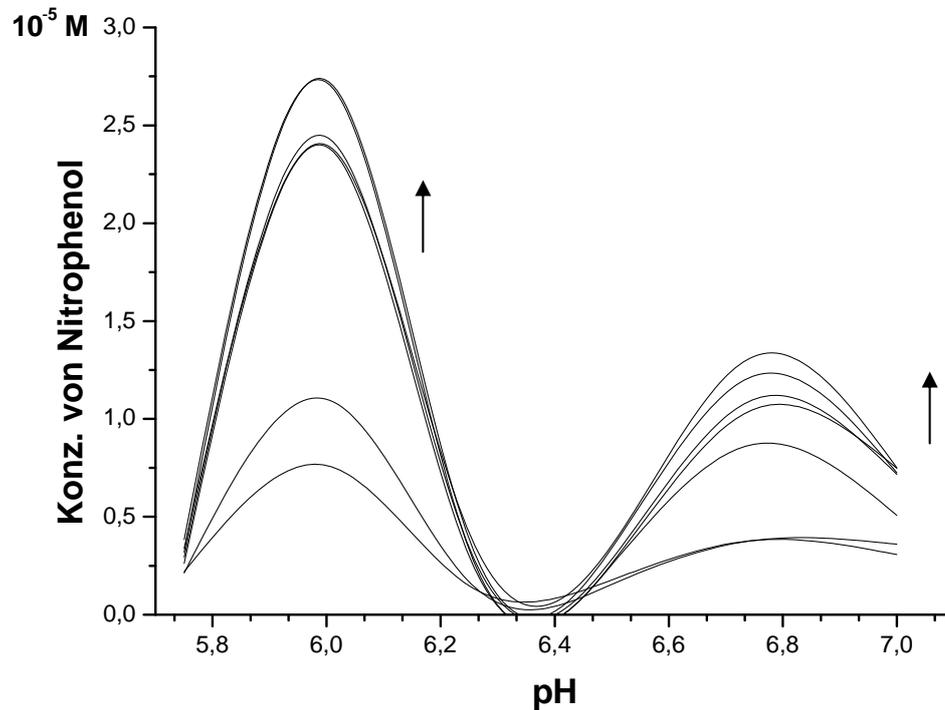


Abb. 3.45: pH-Profil des Katalysators **87**. Die einzelnen Kurven stellen die zu den unterschiedlichen Zeiten gemachten Messungen dar.

Nachdem die Konzentration-Zeit-Kurven keinen linearen Verlauf haben, müssen diese für die Auswertung der Sättigungskurven zunächst einem Linearisierungsverfahren unterzogen werden. Solch ein Linearisierungsverfahren ist die Darstellung nach Lineweaver und Burk in dem gleichnamigen Diagramm. Daher soll im nächsten Abschnitt ausgehend von der Herleitung der Michaelis-Menten-Gleichung das Linearisierungsverfahren vorgestellt werden.^[124]

Die Herleitung beginnt mit zwei fundamentalen Reaktionen, der Bildung und dem Zerfall des Enzym-Substrat-Komplexes (ES) **(3-1)** und **(3-2)**.



In der Anfangsphase der Reaktion kann die Konzentration des Produktes [P] vernachlässigt werden, und deshalb nimmt man vereinfachend an, dass k_2 nicht berücksichtigt werden muss. Die Gesamtreaktion reduziert sich auf folgende Form (3-3).



Die Anfangsgeschwindigkeit v_0 für die Bildung des Produktes ergibt sich aus der Zerfallsgeschwindigkeit von ES. Diese wird durch die Konzentration von ES ([ES]) bestimmt (3-4).

$$v_0 = k_2[ES] \quad (3-4)$$

Da [ES] in Gleichung (3-4) nicht ohne weiteres gemessen werden kann, muss zunächst ein alternativer Ausdruck für [ES] gefunden werden. Hierzu wird der Ausdruck $[E_t]$ eingeführt. Es gibt die gesamte Enzymkonzentration wieder. Freies bzw. ungebundenes Enzym wird dann durch $[E_t] - [ES]$ wiedergegeben. Da [S] für gewöhnlich sehr viel größer ist als $[E_t]$, kann die zu jedem beliebigen Zeitpunkt an das Enzym gebundene Substratmenge gegenüber der Gesamtkonzentration des Substrates vernachlässigt werden.

Die Geschwindigkeit der Bildung bzw. des Zerfalls von ES wird von den Schritten mit den Geschwindigkeitskonstanten k_1 (Bildung) und $k_{-1} + k_2$ (Zerfall) entsprechend folgenden Gleichungen bestimmt.

$$\text{Geschwindigkeit der Bildung von } ES = k_1([E_t] - [ES])[S] \quad (3-5)$$

$$\text{Geschwindigkeit des Zerfalls von } ES = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \quad (3-6)$$

Am Anfang der Reaktion kann die Annahme gemacht werden, dass die Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion ein Fließgleichgewicht widerspiegelt, in welchem [ES] konstant ist, d.h. die Geschwindigkeit der Bildung von ES ist gleich mit der des Zerfalles. Dadurch kann man die Gleichungen (3-5) und (3-6) gleichsetzen wodurch man die Gleichung (3-7) erhält.

$$k_1([E_t] - [ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \quad (3-7)$$

Löst man die Gleichung (3-7) nach [ES] auf, erhält man:

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{[S] + (k_2 + k_{-1})/k_1} \quad (3-8)$$

Der folgende Term ist als Michaelis-Menten-Konstante K_m bekannt.

$$K_m = \frac{(k_2 + k_{-1})}{k_1} \quad (3-9)$$

Setzt man Gleichung (3-9) in Gleichung (3-8) ein, so vereinfacht sich die Gleichung zu folgendem Ausdruck.

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{K_m + [S]} \quad (3-10)$$

Verwendet man nun diesen Ausdruck in Gleichung (3-4) und vereinfacht den so erhaltenen Ausdruck bekommt man die sogenannte Michaelis-Menten-Gleichung (3-11), welche die Geschwindigkeitsgleichung für eine enzymkatalysierte Reaktion widerspiegelt. Durch sie kann der quantitative Zusammenhang zwischen der Anfangsgeschwindigkeit v_0 , der maximalen Anfangsgeschwindigkeit v_{\max} und der anfänglichen Substratkonzentration [S], die alle über die Michaelis-Menten-Konstante K_m miteinander in Beziehung stehen, bestimmt werden.

$$v_0 = \frac{v_{\max}[S]}{K_m + [S]} \quad (3-11)$$

Die Michaelis-Menten-Gleichung spiegelt den Kurvenverlauf einer Hyperbel wieder. Durch so eine Kurve fällt die Bestimmung von v_{\max} und K_m schwer, so dass eine andere graphische Methode für die Ermittlung dieser Parameter notwendig ist. Ein geeigneteres Verfahren ist die doppeltreziproke Darstellung oder auch Lineweaver-Burk-Diagramm. Bildet man von der Michaelis-Menten-Gleichung den Kehrwert erhält man folgenden Ausdruck.

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_m + [S]}{v_{\max} [S]} \quad (3-12)$$

Trennt man auf der rechten Seite der Gleichung (3-12) die Bestandteile des Zählers voneinander und vereinfacht man anschließend die Gleichung, so kommt man zur folgenden Formel.

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_m}{v_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}} \quad (3-13)$$

Die graphische Darstellung von $1/v_0$ gegen $1/[S]$ liefert eine Gerade mit der Steigung K_m/v_{\max} . Aus dem y-Achsenabschnitt erhält man $1/v_{\max}$, der x-Achsenabschnitt entspricht $-1/K_m$. Wendet man diese Erkenntnisse nun auf die Sättigungskinetik durch erhält man die Werte für K_m und v_{\max} .

Wie oben bereits erwähnt, wurde die Sättigungskinetik bei einem pH-Wert von 6.0 durchgeführt. Bei einer Sättigungskinetik werden bei unterschiedlichen Konzentrationen des Katalysators Messungen durchgeführt und die einzelnen Konzentrationen durch die Lineweaver-Burk-Darstellung miteinander so in Verbindung gebracht, dass man eine Aussage über den Katalysator treffen kann. Bezogen auf das verwendete Substrat wurden für die Phosphatspaltung folgende mol % des Katalysators verwendet: 500, 250, 100 und 50. Dabei wurde die Konzentration des Katalysators konstant gehalten und die des Substrates für die einzelnen Messungen variiert. So erhält man durch die Lineweaver-Burk-Darstellung die Konzentrationen des Substrates und damit auch $1/[S]$.

Durch die bei den Messungen erhaltenen Werte kann man v_0 bestimmen. Geschwindigkeit ist allgemein definiert als die Änderung gegen die Zeit, also in diesem Fall die Änderung der Konzentration gegen die Zeit. Da dieser Wert in [M/min] angegeben wird, bezieht sich die Zeit auf 1 Minute. Um v_0 zu bestimmen, kann man von einem zum Zeitpunkt x gemessenen Konzentrationswert die Konzentration vom Startwert abziehen. Dieser Wert wird anschließend durch die vergangene Zeit in Minuten dividiert, so dass man v_0 erhält. Dies ist jedoch nur bei einem annähernd linearen Verlauf möglich. Bildet man nun den Kehrwert, so erhält man den zweiten notwendigen Wert ($1/v_0$) für die Darstellung der Lineweaver-Burk-Gerade.

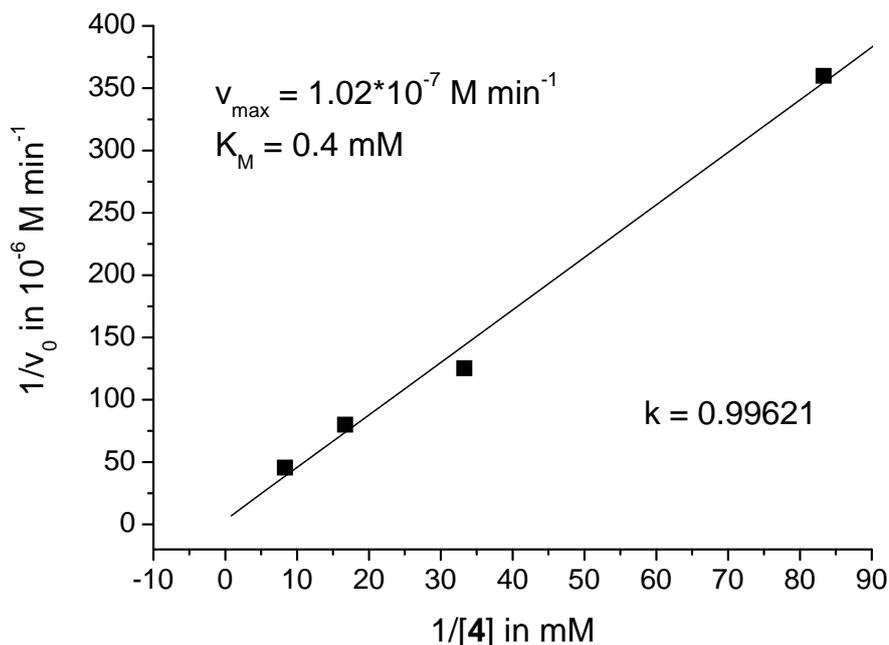


Abb. 3.46: Lineweaver-Burk-Darstellung für die Hydrolyse von **95** in Anwesenheit des Oktapeptides **87** ($[87] = 0.03 \text{ mM}$, in 1 mM wässrigen BisTris-Puffer, $\text{pH} = 6.0$, $T = 50^\circ\text{C}$).

Um einen Vergleich der katalytischen Wirksamkeit verschiedener Katalysatoren und Enzyme anstellen zu können, muss ein geeigneter Parameter gewählt werden. Dazu eignet sich die Geschwindigkeitskonstante k_{cat} , die die maximale Katalysegeschwindigkeit jeder beliebigen enzymkatalysierten Reaktion bei Substratsättigung beschreibt.

Durch v_{\max} und die Konzentration des Katalysators erhält man k_{cat} . Diese Geschwindigkeitskonstante wird als sogenannte Wechselzahl bezeichnet. Sie gibt an, wie viel Substratmoleküle in einer gewissen Zeit von einem Katalysatormolekül umgesetzt werden. Auch dieser Parameter ist jedoch für den Vergleich der katalytischen Wirksamkeit nicht geeignet. Zwei Katalysatoren, die unterschiedliche Reaktionen katalysieren, können dieselbe Wechselzahl besitzen. Dennoch können die Geschwindigkeiten der unkatalysierten Reaktionen verschieden sein und folglich die durch die Katalysatoren erreichten Geschwindigkeitssteigerungen erheblich variieren. Außerdem spiegelt k_{cat} nur die Eigenschaften der Katalysatoren beim gesättigten Zustand wieder. Bei kleinen Substratkonzentrationen hat die Wechselzahl nur eine geringe Aussagekraft.

Das Verhältnis von k_{cat}/K_m bietet die ideale Kombination dieser beiden Parameter. Dadurch kann sehr viel besser ein Vergleich unterschiedlicher Katalysatoren angestellt werden. So

erhält man für den Katalysator folgende kinetischen Parameter: $k_{\text{cat}} = 0.0032 \text{ min}^{-1}$; $K_m = 0.4 \text{ mM}$ und $k_{\text{cat}}/K_m = 8 \text{ M}^{-1}\text{min}^{-1}$. Im Vergleich zur unkatalysierten Reaktion zeigt die katalysierte Reaktion eine deutliche Beschleunigung ($k_{\text{uncat}} = 1.8 \cdot 10^{-5} \text{ min}^{-1}$). Das Verhältnis der beiden Geschwindigkeitskonstanten zeigt, dass die katalysierte Reaktion 175-mal schneller abläuft als die unkatalysierte ($k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}} = 175$). Die Zugabe von EDTA hatte keinen Einfluss auf die Hydrolysegeschwindigkeit. Dies bedeutet, dass eventuell vorhandene Metallionen nicht an der Katalyse beteiligt sind.

Durch diese Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass für die Phosphatspaltung ein Organokatalysator gefunden wurde. Dieser konnte zunächst aus einer kombinatorischen Bibliothek durch Screening gefunden werden und anschließend konnten in Lösung die Ergebnisse aus dem Screening bestätigt werden.

3.4 Esterspaltung

3.4.1 Screening

Neben der Phosphatspaltung wurde auch eine Esterhydrolyse als Katalysereaktion durchgeführt. Zuerst war es wieder nötig, durch ein Vorscreening die richtigen Bedingungen für das Screening und die anschließende Katalyse in Lösung zu finden. Die Arbeitsgruppe von *Reymond* hat eine Methode entwickelt, mit der man mit Hilfe der Fluoreszenzspektroskopie die Hydrolyse des Pyrenderivates **88** beobachten kann.^[88, 125-127] Durch die Abspaltung des Butylesters entsteht ein Pyrenalkohol **89** der durch Fluoreszenz leicht zu detektieren ist.

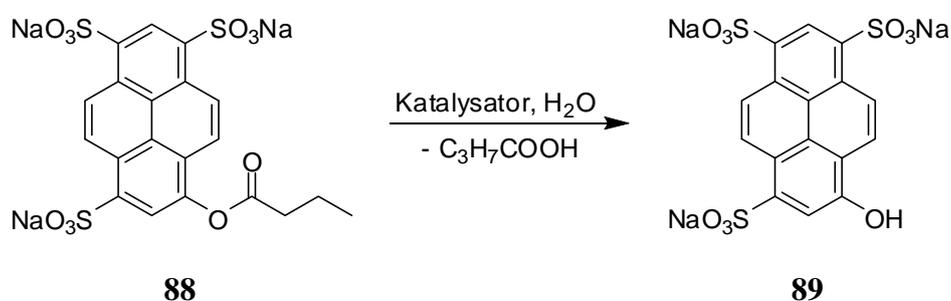


Abb. 3.47: Hydrolyse des Butylesters beim käuflichen Pyrenderivat **88** wodurch der Pyrenalkohol **89** mit Hilfe der Fluoreszenz nachgewiesen werden kann.

Zunächst wurden für das Vorscreening aus einigen *MikroKans* Harzkügelchen entnommen und in durchsichtige „well-plates“ hineingegeben. Nachdem von der Arbeitsgruppe von *Reymond* Bedingungen für ihre Katalyse mit Dendrimeren als Organokatalysatoren vorlagen, wurden ähnliche Bedingungen verwendet. Als Puffer wurde BisTris-Puffer verwendet, da für das Screening auch hier ein pH-Wert von 6.0 verwendet wurde. Die ganze Reaktion wurde bei Raumtemperatur durchgeführt. Mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskopes konnte man in gewissen Zeitabständen den Unterschied zwischen den einzelnen Mitgliedern beobachten. Bereits nach ca. zwei Stunden war ein deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen Harzkügelchen zu erkennen, so dass nach dieser Zeit die Reaktion abgebrochen wurde.

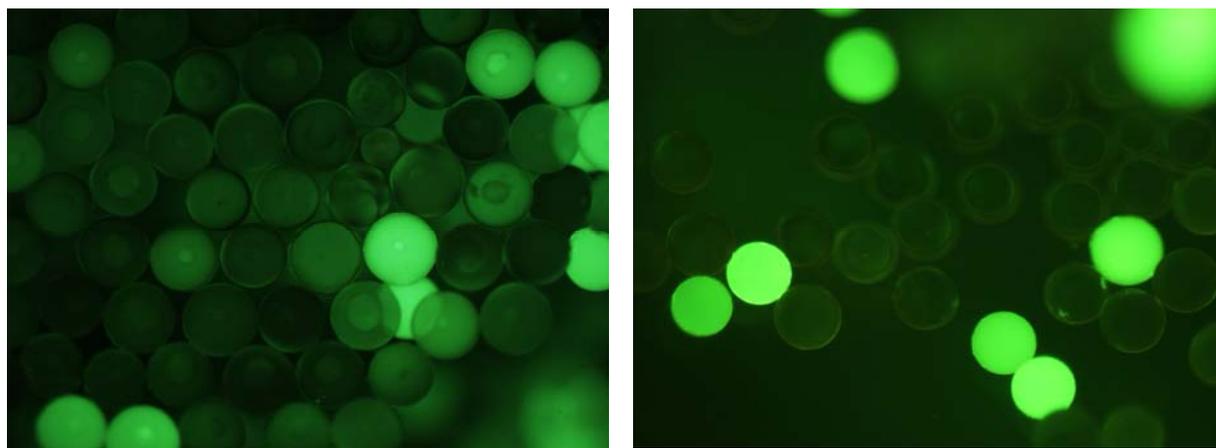


Abb. 3.48: Mischungen aus dem Vorscreening nach unterschiedlichen Zeiten. Die Bilder wurden mit Hilfe einem Fluoreszenzmikroskop gemacht.

Anschließend musste erneut bestimmt werden, welche von den 625 Mitgliedern gute Organokatalysatoren darstellten. Für das Screening wurden einige Harzkügelchen der Mitglieder auf schwarze 96er Mikroplatten verteilt, so dass sich in jeder Vertiefung nur jeweils eine Verbindung befand. Zu den Harzkügelchen wurden zunächst 45 μL einer 20 mM BisTris-Pufferlösung, die einen pH-Wert von 6.0 hatte, und anschließend noch 5 μL einer 2 mM Lösung des Substrates **88** in Wasser zugegeben. Wie beim Vorscreening wurde auch hier die Reaktion bei Raumtemperatur beobachtet. Gleich nach der Zugabe des Substrates wurde ein Punkt mit Hilfe eines Fluoreszenzspektrometers und Mikroplattenlesegerätes zum Zeitpunkt null aufgenommen. Von jeder Verbindung wurde in der ersten halben Stunde alle 5 Minuten danach alle 10 Minuten ein Punkt gemessen. Um Fehler zu vermeiden, wurde jedes Mitglied der Bibliothek zweimal gemessen und davon der Mittelwert gebildet, so dass man gute quantitative Messergebnisse, die leicht auszuwerten sind, erhielt. Auch eine Auftragung gegen die Zeit zeigt die gute Qualität der Messwerte, da es trotz der vorhandenen Harzkügelchen in der Lösung nicht zu Störung der Messung kam. Auf diese Weise konnten einige potentielle Katalysatoren gefunden werden.

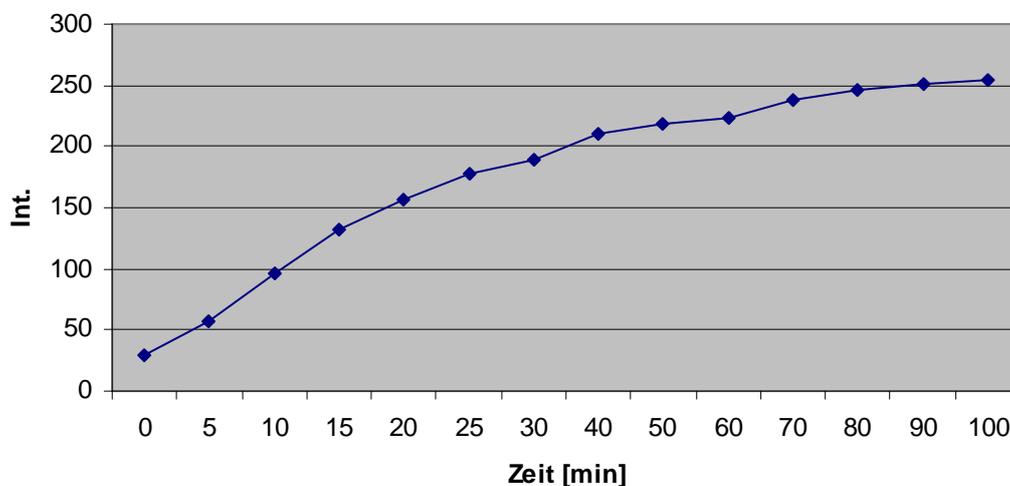
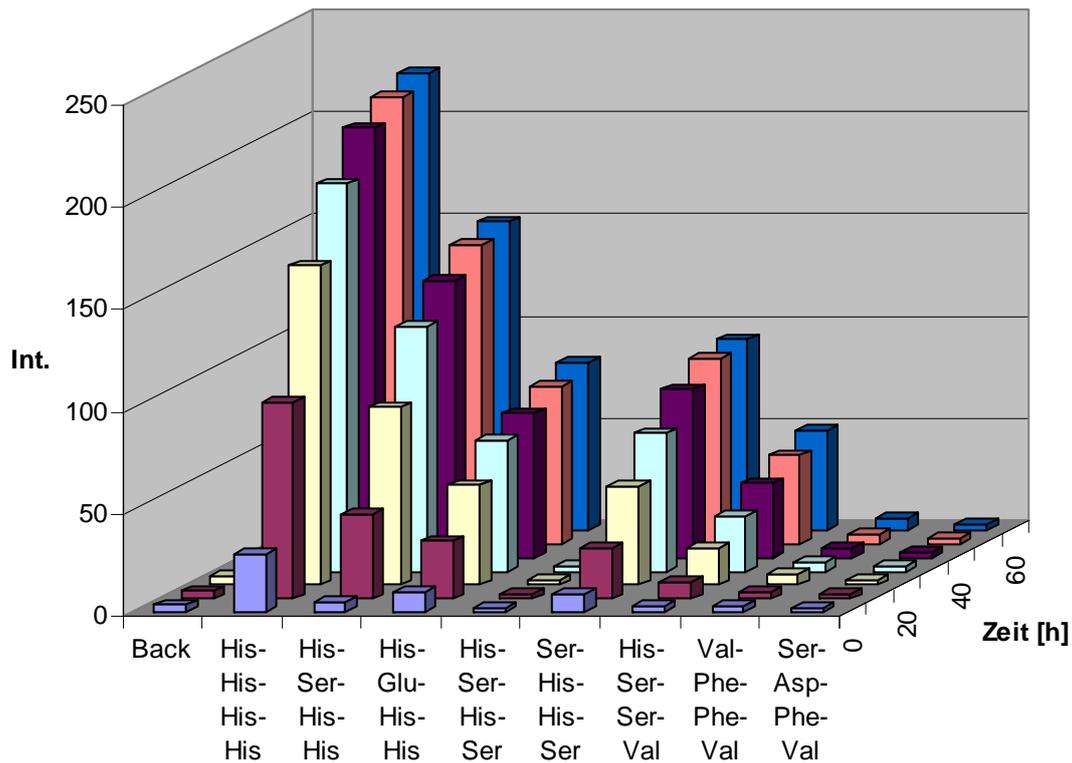


Abb. 3.49: Beim Screening der Bibliothek lagen alle Mitglieder getrennt in den einzelnen Vertiefungen vor. Dadurch konnten bereits beim Screening der Bibliothek quantitative Ergebnisse erhalten werden. (oben) Auftragung der Fluoreszenzintensität gegen die Zeit beim Oligopeptid mit viermal Histidin in den Positionen AA^1 , AA^3 , AA^6 und AA^8 (unten).

Die Analyse der Sequenz zeigte, dass diesmal im Gegensatz zum Screening bei der Phosphatspaltung, das in unserer Arbeitsgruppe entwickelte Argininanalogon keine Rolle spielt. Von viel entscheidenderer Bedeutung ist diesmal das Vorhandensein der Aminosäure

Histidin. So zeigte sich im Screening, dass das Oktapeptid **90** mit vier Histidin-Aminosäuren in den Positionen AA¹, AA³, AA⁶ und AA⁸ unter diesen Bedingungen der beste Katalysator ist. Im Gegensatz dazu zeigten Katalysatoren ohne Histidin wie zum Beispiel das Oktapeptid **91** mit den Aminosäuren Valin und Phenylalanin in den Positionen AA¹, AA³, AA⁶ und AA⁸ keine Aktivität.

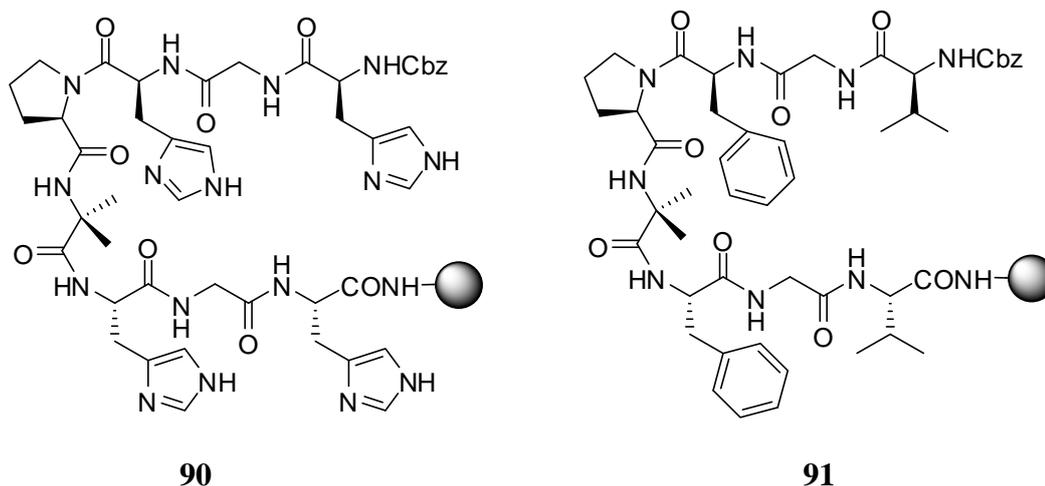


Abb. 3.50: Struktur von zwei Oktapeptiden. Links ist der Katalysator **90** mit der besten und rechts als Beispiel für einen Katalysator ohne Aktivität **91** gezeigt.

3.4.2 Katalyse in Lösung

Nach dem Screening der Bibliothek wurden die geeigneten Katalysatoren für die Messungen in Lösung nachsynthetisiert. Neben sehr guten Katalysatoren wurden auch Katalysatoren nachsynthetisiert, die im Screening keine Aktivität zeigten, um auch in Lösung zu demonstrieren, dass die Ergebnisse aus dem Screening mindestens qualitativ mit denen aus der Katalyse in Lösung korrelieren. In Tab. 3.2 sind alle Oktapeptide gezeigt, die im Zuge dieser Arbeit für die Katalyse in Lösung nachsynthetisiert wurden. Darunter befinden sich auch Verbindungen, die mindestens ein Alanin als Aminosäure enthalten. Diese Verbindungen wurden synthetisiert um die Sequenzabhängigkeit zu demonstrieren (siehe unten), waren so jedoch nicht in der Bibliothek vertreten.

Tab. 3.2: Aufzählung der Oktapeptide die anschließend für Reaktionen in Lösung eingesetzt wurden.

Allg. Katalysator
Cbz-AA¹-Gly-AA³-D-Pro-Aib-AA⁶-Gly-AA⁸-NH₂

Katalysator	AA ¹	AA ³	AA ⁶	AA ⁸
100	Asp	His	His	His
101	His	His	His	His
102	His	His	His	Ser
103	His	His	Phe	His
104	Ser	His	His	Ser
105	His	His	His	Glu
106	Val	His	His	His
107	His	His	Ser	His
108	Val	Glu	Phe	Glu
109	Val	Phe	Phe	Val
110	Ala	His	His	His
111	His	Ala	His	His
112	His	His	Ala	His
113	His	His	His	Ala
114	Ala	Ala	His	His
115	Ala	His	Ala	His
116	Ala	His	His	Ala
117	His	Ala	Ala	His
118	His	Ala	His	Ala
119	His	His	Ala	Ala
120	Ser	Ser	His	His

Allg. Katalysator



Katalysator	AA ¹	AA ³	AA ⁶	AA ⁸
121	His	Ser	His	Ser
122	Ser	His	Ser	His
123	His	Ser	Ser	His
124	His	His	Ser	Ser

Die Synthese der Oktapeptide wurde wie die einzelnen Mitglieder der Bibliothek auch an fester Phase durchgeführt, jedoch wurde hier kein Amino-TentaGel als Harz verwendet, da man so die Peptide nicht mehr von der festen Phase abspalten könnte. Deshalb wurde als feste Phase RinkAmid-Harz verwendet. Nach Abspalten der Verbindung vom Harz bleibt eine Amidfunktion über, wodurch man den Bedingungen, die an der festen Phase herrschen, nahe kommt. Es wurde auch hier nach Standardprotokoll gearbeitet und Fmoc-geschützte Aminosäuren benutzt. Die Organokatalysatoren wurden mit einer Lösung von 95 % TFA in Dichlormethan vom Harz abgespalten und nach Aufarbeitung als farblose Feststoffe erhalten, die für die anschließenden Katalysereaktionen eingesetzt werden konnten.

Für die Katalysereaktion in Lösung wurde wie auch im Screening das Pyrenderivat **88** verwendet. Deshalb wurden auch für die ersten Messungen in Lösung die gleichen Bedingungen wie im Screening verwendet. Der BisTris-Puffer wurde mit einer Konzentration von 17.4 mM bei einem pH-Wert von 6.0 eingesetzt. Das Substrat hatte eine Endkonzentration von 0.2 mM und entsprechend dazu wurde der Katalysator mit 30 mol % dazugegeben. Die Reaktionstemperatur lag genau wie im Screening bei 25 °C.

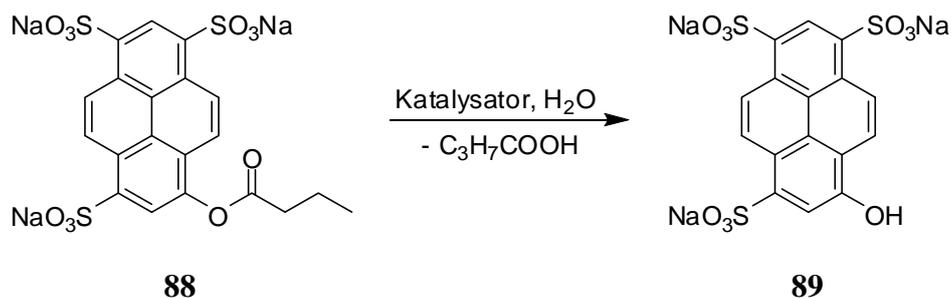


Abb. 3.51: Hydrolyse des Butylesters beim käuflichen Pyrenderivat **88** wodurch der Pyrenalkohol **89** mit Hilfe der Fluoreszenz nachgewiesen werden kann.

Die Zunahme der Fluoreszenz wurde mit Hilfe des Fluoreszenzspektrometers und eines daran angeschlossenen Mikroplattenlesegerätes über einen Zeitraum von zwei Stunden in gewissen Abständen gemessen. So erhielt man, wie in Abb. 3.52 gezeigt, eine Kurve, in welcher die Konzentration gegen die Zeit aufgetragen ist. Neben den Oktapeptiden **100**, **101**, **102**, **104** und **105** wurde auch Imidazol als möglicher Organokatalysator verwendet, um auszuschließen, dass der Imidazolring alleine genau die gleiche katalytische Aktivität besitzt wie z.B. das Oktapeptid **101** mit vier Histidinen in der Struktur.

Wie man aus dem Graphen sehr gut erkennen kann, bestätigen diese Ergebnisse die quantitativen Messungen aus dem Screening. Auch kann man schön sehen, dass Imidazol alleine eine nur etwas bessere katalytische Aktivität aufweist als die Backgroundmessung. Als nächster Schritt soll auch die Sequenzabhängigkeit überprüft werden. Wie man bereits in der Abb. 3.52 sehen kann, ist neben der Anzahl der Histidine auch die richtige Sequenz entscheidend. Die Verbindungen **102**, **105** und **100** besitzen alle die gleiche Anzahl von Histidinen (3) jedoch ist das Oktapeptid **102** deutlich besser als die anderen beiden Peptide. Dies wird noch deutlicher beim Vergleich von Oktapeptiden mit der gleichen Anzahl an Histidinen, jedoch an unterschiedlichen Positionen.

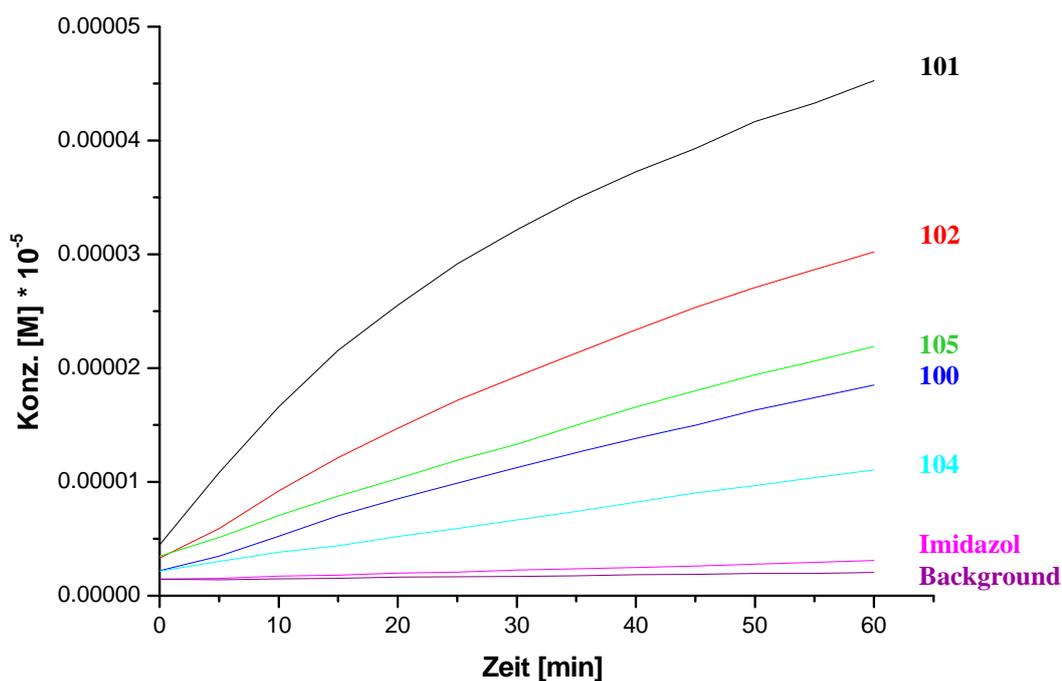


Abb. 3.52: Konzentration-Zeit-Profil der Esterhydrolyse von **88** (0.2 mM) mit unterschiedlichen Oktapeptiden (30 mol %), Imidazol (30 mol %) und ohne Katalysator (17.4 mM wässriger BisTris-Puffer, pH 6.0, Temp. 25°C).

In Abb. 3.53 ist ebenfalls ein Konzentration-Zeit-Profil gezeigt, jedoch soll gezeigt werden, dass die Sequenz bei gleichbleibender Anzahl an Histidinen entscheidend ist. Für diesen Zweck wurden die Peptide **104**, **120**, **121**, **122**, **123** und **124** nachsynthetisiert und die Katalyse in Lösung gemessen. Alle Oktapeptide haben zwei Histidine und zwei Serine in ihrer Sequenz, jedoch an unterschiedlichen Positionen. Die Aminosäure Serin wurde deshalb gewählt, weil sie ähnlich wie Histidin in unterschiedlichen, in der Natur vorkommenden Systemen, katalytische Aktivität zeigt.

Wie man in der Grafik aus der Abb. 3.53 sehen kann, gibt es größere Unterschiede zwischen den einzelnen Oktapeptiden. Von den hier untersuchten Oktapeptiden ist der beste Organokatalysator **104**. So erhält man beim Einsatz dieses Oktapeptides im Vergleich zum nächst besten über ein Drittel mehr Umsatz. Der Unterschied zwischen **104** (SerHisHisSer) und **121** (HisSerHisSer) liegt dabei lediglich in der Vertauschung der beiden Aminosäuren Serin und Histidin in den Positionen AA⁶ und AA⁸. Ebenso kann man einen größeren Unterschied zwischen den beiden Oktapeptiden **120** (SerSerHisHis) und **124** (HisHisSerSer) feststellen. Der Unterschied zwischen diesen beiden Oktapeptiden liegt darin, dass die

Positionen der beiden Aminosäuren Serin mit denen der Histidine vertauscht sind. Befinden sich die beiden Histidine in den Positionen AA⁶ und AA⁸, ist eine deutlich stärkere katalytische Wirkung festzustellen als anders herum. Die letzten beiden Oktapeptide **122** und **123** unterscheiden sich erneut in dem Austausch der Aminosäuren Histidin und Serin, jedoch diesmal in den Positionen AA¹ und AA³. Hier spielt der Austausch dieser beiden Aminosäuren keine große Rolle. Aber selbst diese beiden Katalysatoren zeigen nach einer Stunde Reaktionszeit einen deutlichen Umsatz im Vergleich mit der Background-Reaktion.

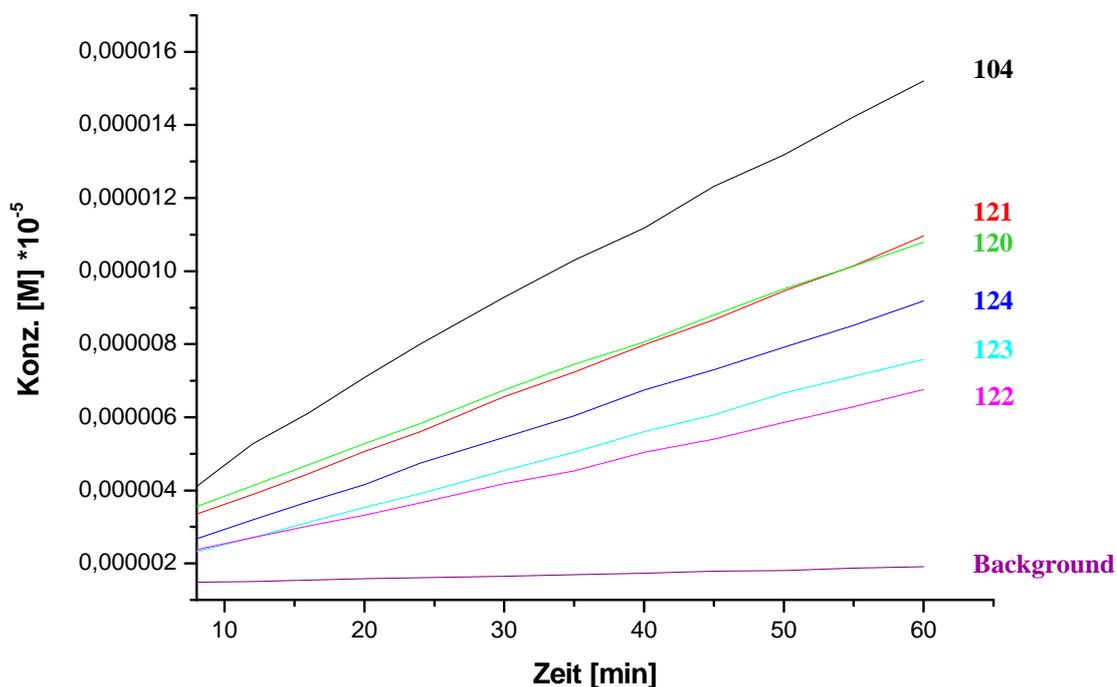


Abb. 3.53: Konzentration-Zeit-Profil der Esterhydrolyse von **88** (0.2 mM) mit unterschiedlichen Oktapeptiden (25 mol %) und ohne Katalysator (17.4 mM wässriger BisTris-Puffer, pH 6.0, Temp. 25°C).

Um auszuschließen, dass diese gemessenen Werte nicht auf pH-Wert Änderungen zurückzuführen sind, wurde eine größere Menge als in den „plates“ benötigt, als Lösung in einem 2 mL Glasgefäß angesetzt. Als Bedingungen wurden die gleichen gewählt wie in den oben gezeigten Graphen. Der pH-Wert wurde über einen Zeitraum von einem Tag zu unterschiedlichen Zeiten beobachtet. Über den gesamten Zeitraum wurde der gleiche pH-Wert, der am Anfang eingestellt wurde, beobachtet. Mittels UV-Lampe und Fluoreszenzspektrometer konnte gezeigt werden, dass ein Umsatz über den betrachteten Zeitraum stattgefunden hat.

Als nächstes musste noch ausgeschlossen werden, dass die Katalyse nur wegen der Anwesenheit von Metallen abläuft. Diese könnten unter Umständen in Spuren im Organokatalysator enthalten sein. Dafür wurden die gleichen Organokatalysatoren und Bedingungen, wie in Abb. 3.52 gezeigt, eingesetzt. Zusätzlich wurde jedoch noch EDTA dazugegeben um Metallionen zu binden. Dieser Versuch zeigte, dass die Kurven mit denen ohne EDTA identisch waren. Dadurch konnte man zeigen, dass keine Metallionen in den Reaktionen vorhanden waren. Diese hätten beim Vorhandensein die Ergebnisse der Messungen unter Umständen verfälschen können.

Wie bei der Phosphatspaltung sollte auch hier nun überprüft werden, welcher pH-Wert für die Reaktion am geeignetsten ist. Zum Erstellen des pH-Profiles wurden dafür unterschiedliche Puffer mit einer gleichen Endkonzentration von 17.4 mM, aber mit unterschiedlichen pH-Werten eingesetzt. Dabei wurde ein pH-Bereich von 5.50 bis 7.30 abgedeckt. Die verwendete Substratkonzentration lag bei 2 mM und die Katalysatorkonzentration wurde, wie oben beschrieben, mit 30 mol % (0.6 mM) eingesetzt. Die in Abb. 3.54 gezeigten Graphen sind die beobachteten Fluoreszenzintensitäten des Produktes **89** nach 60 Minuten Reaktionsdauer. Auf den ersten Blick schauen die Kurven uneinheitlich aus, jedoch haben alle diese Kurven neben kleineren Schwankungen im Verlauf jeder Kurve eine Gemeinsamkeit. Mit zunehmendem pH-Wert steigen alle Kurven zu höheren Intensitäten hin an. Ein pH-Maximum konnte für den Bereich und auch für höhere pH-Werte nicht gefunden werden. Das Ansteigen der Intensitäten ist auf die zunehmende Bedeutung der Basenkatalyse zurückzuführen. Durch die höheren Konzentrationen an negativ geladenen Teilchen wie Hydroxygruppen des Wassers, deprotonierter Imidazolringe oder Hydroxyfunktionen des Serins findet immer leichter eine Esterhydrolyse des Pyrensubstrates **88** statt. Dadurch erhält man bei der Fluoreszenzmessung über den zeitlichen Verlauf ein Ansteigen der Intensität.

Aus diesem Grunde wurde für die nachfolgenden Sättigungskinetiken entschieden, einen pH-Wert von 6.0 zu verwenden. Hiermit wird auch gewährleistet, dass der Imidazolring sowohl in protonierter als auch in deprotonierter Form vorliegt.

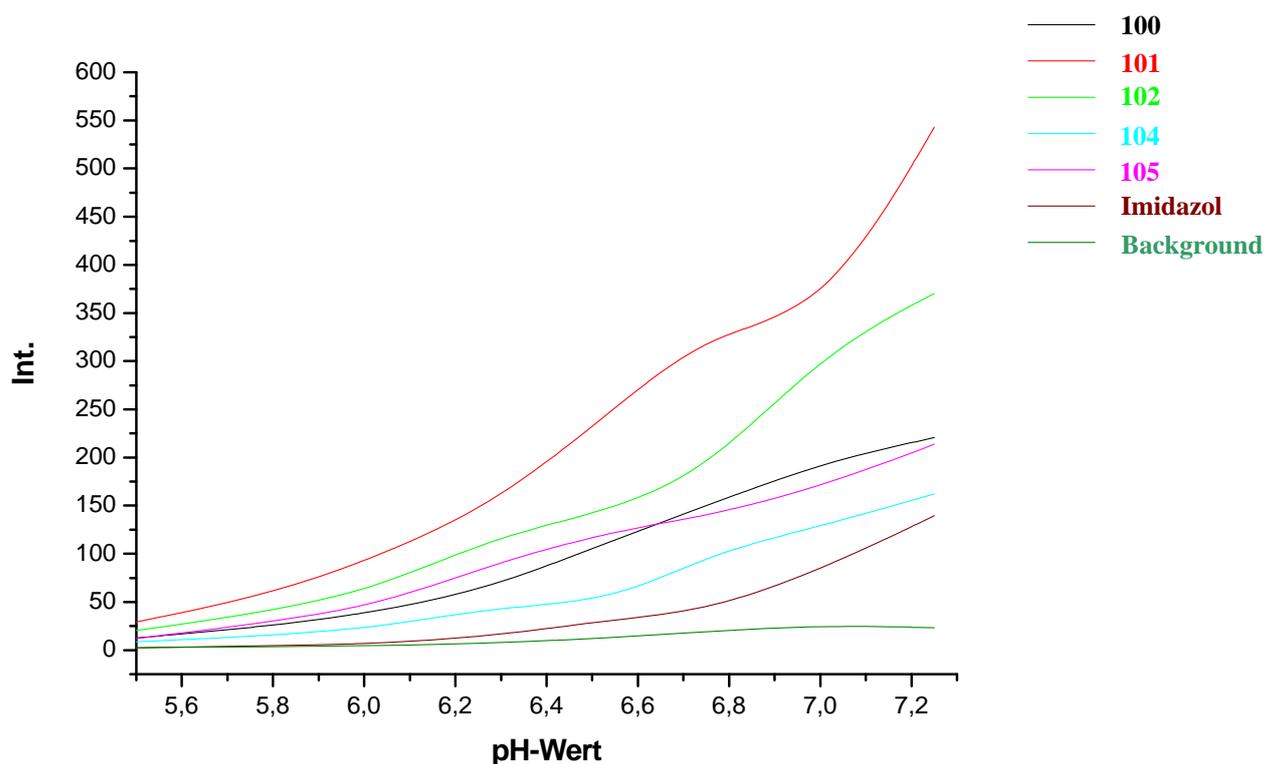


Abb. 3.54: pH-Profil der Esterhydrolyse von **88** (0.2 mM) mit unterschiedlichen Oktapeptiden (30 mol %), Imidazol (30 mol %) und ohne Katalysator (17.4 mM wässriger BisTris-Puffer, pH 6.0, Temp. 25°C). Die dargestellten Kurven zeigen die Intensität des zu messenden Produktes **89** nach 60 min Reaktionsdauer.

Analog zu dem in Kapitel 3.3.2 durchgeführten Schritten für die Sättigungskinetik wurden auch die kinetischen Parameter bei der Esterhydrolyse bestimmt. Wie oben bereits beschrieben, konnte für das Oktapeptid **101** sowohl im Screening als auch in Lösung der größte Substratumsatz nachgewiesen werden. Für dieses Oktapeptid wurde eine Sättigungskinetik durchgeführt. Zusätzlich zu dem erwähnten Oktapeptid wurde noch für sechs weitere Oktapeptide eine Sättigungskinetik gemessen (siehe Tab. 3.3).

Tab. 3.3: Oktapeptide, die für Bestimmung der kinetischen Parameter verwendet wurden.

Allg. Katalysator
Cbz-AA¹-Gly-AA³-D-Pro-Aib-AA⁶-Gly-AA⁸-NH₂

Katalysator	AA ¹	AA ³	AA ⁶	AA ⁸
101	His	His	His	His
104	Ser	His	His	Ser
120	Ser	Ser	His	His
121	His	Ser	His	Ser
122	Ser	His	Ser	His
123	His	Ser	Ser	His
124	His	His	Ser	Ser

Aufgrund der wichtig werdenden Basenkatalyse bei höheren pH-Werten wurden die Sättigungskinetiken für alle Oktapeptide bei pH 6.0 durchgeführt (siehe hierzu auch Erklärungen zu Abb. 3.54). Bei den Messungen wurde wässriger BisTris-Puffer (17.4 mM) eingesetzt. Die Konzentration der Katalysatoren wurde konstant bei 0.06 mM gehalten. Die Konzentrationen des Substrates wurden so variiert, dass bezogen auf das Substrat die Konzentrationen des Katalysators 500-, 250-, 100-, 75-, 50- und 25-mol % aufwies. Diese Substratkonzentrationen werden bei der anschließenden Auswertung in die Lineweaver-Burk-Auftragung eingesetzt, indem man die Kehrwerte davon bildet. Wie oben für die Phosphatpaltung bereits beschrieben, wird aus den erhaltenen Werten der einzelnen Messungen zunächst einmal v_0 bestimmt. Dafür wird von einem zum Zeitpunkt x gemessenen Konzentrationswert die Konzentration vom Startwert abgezogen. Dieser Wert wird anschließend durch die vergangene Zeit in Minuten dividiert, so dass man v_0 erhält. Bildet man nun den Kehrwert, so erhält man den zweiten notwendigen Wert ($1/v_0$) für die Darstellung der Lineweaver-Burk-Gerade. In Abb. 3.55 ist die Lineweaver-Burk-Auftragung für das Oktapeptid **101** gezeigt.

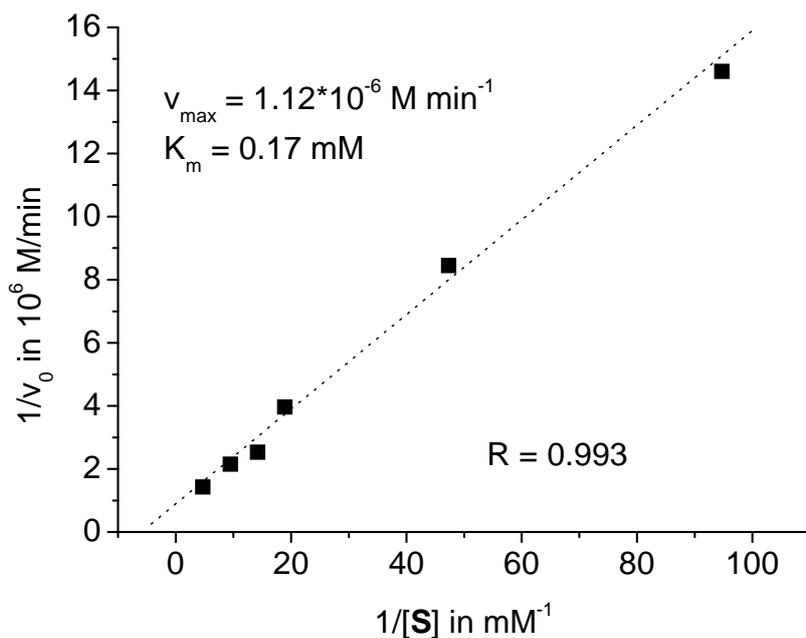


Abb. 3.55: Lineweaver-Burk-Darstellung für die Hydrolyse von **88** in Anwesenheit des Oktapeptides **101** ($[101] = 0.06 \text{ mM}$ in 17.4 mM wässrigem BisTris-Puffer, $\text{pH} = 6.0$, $T = 25^\circ\text{C}$).

Trägt man nun die Daten von allen in Tab. 3.3 genannten Oktapeptide in dieser Form auf so erhält man für jeden Organokatalysator die Werte K_m und v_{max} . Ausgehend von diesen beiden durch die Lineweaver-Burk-Darstellung leicht ermittelbaren Werte (siehe 3.3.2) erhält man auch k_{cat} . In Tab. 3.4 sind alle Werte für die einzelnen Oktapeptide zusammengefasst.

Tab. 3.4: Zusammenstellung der Daten, die durch die Sättigungskinetik für die unterschiedlichen Oktapeptide erhalten wurden.

Oktapeptid	K_m [mM]	v_{max} [M min ⁻¹]	k_{cat} [min ⁻¹]	k_{cat}/K_m [(M min) ⁻¹]	k_{cat}/k_{uncat}
101	0.17	$1.12 \cdot 10^{-6}$	0.019	112	345
104	1.00	$5.2 \cdot 10^{-7}$	0.0087	9	158
120	0.71	$2.97 \cdot 10^{-7}$	0.0049	7	89
121	1.51	$9.69 \cdot 10^{-7}$	0.0162	11	294
122	0.42	$1.19 \cdot 10^{-7}$	0.0019	5	35
123	1.13	$3.86 \cdot 10^{-7}$	0.0064	6	116
124	0.48	$2.11 \cdot 10^{-7}$	0.0035	7	64

Betrachtet man nun diese Tabelle, kann man erneut feststellen, dass das Oktapeptid **101** verglichen mit den anderen Oktapeptiden der beste Organokatalysator ist. Wie vor allem die letzte Spalte zeigt, erfolgt durch diesen Katalysator eine Beschleunigung der Reaktion um einen Faktor von 345. Vergleicht man dieses Oktapeptid mit Imidazol, so erhält man auch hier eine Beschleunigung der Reaktion von 224. Nachdem das Oktapeptid **101** insgesamt vier Histidine und damit Imidazolringe enthält, wurde der vorher erhaltene Wert durch die Anzahl an Histidinen geteilt, so dass man auch dann noch einen Beschleunigungsfaktor von 56 erhält. Die Zugabe von EDTA hatte keinen Einfluss auf die Hydrolysegeschwindigkeit. Dies bedeutet, dass eventuell vorhandene Metallionen auch hier nicht an der Katalyse beteiligt sind. Der Katalysator **121** war bezogen auf k_{cat} der zweitbeste Organokatalysator. Jedoch findet die Substratbindung von diesem Peptid weniger effizient statt, was sich durch einen kleineren k_{cat}/K_m -Wert mit einem Faktor von ungefähr 10 widerspiegelt. Auch in dieser Tabelle wird, wie weiter oben bereits beschrieben, die Sequenzabhängigkeit bei den eingesetzten Oktapeptiden sichtbar. Bei den beiden Oktapeptiden **121** und **122** liegt eine umgedrehte Sequenz vor. Dieser, auf dem ersten Blick kleine Unterschied, wirkt sich in einem um den Faktor 8 kleineren k_{cat} Wert beim Oktapeptid **122** aus.

Auch für diese Reaktion konnte mit Hilfe der kombinatorischen Chemie und einem passendem Screening ein Oktapeptid gefunden werden, welches die Esterhydrolyse von **88** um einen Faktor von 345 beschleunigt. Auch konnte gezeigt werden, dass die katalytische Aktivität Sequenzabhängig ist. Die Anzahl der Histidine ist nicht allein für die Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit verantwortlich. Dies wird anhand der Daten aus Tab. 3.4 sehr gut deutlich.

4 AUSBLICK

Im Rahmen dieser Arbeit konnte erfolgreich gezeigt werden, dass es möglich ist im Vergleich zur Natur kleine Moleküle zu finden, die Hydrolysereaktionen katalysieren. Ausgehend von einer Bibliothek mit 625 Mitgliedern wurde für die beiden Hydrolysereaktionen, Phosphat- und Esterspaltung, jeweils ein Oktapeptid (Abb. 4.1) gefunden, das die Reaktion deutlich beschleunigt.

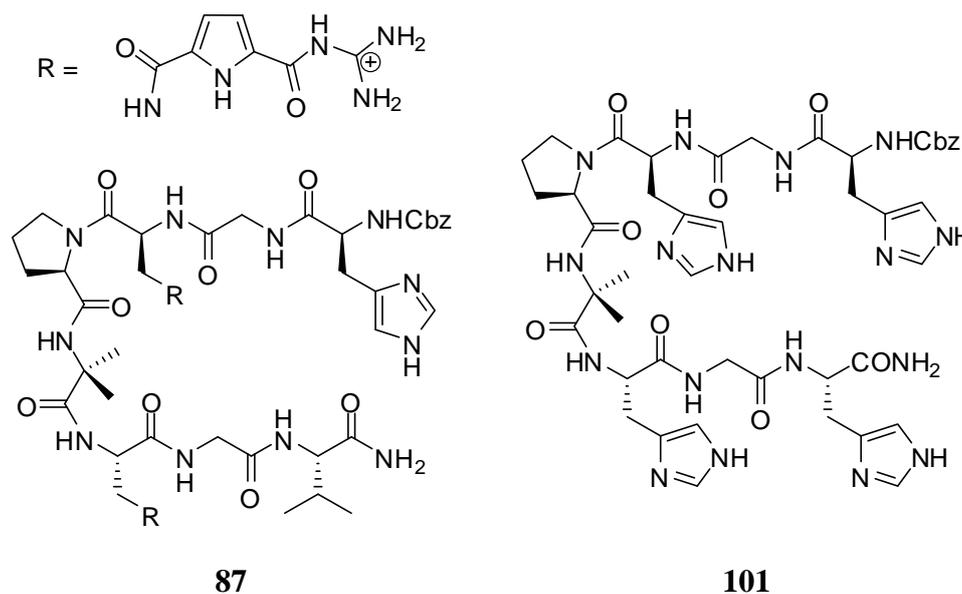


Abb. 4.1: Strukturformeln der beiden besten Oktapeptide für die unterschiedlichen Hydrolysereaktionen. Links der Organokatalysator für die Phosphatspaltung und rechts für die Carbonesterspaltung.

Bei den Enzymen ist die sekundäre Struktur für katalytische Schritte sehr wichtig. Durch sie wird vorgegeben, welche Form die Bindungstasche hat und damit auch welche Substrate umgesetzt werden können. Deshalb wäre es sehr hilfreich zu wissen, welche Struktur die oben gezeigten Oktapeptide während der Katalyse besitzen. Durch das Verwenden von Aib-*D*-Pro als Turn-Element sollte eine β -Schleife induziert werden und damit die Moleküle ein antiparalleles β -Faltblatt ausbilden können. Jedoch müssten solche Aussagen durch unterschiedliche Experimente, wie Schmelzkurven oder NMR-Experimente, noch bestätigt werden. Erste energieminierte Rechnungen zeigen, dass das Oktapeptid **87** ohne Substrat keine β -Faltblattstruktur ausbildet, obwohl das Dipeptid Aib-*D*-Pro einen Turn einleitet (in Abb. 4.2 gelb dargestellt). Führt man die Berechnung mit Substrat **83** durch kann man bereits

erkennen, dass neben dem Einleiten eines β -Turns, auch ein β -Faltblattstruktur ausgebildet wird.

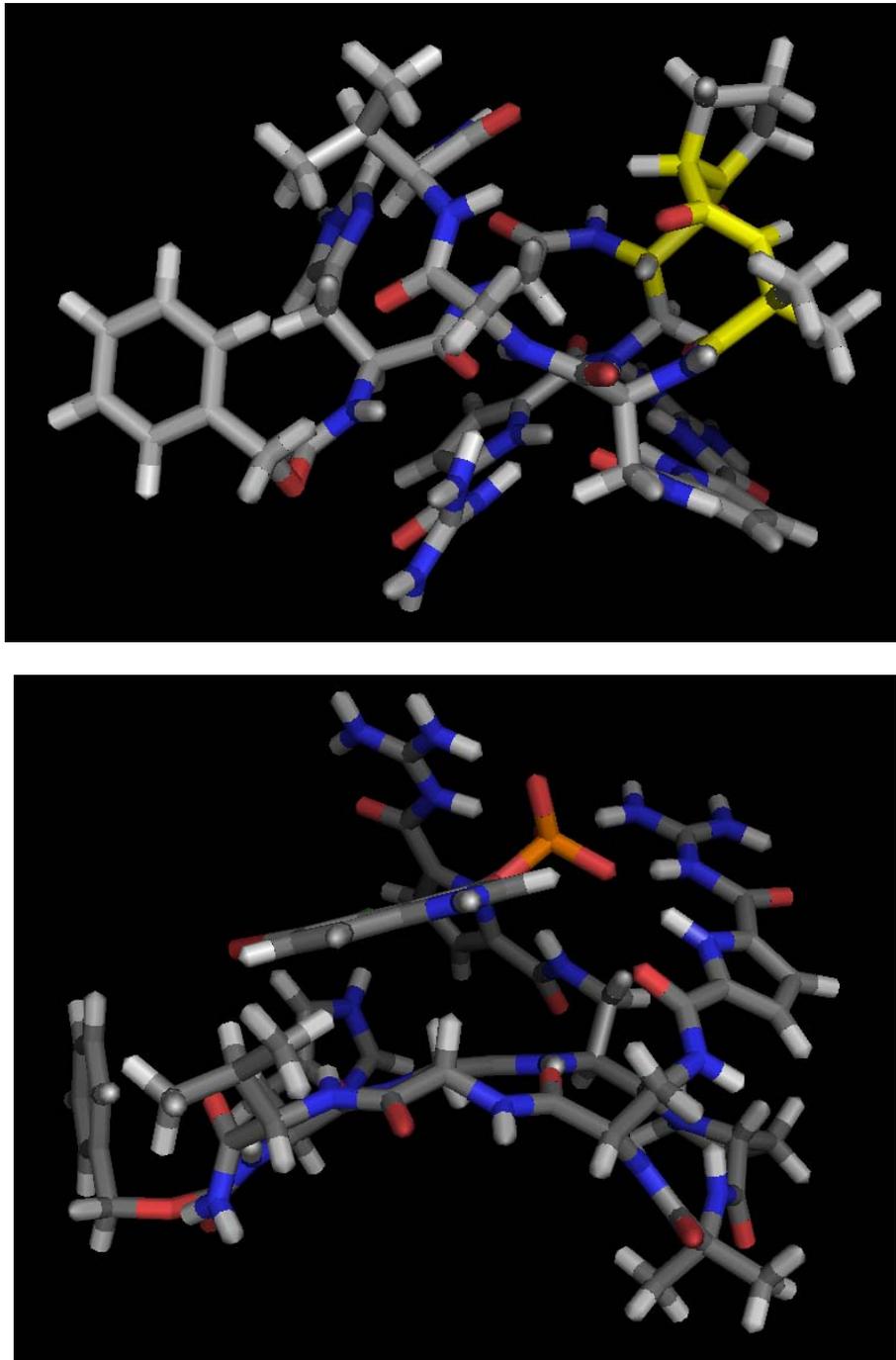


Abb. 4.2: Berechnete Struktur (Macromodel 8.0, Amber*, GB/SA Wasser als Solvents, Monte Carlo Suche mit 50.000 Schritten) einmal des Oktapeptides **87** alleine (oben) und unten mit dem Substrat **83** (unten). Dabei sieht man in der oberen Rechnung gelb dargestellt die Schleifenbildung auch ohne Vorhandensein des Substrates.

Wie oben beschrieben, wurden die zwei Oktapeptide **87** und **101** durch die jeweils unterschiedlichen Screeningmethoden von den 625 Mitgliedern der Bibliothek herausgefiltert. Nachdem gezeigt werden konnte, dass diese beiden Verbindungen nicht nur an fester Phase katalytische Aktivität zeigen, sondern auch in Lösung, müsste als einer der nächsten Schritte herausgefunden werden, welche Strukturelemente für die Katalyse notwendig sind. So stellt sich die Frage bei den Oktapeptiden, wie notwendig die beiden Aminosäuren Glycin zwischen den anderen Aminosäuren sind. So könnte man unter Umständen durch eine höhere Anzahl an Histidinen im Oktapeptid **101** eine noch bessere katalytische Aktivität erhalten. Ebenso wäre es interessant herauszufinden, ob das Turn-Element Aib-*D*-Pro einen Einfluss auf die Struktur und damit auf die Katalyse ausübt. Ein Ergebnis dafür würde man relativ einfach erhalten, indem man eines der beiden Oktapeptide (**87**, **101**) erneut synthetisiert, jedoch anstelle des Turn-Elementes zwei Glycin Aminosäuren einbaut. Außerdem könnte man sukzessive einzelne Teile der Oktapeptide weglassen und dann die katalytischen Eigenschaften betrachten. Neben dem Wegfall von einzelnen oder mehreren Aminosäuren, kann man die Oktapeptide entweder noch durch andere Aminosäuren verlängern oder vorhandene Aminosäuren durch natürliche oder künstliche Aminosäuren ersetzen. Durch diese Maßnahmen könnte man auf der einen Seite das Oktapeptid weiterhin optimieren und auf der anderen Seite auch notwendige Strukturmerkmale erkennen, die notwendig sind um Reaktionen zu katalysieren.

Ein weiterer interessanter Zukunftsaspekt wäre entweder die gleichen Oktapeptide wie oben beschrieben (**87**, **101**) oder optimiertere Katalysatoren an eine feste Phase zu binden und sie dann so in der Reaktion einsetzen. Dafür ist es jedoch nötig zu wissen, welche Lösungsmittel man in den Reaktionen verwenden will, um dementsprechend auch eine geeignete feste Phase auszuwählen. Der Vorteil bei so einem Einsatz des Katalysators wäre die sehr einfache Trennung des Katalysators von der Reaktionslösung. Nach einigen Aufbereitungsschritten könnte der gleiche Katalysator wieder in der nächsten Reaktion eingesetzt werden und somit theoretisch beliebig oft. Dies wäre ein sehr wichtiger Kostenaspekt in der heutigen Zeit, da nicht immer wieder der Katalysator erneut teuer synthetisiert werden müsste.

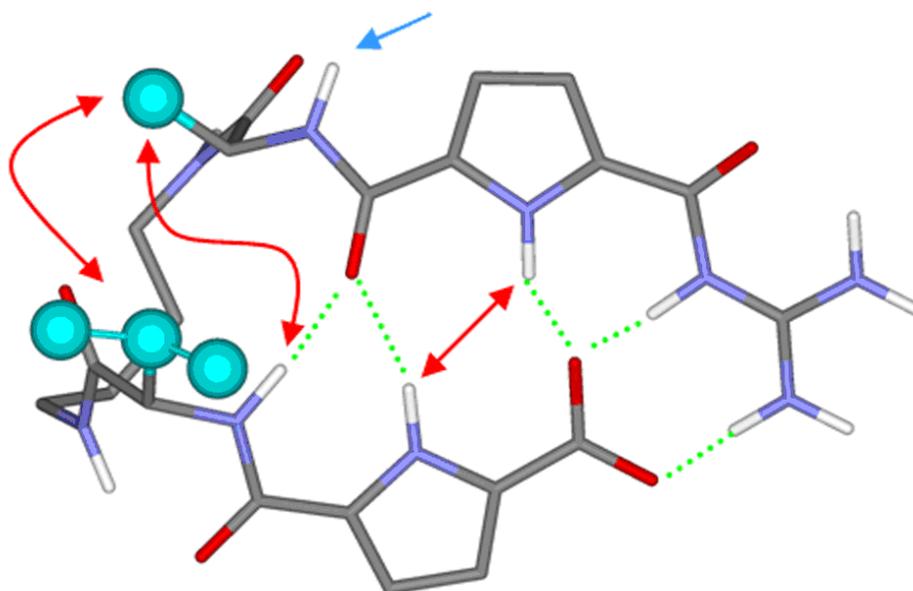
Neben den hier gezeigten Hydrolysereaktionen gibt es noch eine Vielzahl von Reaktionen die katalysiert werden können. So sind in Kapitel 2.1.2 einige Beispiele gezeigt, wo Oligopeptide Reaktionen wie Hydrocyanierung, Acylierung, Phosphorylierung und konjugierte Addition unter anderem katalysieren. Durch die große Anzahl an unterschiedlichen Aminosäuren in der hergestellten Bibliothek ist die Katalyse andere Reaktionen durchaus denkbar. So wurde neben den natürlichen Aminosäuren auch die in der Gruppe *Schmuck* hergestellte

C₁-Aminosäure verwendet, die Oxoanionen sehr gut binden kann und somit eine mögliche Präorganisation des Substrates gegeben ist. Jedoch müsste für eine neue Reaktion ein neues Screeningassay angewandt werden. Dadurch könnte man wiederum, wie in dieser Arbeit beschrieben mögliche Kandidaten für die einzelnen Reaktionen herausfinden, die dann anschließend erneut in Lösung getestet werden müssten.

Die im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Oktapeptide für die Katalyse von zwei Arten der Hydrolysereaktion stellen die Grundlage für die Entwicklung neuer Organokatalysatoren dar. Diese sind in der Lage Reaktionen in Wasser und bei neutralen pH-Wert zu beschleunigen. So mit kann durch weitere Optimierung der Katalysatoren weitere Reaktionen katalysiert werden. So könnte man Organokatalysatoren erhalten, die in unterschiedlichen Reaktionen unter milden Bedingungen eingesetzt werden können.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In der Natur ist bei den Katalysereaktionen die Sekundärstruktur von entscheidender Bedeutung. Aus diesem Grunde wurde im Rahmen dieser Arbeit zunächst ein Modellsystem entwickelt, mit dem gezeigt werden konnte, dass es möglich ist mit einfachen Bausteinen wie Diaminobutan und dem in der Gruppe von Schmuck entwickelten Guanidiniocarbonylpyrrol **67** ein Molekül zu entwickeln, welches eine stabile intramolekulare Schleife in polaren Lösungsmitteln ausbildet. Aufgrund der geringen Größe des Moleküls, konnte kein β -Faltblatt gebildet werden. Dennoch konnte mit Hilfe der NMR-Spektroskopie gezeigt werden, dass in dem polaren Lösungsmittel Methanol eine stabile Schleifenbildung mit einer intramolekularen Komplexierung stattfindet.

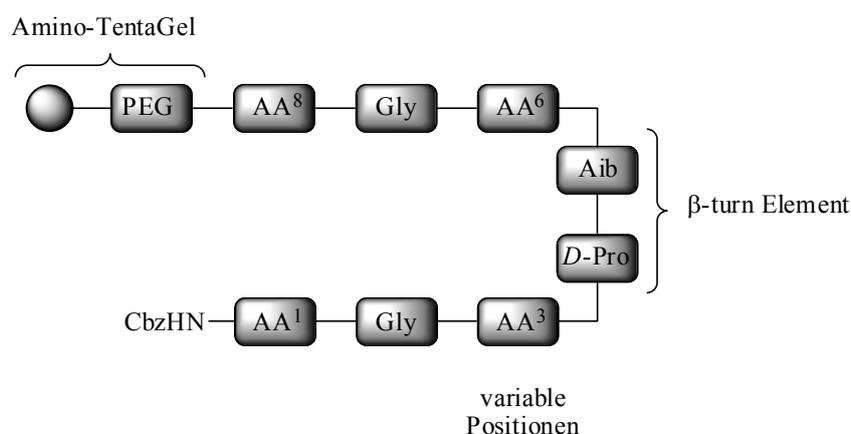


71

Abb. 5.1: Gerechnete Struktur des Zwitterions **71**. Die grün gestrichelten Linien zeigen die intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen. Die roten Pfeile markieren die im NOESY-Experiment gesehenen Signale. Durch den blauen Pfeil ist das schnell austauschende Alaninamid-NH, das nach außen gerichtet ist, gezeigt. [nicht-polare Wasserstoffatome wurden wegen der besseren Übersicht weggelassen]. Reproduced with permission. Copyright 2007 Wiley InterScience.

Nach erfolgreicher Synthese des oben gezeigten Testsystems wurde als nächster Schritt eine kombinatorische Organokatalysatorbibliothek mit 625 Mitgliedern aufgebaut. In Abb. 5.2 ist der schematische Aufbau der synthetisierten Oktapeptide gezeigt. Die Struktur der Peptide

kann man in drei Teile untergliedern. Der erste Teil ist die feste Phase, das Amino-TentaGel, an das nacheinander die einzelnen Aminosäuren gekuppelt wurden. An Stelle der Butylgruppe als Schleifenelement wurde Aib-*D*-Pro als β -Turn Element eingesetzt.^[66-69] Den dritten Teil bilden die bei der Synthese der Oktapeptide eingesetzten Aminosäuren AA¹, AA³, AA⁶, AA⁸, die ein β -Faltblatt ausbilden sollten. Die kombinatorische Synthese der Bibliothek erfolgte nach der „Split and Mix“ Methode.^[90-93] Zum Unterscheiden der einzelnen Mitglieder untereinander, wurde die feste Phase zusammen mit einem Radiofrequenzchip in IRORI MikroKans gegeben.^[94, 96]



40

AA¹, AA³, AA⁶, AA⁸ = His, Val, Ser, Asp, Glu, Phe, C₁

Abb. 5.2: Schematische Darstellung der Bibliothek 40.

Durch die unterschiedlichen Aminosäuren ist die Bibliothek für die Katalyse in polaren Lösungsmitteln wie Wasser konzipiert worden. Als exemplarische Katalysereaktionen wurden dabei zwei Hydrolysereaktionen (Phosphatspaltung und Esterspaltung) ausgesucht. Zunächst wurde für beide Reaktionen ein Screening mit unterschiedlichen Bedingungen durchgeführt.

Für die Phosphatspaltung wurde ein bekanntes Indolderivat als Substrat verwendet, welches nach erfolgreicher Phosphatabspaltung durch Luftoxidation zu einem Indigoderivat weiterreagierte.^[98] Durch die dabei entstehende Blaufärbung konnte das Fortschreiten der Reaktion verfolgt werden. Durch dieses Screening konnte das Oktapeptid **87** identifiziert werden, welches nach erneutem Synthetisieren der Verbindung als Katalysator in Lösung eingesetzt wurde. Als Substrat konnte das *p*-Nitrophenylphosphat **94** verwendet werden. Die

Zunahme der Konzentration des entstehenden Nitrophenol **97**, konnte mit Hilfe der UV-Spektroskopie beobachtet und bestimmt werden.

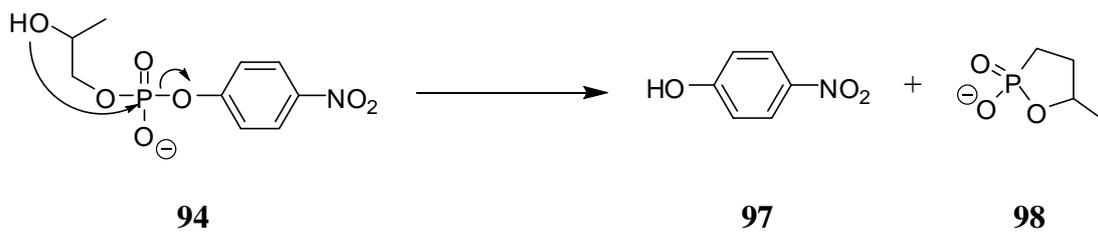
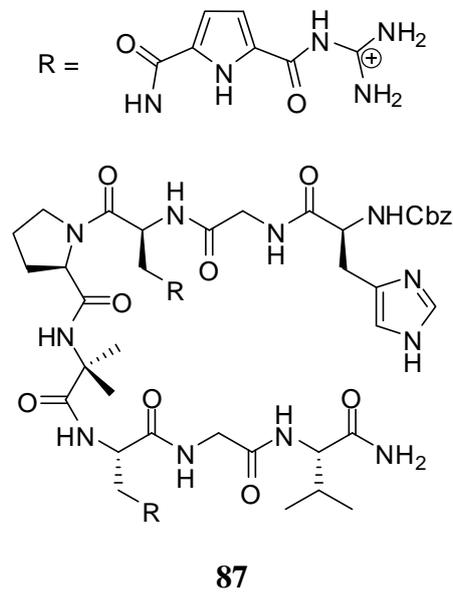


Abb. 5.3: Oben: Durch das Screening gefundenes Oktapeptid für die Phosphatase. Unten: Katalyseschema für die Phosphatase in Lösung.

Quantenmechanische Berechnungen konnten zeigen, dass das Oktapeptid bei Anwesenheit des Substrates **83** eine β -Faltblattstruktur ausbildet, die jedoch in Abwesenheit des Substrates nicht vorliegt (Abb. 5.4).

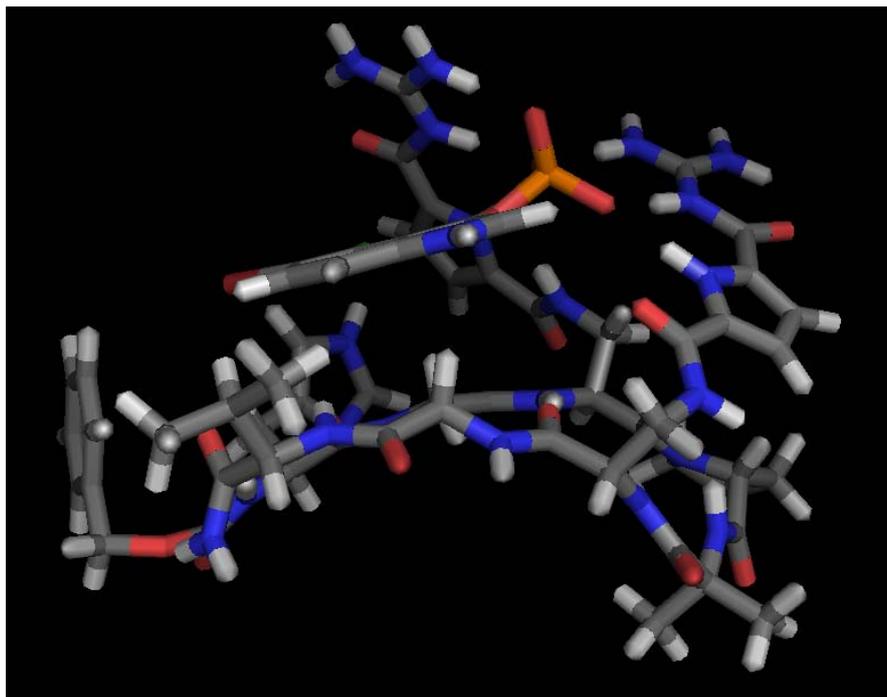


Abb. 5.4: Berechnet Struktur (Macromodel 8.0, Amber*, GB/SA Wasser als Solvent, Monte Carlo Suche mit 50.000 Schritten) des Oktapeptides **87** mit dem Substrat **83**.

Die Auswertung der Sättigungskinetiken für die Phosphatspaltung mit dem Oktapeptid **87** zeigte, dass die katalysierte Reaktion 175-mal schneller abläuft als die unkatalysierte. Auch bei nicht idealen Bedingungen (50 °C) konnte dennoch erfolgreich eine Beschleunigung der Hydrolysereaktion in Wasser erreicht werden. Auch konnte durch Zugabe von EDTA ausgeschlossen werden, dass Metalle an der Katalyse beteiligt sind, so dass die hier gezeigte Reaktion eine reine Organokatalysereaktion darstellt.

Für die zweite Reaktion wurde ein Fluoreszenzscreening verwendet, mit dem das Oktapeptid **101** als bester Organokatalysator gefunden wurde. Als Substrat wurde sowohl beim Screening als auch bei der Katalyse in Lösung das bereits literaturbekannte Pyrenderivat **88** verwendet.^[88, 125-127] Die Zunahme des durch die Abspaltung des Butylesters entstehenden Pyrenalkohols **89** konnte durch Fluoreszenzspektrometrie detektiert werden.

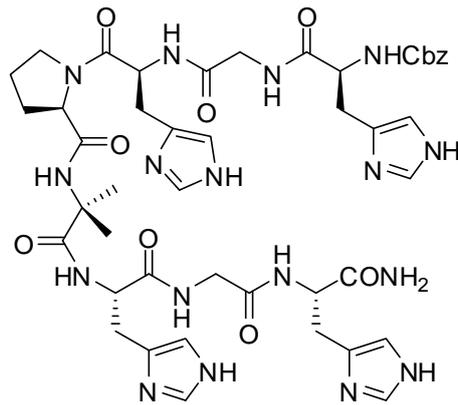
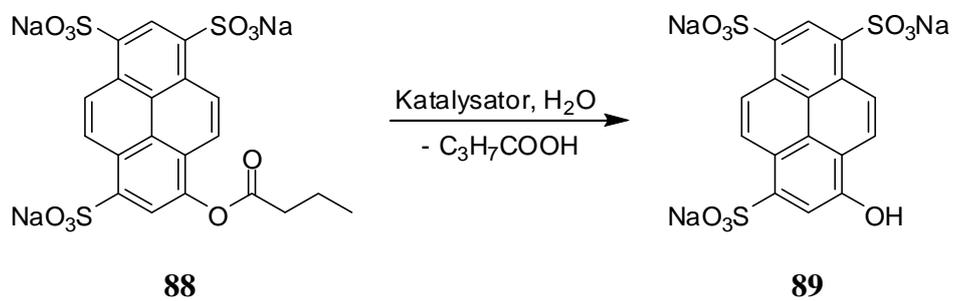
**101****88****89**

Abb. 5.5: Oben: Strukturformel des Oktapeptides **101**. Dieses zeigte sowohl im Screening als auch in Lösung die besten Hydrolyseeigenschaften. Unten: Hydrolyse des Butylesters beim käuflichen Pyrenderivat **88** wodurch der Pyrenalkohol **89** mit Hilfe der Fluoreszenz nachgewiesen werden kann

Zusätzlich zu dem Oktapeptid **101** wurden auch noch die Peptide **104**, **120**, **121**, **122**, **123** und **124** mit Hilfe einer Sättigungskinetik untersucht. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Tab. 5.1 dargestellt.

Tab. 5.1: Zusammenstellung der Daten, die durch die Sättigungskinetik für die unterschiedlichen Oktapeptide erhalten wurden.

Oktapeptid	K_m [mM]	v_{max} [M min ⁻¹]	k_{cat} [min ⁻¹]	k_{cat}/K_m [(M min) ⁻¹]	k_{cat}/k_{uncat}
101	0.17	$1.12 \cdot 10^{-6}$	0.019	112	345
104	1.00	$5.2 \cdot 10^{-7}$	0.0087	9	158
120	0.71	$2.97 \cdot 10^{-7}$	0.0049	7	89
121	1.51	$9.69 \cdot 10^{-7}$	0.0162	11	294
122	0.42	$1.19 \cdot 10^{-7}$	0.0019	5	35
123	1.13	$3.86 \cdot 10^{-7}$	0.0064	6	116
124	0.48	$2.11 \cdot 10^{-7}$	0.0035	7	64

Obwohl bis auf das Oktapeptid **101** alle anderen benutzten Peptide jeweils zwei Histidine und zwei Serine als variable Aminosäuren haben, gibt es deutliche Unterschiede. Die Ergebnisse der oben gezeigten Tabelle zeigen, dass neben dem Vorhandensein der Imidazolringe, auch die Sequenz eine große Rolle spielt. Am stärksten ist der Unterschied zwischen den beiden Peptiden **121** und **122** zu sehen. Während das erste Oktapeptid die Reaktion im Vergleich zur unkatalysierten um den Faktor 294 beschleunigt kann das Peptid **122** die Reaktion nur um den Faktor 35 beschleunigen. Der Unterschied dieser beiden Peptide liegt allein in der umgedrehten Sequenz.

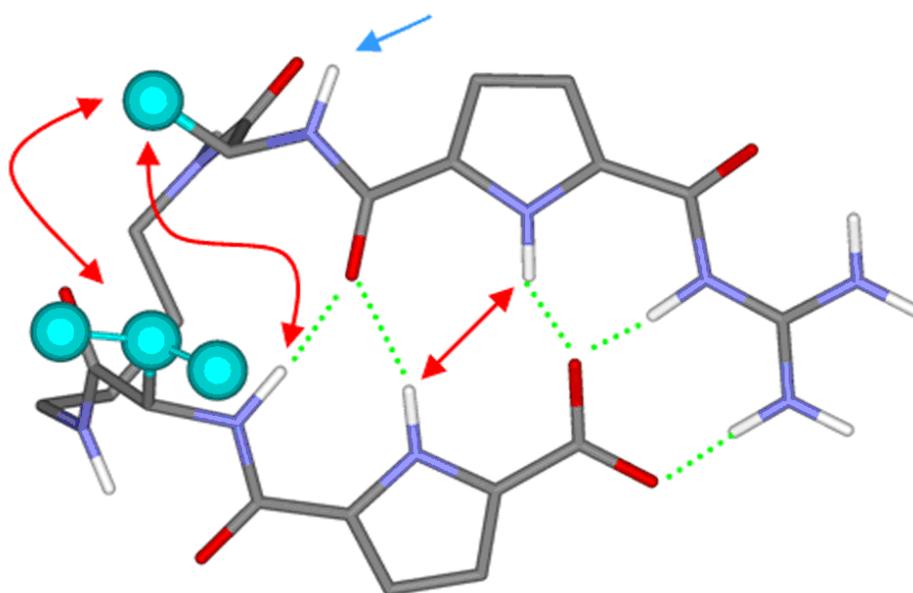
Das Oktapeptid **101** besitzt im Vergleich zu den anderen in Tab. 5.1 gezeigten Peptiden vier Histidine. Dieses Peptid beschleunigt die Hydrolyse des Pyrenesters **88** verglichen mit der unkatalysierten Reaktion um einen Faktor von 345. Auch wenn man die Aktivität auf einen Imidazolring herunterrechnet, beschleunigt dieses Oktapeptid die Hydrolyse des Substrates mit einem Faktor von 56 ($[(k_{cat}/K_m)/k_{im}]/\text{His}$) im Vergleich zur unkatalysierten Reaktion.

Für diese hier gezeigten Reaktionen konnten im Zuge dieser Arbeit mit Hilfe einer kombinatorischen Bibliothek erfolgreich Organokatalysatoren gefunden werden. Die durch

das Screening gefundenen guten Organokatalysatoren beschleunigten die Reaktionen im wässrigen Medium deutlich im Vergleich zur unkatalysierten.

6 SUMMARY

In nature the secondary structure is essential for catalytic reactions. For this reason a model system was developed. With simple devices like Diaminobutyl and Guanidiniocarbonylpyrrol **67** developed in the group of *Schmuck* a molecule should be build up, which could form a stable intramolecular loop in polar solvents. Due to the small size of the molecule no β -sheet could be formed. Nevertheless it could be demonstrated with the help of the NMR spectroscopy that in the polar solvent methanol a stable loop formation with an intramolekular complexation took place.

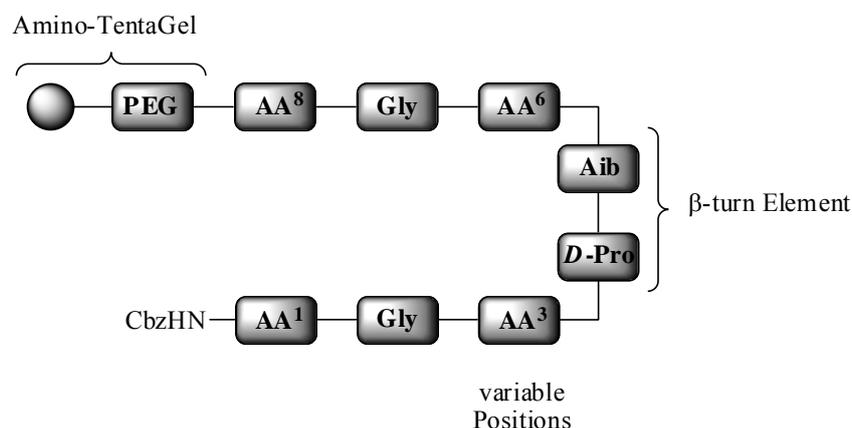


71

Fig. 6.1: Calculated structure of zwitterion 71 showing intramolecular H-bonds (green) and the experimentally observed diagnostic non-sequential NOEs (red). The fast exchanging alanine amide NH is marked in blue [non-polar hydrogen atoms were leaving out for the clarity]. Reproduced with permission. Copyright 2007 Wiley InterScience.

After successfully producing and testing of the above test system the next step was to synthesize a combinatorial library with 625 organocatalysts members. In Fig. 6.2 the schematic structure of the synthesized octapeptide is shown. The structure of the peptides can be broken down into three parts. The first part is the solid phase, the amino-TentaGel. To this the amino acids were coupled. Instead of a butyl group the literature known β -turn element Aib-*D*-Pro was used.^[66-69] Third part of the octapeptides were the varying amino acids in the

position AA¹, AA³, AA⁶ and AA⁸. Between amino acid AA¹ and AA³ and AA⁶ and AA⁸ a glycine was used. These amino acids should build a β -sheet. The combinatorial synthesis of the library took place after the “split and mix” method.^[90-93] To distinguish the individual members the resin was put in the IRORI MikroKans and a radio frequency chip was added to the resin.^[94, 96]



40

AA¹, AA³, AA⁶, AA⁸ = His, Val, Ser, Asp, Glu, Phe, C₁

Fig. 6.2: Schematic presentation of the library 40.

Due to the different amino acids the members of the library were designed for use in polar solvents as water. Two hydrolysis reactions were used as exemplary catalysis reactions. For both reactions a screening followed by catalysis in solution were performed under different conditions.

For the phosphate hydrolysis a known indolderivat was used as substrate. After successful hydrolysis of the phosphate group an indigo derivative was generated after air oxidation.^[98] Through the occurred blue staining the progression of the reaction could be pursued. Octapeptide **87** could be identified through this screening. This peptide was investigated in solution after resynthesising. As substrate *p*-Nitrophenylphosphat **94** was used in solution. The increase in the concentration of the resulting nitrophenol **97** was observed via UV-spectroscopy and determined through the reported absorption values.

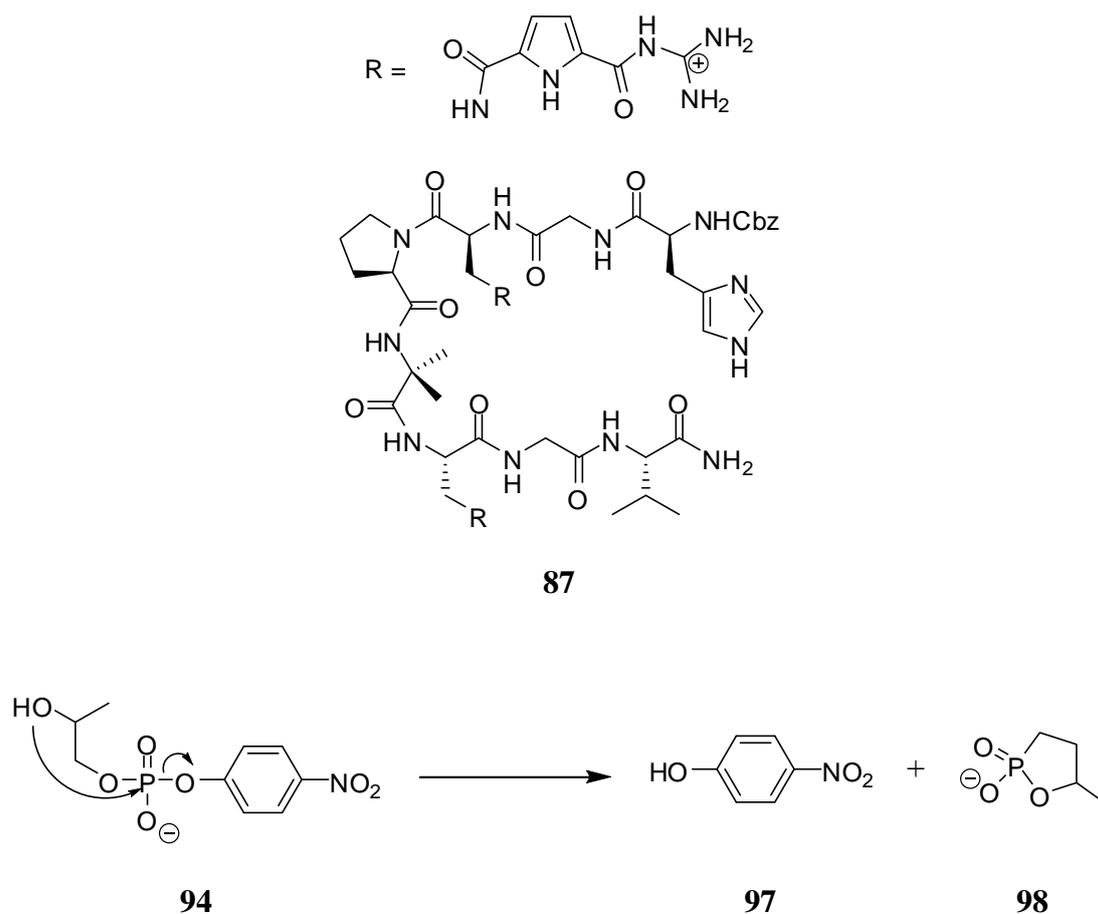


Fig. 6.3: Above: Found octapeptide for phosphate hydrolysis through screening of the library. Below: catalysis schema for phosphate hydrolysis in solution.

Quantum mechanic calculations showed that in presence of substrate **83** octapeptide **87** has a β -sheet structure (Fig. 6.4). This is not the case of the octapeptide alone.

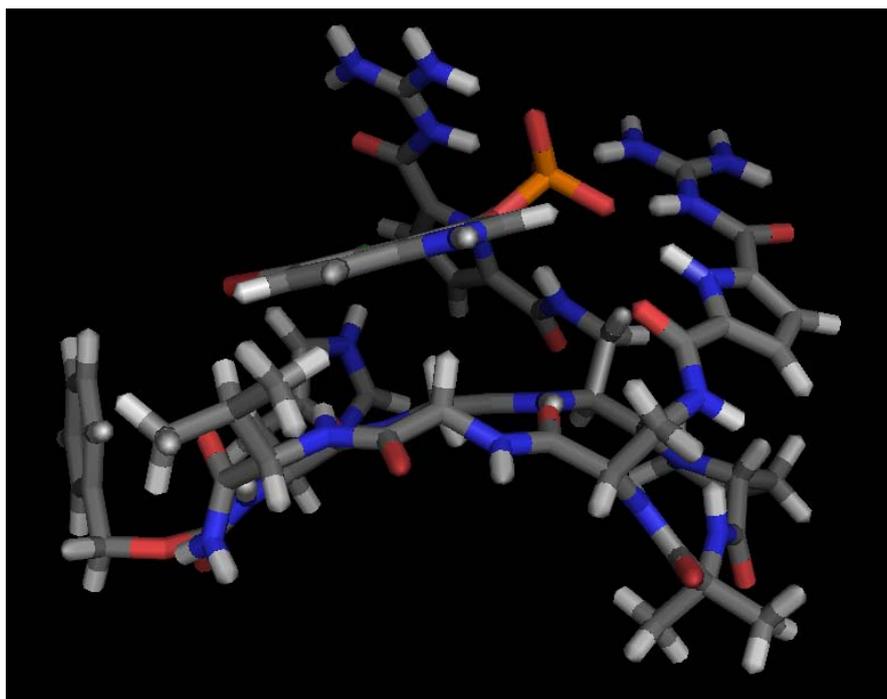


Fig. 6.4: Calculated structure (Macromodel 8.0, Amber, GB/SA water as solvent, Monte Carlo search with 50.000 steps) of the octapeptide **87** with the substrate **83**.*

The evaluation of the saturation kinetics for the phosphate hydrolysis with octapeptide **87** showed that the catalyzed reaction was 175 times faster than the uncatalysed reaction. Even if the conditions are not ideal (50 °C) a successful acceleration of the hydrolysis reaction in water could be achieved. Also, by adding EDTA it could be excluded that metals were involved catalysis, so that the reaction shown here is a pure organocatalysis.

For the second reaction a fluorescence screening was used. So octapeptide **101** was found as the best organocatalyst for this reaction. As substrate the already literature known pyren derivate **88** was used for the screening as well as catalysis in solution.^[88, 125-127] By hydrolysis of the butyl ester the pyren alcohol **89** was formed. The increase of this compound could be detected by fluorescence spectroscopy.

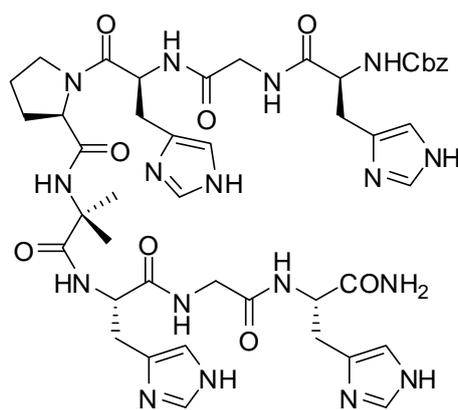
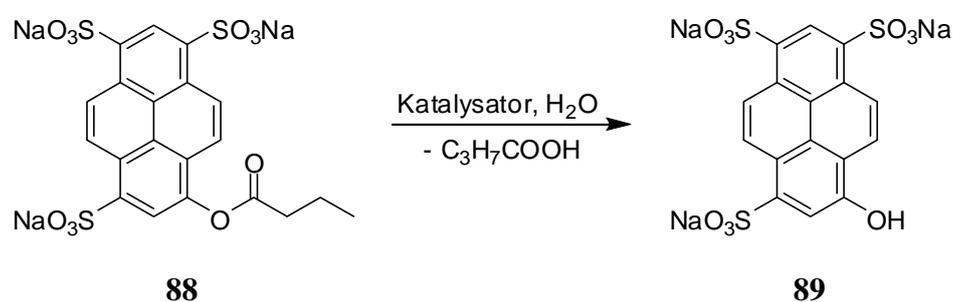
**101****88****89**

Fig. 6.5: Above: Structure of octapeptide **101**. This shows in screening and in solution the best hydrolysis results. Below: Hydrolysis of the butyl ester of the pyren derivate **88**. So the pyren alcohol **89** was detected with fluorescence.

In addition to octapeptide **101** also the peptides **104**, **120**, **121**, **122**, **123** and **124** were investigated with the saturation kinetic measurements. The results of these measurements were displayed in Tab. 6.1.

Tab. 6.1: Compilation of data which were obtained through the saturation kinetic measurement of the different octapeptides.

Octapeptide	K_m [mM]	v_{max} [M min ⁻¹]	k_{cat} [min ⁻¹]	k_{cat}/K_m [(M min) ⁻¹]	k_{cat}/k_{uncat}
101	0.17	$1.12 \cdot 10^{-6}$	0.019	112	345
104	1.00	$5.2 \cdot 10^{-7}$	0.0087	9	158
120	0.71	$2.97 \cdot 10^{-7}$	0.0049	7	89
121	1.51	$9.69 \cdot 10^{-7}$	0.0162	11	294
122	0.42	$1.19 \cdot 10^{-7}$	0.0019	5	35
123	1.13	$3.86 \cdot 10^{-7}$	0.0064	6	116
124	0.48	$2.11 \cdot 10^{-7}$	0.0035	7	64

Except octapeptide **101** all other studied peptides have two histidines and two serines as variable amino acids. Although the other peptides were so similar the results of the saturation kinetic measurements were so different. The data listed in Tab. 6.1 showed that not only the presence of the imidazole rings is necessary but also the sequence of the octapeptides played a major role. The biggest differences were between the two peptides **121** and **122**. The first octapeptide accelerated the hydrolysis of the pyren ester compared with the uncatalysed reaction with a factor of 294. Peptide **122** accelerated the reaction only by the factor of 35. The difference of these two peptides is only due to the inverted sequence.

Octapeptide **101** had compared to the other peptides shown in Tab. 6.1 four histidine. This octapeptide accelerated the hydrolysis of the pyren ester **88** compared with the uncatalysed reaction by a factor of 345. Even if the activity was calculated to only one imidazole ring the octapeptide accelerated the hydrolysis of the substrate by a factor of 56 compared with the uncatalysed reaction.

For both shown hydrolysis reactions octapeptides could be found from a combinatorial library through a screening. The found peptides were then used successfully in solution under

aqueous conditions. As shown before all found organocatalyst accelerated the reaction significantly.

7 EXPERIMENTELLER TEIL

7.1 Allgemeiner experimenteller Teil

Lösemittel:

Alle verwendeten Lösemittel wurden destilliert. Wasserfreie Lösemittel wurden wie folgt erhalten: Tetrahydrofuran und Diethylether wurden mit Natrium mit Benzophenon als Indikator zum Rückfluss erhitzt und anschließend destilliert. Dichlormethan, Triethylamin und Toluol wurden mit Calciumhydrid zum Rückfluss erhitzt und anschließend destilliert. Methanol wurde mit Magnesiumspänen zum Rückfluss erhitzt und anschließend destilliert. DMF wurde mit Calciumhydrid unter vermindertem Druck zum Rückfluss erhitzt und anschließend destilliert, dabei wurden etwa 20 Volumenprozent als Vorfraktion verworfen.

Reagenzien:

Bei den eingesetzten Reagenzien handelt es sich, soweit nicht anders vermerkt, um kommerziell erhältliche Chemikalien der Firmen Merck, Sigma-Aldrich, Fluka, Lancaster, Iris Biotech, Bachem, GL Biochem(Shanghai) oder Aldrich die ohne weitere Reinigung eingesetzt wurden. Die deuterierten Lösemittel wurden von der Firma Deutero bezogen.

Schutzgas:

Als Schutzgas wurde Stickstoff (99.996 %) oder Argon (99.998 %) der Firma Linde verwendet.

Dünnschichtchromatographie (DC):

Es wurden DC-Alufolien „Kieselgel 60 F₂₅₄“ mit Fluoreszenz-Indikator der Firma Merck verwendet. Die Detektion erfolgte mittels UV-Lampe ($\lambda = 254 \text{ nm}$), durch Anfärben in der Iodkammer, durch Besprühen mit einer Cer-Reagenzlösung (25 g Molybdätophosphorsäure, 10 g Cer(IV)sulfat-Tetrahydrat, 60 mL konzentrierte Schwefelsäure auf 1 L Wasser) oder mittels Ninhydrinlösung.

Säulenchromatographie:

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel des Typs MP-Silica 32-63 μm , 60 Å der Firma MP Biomedicals Germany GmbH verwendet. Lösemittelgemische sind in Volumenanteilen (v/v) angegeben.

Kombinatorische Parallelsynthese am polymeren Träger:

Das Ordnen und Identifizieren der Verbindungen am polymeren Träger wurde mit einem Accu Tag™ - 100 Combinatorial Chemistry System der Firma IRORI durchgeführt. Die Reaktionen wurden in MikroKans der Firma IRORI mit einer Porenweite von 74 µm durchgeführt.

7.2 Generelle analytische Methoden

Schmelzpunkte:

Die Messung der Schmelzpunkte erfolgte in offenen Glaskapillaren mit einer Schmelzpunktbestimmungsapparatur nach Tottoli der Firma Büchi. Die angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

Kernresonanzspektroskopie:

Die Kernresonanzspektren wurden an den AC 250, AC 400, Avance 500 und DMX 600 Spektrometern der Firma Bruker bei 25 °C aufgenommen. Die Angaben der chemischen Verschiebung beziehen sich auf das Lösemittel als interner Standard und sind in δ-Werten angegeben. Für die Signalmultiplizitäten wurden folgende Abkürzungen verwendet: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, quint. = Quintett, dd = Dublett vom Dublett und m = Multiplett, verbreiterte Signale sind durch ein vorangestelltes b (=broad) gekennzeichnet. Alle Spektren wurden nach erster Ordnung interpretiert, die Zuordnung der ¹H- und der ¹³C-Signale erfolgte mittels Literatur und durch Vergleich mit Spektren ähnlicher Verbindungen.^[128, 129]

Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FT-IR):

Alle Infrarotspektren wurden an einem FT-IR 410 der Firma Jasco gemessen. Die Angaben zur Lage der Banden erfolgen in Wellenzahlen (Einheit: cm⁻¹).^[129]

Ultraviolett-spektroskopie (UV-Spektroskopie):

Die Aufnahme von UV/Vis-Spektren erfolgte mit einem JASCO V530 Spektrometer in Quarzglasküvetten mit einer Schichtdicke von 10 mm.

Fluoreszenzspektroskopie:

Alle Fluoreszenzmessungen erfolgten an einem JASCO FP 6500 Spektrometer und wurden in Quarzglasküvetten mit einer Schichtdicke von 10 mm durchgeführt.

Mikroskopie:

Die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen wurden an einem Olympus BX 51 Mikroskop mit einer Olympus DP 50 Digitalkamera durchgeführt.

Massenspektrometrie:

Die EI-Massenspektren wurden mit einem Finnigan MAT 90, die ESI-Massenspektren mit einem Bruker microTOF focus aufgenommen.

Schüttelapparatur:

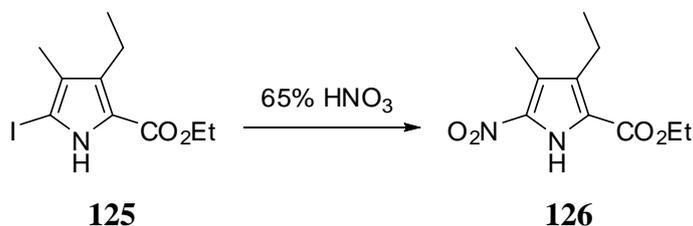
Als Schüttler wurde ein KS 130 basic Laborschüttler der Firma IKA verwendet.

Thermomixer:

Als Thermomixer wurde ein MKR 10 der Firma HLC verwendet.

7.3 Synthese der Aminopyrrole

7.3.1 Synthese von 3-Ethyl-4-methyl-5-nitro-1H-pyrrol-2-carbonsäureethylester (**126**)^[102]



Zu einer eisgekühlten 65 %igen HNO_3 -Lösung (5.67 mL, 64.0 mmol, 40 eq) wurde das Pyrrolderivat **125** (500 mg, 1.60 mmol, 1.0 eq) innerhalb von einer Minute zugegeben. Die Lösung wurde 1 Stunde gerührt und anschließend der graue Feststoff abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Anschließend wurde der Feststoff in Wasser (ca. 5 mL) aufgeschlämmt, mit wenig gesättigter NaHCO_3 -Lösung und KI (250 mg, 1.51 mmol, 0.94 eq) versetzt und die ganze Lösung bei 40 °C zehn Minuten erwärmt. Nach dem Absaugen des Feststoffes wurde dieser 2 Tage im Ölpumpenvakuum getrocknet. Die Nitropyrrolverbindung **126** erhielt man als farblosen Feststoff (120 mg, 0.53 mmol, 33 %).

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$ 226.23 g/mol.

R_f 0.54 (Kieselgel, Cyclohexan/EE, 2/1).

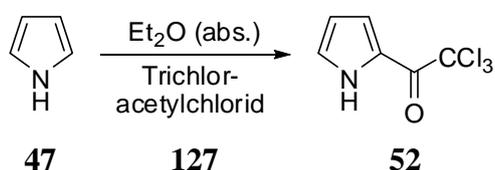
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 1.07 (t, J = 7.5 Hz, 3H, CH_2CH_3), 1.32 (t, J = 7.0 Hz, 3H, OCH_2CH_3), 2.23 (s, 3H, CH_3), 2.75 (q, J = 7.5 Hz, 2H, CH_2CH_3), 4.29 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH_2CH_3), 13.15 (bs, 1H, Pyrrol-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ = 9.52 (CCH_3), 13.62 (OCH_2CH_3), 14.07 (CH_2CH_3), 17.41 (CH_2CH_3), 60.64 (OCH_2CH_3), 121.96 (Pyrrol- C_q), 125.42 (Pyrrol- C_q), 128.17 (Pyrrol- C_q), 140.25 (Pyrrol- C_q), 159.99 (Pyrrol- C_q).

Schmp. 134 °C.

- IR** (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3260.07, 2977.55, 2936.09, 2875.34, 1702.84, 1560.13, 1518.67, 1484.92, 1455.03, 1364.39, 1331.61, 1307.50, 1272.79, 1244.83, 1207.22, 1157.08, 1107.90, 1023.05, 817.67, 777.17, 731.85, 705.82, 610.36.
- EI-MS** $m/z = 226.1$ $[\text{M}]^+$.

7.3.2 Synthese von Trichloracetylpyrrol (**52**)^[130]



Zu einer Lösung von Trichloroacetylchlorid **127** (225 g, 1.23 mol, 1.1 eq) in trockenem Diethylether (220 mL) wurde frisch destilliertes Pyrrol **47** (77.0 g, 1.15 mol, 1.0 eq) über 3 Stunden zugegeben. Anschließend wurde die Lösung eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt und dann mit einer Kaliumcarbonatlösung (100 g, 0.72 mol K_2CO_3 in 300 mL Wasser) neutralisiert. Nach Abtrennen der organischen Phase wurde diese mit Magnesiumsulfat getrocknet, anschließend mit Aktivkohle versetzt und diese wiederum über Celite abfiltriert. Das Lösemittel wurde unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt und aus *n*-Hexan (ca. 225 mL) umkristallisiert. Das Produkt **52** erhielt man als kristallinen, hellbraunen Feststoff (249 g, 1.17 mol, 95 %).

C₆H₄Cl₃NO 212.46 g/mol.

R_f 0.49 (Kieselgel, Dichlormethan).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3) $\delta = 6.39$ (m, 1H, Pyrrol-CH), 7.17 (m, 1H, Pyrrol-CH), 7.39 (m, 1H, Pyrrol-CH), 9.58 (bs, 1H, Pyrrol-NH).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl_3) $\delta = 94.9$ (CCl_3), 111.9 (Pyrrol-CH), 121.2 (Pyrrol-CH),

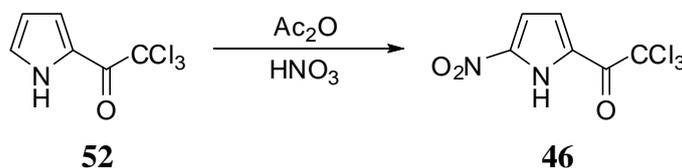
123.0 (Pyrrol- C_q), 127.2 (Pyrrol-CH), 173.2 ($COCCl_3$).

Schmp. 75 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3323.94, 2921.37, 1656.17, 1536.59, 1425.82, 1387.77, 1137.02, 1112.74, 1064.84, 1036.78, 843.11, 756.73, 740.94.

EI-MS $m/z = 211.0 [M]^+$.

7.3.3 Synthese von 5-Nitro-2-trichloracetylpyrrol (**46**)^[107]



Eine Lösung des Pyrrolderivates **52** (20.0 g, 95.0 mmol, 1.0 eq) in Essigsäureanhydrid (111 mL) wurde auf -40 °C gekühlt und dann tropfenweise eine 63%ige Salpetersäurelösung (8.24 mL, 1.367 g/mL, 179 mmol, 1.9 eq) über 2 Stunden zugegeben. Nach der Zugabe wurde die Lösung innerhalb von 2 Stunden auf Raumtemperatur erwärmt und bei Auftreten von braunen Dämpfen sofort wieder auf -40 °C gekühlt. Die Lösung wurde anschließend in 500 mL Eiswasser überführt, wobei ein rotbrauner Feststoff ausfiel. Nach dem Abfiltrieren und Trocknen des Feststoffes wurde er säulenchromatographisch (Kieselgel, Hexan/Essigester, 9/2) gereinigt. Das Produkt **46** erhielt man als farblosen Feststoff (14.9 g, 58.0 mmol, 61 %).

$C_6H_3Cl_3N_2O_3$ 257.46 g/mol.

R_f 0.6 (Kieselgel, Hexan/Essigester, 5/2).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 7.71$ (d, $J = 1.52$ Hz, 1H, Pyrrol-CH), 8.38 (d, $J = 1.52$ Hz, 1H, Pyrrol-CH), 13.64 (bs, 1H, Pyrrol-NH).

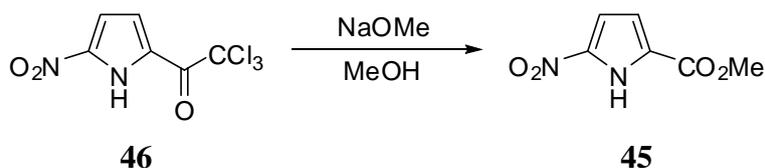
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ = 93.75 (COCCl_3), 114.36 (Pyrrol-CH), 121.38 (Pyrrol-CH), 127.87 (CNO_2), 137.10 (Pyrrol- C_q), 172.99 (COCCl_3).

Schmp. 198 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3316.96, 3146.29, 2991.05, 2929.34, 2804.96, 2697.93, 1676.80, 1551.45, 1514.81, 1404.89, 1378.85, 1317.14, 1254.47, 1148.40, 1041.37, 974.84, 946.88, 858.17, 846.60, 813.81, 741.50, 690.39, 616.15, 594.93, 597.50, 525.51, 451.26.

EI-MS m/z = 255.9 [M] $^+$.

7.3.4 Synthese von Methyl-5-nitro-1H-pyrrol-2-carboxylat (**45**)^[107]



Zu einer Lösung von **46** (9.71 g, 38.0 mmol, 1.0 eq) in Methanol (35 mL) wurde bei Raumtemperatur Natriummethanolat (1.36 g, 59 mmol, 1.6 eq) zugegeben und 2 Stunden gerührt. Danach wurde die Lösung mit 5 %iger H_2SO_4 -Lösung gequencht, auf 0 °C abgekühlt und 500 mL Eiswasser zugesetzt. Der farblose Feststoff wurde abfiltriert und getrocknet, wobei man **45** als Produkt (6.29 g, 37.0 mmol, 97 %) erhielt.

$\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4$ 170.12 g/mol.

R_f 0.34 (Kieselgel, Hexan/Essigester, 5/2).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 3.82 (s, 3H, CO_2CH_3), 7.28 (d, J = 1.64 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 8.07 (d, J = 1.76 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 13.16 (bs, 1H, Pyrrol-NH).

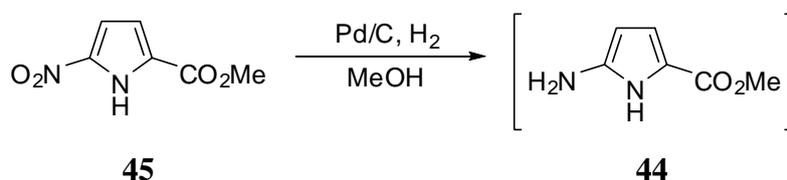
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ = 51.97 (CO_2CH_3), 109.58 (Pyrrol-CH), 122.77 (Pyrrol-CH), 124.42 (CNO_2), 136.71 (Pyrrol- C_q), 159.92 (CO_2CH_3).

Schmp. 193 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3287.62, 1701.88, 1696, 1506.96, 1332.29.

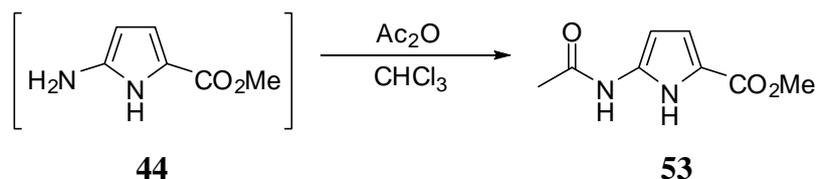
EI-MS m/z = 170.1 [M] $^+$.

7.3.5 Synthese von Methyl-2-amino-1H-pyrrol-5-carboxylat (**44**)^[107]



Die Verbindung **45** (200 mg, 1.18 mmol, 1.0 eq) wurde in Methanol (30 mL) gelöst und unter Argon 10 % Pd/C (20.0 mg) zugegeben. Wasserstoff wurde unter Rühren bei Raumtemperatur eingeleitet. Als nach 30 Minuten mittels DC kein Edukt mehr detektiert werden konnte, wurde der Katalysator über Celite abfiltriert und mit Methanol nachgewaschen. Das Lösemittel wurde im Vakuum bei Raumtemperatur entfernt, wonach man **44** als ein grün-gräuliches Öl erhielt. **44** wurde ohne weitere Charakterisierung umgesetzt.

7.3.6 Synthese von Methyl-2-amido-1H-pyrrol-5-carboxylat (**53**)^[101]



Das Aminopyrrol **44** wurde als Rohprodukt der Hydrogenolyse von **45** eingesetzt. Das Rohprodukt wurde in einer Mischung aus Essigsäureanhydrid und Chloroform (1/1) (10 mL)

gelöst und 18 Stunden bei 60 °C gerührt. Das Lösemittelgemisch wurde am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Hexan/Essigester, 5/2) gereinigt. Das Produkt **53** erhielt man als farblosen Feststoff (172 mg, 0.94, 88 %).

C₈H₁₀N₂O₃ 182.18 g/mol.

R_f 0.16 (Kieselgel, Hexan/Essigester, 5/3).

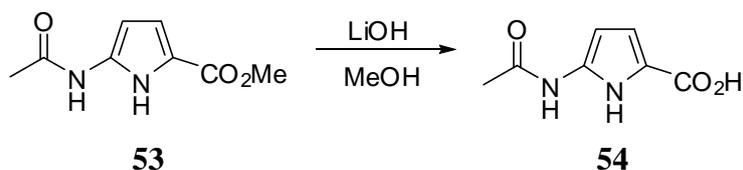
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.95 (s, 3H, CH₃CONH), 3.74 (s, 3H, COOCH₃), 6.65 (d, *J* = 1.12 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 7.18 (d, *J* = 1.24 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 9.83 (s, 1H, CONH), 11.60 (bs, 1H, Pyrrol-NH).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 23.02 (CH₃CONH), 51.03 (COOCH₃), 105.67 (Pyrrol-CH), 113.86 (Pyrrol-CH), 118.85 (Pyrrol-C_q), 124.74 (Pyrrol-C_q), 160.71 (COOCH₃), 166.54 (CH₃CONH).

Schmp. 163 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3313.37, 1703.00, 1652.73, 1405.22, 1214.92, 1123.09.

EI-MS *m/z* = 182.1 [M]⁺.

7.3.7 *Synthese von 2-acetamido-1H-pyrrol-5-carbonsäure (54)* ^[101]

Eine Mischung aus **53** (100 mg, 0.55 mmol, 1.0 eq) und Lithiumhydroxid (120 mg, 5.50 mmol, 10 eq) in Methanol wurde zunächst für 24 Stunden bei 60 °C und anschließend für weiter 3 Stunden bei 80 °C gerührt. Nach Abkühlen der Reaktionslösung wurde das Lösemittel im Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und das übriggebliebene Öl in 2 mL Wasser aufgenommen. Die Lösung wurde mit Salzsäure auf pH = 2-3 angesäuert und über Nacht im Kühlschrank gelagert. Anschließend wurde der ausgefallene Feststoff abfiltriert, mehrere Male mit 5 %iger Salzsäurelösung gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Das Produkt **54** (55.5 mg, 0.33 mmol, 60 %) wurde als grauer Feststoff erhalten.

C₇H₈N₂O₃ 168.15 g/mol.

R_f 0.43 (Kieselgel, Essigester/HOAc, 1/0.01).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.94 (s, 3H, COCH₃), 6.60 (dd, *J* = 2.72 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 7.14 (dd, *J* = 3.04 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 9.83 (s, 1H, CONH), 11.40 (bs, 1H, Pyrrol-NH).

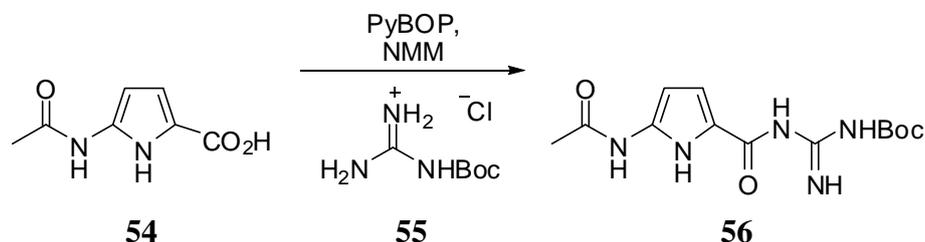
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 23.04 (COCH₃), 105.49 (Pyrrol-CH), 113.31 (Pyrrol-CH), 119.98 (Pyrrol-C_q), 124.55 (Pyrrol-C_q), 161.73 (COOH), 166.50 (COCH₃).

Schmp. 214 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3352.83, 1687.94, 1665.99, 1108.25.

EI-MS *m/z* = 168.1 [M]⁺.

7.3.8 Synthese von 2-Aminoacetyl-5-(Boc-guanidinio)-1H-carbonylpyrrol (56) ^[101]



Eine Mischung von **54** (234 mg, 1.39 mmol, 1.0 eq), PyBOP (723 mg, 1.39 mmol, 1.0 eq) und NMM (462 μL , 4.17 mmol, 3.0 eq) in DMF wurde für 15 Minuten gerührt. Anschließend wurde **55** (223 mg, 1.39 mmol, 1.0 eq) zugegeben und die Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von Wasser (30 mL) wurde die Lösung für 30 Minuten im Eisbad gerührt, mit Diethylether (30x20 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit ges. Kochsalzlösung (100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt. Der ölige Rückstand wurde im Hochvakuum getrocknet und säulenchromatographisch (Kieselgel, Essigester/Hexan/TEA, 9/1/0.1) gereinigt. Das Produkt **56** (128 mg, 0.41 mmol, 30 %) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

$\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_4$ 309.32 g/mol.

R_f 0.56 (Kieselgel, Essigester/Methanol/TEA, 9/1/0.1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 1.44 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.95 (s, 3H, COCH_3), 6.83 (s, 1H, Pyrrol-CH), 7.21 (s, 1H, Pyrrol-CH), 8.48 (bs, 1H, NH), 9.12 (bs, 1H, NH), 9.81 (s, 1H, CH_3CONH), 10.99 (bs, 1H, CONH), 11.25 (bs, 1H, Pyrrol-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ = 22.98 (COCH_3), 27.84 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 31.29 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 104.72 (Pyrrol-CH), 104.77 (Pyrrol-CH), 124.54 (Pyrrol- C_q), 124.65 (Pyrrol- C_q), 158.37 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 166.43 (CONH), 166.53

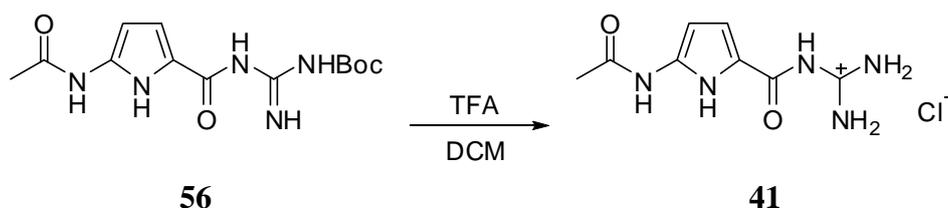
(COCH₃).

Schmp. 219 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3384.46, 3272.61, 3133.76, 2987.52, 2927.41, 1722.12, 1637.27, 1542.77, 1476.24, 1396.21, 1244.83, 1153.22, 1114.65, 846.60, 754.99, 599.75.

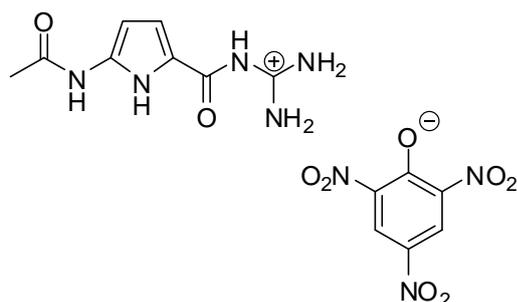
EI-MS $m/z = 332.1$ [M+Na]⁺.

7.3.9 Synthese des 2-Aminoacetyl-1H-guanidiniocarbonylpyrrol (**41**)^[101]



56 (100 mg, 0.32 mmol, 1.0 eq) wurden zu einer Mischung von Dichlormethan/TFA (1/1) gegeben und die Reaktion mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt und der ölige Rückstand mit Wasser (10 mL) und 5 %iger Salzsäurelösung (1 mL) lyophilisiert. Dabei erhielt man das gewünschte Produkt **41** in quantitativer Ausbeute.

Für die Charakterisierung wurde das Pikratsalz hergestellt. Dazu wurde **41** in Methanol aufgenommen. Bei Zugabe von wässriger Pikrinsäurelösung fiel das Pikratsalz **128** aus, welches abfiltriert und im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet wurde.

**128**

C₁₄H₁₄N₈O₉ 438.31 g/mol.

R_f 0.40 (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol, 9/1).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.99 (s, 3H, CH₃CO), 7.21 (d, 2H, Pyrrol-CH), 8.12, (bs, 4H, C(NH₂)₂), 8.58 (s, 2H, Pikrat-CH), 9.98 (s, 1H, NHC_q), 10.69 (bs, 1H, CONH), 11.98 (s, 1H, Pyrrol-NH).

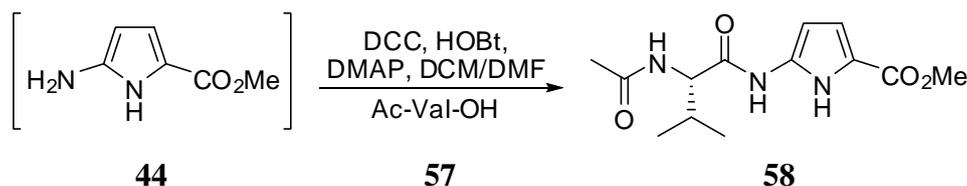
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 23.13 (CH₃CO), 105.61 (Pyrrol-CH), 116.40 (Pyrrol-CH), 120.31 (C_q), 124.14 (C_q), 125.17 (Pikrat-CH), 125.42 (Pikrat-CH), 141.86 (C_q), 154.97 (C_q), 155.03 (C_q), 155.09 (C_q), 159.49 (C_q), 160.79 (CONH), 166.90 (CH₃CO).

Schmp. 251 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3348.78, 2945.73, 2832.92, 2590.90, 2524.36, 2227.38, 2044.17, 1658.48, 1450.21, 1414.53, 1114.65, 1029.80.

ESI-MS $m/z = 210.099$ [M+H]⁺.

7.3.10 Synthese von (*S*)-Methyl-2-acetylvalin-1*H*-pyrrol-5-carboxylat (**58**) ^[101]



Ac-Val-OH **57** (514 mg, 3.23 mmol, 1.1 eq), DCC (665 mg, 3.23 mmol, 1.1 eq), HOBt (494 mg, 3.23 mmol, 1.1 eq) und DMAP (39.0 mg, 0.32 mmol, 0.1 eq) wurden zu einer Mischung aus Dichlormethan und DMF (20 mL, 1/1) gegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde **44** (412 mg, 2.94 mmol, 1.0 eq) zu der Lösung gegeben und die Mischung über Nacht gerührt. Nach Abfiltrieren des weißen Niederschlags, wurden 30 mL Wasser der Lösung zugesetzt und diese für weitere 30 Minuten im Eisbad gerührt. Die Mischung wurde mit Diethylether (5x20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Ammoniumchloridlösung (3x30 mL, pH=3-4), gesättigter Natriumcarbonatlösung (3x30 mL) und gesättigter Natriumchloridlösung (3x30 mL) gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Anschließend wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt und der ölige Rückstand fünfmal mit 10 mL Wasser lyophilisiert, wobei man das gewünschte Produkt **58** als einen farblosen Feststoff (554 mg, 2.16 mmol, 74 %) erhielt.

$\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$ 281.31 g/mol.

R_f 0.29 (Kieselgel, Essigester).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 0.86 (dd, 6H, 2CH_3), 1.88 (s, 3H, CH_3), 1.96 (m, 1H, CHCH_3) 3.74 (s, 3H, CH_3), 4.17 (m, 1H, NHCH), 6.71 (d, $J = 1.24$ Hz, 1H, Pyrrol- CH), 7.23 (d, $J = 1.24$ Hz, 1H, Pyrrol- CH), 8.01 (d, $J = 8.84$ Hz, 1H, CONH), 10.01 (s, 1H, C_αNH), 11.64 (s, 1H, Pyrrol-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ = 18.20 (CHCH_3), 18.91 (CHCH_3), 22.16 (COCH_3), 30.20 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 50.80 (COOCH_3), 57.98 (NHCH), 105.70 (Pyrrol- CH), 113.81 (Pyrrol- CH), 118.71 (Pyrrol- C_α), 123.91 (Pyrrol- C_β),

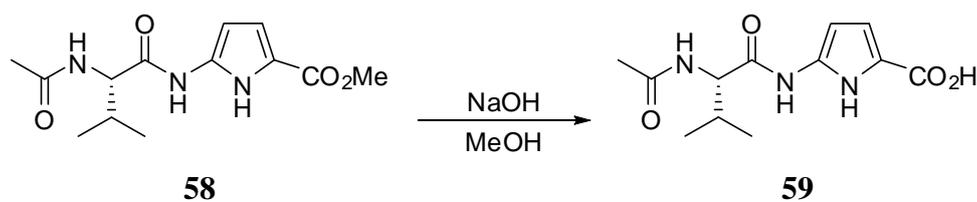
160.42 (COOCH₃), 168.38 (COCH₃), 169.04 (CHCO).

Schmp. 194 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3313.11, 2959.23, 2929.34, 2850.27, 1696.09, 1639.20, 1570.74, 1541.81, 1438.64, 1402.00, 1375.96, 1285.32, 1213.97, 1109.83, 977.73, 833.10, 762.71.

EI-MS $m/z = 224.3$ [M-NHAc]⁺.

7.3.11 Synthese von (*S*)-2-Acetylvalin-1*H*-pyrrol-5-carbonsäure (**59**)^[101]



Zu einer Lösung von **58** (300 mg, 1.07 mmol, 1.0 eq) in Methanol wurde festes NaOH (1.92 g, 47.9 mmol, 45.0 eq) zugegeben und die Mischung 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wurde unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt. Das übriggebliebene Öl wurde mit 2 mL Methanol aufgeschlämmt und mit einer HCl gesättigten Diethyletherlösung auf pH = 3 angesäuert. Anschließend wurde das Lösemittel erneut unter vermindertem Druck entfernt und der übrig gebliebene Feststoff säulenchromatographisch (Kieselgel, Essigester/Methanol/Essigsäure, 9/1/0.1) gereinigt. Das Produkt **59** (186 mg, 0.70 mmol, 65 %) erhielt man als farblosen Feststoff.

C₁₂H₁₇N₃O₄ 267.28 g/mol.

R_f 0.59 (Kieselgel, Essigester/Methanol/Essigsäure, 9/1/0.1).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) $\delta = 0.85$ (dd, 6H, CH(CH₃)₂), 1.87 (s, 3H, CH₃CO), 1.95 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 4.18 (m, 1H, NHCH), 6.58 (d, $J = 1.24$ Hz, 1H,

Pyrrol-CH), 7.13 (d, $J = 1.24$ Hz, 1H, Pyrrol-CH), 8.01 (d, $J = 8.96$ Hz, 1H, NHCH), 9.94 (s, 1H, CONH), 11.27 (s, 1H, Pyrrol-NH).

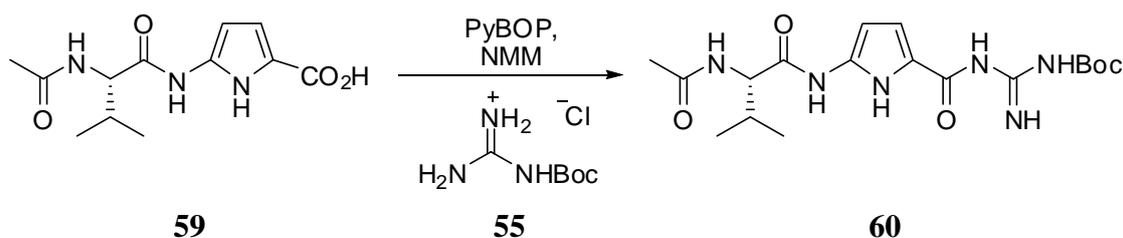
$^{13}\text{C-NMR}$ (150.9 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 18.51$ ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 19.22 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 22.47 (CH_3CO), 30.54 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 58.25 (NHCH), 104.99 (Pyrrol-CH), 112.55 (Pyrrol-CH), 123.62 (Pyrrol- C_q), 123.77 (Pyrrol- C_q), 162.33 (Pyrrol- CO_2H), 168.46 (CH_3CO), 169.29 (CONH).

Schmp. 185 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3408.57, 3287.07, 2963.09, 2932.23, 2874.38, 1654.62, 1542.77, 1397.17, 1263.15, 1210.11, 1107.90, 786.81.

ESI-MS $m/z = 290.112$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

7.3.12 Synthese von (S)-2-Acetylvalin-5-(Boc-guanidinio)-1H-carbonylpyrrol (60) ^[101]



Eine Mischung aus **59** (154 mg, 0.58 mmol, 1.0 eq), PyBOP (302 mg, 0.58 mmol, 1.0 eq) und NMM (191 μL , 1.74 mmol, 3.0 eq) in DMF wurde zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde **55** (223 mg, 1.39 mmol, 1.0 eq) zu der Lösung gegeben und über Nacht unter Argon gerührt. Nach Zugabe von 30 mL Wasser wurde die Lösung für 30 Minuten im Eisbad gerührt, mit Diethylether (30x20 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit ges. Kochsalzlösung (3x50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt. Der ölige Rückstand wurde im Hochvakuum

getrocknet und säulenchromatographisch (Kieselgel, Essigester/Hexan/TEA, 9/1/0.1) gereinigt. Das Produkt **60** (83.0 mg, 0.20 mmol, 35 %) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

C₁₈H₂₈N₆O₅ 408.45 g/mol.

R_f 0.13 (Kieselgel, Essigester/Hexan/TEA, 5/1/0.1).

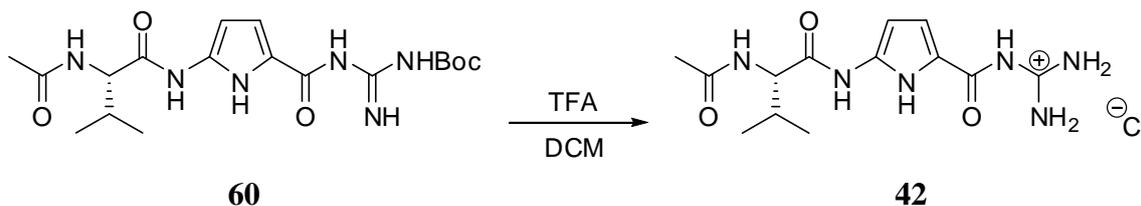
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.85 (dd, 6H, CH(CH₃)₂), 1.44 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.87 (s, 3H, CH₃CO), 1.94 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 4.19 (m, 1H, NHCH), 6.85 (s, 1H, Pyrrol-CH), 7.23 (s, 1H, Pyrrol-CH), 7.98 (d, *J* = 8.84, 1H, NHCH), 8.46 (s, 1H, CNH), 9.10 (s, 1H, CNH), 9.98 (s, 1H, CONH), 11.01 (s, 1H, CONH), 11.25 (s, 1H, Pyrrol-NH).

¹³C-NMR (150.9 MHz, DMSO-d₆) δ = 18.47 (CH(CH₃)₂), 19.16 (CH(CH₃)₂), 22.42 (CH₃CO), 27.82 (C(CH₃)₃), 30.52 (CH(CH₃)₂), 58.16 (NHCH), 104.80 (Pyrrol-CH), 105.05 (Pyrrol-CH), 120.01 (Pyrrol-C_q), 124.05 (Pyrrol-C_q), 153.21 (NHC(O)O), 168.62 (CONH), 169.24 (CH₃CO), 173.33 (CONH).

Schmp. 191 °C (Zersetzung).

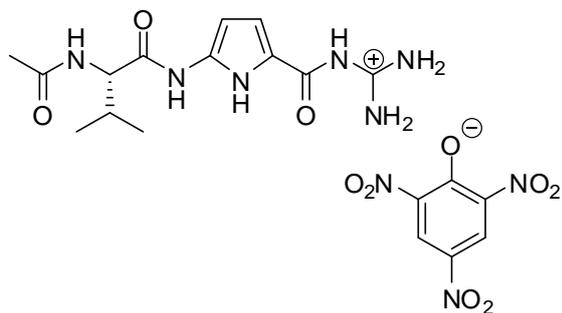
IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3382.53, 3286.11, 2965.02, 2931.27, 2878.24, 1727.91, 1637.27, 1542.77, 1475.28, 1397.17, 1370.18, 1294.00, 1242.90, 1152.26, 1105.01, 844.67, 755.96.

ESI-MS *m/z* = 431.202 [M+Na]⁺.

7.3.13 Synthese von (*S*)-2-Acetylvalin-1*H*-guanidiniocarbonylpyrrol (**42**) ^[101]

60 (100 mg, 0.24 mmol, 1.0 eq) wurden zu einer Mischung von Dichlormethan/TFA (10 mL, 1/1) gegeben und die Reaktion mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt und der ölige Rückstand mit Wasser (10 mL) und 5 %iger Salzsäurelösung (1 mL) lyophilisiert. Dabei erhielt man das gewünschte Produkt **42** in quantitativer Ausbeute.

Für die Charakterisierung wurde das Pikratsalz hergestellt. Dazu wurde **42** in Methanol aufgenommen. Bei Zugabe von wässriger Pikrinsäurelösung fiel das Pikratsalz **129** aus, welches abfiltriert und im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet wurde.

**129**

$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_9\text{O}_{10}$ 537.44 g/mol.

R_f 0.45 (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol, 9/1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 0.88 (dd, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.88 (s, 3H, CH_3CO), 1.97 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.17 (m, 1H, NHCH), 7.18 (s, 1H, Pyrrol- CH), 7.28 (s, 1H, Pyrrol- CH), 8.02 (d, J = 8.32 Hz, NHCH), 8.10 (bs, 4H, $\text{C}(\text{NH}_2)_2$), 8.58 (s, 2H, Pikrat- CH), 10.12 (bs, 1H, CONH), 10.71 (bs, 1H, CONH), 12.01 (s, 1H, Pyrrol- NH).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 18.50 (CH(CH₃)₂), 19.19 (CH(CH₃)₂), 22.40 (CH₃CO), 30.80 (CH(CH₃)₂), 58.32 (NHCH), 110.11 (Pyrrol-CH), 111.78 (Pyrrol-CH), 124.25 (Pyrrol-C_q), 125.14 (Pikrat-CH), 125.39 (Pikrat-CH), 131.34 (Pyrrol-C_q), 153.47 (C_q), 155.49 (C_q), 155.53 (C_q), 166.78 (CONH), 168.80 (CH₃CO), 169.32 (CONH).

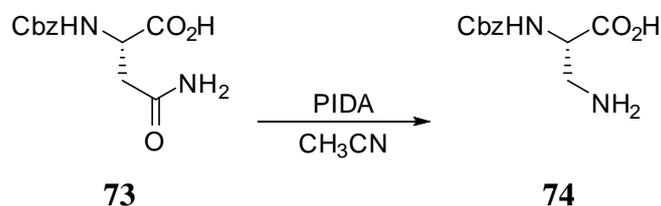
Schmp. 209 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3349.75, 2944.77, 2832.92, 2594.75, 2527.26, 1455.99, 1419.35, 1113.69, 1029.80.

ESI-MS m/z = 309.168 [M+H]⁺.

7.4 Synthese des C1-Arginin-Analogon

7.4.1 Synthese von *N*_α-Cbz-β-amino-L-alanin (**74**)^[116]



Eine Suspension von **73** (8.79 g, 33.0 mmol, 1.0 eq), Essigsäureethylester (36 mL), Acetonitril (36 mL), Wasser (18 mL) und Jodbenzoldiacetat (PIDA) (12.8 g, 39.6 mmol, 1.2 eq) wurden für 0.5 Stunden bei 16 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur aufgewärmt und weiter 4 Stunden gerührt. Nach erneutem Abkühlen der Reaktionslösung auf 5 °C wurde der Feststoff abfiltriert und mit Diethylether (20 mL) gewaschen und bei 50 °C im Vakuum getrocknet. Man erhielt **74** (8.86 g, 30.7 mmol, 93 %) als einen farblosen Feststoff.

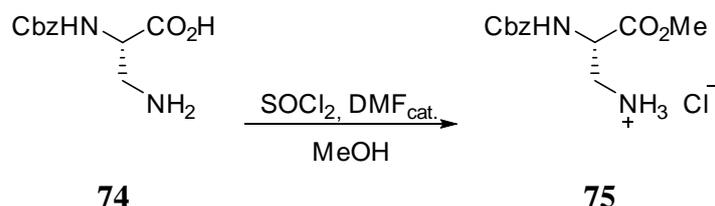
C₁₁H₁₄N₂O₄ 238.24 g/mol.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 3.02 (m, 1H, CH₂), 3.22 (m, 1H, CH₂), 4.33 (m, 1H, CH), 5.05 (s, 2H, CH₂Ph), 7.34 (m, 5H, CH_{Ar}), 7.77 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, NH), 8.21 (br., 3H, NH₃⁺).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 39.43 (CH₂NH₂), 52.12 (CH), 66.15 (CH₂), 128.02 (CH_{Ar}), 128.17 (CH_{Ar}), 128.69 (CH_{Ar}), 137.03 (C_q), 156.45 (CO), 171.10 (COOH).

Schmp. 237 °C (Zersetzung).

7.4.2 *Synthese von N_α-Cbz-β-amino-L-alaninmethylester hydrochlorid (75)* ^[116]



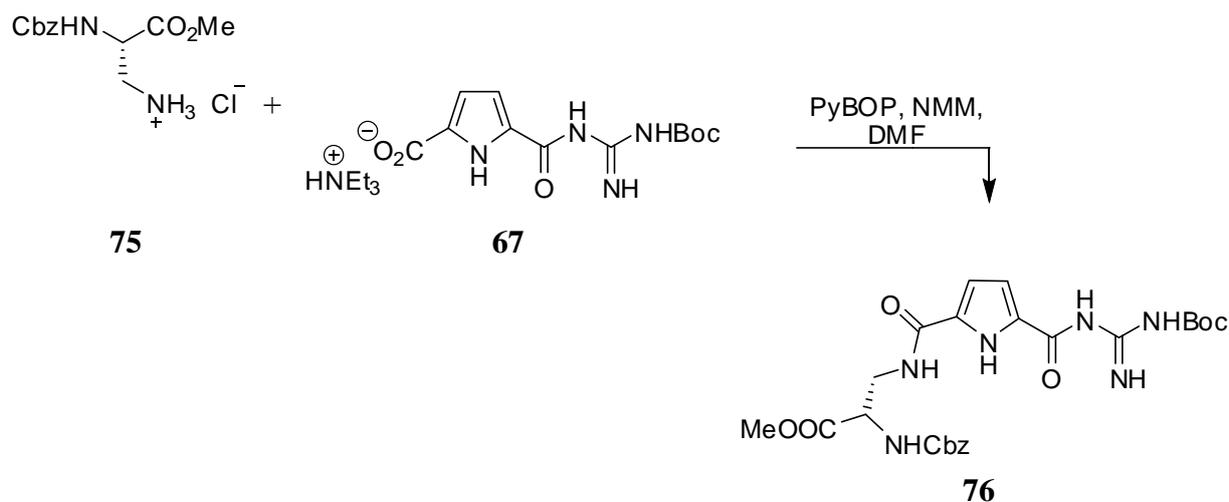
Zu einer gekühlten Lösung von **74** (8.00 g, 33.6 mmol, 1.0 eq) in abs. Methanol (60 mL) und ein paar Tropfen DMF wurde Thionylchlorid (2.68 mL, 36.9 mmol, 1.1 eq) vorsichtig zugetropft. Die Lösung wurde anschließend bei 50 °C über Nacht gerührt, das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand aus Methanol/Diethylether umkristallisiert. Man erhielt **75** (8.73 g, 30.2 mmol, 90 %) als farblosen Feststoff.

C₁₂H₁₇ClN₂O₄ 288.73 g/mol.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 3.05 (m, 1H, CH₂), 3.20 (m, 1H, CH₂), 3.66 (s, 3H, CH₃), 4.45 (m, 1H, CH), 5.05 (s, 2H, CH₂Ph), 7.34 (m, 5H, CH_{Ar}); 7.96 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, NH), 8.38 (br., 3H, NH₃⁺).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 39.22 (CH₂NH₂), 52.09 (CH), 52.76 (CH₃), 66.11 (CH₂), 128.03 (CH_{Ar}), 128.15 (CH_{Ar}), 128.60 (CH_{Ar}), 136.90 (C_q), 156.32 (CO), 170.04 (COOH).

Schmp. 164 °C.

7.4.3 *Synthese von Cbz-geschütztem Methylester des Argininanalog (76)* ^[116]

Eine Mischung aus **75** (2.15 g, 7.44 mmol, 1.1 eq), **67** (2.70 g, 6.76 mmol, 1.0 eq), PyBOP (3.52 g, 6.76 mmol, 1.0 eq) und NMM (2.23 mL, 20.3 mmol, 3.0 eq) in DMF (20 mL) wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde zu eiskaltem Wasser (100 mL) gegeben und nochmals 0.5 Stunden gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Diethylether (10x50 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Wasser (100 mL) und ges. Kochsalzlösung (100 mL) gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der Rest mit Wasser über Nacht lyophilisiert. Man erhielt **76** (3.25 g, 6.13 mmol, 91 %) als leicht gelblichen Feststoff, der noch Reste von PyBOP enthielt, was für die weitere Umsetzung aber nicht störte.

C₂₄H₃₀N₆O₈ 530.53 g/mol.

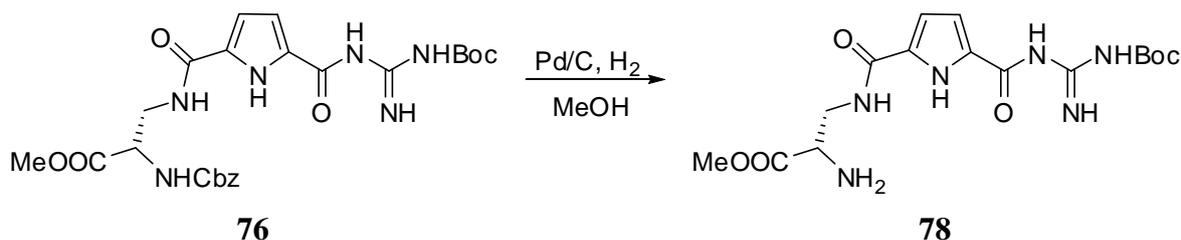
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.45 (s, 9H, C(CH₃)₃), 3.53 (m, 2H, CH₂), 3.62 (s, 3H, CH₃), 4.29 (q, 1H, CH), 6.75 (m, 1H, Pyrrol-CH), 6.81 (br., 1H, Pyrrol-CH), 7.33 (br., 5H, Benzyl-CH), 7.73 (d, *J* = 7.93 Hz, 1H, CHNH), 8.49 (m, 1H, CH₂NH), 8.55 (br., 1H, Gua-NH), 9.32 (br.s, 1H, Gua-NH), 10.84 (br.s, 1H, Gua-NH), 11.32 (br.s, 1H, Pyrrol-NH).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 27.98 (C(CH₃)₃), 45.84 (CH₂), 52.23 (CH₃), 54.01 (CH), 65.82 (CH₂), 81.10 (C_q), 112.37 (Pyrrol-CH), 113.87

(Pyrrol-CH), 127.93 (CH_{Ar}), 128.02 (CH_{Ar}), 128.50 (CH_{Ar}), 136.98 (C_q), 156.11 (C_q), 158.60 (C_q), 160.33 (C_q), 160.69 (C_q), 171.21 (C_q).

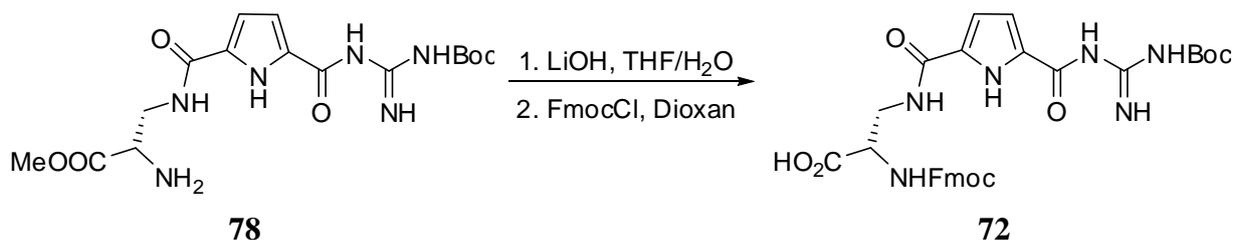
Schmp. 252 °C (Zersetzung).

7.4.4 Synthese vom Methylester des Argininanalogon (**78**)^[116]



Zu einer Lösung von **76** (5.78 g, 10.9 mmol, 1.0 eq) und 10 % Pd/C (578 mg) in Methanol wurde H₂-Gas eingeleitet. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators über Celite wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhielt **78** (4.20 g, 10.6 mmol, 97 %) als farblosen Feststoff, der gleich weiter umgesetzt wurde.

7.4.5 Synthese des Fmoc-geschütztem Argininanalogon (C₁) (**72**)^[116]



Die Verbindung **78** (4.10 g, 10.3 mmol, 1.0 eq) und Lithiumhydroxidmonohydrat (651 mg, 15.5 mmol, 1.5 eq) wurden zu einer Mischung aus THF/Wasser (4/1) (30 mL) gegeben und 90 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC) wurde die Lösung mit 5 %iger Salzsäurelösung neutralisiert und über Nacht lyophilisiert. Der Rückstand wurde zu einer 10 %igen wässrigen Na₂CO₃-Lösung (20 mL) gegeben. Bei 0 °C wurde eine Lösung von FmocCl (2.68 g, 10.3 mmol, 1.0 eq) in Dioxan (20 mL) gegeben. Nach weiterem Rühren

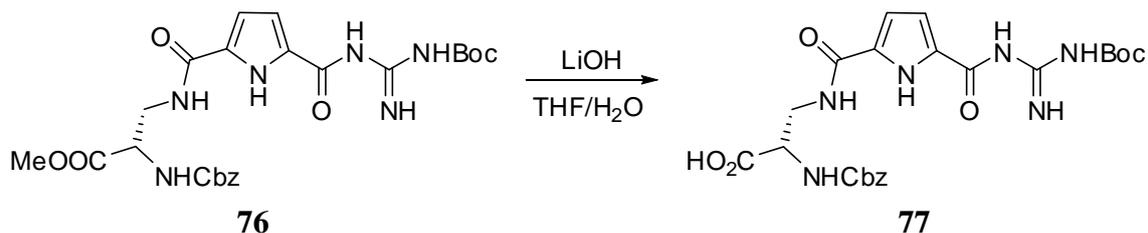
der Lösung bei Raumtemperatur für 90 Minuten wurde die Lösung erneut lyophilisiert. Der Feststoff wurde in Wasser (40 mL) suspendiert und solange gerührt, bis sich die Salze gelöst haben. Anschließend wurde die Lösung mit 5 %iger Salzsäurelösung angesäuert (pH = 4-5) und der dabei ausgefallene Feststoff abfiltriert, mit Wasser gewaschen und erneut lyophilisiert. Der dabei erhaltenen Feststoff wurde säulenchromatographisch (Kieselgel, zunächst Dichlormethan und anschließend Dichlormethan/Methanol, 9/1) gereinigt. Man erhielt **72** (3.30 g, 5.46 mmol, 53 %) als farblosen Feststoff.

C₃₀H₃₂N₆O₈ 604.61 g/mol.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 3.53 (m, 1H, CH₂), 3.63 (m, 1H, CH₂), 3.95-3.97 (m, 1H, CH), 4.16-4.29 (m, 3H, Fmoc-CH, Fmoc-CH₂), 6.82-6.99 (m, 2H, Pyrrol-CH), 7.27-7.89 (m, 9H, Fmoc-CH, NH), 8.49 (s, 1H, Gua-NH), 8.77 (s, 1H, Gua-NH), 9.33 (s, 1H, Gua-NH), 11.88 (s, 1H, Pyrrol-NH).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 27.8 (Boc-CH₃), 40.4 (CH₂), 46.6 (Fmoc-CH), 54.2 (CH), 65.7 (Fmoc-CH₂), 112.1 (Pyrrol-CH), 115.5 (Pyrrol-CH), 120.0 (Fmoc-CH), 120.1 (Fmoc-CH), 121.4 (Fmoc-CH), 125.2 (Fmoc-CH), 127.1 (Fmoc-CH), 127.3 (Fmoc-CH), 127.6 (Fmoc-CH), 128.9 (Fmoc-CH), 127.9 (Fmoc-CH), 128.4 (Fmoc-CH), 137.4 (Pyrrol-C_q), 139.4 (Pyrrol-C_q), 140.7 (Fmoc-C_q), 142.6 (Fmoc-C_q), 143.8 (Fmoc-C_q), 155.9 (Fmoc-C=O), 158.4 ((C=O)NH), 160.0 (Gua-C_q), 160.1 (C=O), 174.2 (COOH).

Schmp. 212 °C (Zersetzung).

7.4.6 Synthese des Cbz-geschützten Argininanalog (*Z*-C₁) n = 1 (77)

Zu einer Lösung von THF/H₂O (4/1) (20 mL) wurden **76** (1.00 g, 1.88 mmol, 1.0 eq) und Lithiumhydroxidmonohydrat (118 mg, 2.82 mmol, 1.5 eq) gegeben und die Reaktion mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung mit 5 %iger Salzsäurelösung auf pH = 4-5 angesäuert und mit Essigsäureethylester (3x20 mL) extrahiert. Nach dem Trocknen der organischen Phasen mit Natriumsulfat wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt und man erhielt **77** (697 mg, 1.35 mmol, 72 %) als farblosen Feststoff.

C₂₃H₂₈N₆O₈ 516.50 g/mol.

R_f 0.19 (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol, 9/1).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.50 (s, 9H, C(CH₃)₃), 3.50 (m, 1H, NHCH₂), 3.67 (m, 1H, NHCH₂), 4.24 (m, 1H, NHCH), 5.03 (m, 2H, CH₂-Ph), 6.84 (d, *J* = 3.29 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 7.30 (m, 6H, Ph, Pyrrol-CH), 7.59 (d, *J* = 8.21 Hz, 1H, NHCH), 8.56 (t, 1H, NHCH₂), 9.22 (s, 1H, Gua-NH), 9.79 (s, 1H, Gua-NH), 12.10 (s, 1H, Pyrrol-NH).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 27.59 (C(CH₃)₃), 53.81 (NHCH₂), 65.53 (CH₂-Ph), 83.34 (C(CH₃)₃), 112.57 (Pyrrol-CH), 127.70 (CH-Ph), 127.79 (CH-Ph), 128.31 (CH-Ph), 136.84 (C_q-Ph), 155.97 (C_q), 159.74 (C_q), 171.89 (C_q).

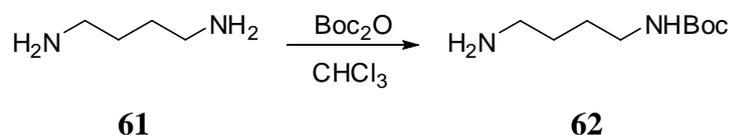
Schmp. 243 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3319.86, 2973.70, 2936.09, 2871.49, 1702.84, 1655.59, 1558.20, 1473.35, 1397.17, 1370.18, 1293.04, 1251.58, 1149.37, 1087.66, 1058.73, 839.85, 755.96, 697.14, 591.08.

HR-MS (neg. ESI): ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_8^-$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 515.190, gef.: 515.191.

7.5 Synthese der Schleifen

7.5.1 Synthese des mono-*N*-Boc-1,4-diaminobutan(mono-Boc-C₄) (**62**)^[108]



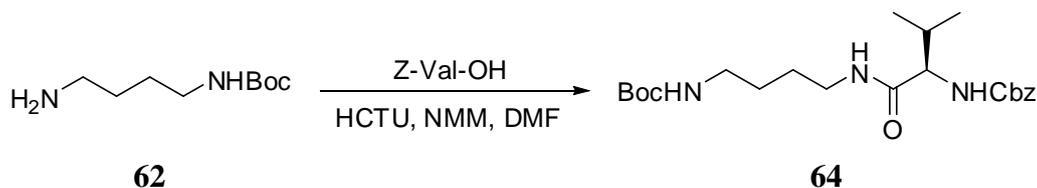
Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 1,4-diaminobutan **61** (19.3 g, 220 mmol, 5.0 eq) in 150 mL Chloroform wurde unter kräftigem Rühren eine Lösung von Boc₂O in Chloroform (50 mL) zugegeben. Anschließend wurde die Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde abfiltriert und das Lösemittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt. Dabei erhielt man ein farbloses Öl, das in Essigester (500 mL) gelöst und anschließend zweimal mit einer gesättigten Natriumchloridlösung (60 mL) gewaschen wurde. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden einmal mit Essigester (60 mL) ausgeschüttelt. Anschließend wurden die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der farblose ölige Rückstand wurde im Exsikkator getrocknet. Man erhielt **62** (7.62 g, 40.5 mmol, 92 %) als farbloses Öl, welches in der Tiefkühltruhe bei – 20 °C fest wird.

C₉H₂₀N₂O₂ 188.27 g/mol.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.30 (m, 4H, CH₂), 1.37 (m, 9H, C(CH₃)₃), 2.49 (m, 2H, CH₂), 2.88 (m, 2H, CH₂), 6.75 (s, 1H, NHBoc).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 26.92 (CH₂), 28.15 (C(CH₃)₃, CH₂), 30.60 (CH₂NH), 41.33 (NH₂CH₂), 77.11 (C(CH₃)₃), 155.45 (NHCO).

EI-MS *m/z* = 188.3 [M]⁺.

7.5.2 *Synthese von mono-Boc-C₄-Val-Cbz (64)* ^[108]

Eine Lösung von Z-Val-OH (2.66 g, 10.6 mmol, 1.0 eq), HCTU (4.39 g, 10.6 mmol, 1.0 eq) und NMM (3.48 mL, 31.8 mmol, 3.0 eq) in DMF (30 mL) wurde für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend **62** (2.00 g, 10.6 mmol, 1.0 eq) zugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und danach mit Wasser (60 mL) versetzt und eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der dabei ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser (ca. 200 mL) gewaschen. Der farblose Feststoff wurde im Exsikkator getrocknet und man erhielt **64** (4.37 g, 10.4 mmol, 98 %).

C₂₂H₃₅N₃O₅ 421.53 g/mol.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.83 (d, *J* = 6.84 Hz, 6H, CH(CH₃)₂), 1.34 (m, 4H, CH₂), 1.37 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.91 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 2.89 (m, 2H, CH₂), 2.98 (m, 1H, CH₂), 3.07 (m, 1H, CH₂), 3.77 (dd, 1H, NHCH), 5.02 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.75 (t, 1H, NHCO-Boc), 7.18 (d, *J* = 8.96 Hz, 1H, NHCH), 7.33 (m, 5H, Ph), 7.87 (t, 1H, NHCO-Val).

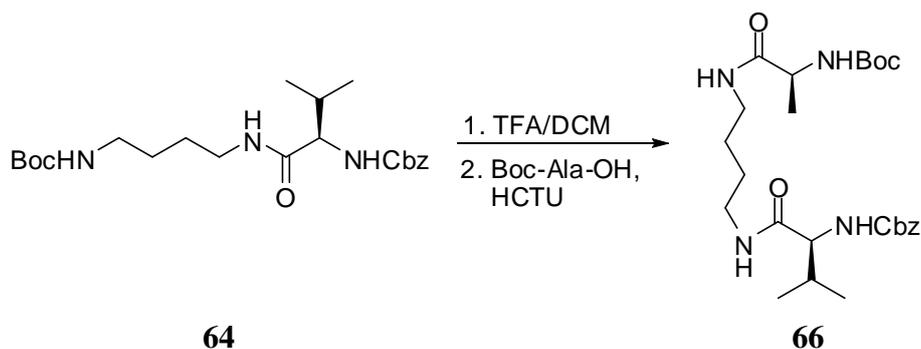
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 17.97 (CH(CH₃)₂), 18.93 (CH(CH₃)₂), 26.14 (CH₂), 26.70 (CH₂), 27.08 (CH₂), 27.98 (C(CH₃)₃), 29.97 (CH(CH₃)₂), 37.96 (CH₂), 39.24 (CH₂), 60.04 (CHNH), 65.05 (CH₂-Ph), 77.03 (C(CH₃)₃), 127.34 (CH_{ar}), 127.45 (CH_{ar}), 128.03 (CH_{ar}), 136.84 (CH₂C), 170.60 (COCH),.

Schmp. 193 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3348.78, 3302.50, 2960.20, 2932.23, 2869.56, 1686.44, 1650.77, 1533.13, 1459.85, 1389.46, 1367.28, 1292.07, 1250.61, 1199.51, 1168.65, 1038.48, 982.55, 865.88, 753.07, 699.07, 660.50.

EI-MS $m/z = 206.2$ $[M-C_{10}H_{19}N_2O_3]^+$.

7.5.3 Synthese von Boc-Ala-C₄-Val-Cbz (**66**)^[108]



Eine Lösung von **64** (1.00 g, 2.38 mmol, 1.0 eq) in TFA (10 mL) und Dichlormethan (10 mL) wurde 1 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene ölige Rückstand mit Wasser (10 mL) versetzt und gefriergetrocknet. Der weiße Feststoff wurde ohne weitere Reinigungsschritte umgesetzt.

Zu einer Lösung von DMF (10 mL), NMM (0.78 mL, 7.14 mmol, 3.0 eq) und HCTU (985 mg, 2.38 mmol, 1.0 eq) wurde Boc-*L*-Ala-OH (450 mg, 2.38 mmol, 1.0 eq) zugegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das vorher Boc-entschützte Amin zu der Reaktionsmischung gegeben und die gesamte Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser (30 mL) versetzt und noch eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der weiße Niederschlag wurde abfiltriert, mit viel Wasser gewaschen und anschließend lyophilisiert. Man erhielt **66** (587 mg, 1.19 mmol, 50 %) als farblosen Feststoff.

C₂₅H₄₀N₄O₆ 492.61 g/mol.

R_f 0.77 (Kieselgel, Essigester).

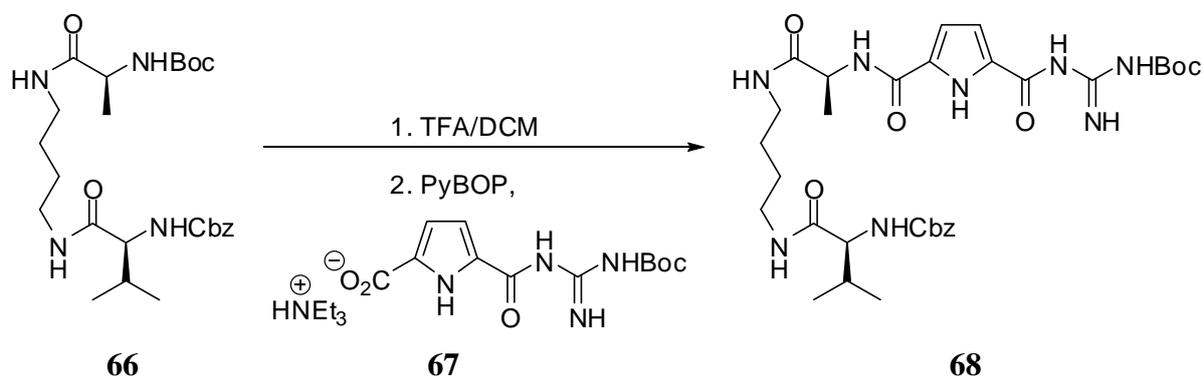
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.83 (dd, J = 6.68, 2.95 Hz, 6H, CH(CH₃)₂), 1.14 (d, J = 7.04 Hz, 3H, CH₃), 1.37 (s, 13H, C(CH₃)₃, CH₂), 1.91 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.00 (m, 2H, CH₂), 3.08 (m, 2H, CH₂), 3.78 (m, 1H, NHCH), 3.90 (m, 1H, NHCH), 5.02 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.76 (d, J = 7.08 Hz, 1H, NHCO-Ala), 6.76 (d, J = 7.08 Hz, 1H, NHCO-Ala), 7.17 (d, J = 8.92 Hz, 1H, NHCH-Val), 7.33 (m, 5H, Ph), 7.70 (t, 1H, NHCO-Ala), 7.87 (t, 1H, NHCO-Val).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 17.96 (CH(CH₃)₂), 18.15 (CH₃), 18.94 (CH(CH₃)₂), 26.06 (CH₂), 26.23 (CH₂), 27.89 (C(CH₃)₃), 29.98 (CH(CH₃)₂), 36.27 (CH₂), 37.88 (CH₂), 60.04 (CHNH), 65.05 (CH₂-Ph), 77.05 (C(CH₃)₃), 127.34 (CH_{ar}), 127.46 (CH_{ar}), 128.03 (CH_{ar}), 136.84 (CH₂C), 170.62 (COCH).

Schmp. 177 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3301.54, 3092.30, 2965.02, 2936.09, 2873.42, 1690.30, 1649.80, 1534.10, 1454.06, 1390.42, 1367.28, 1293.04, 1246.75, 1167.69, 1040.41, 698.11.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₂₅H₄₀N₄NaO₆⁺ [M+Na]⁺: 515.284, gef.: 515.285.

7.5.4 Synthese von CBS-Ala-C₄-Val-Cbz (**68**)^[108]

Eine Lösung von **66** (573 mg, 1.16 mmol, 1.0 eq) in TFA (10 mL) und Dichlormethan (10 mL) wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der zurückbleibende, ölige Rückstand mit 10 mL Wasser versetzt und gefriergetrocknet. Der weiße Feststoff wurde ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Zu einer Lösung von DMF (10 mL), Dichlormethan (30 mL), NMM (0.38 mL, 3.48 mmol, 3.0 eq) und PyBOP (604 mg, 1.16 mmol, 1.0 eq) wurde **67** (461 mg, 1.16 mmol, 1.0 eq) zugegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das vorher Boc-entschützte Amin zu der Reaktionsmischung gegeben und die gesamte Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Dichlormethan wurde zunächst am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt, die zurückbleibende Lösung mit Wasser (30 mL) versetzt und noch eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der weiße Niederschlag wurde abfiltriert, mit viel Wasser gewaschen und anschließend lyophilisiert. Man erhielt **68** (562 mg, 0.84 mmol, 72 %) als farblosen Feststoff.

$\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{N}_8\text{O}_8$ 670.76 g/mol.

R_f 0.50 (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol, 9/1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.83 (m, 6H, CH(CH₃)₂), 1.28 (d, J = 7.04 Hz, 3H, CH₃), 1.39 (s, 4H, CH₂), 1.46 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.92 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.04 (m, 4H, CH₂), 3.78 (m, 1H, NHCH-Val), 4.41 (m, 1H,

NHCH-Ala), 5.02 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.83 (m, 2H, Pyrrol-CH), 7.17 (d, $J = 8.84$ Hz, 1H, NHCH-Val), 7.34 (m, 5H, Ph), 7.88 (t, 1H, NHCO-Val), 7.94 (t, 1H, NHCO-Ala), 8.46 (d, $J = 7.44$ Hz, 1H, NHCH-Ala), 8.63 (br., 1H, Gua-NH), 9.37 (br., 1H, Gua-NH), 10.83 (br., 1H, Gua-NH), 11.61 (br., 1H, Pyrrol-NH).

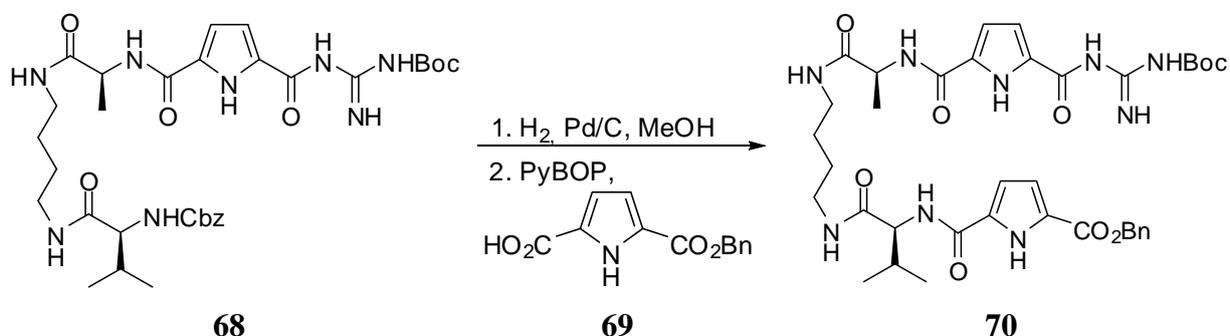
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) $\delta = 18.27$ (CH(CH₃)₂), 18.35 (CH₃), 19.25 (CH(CH₃)₂), 26.47 (CH₂), 26.58 (CH₂), 27.80 (C(CH₃)₃), 30.29 (CH(CH₃)₂), 38.22 (CH₂), 48.45 (CHNH), 60.36 (CHNH), 65.37 (CH₂-Ph), 127.65 (CH_{ar}), 127.77 (CH_{ar}), 128.34 (CH_{ar}), 137.15 (Pyrrol-C_q), 156.09 (C_q), 158.20 (C_q), 170.94 (C_q), 172.07 (C_q).

Schmp. 184 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3375.78, 3296.71, 3093.26, 2965.02, 2873.42, 1693.16, 1647.88, 1542.77, 1467.56, 1370.18, 1290.14, 1241.93, 1149.37, 1041.37, 842.74, 754.03, 698.11.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₃₂H₄₆N₈NaO⁺ [M+Na]⁺: 693.333, gef.: 693.335.

7.5.5 Synthese von CBS-Ala-C₄-Val-Pyrrol-Bn (70) ^[108]



Zu einer Lösung aus **68** (562 mg, 0.84 mmol, 1.0 eq) in Methanol (10 mL) wurde unter Argon 10 % Pd/C (60 mg) zugegeben. Wasserstoff wurde unter Rühren eine halbe Stunde

eingeleitet. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde der Katalysator über Celite abfiltriert, mit Methanol nachgewaschen und das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der ölige Rückstand wurde ohne weitere Reinigungsschritte umgesetzt.

Zu einer Lösung von DMF (5 mL), Dichlormethan (30 mL), NMM (0.28 mL, 2.52 mmol, 3.0 eq) und PyBOP (437 mg, 0.84 mmol, 1.0 eq) wurde **69** (206 mg, 0.84 mmol, 1.0 eq) zugegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das vorher Cbz-entschützte Amin zu der Reaktionsmischung gegeben und die gesamte Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Dichlormethan wurde zunächst am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt, die zurückbleibende Lösung mit Wasser (30 mL) versetzt und noch eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der gelbe Niederschlag wurde abfiltriert, mit viel Wasser gewaschen und anschließend lyophilisiert. Dieser wurde dann säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Essigester/Methanol/NEt₃, 5/0.3/0.1), Man erhielt **70** (379 mg, 0.50 mmol, 59 %) als farblosen Feststoff.

C₃₇H₄₉N₉O₉ 763.84 g/mol.

R_f 0.45 (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol, 9/1).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.88 (dd, 6H, CH(CH₃)₂), 1.28 (d, J = 7.12 Hz, 3H, CH₃), 1.38 (m, 4H, CH₂), 1.46 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.01 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.06 (m, 4H, CH₂), 4.30 (m, 1H, NHCH-Val), 4.41 (m, 1H, NHCH-Ala), 5.33 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.81 (dd, J = 11.27, 3.85 Hz, 4H, Pyrrol-CH), 7.39 (m, 5H, Ph), 7.93 (t, 1H, NHCO-Val), 8.10 (t, 1H, NHCO-Ala), 8.33 (d, J = 8.74 Hz, 1H, NHCH-Val), 8.44 (d, J = 7.44 Hz, 1H, NHCH-Ala), 8.55 (br, 1H, Gua-NH), 9.31 (br, 1H, Gua-NH), 10.86 (br, 1H, Gua-NH), 11.54 (br, 1H, Pyrrol-NH), 12.52 (br, 1H, Pyrrol-NH).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 18.34 (CH₃), 18.57 (CH(CH₃)₂), 19.29 (CH(CH₃)₂), 26.45 (CH₂), 26.60 (CH₂), 27.78 (C(CH₃)₃), 30.54 (CH(CH₃)₂), 38.23 (CH₂), 48.42 (CHNH), 58.08 (CHNH), 65.49 (CH₂-Ph), 112.82 (Pyrrol-CH), 113.89 (Pyrrol-CH), 115.29 (Pyrrol-CH), 124.17 (CH_{ar}), 127.93 (CH_{ar}), 128.10 (CH_{ar}), 128.52 (C_q), 131.03 (Pyrrol-C_q),

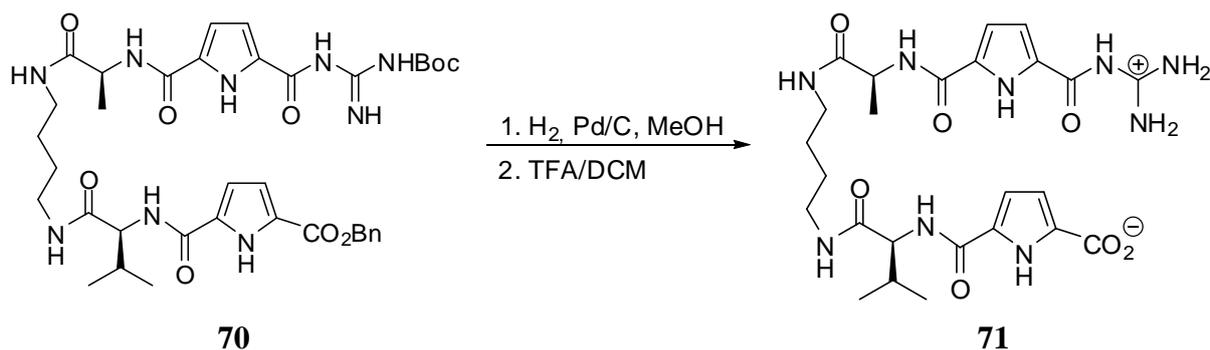
136.29 (Pyrrol-C_q), 158.47 (C_q), 158.90 (C_q), 159.14 (C_q), 160.11 (C_q),
170.72 (C_q), 172.10 (C_q).

Schmp. 186 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3381.57, 3286.11, 3111.58, 2968.87, 2936.09,
2875.34, 1720.19, 1632.45, 1556.27, 1470.46, 1371.14, 1292.07, 1242.90,
1196.61, 1149.37, 1046.19, 996.05, 841.78, 758.85, 697.14, 595.90.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₃₇H₄₉N₉NaO₉⁺ [M+Na]⁺: 786.355, gef.: 786.356.

7.5.6 Synthese vom Zwitterion CBS-Ala-C₄-Val-Pyrrol-OH (71) ^[108]



70 (123 mg, 0.16 mmol, 1.0 eq) wurde in Methanol (10 mL) gelöst und unter Argon 10 % Pd/C (12 mg) zugegeben. Wasserstoff wurde unter Rühren eine halbe Stunde eingeleitet. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde der Katalysator über Celite abfiltriert, mit Methanol nachgewaschen und das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der ölige Rückstand wurde in Dichlormethan (5 mL) gelöst und dann mit TFA (5 mL) versetzt. Die Lösung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt, das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt, mit Wasser und 5 %igen Salzsäurelösung (2 mL) versetzt und anschließend lyophilisiert. Der so erhaltene Feststoff wurde in Wasser (1 mL) aufgenommen und mit einer konz. Natronlauge (ca. 30 μ L) versetzt, so dass die gesamte Lösung basisch war. Anschließend wurde mit 0.1 N HCl der pH-Wert auf 5 eingestellt. Der ausgefallene farblose Feststoff wurde abfiltriert, mit

Wasser gewaschen und erneut lyophilisiert, so dass man **71** (92 mg, 0.16 mmol, quant.) als Produkt erhielt.

$C_{25}H_{35}N_9O_7$ 573.60 g/mol.

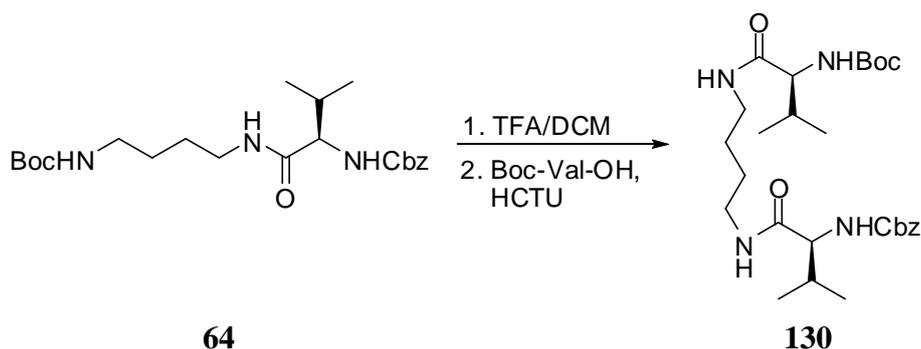
1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 0.88 (dd, 6H, $CH(CH_3)_2$), 1.29 (d, J = 7.08 Hz, 3H, CH_3), 1.40 (s, 4H, CH_2), 2.03 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 3.06 (m, 4H, CH_2), 4.26 (m, 1H, $NHCH$ -Val), 4.41 (m, 1H, $NHCH$ -Ala), 6.72 (dd, 1H, Pyrrol- CH), 6.77 (dd, 1H, Pyrrol- CH), 6.81 (br, 2H, Pyrrol- CH), 7.93 (t, 1H, $NHCO$ -Val), 8.07 (t, 1H, $NHCO$ -Ala), 8.30 (d, J = 8.6 Hz, 1H, $NHCH$ -Val), 8.50 (d, J = 7.68 Hz, 1H, $NHCH$ -Ala), 11.78 (br, 1H, Gua- NH), 12.25 (br, 1H, Pyrrol- NH), 12.74 (br, 1H, Pyrrol- NH).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ = 18.34 (CH_3), 18.58 ($CH(CH_3)_2$), 19.30 ($CH(CH_3)_2$), 26.45 (CH_2), 26.54 (CH_2), 30.42 ($CH(CH_3)_2$), 38.23 (CH_2), 48.47 ($CHNH$), 58.14 ($CHNH$), 113.10 (Pyrrol- CH), 113.74 (Pyrrol- CH), 114.42 (Pyrrol- CH), 125.99 (Pyrrol- C_q), 130.03 (Pyrrol- C_q), 158.93 (C_q), 159.11 (C_q), 162.11 (C_q), 170.80 (C_q), 172.04 (C_q).

Schmp. 242 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3354.57, 3120.26, 2964.05, 2931.27, 2873.42, 2365.26, 2344.05, 1698.98, 1636.30, 1559.17, 1508.06, 1473.35, 1457.92, 1373.07, 1315.21, 1270.86, 1162.87, 1135.87, 757.89, 617.11.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $C_{25}H_{36}N_9O_7^+$ $[M+H]^+$: 574.273, gef.: 574.274.

7.5.7 *Synthese von Boc-Val-C₄-Val-Cbz (130)*

Eine Lösung von **64** (1.98 g, 4.70 mmol, 1.0 eq) in TFA (10 mL) und Dichlormethan (10 mL) wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der zurückbleibende ölige Rückstand mit Wasser (10 mL) versetzt und gefriergetrocknet. Der weiße Feststoff wurde ohne weitere Reinigungsschritte umgesetzt.

Zu einer Lösung von DMF (20 mL), NMM (1.55 mL, 14.1 mmol, 3.0 eq) und HCTU (1.94 g, 4.70 mmol, 1.0 eq) wurde Boc-*L*-Val-OH (1.02 g, 4.70 mmol, 1.0 eq) zugegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das vorher Boc-entschützte Amin zu der Reaktionsmischung gegeben und die gesamte Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser (60 mL) versetzt und noch eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der weiße Niederschlag wurde abfiltriert, gut mit Wasser gewaschen und anschließend lyophilisiert. Man erhielt **130** (2.23 g, 4.28 mmol, 91 %) als farblosen Feststoff.

C₂₇H₄₄N₄O₆ 520.66 g/mol.

R_f 0.62 (Kieselgel, Essigester).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.82 (m, 12H, CH(CH₃)₂), 1.37 (s, 13H, C(CH₃)₃, CH₂), 1.89 (m, 2H, CH(CH₃)₂), 3.05 (m, 4H, CH₂), 3.78 (m, 1H, NHCH), 3.71 (m, 1H, NHCH), 5.02 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.52 (d, *J* = 8.98 Hz, 1H, NHCH), 7.17 (d, *J* = 8.92 Hz, 1H, NHCH), 7.32 (m, 5H, Ph), 7.88 (t, 1H, NHCO-Val), 7.79 (t, 1H, NHCO-Val).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ = 17.92 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 17.96 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 18.94 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 26.17 (CH_2), 26.21 (CH_2), 27.89 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.99 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 30.12 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 37.83 (CH_2), 37.87 (CH_2), 59.48 (CHNH), 60.05 (CHNH), 65.06 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 77.64 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 127.34 (CH_{ar}), 128.04 (CH_{ar}), 136.84 (C_q), 155.08 (C_q), 155.78 (C_q), 170.64 (C_q), 170.84 (C_q),.

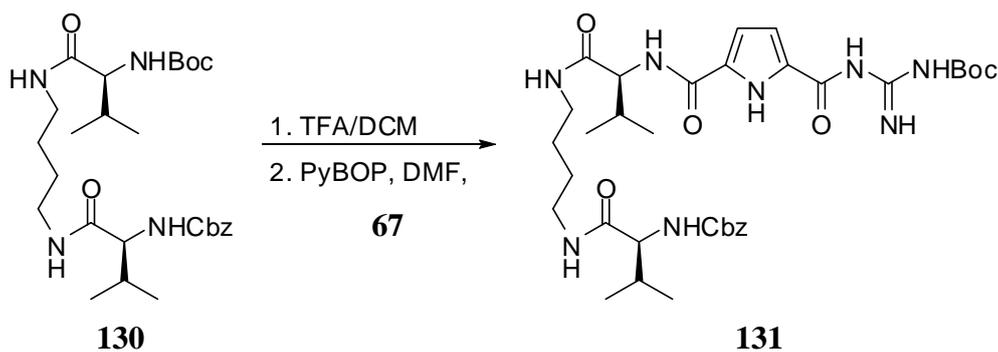
Schmp. 189 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3300.57, 3092.30, 3034.44, 2965.02, 2936.09, 2872.45, 1678.41, 1648.84, 1535.06, 1456.96, 1390.42, 1367.28, 1297.86, 1246.75, 1170.58, 1042.34, 745.35, 698.11.

MS (pos. EI): m/z (%) = 521.4 (0.23) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 91.1 (42) $[\text{CH}_2\text{Ph}]^+$, 72.1 (100) $[\text{OtBu}]^+$

HR-MS (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{NaO}_7^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 543.316, gef.: 543.316.

7.5.8 Synthese von CBS-Val- C_4 -Val-Cbz (**131**)



Eine Lösung von **130** (500 mg, 0.96 mmol, 1.0 eq) in TFA (5 mL) und Dichlormethan (5 mL) wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der zurückbleibende ölige Rückstand mit 10 mL Wasser versetzt und gefriergetrocknet. Der weiße Feststoff wurde ohne weitere Reinigungsschritte umgesetzt.

Zu einer Lösung von DMF (10 mL), NMM (0.32 mL, 2.88 mmol, 3.0 eq) und PyBOP (500 mg, 0.96 mmol, 1.0 eq) wurde **67** (284 mg, 0.96 mmol, 1.0 eq) zugegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das vorher Boc-entschützte Amin zu der Reaktionsmischung gegeben und die gesamte Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser (30 mL) versetzt und noch eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der weiße Niederschlag wurde abfiltriert, gut mit Wasser gewaschen und anschließend lyophilisiert. Man erhielt **131** (503 mg, 0.72 mmol, 75 %) als farblosen Feststoff.

C₃₄H₅₀N₈O₈ 698.81 g/mol.

R_f 0.69 (Kieselgel, Essigester/Methanol, 5/0.5).

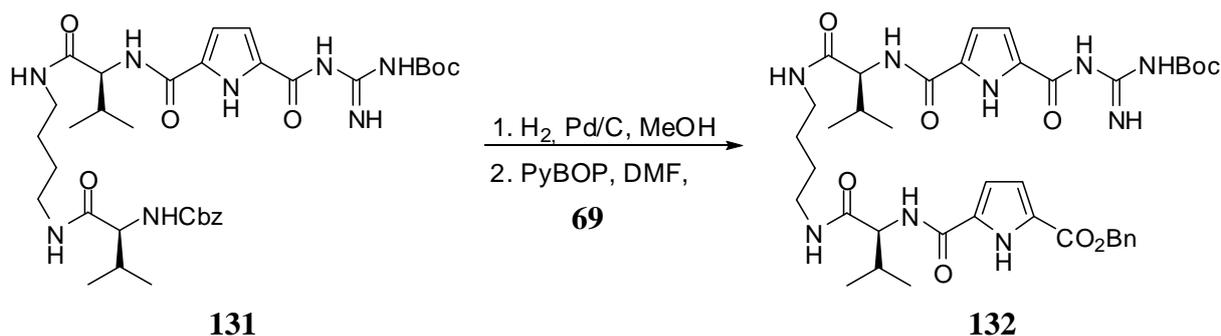
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.88 (dd, 12H, CH(CH₃)₂), 1.40 (m, 4H, CH₂), 1.46 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.91 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 2.03 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.04 (m, 4H, CH₂), 3.77 (t, 1H, NHCH), 4.27 (t, 1H, NHCH), 5.02 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.82 (br, 2H, Pyrrol-CH), 7.17 (d, *J* = 8.95 Hz, 1H, NHCH-Val), 7.32 (m, 5H, Ph), 7.88 (t, 1H, NHCO-Val), 8.06 (t, 1H, NHCO-Val), 8.32 (d, *J* = 8.66 Hz, 1H, NHCH-Val), 8.55 (br, 1H, Gua-NH), 9.34 (br, 1H, Gua-NH), 10.85 (br, 1H, Gua-NH), 11.76 (br, 1H, Pyrrol-NH).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 17.96 (CH(CH₃)₂), 18.36 (CH(CH₃)₂), 18.92 (CH(CH₃)₂), 19.00 (CH(CH₃)₂), 26.22 (CH₂), 26.24 (CH₂), 27.50 (C(CH₃)₃), 29.98 (CH(CH₃)₂), 30.09 (CH(CH₃)₂), 37.88 (CH₂), 170.62 (C_q), 37.90 (CH₂), 57.91 (CHNH), 60.04 (CHNH), 65.05 (CH₂-Ph), 112.93 (Pyrrol-CH), 127.35 (CH_{ar}), 127.46 (CH_{ar}), 128.03 (CH_{ar}), 136.84 (C_q), 155.77 (C_q), 158.99 (C_q), 170.50 (C_q).

Schmp. 170 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3385.42, 3298.64, 3098.08, 2965.02, 2936.09, 2873.42, 1726.94, 1707.66, 1647.88, 1543.74, 1467.56, 1392.35, 1370.18, 1340.28, 1303.64, 1241.93, 1150.33, 1042.34, 842.74, 781.03, 755.96,

698.11, 594.93.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $C_{34}H_{50}N_8NaO_8^+$ $[M+Na]^+$: 721.365, gef.: 721.366.**7.5.9 Synthese von Cbs-Val-C4-Val-Pyrrol-Bn (132)**

131 (300 mg, 0.43 mmol, 1.0 eq) wurde in Methanol (10 mL) gelöst und unter Argon 10 % Pd/C (30 mg) zugegeben. Wasserstoff wurde unter Rühren eine halbe Stunde eingeleitet und die Reaktion mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde der Katalysator über Celite abfiltriert, mit Methanol nachgewaschen und das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der ölige Rückstand wurde ohne weitere Reinigungsschritte umgesetzt.

Zu einer Lösung von DMF (10 mL), NMM (0.15 mL, 1.29 mmol, 3.0 eq) und PyBOP (224 mg, 0.43 mmol, 1.0 eq) wurde **69** (105 mg, 0.43 mmol, 1.0 eq) zugegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das vorher Cbz-entschützte Amin zu der Reaktionsmischung gegeben und die gesamte Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser (30 mL) versetzt und noch eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der gelbe Niederschlag wurde abfiltriert, gut mit Wasser gewaschen und anschließend lyophilisiert. Dieser wurde dann säulenchromatographisch aufgereinigt (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol/ NEt_3 , 5/0.2/0.1). Man erhielt **132** (263 mg, 0.33 mmol, 77 %) als farblosen Feststoff.

C₃₉H₅₃N₉O₉ 791.89 g/mol.**R_f** 0.66 (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol/ NEt_3 , 5/0.2/0.1).

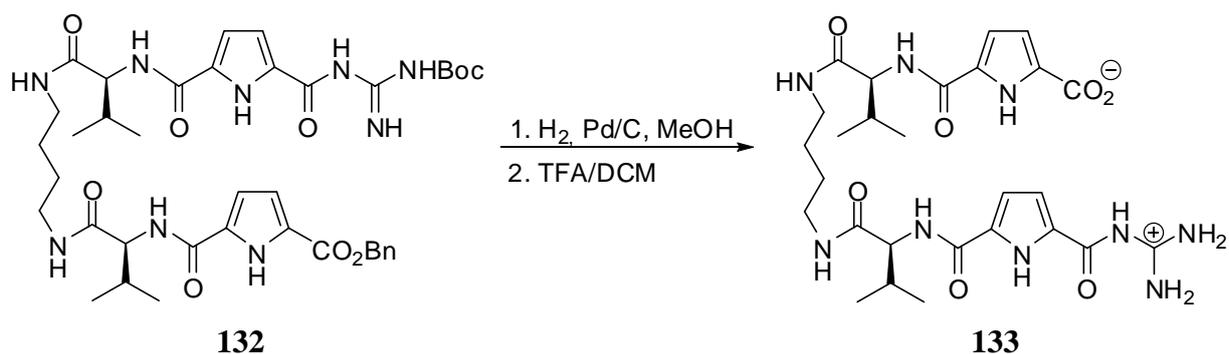
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.86 (dd, J = 6.51, 4.17 Hz, 12H, CH(CH₃)₂), 1.40 (m, 4H, CH₂), 1.46 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.02 (m, 2H, CH(CH₃)₂), 3.05 (m, 4H, CH₂), 4.28 (m, 2H, NHCH), 5.32 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.82 (m, 4H, Pyrrol-CH), 7.39 (m, 5H, Ph), 8.08 (t, 2H, NHCO-Val), 8.32 (d, J = 5.60, 5.20 Hz, 2H, NHCH-Val), 8.56 (br, 1H, Gua-NH), 9.34 (br, 1H, Gua-NH), 10.90 (br, 1H, Gua-NH), 11.89 (br, 1H, Pyrrol-NH), 12.52 (br, 1H, Pyrrol-NH).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 18.27 (CH(CH₃)₂), 18.36 (CH(CH₃)₂), 18.98 (CH(CH₃)₂), 19.00 (CH(CH₃)₂), 26.26 (CH₂), 27.51 (C(CH₃)₃), 30.10 (CH(CH₃)₂), 30.25 (CH(CH₃)₂), 37.93 (CH₂), 57.80 (CHNH), 57.92 (CHNH), 65.20 (CH₂-Ph), 112.95 (Pyrrol-CH), 113.57 (Pyrrol-CH), 114.98 (Pyrrol-CH), 123.88 (C_q), 127.62 (CH_{ar}), 127.79 (CH_{ar}), 128.22 (CH_{ar}), 130.76 (C_q), 136.01 (C_q), 158.18 (C_q), 158.61 (C_q), 159.02 (C_q), 159.81 (C_q), 170.42 (C_q), 170.51 (C_q).

Schmp. 176 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3299.61, 2963.09, 2927.41, 2878.24, 1637.27, 1558.20, 1472.38, 1370.18, 1304.61, 1243.86, 1149.37, 1039.44, 1026.91, 758.85.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₃₉H₅₃N₉NaO₉⁺ [M+Na]⁺: 814.386, gef.: 814.384.

7.5.10 Synthese vom Zwitterion CBS-Val-C₄-Val-Pyrrol-OH (133)

132 (100 mg, 0.13 mmol, 1.0 eq) wurde in Methanol (10 mL) gelöst und unter Argon 10 % Pd/C (10.0 mg) zugegeben. Wasserstoff wurde unter Rühren eine Stunde eingeleitet. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde der Katalysator über Celite abfiltriert, mit Methanol nachgewaschen und das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der farblose Feststoff wurde in Dichlormethan (5 mL) gelöst und dann mit TFA (5 mL) versetzt. Die Lösung wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt, das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt, mit Wasser und 5 %iger Salzsäurelösung (2 mL) versetzt und anschließend lyophilisiert. Der so erhalten Feststoff wurde in Wasser (1 mL) aufgenommen und mit einer konz. Natronlauge (ca. 30.0 μL) versetzt, so dass die gesamt Lösung basisch (pH~8) war. Anschließend wurde mit 0.1 N HCl der pH-Wert auf 5 eingestellt. Der ausgefallene weiße Feststoff wurde abfiltriert, mit Wasser nachgewaschen und erneut lyophilisiert, so dass man **133** (78.0 mg, 0.13 mmol, quant.) als Produkt erhielt.

C₂₇H₃₉N₉O₇ 601.65 g/mol.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.88 (dd, 12H, CH(CH₃)₂), 1.39 (m, 4H, CH₂), 2.02 (m, 2H, CH(CH₃)₂), 3.07 (m, 4H, CH₂), 4.29 (m, 2H, NHCH), 6.72 (dd, J = 3.72, 1.84 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 6.76 (dd, J = 3.48, 2.40 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 6.86 (d, J = 3.88 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 7.07 (br, 1H, Pyrrol-CH), 8.27 (br, 4H, Gua-NH), 8.08 (t, 2H, NHCO-Val), 8.30 (d, J = 8.80 Hz, 1H, NHCH-Val), 8.43 (d, J = 8.80 Hz, 1H, NHCH-Val), 12.28 (br, 1H, Pyrrol-NH), 12.33 (br, 1H, Gua-NH), 12.43 (br, 1H, Pyrrol-NH).

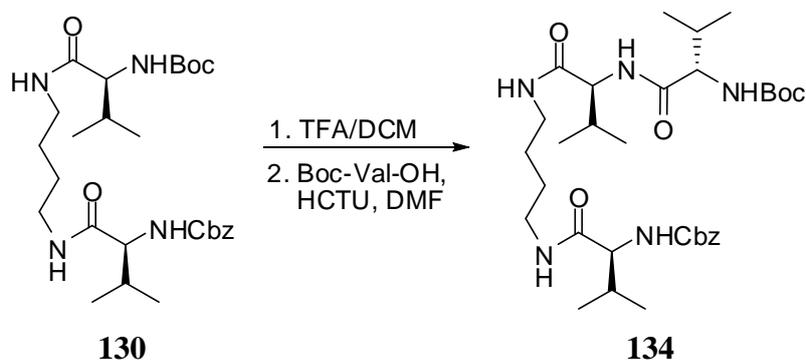
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOH- d_3) δ = 19.17 (CH(CH $_3$) $_2$), 19.21 (CH(CH $_3$) $_2$), 19.73 (CH(CH $_3$) $_2$), 19.77 (CH(CH $_3$) $_2$), 27.34 (CH $_2$), 27.38 (CH $_2$), 31.39 (CH(CH $_3$) $_2$), 60.60 (CHNH), 60.73 (CHNH), 113.92 (Pyrrol-CH), 115.50 (Pyrrol-CH), 116.68 (Pyrrol-CH), 127.23 (Pyrrol- C_q), 130.25 (Pyrrol- C_q), 133.19 (Pyrrol- C_q), 157.43 (C_q), 161.18 (C_q), 161.58 (C_q), 161.96 (C_q), 173.07 (C_q), 173.25 (C_q).

Schmp. 254 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3322.75, 3115.44, 2965.02, 2936.09, 2873.42, 1701.87, 1638.23, 1558.20, 1473.35, 1372.10, 1295.93, 1257.36, 1201.43, 1135.87, 758.85.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{N}_9\text{O}_7^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 602.305, gef.: 602.306.

7.5.11 Synthese von Boc-Val-Val- C_7 -Val-Cbz (134)



Eine Lösung von **130** (500 mg, 0.96 mmol, 1.0 eq) in TFA (10 mL) und Dichlormethan (10 mL) wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der zurückbleibende ölige Rückstand mit Wasser (10 mL) versetzt und gefriergetrocknet. Der weiße Feststoff wurde ohne weitere Reinigungsschritte umgesetzt.

Zu einer Lösung von DMF (10 mL), NMM (0.37 mL, 3.36 mmol, 3.0 eq) und HCTU (397 mg, 0.96 mmol, 1.0 eq) wurde Boc-*L*-Val-OH (208 mg, 0.96 mmol, 1.0 eq) zugegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das vorher Boc-entschützte Amin zu der Reaktionsmischung gegeben und die gesamte Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser (30 mL) versetzt und noch eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der weiße Niederschlag wurde abfiltriert, gut mit Wasser gewaschen und anschließend lyophilisiert. Man erhielt **134** (315 mg, 0.51 mmol, 53 %) als farblosen Feststoff.

C₃₂H₅₃N₅O₇ 619.79 g/mol.

R_f 0.81 (Kieselgel, Essigester/Methanol, 5/0.5).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.82 (m, 18H, CH(CH₃)₂), 1.38 (m, 13H, C(CH₃)₃, CH₂), 1.91 (m, 3H, CH(CH₃)₂), 3.06 (m, 4H, CH₂), 3.78 (m, 2H, NHCH), 4.11 (m, 1H, NHCH), 5.02 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.87 (d, *J* = 8.99 Hz, 1H, NHCH-Val), 7.17 (d, *J* = 8.89 Hz, 1H, NHCH-Val), 7.33 (m, 5H, Ph), 7.55 (d, *J* = 8.90 Hz, 1H, NHCH-Val), 7.88 (t, 1H, NHCO-Val), 7.94 (t, 1H, NHCO-Val).

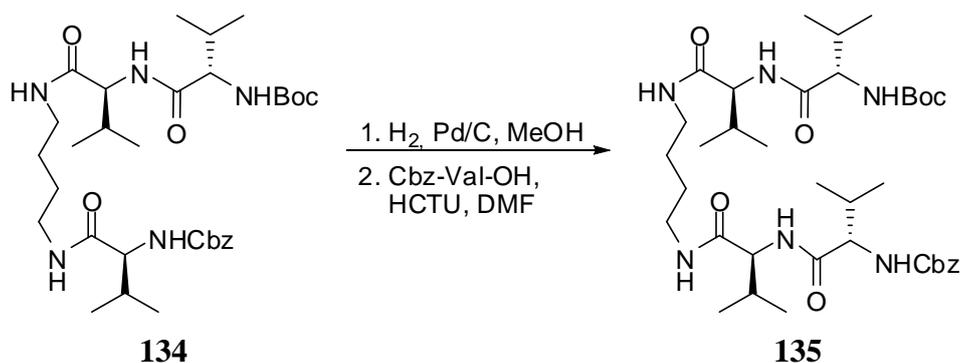
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 17.91 (CH(CH₃)₂), 17.95 (CH(CH₃)₂), 17.96 (CH(CH₃)₂), 18.91 (CH(CH₃)₂), 18.94 (CH(CH₃)₂), 18.98 (CH(CH₃)₂), 26.15 (CH₂), 26.20 (CH₂), 27.89 (C(CH₃)₃), 29.80 (CH(CH₃)₂), 29.99 (CH(CH₃)₂), 30.58 (CH(CH₃)₂), 37.81 (CH₂), 37.84 (CH₂), 57.27 (CHNH), 59.88 (CHNH), 60.05 (CHNH), 65.07 (CH₂-Ph), 77.84 (C(CH₃)₃), 127.35 (CH_{ar}), 127.47 (CH_{ar}), 128.04 (CH_{ar}), 136.84 (C_q), 155.21 (C_q), 155.79 (C_q), 170.26 (C_q), 170.65 (C_q), 170.83 (C_q).

Schmp. 173 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3293.82, 3091.33, 2961.16, 2937.06, 2872.45, 1690.30, 1648.84, 1535.06, 1462.74, 1390.42, 1368.25, 1294.97, 1244.83, 1174.44, 1042.34, 918.91, 876.49, 737.64, 698.11.

ESI-MS (pos. ESI): ber. für $C_{32}H_{53}N_5NaO_7^+$ $[M+Na]^+$: 642.384, gef.: 642.382.

7.5.12 Synthese von Boc-Val-Val-C₄-Val-Val-Cbz (135)



134 (230 mg, 0.37 mmol, 1.0 eq) wurde in Methanol (10 mL) gelöst und unter Argon 10 % Pd/C (25.0 mg) zugegeben. Wasserstoff wurde unter Rühren eine Stunde eingeleitet und die Reaktion mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde der Katalysator über Celite abfiltriert, mit Methanol nachgewaschen und das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der ölige Rückstand wurde ohne weitere Reinigungsschritte umgesetzt.

Zu einer Lösung von DMF (10 mL), NMM (0.12 mL, 1.11 mmol, 3.0 eq) und HCTU (153 mg, 0.37 mmol, 1.0 eq) wurde Cbz-*L*-Val-OH (93 mg, 0.37 mmol, 1.0 eq) zugegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das vorher Cbz-entschützte Amin zu der Reaktionsmischung gegeben und die gesamte Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser (30 mL) versetzt und noch eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der weiße Niederschlag wurde abfiltriert, gut mit Wasser gewaschen und anschließend lyophilisiert. Man erhielt **135** (146 mg, 0.20 mmol, 55 %) als farblosen Feststoff.

$C_{37}H_{62}N_6O_8$ 718.92 g/mol.

R_f 0.49 (Kieselgel, Essigester).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 0.83 (m, 28H, $CH(CH_3)_2$, CH_2), 1.38 (s, 9H,

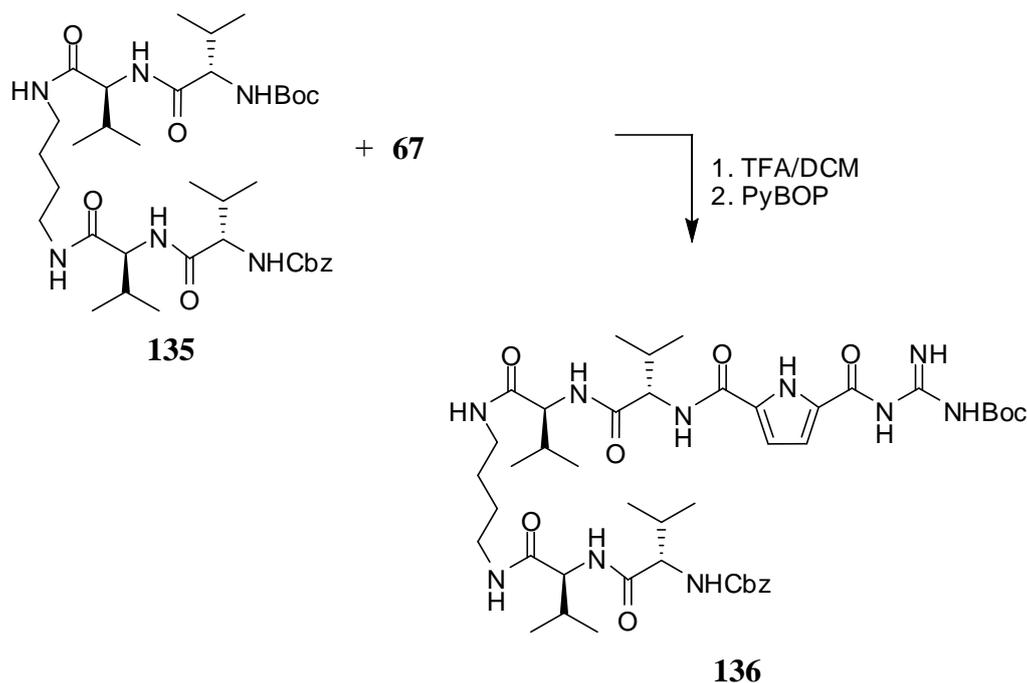
$C(CH_3)_3$, 1.92 (m, 4H, $CH(CH_3)_2$), 3.04 (m, 4H, CH_2), 3.78 (m, 1H, $NHCH$), 3.90 (m, 1H, $NHCH$), 4.11 (m, 2H, $NHCH$), 5.04 (s, 2H, CH_2 -Ph), 6.87 (d, $J = 8.95$ Hz, 1H, $NHCH$ -Val), 7.34 (m, 6H, Ph, $NHCH$ -Val), 7.55 (d, $J = 8.96$ Hz, 1H, $NHCH$ -Val), 7.65 (d, $J = 8.61$ Hz, 1H, $NHCH$ -Val), 7.92 (t, 2H, $NHCO$ -Val).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 17.85$ ($CH(CH_3)_2$), 17.95 ($CH(CH_3)_2$), 18.89 ($CH(CH_3)_2$), 18.97 ($CH(CH_3)_2$), 26.09 (CH_2), 26.75 (CH_2), 27.88 ($C(CH_3)_3$), 29.78 ($CH(CH_3)_2$), 29.89 ($CH(CH_3)_2$), 30.44 ($CH(CH_3)_2$), 35.95 (CH_2), 37.77 (CH_2), 57.25 ($CHNH$), 57.37 ($CHNH$), 65.08 (CH_2 -Ph), 127.44 (CH_{ar}), 127.45 (CH_{ar}), 128.04 (CH_{ar}), 156.11 (C_q), 170.22 (C_q), 170.61 (C_q).

Schmp. 186 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3289.96, 3090.37, 2963.09, 2931.27, 2873.42, 1693.19, 1644.02, 1541.81, 1467.56, 1390.42, 1368.25, 1295.93, 1244.83, 1169.62, 1044.26.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $C_{37}H_{62}N_6NaO_8^+$ $[M+Na]^+$: 741.452, gef.: 741.452.

7.5.13 Synthese von CBS-Val-Val-C₄-Val-Val-Cbz (136)

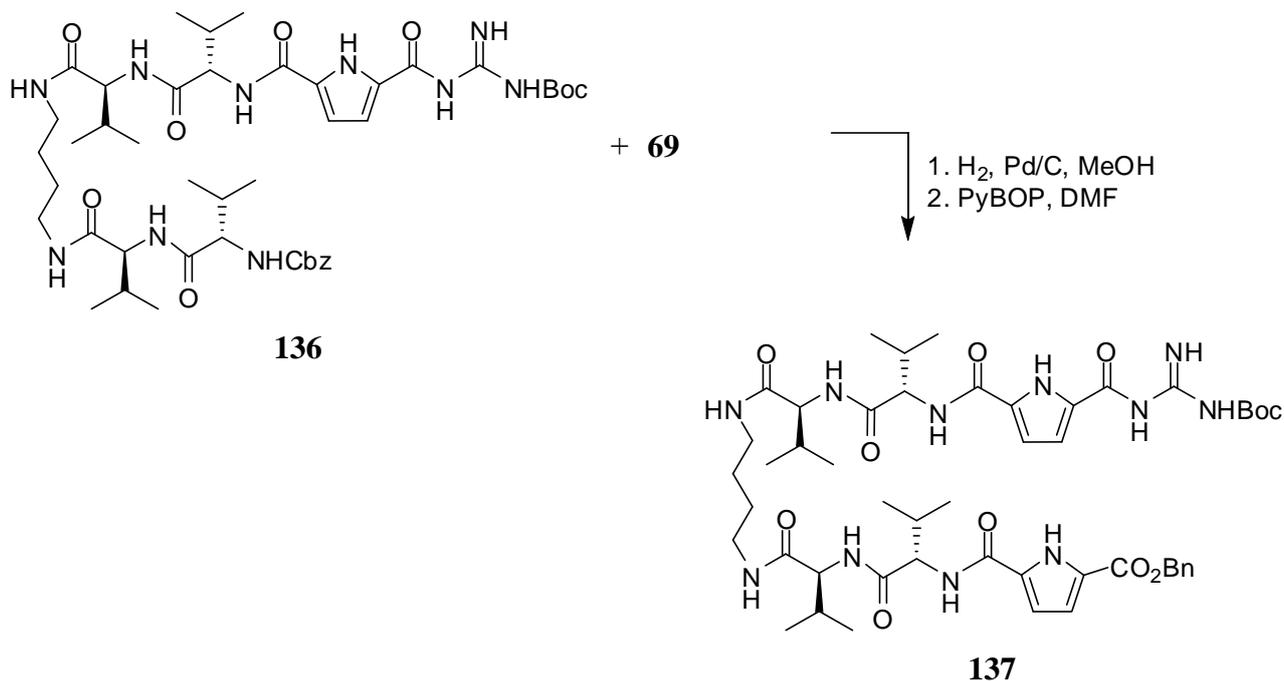
Eine Lösung von **135** (100 mg, 0.14 mmol, 1.0 eq) in TFA (5 mL) und Dichlormethan (5 mL) wurde 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der zurückbleibende ölige Rückstand mit Wasser (10 mL) versetzt und gefriergetrocknet. Der weiße Feststoff wurde ohne weitere Reinigungsschritte umgesetzt.

Zu einer Lösung von DMF (10 mL), NMM (46.0 μ L, 0.42 mmol, 3.0 eq) und PyBOP (69.0 mg, 0.14 mmol, 1.0 eq) wurde **67** (39.0 mg, 0.14 mmol, 1.0 eq) zugegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das vorher Boc-entschützte Amin zu der Reaktionsmischung gegeben und die gesamte Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser (30 mL) versetzt und noch eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der weiße Niederschlag wurde abfiltriert, mit viel Wasser gewaschen und anschließend lyophilisiert. Man erhielt **136** (77.0 mg, 0.09 mmol, 62 %) als farblosen Feststoff.

C₄₄H₆₈N₁₀O₁₀ 897.07 g/mol.

R_f 0.41 (Kieselgel, Essigester/Hexan/Methanol, 4/1/0.5).

- ¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.86 (m, 24H, CH(CH₃)₂), 1.37 (s, 4H, CH₂), 1.46 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.92 (m, 3H, CH(CH₃)₂), 2.07 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.05 (m, 4H, CH₂), 3.90 (m, 1H, NHCH), 4.09 (m, 2H, NHCH), 4.37 (m, 1H, NHCH), 5.04 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.83 (s, 1H, Pyrrol-CH), 6.93 (br, 1H, Pyrrol-CH), 7.34 (m, 5H, Ph), 7.65 (d, J = 8.87 Hz, 1H, NHCH-Val), 7.83 (d, J = 8.85 Hz, 1H, NHCH-Val), 7.87 (t, 1H, NHCO-Val), 7.92 (t, 1H, NHCO-Val), 8.32 (d, J = 8.54 Hz, 1H, NHCH-Val), 8.56 (br, 1H, Gua-NH), 9.33 (br, 1H, Gua-NH), 10.92 (br, 1H, Gua-NH), 11.78 (br, 1H, Pyrrol-NH),.
- ¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 18.20 (CH(CH₃)₂), 18.29 (CH(CH₃)₂), 18.67 (CH(CH₃)₂), 19.23 (CH(CH₃)₂), 26.40 (CH₂), 27.81 (C(CH₃)₃), 30.21 (CH(CH₃)₂), 38.08 (CH₂), 58.00 (CHNH), 60.40 (CHNH), 65.42 (CH₂-Ph), 113.39 (Pyrrol-CH), 127.65 (CH_{ar}), 127.80 (CH_{ar}), 128.39 (CH_{ar}), 137.12 (C_q), 155.65 (C_q), 156.15 (C_q), 170.57 (C_q), 170.97 (C_q).
- Schmp.** 183 °C.
- IR** (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3385.42, 3286.11, 3091.33, 2964.05, 2935.13, 2873.42, 1642.09, 1543.74, 1467.56, 1391.39, 1371.14, 1300.75, 1241.93, 1150.33, 1045.23, 842.74, 782.96, 754.99, 698.11, 610.36.
- HR-MS** (pos. ESI): ber. für C₄₄H₆₈N₁₀NaO₁₀⁺ [M+Na]⁺: 919.501, gef.: 919.503.

7.5.14 *Synthese von CBS-Val-Val-C₄-Val-Val-Pyrrol-Bn (137)*

136 (60 mg, 0.07 mmol, 1.0 eq) wurde in Methanol (10 mL) gelöst, unter Argon 10 % Pd/C (10.0 mg) zugegeben und unter Wasserstoffatmosphäre eine halbe Stunde gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde der Katalysator über Celite abfiltriert, mit Methanol nachgewaschen und das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der ölige Rückstand wurde ohne weitere Reinigungsschritte umgesetzt.

Zu einer Lösung von DMF (10 mL), NMM (22.0 μL , 0.21 mmol, 3.0 eq) und PyBOP (35.0 mg, 0.07 mmol, 1.0 eq) wurde **69** (105 mg, 0.43 mmol, 1.0 eq) zugegeben und zunächst für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das vorher Cbz-entschützte Amin zu der Reaktionsmischung gegeben und die gesamte Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser (30 mL) versetzt und noch eine weitere halbe Stunde im Eisbad gerührt. Der farblose Niederschlag wurde abfiltriert, mit viel Wasser gewaschen und anschließend lyophilisiert. Man erhielt **137** (40.0 mg, 0.04 mmol, 60 %) als farblosen Feststoff.

$\text{C}_{49}\text{H}_{71}\text{N}_{11}\text{O}_{11}$ 990.16 g/mol.

R_f 0.51 (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol/Net₃, 5/0.2/0.1).

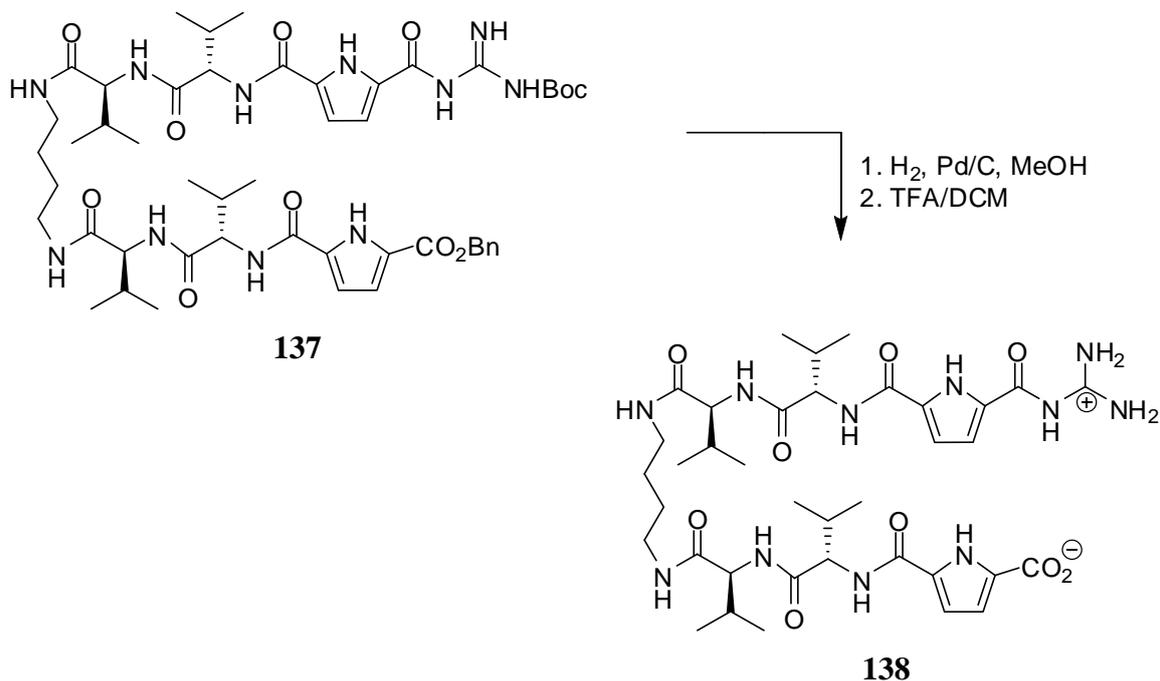
¹H-NMR (600 MHz, MeOH-d₃) δ = 0.98 (m, 24H, CH(CH₃)₂), 1.53 (m, 4H, CH₂), 1.56 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.06 (m, 2H, CH(CH₃)₂), 2.17 (s, 2H, CH(CH₃)₂), 3.19 (m, 4H, CH₂), 4.17 (m, 3H, NHCH), 5.38 (s, 2H, CH₂-Ph), 6.88 (d, J = 3.82 Hz, 1H, Pyrrol-CH), 6.93 (m, 3H, Pyrrol-CH), 7.42 (m, 5H, Ph), 8.04 (m, 4H, NHCO-Val), 8.33 (d, J = 8.00 Hz, 1H, NHCH-Val), 8.37 (d, J = 8.03 Hz, 1H, NHCH-Val), 8.69 (br, 1H, Gua-NH), 9.56 (br, 1H, Gua-NH), 11.44 (br, 1H, Pyrrol-NH), 12.27 (br, 1H, Pyrrol-NH).

¹³C-NMR (150.9 MHz, MeOH-d₃) δ = 19.09 (CH(CH₃)₂), 19.39 (CH(CH₃)₂), 19.45 (CH(CH₃)₂), 19.88 (CH(CH₃)₂), 19.99 (CH(CH₃)₂), 20.01 (CH(CH₃)₂), 173.11 (C_q), 27.54 (CH₂), 28.41 (C(CH₃)₃), 29.90 (C(CH₃)₃), 31.37 (CH(CH₃)₂), 31.53 (CH(CH₃)₂), 31.64 (CH(CH₃)₂), 31.18 (CH(CH₃)₂), 39.66 (CH₂), 60.11 (CHNH), 60.30 (CHNH), 60.38 (CHNH), 66.98 (CH₂-Ph), 114.15 (Pyrrol-CH), 114.53 (Pyrrol-CH), 114.85 (Pyrrol-CH), 116.51 (Pyrrol-CH), 126.30 (C_q), 129.18 (CH_{ar}), 129.26 (CH_{ar}), 129.63 (CH_{ar}), 131.65 (C_q), 132.43 (C_q), 137.64 (C_q), 160.42 (C_q), 162.60 (C_q), 161.62 (C_q), 162.05 (C_q), 172.89 (C_q).

Schmp. 196 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3295.75, 3093.26, 2964.05, 2936.09, 2874.38, 1642.09, 1550.49, 1469.49, 1371.14, 1293.04, 1250.61, 1149.37, 997.02, 815.74, 755.96, 697.14, 593.00.

ESI-MS (pos. ESI): ber. für C₄₉H₇₁N₁₁NaO₁₁⁺ [M+Na]⁺: 1012.523, gef.: 1012.523.

7.5.15 *Synthese von Zwitterion CBS-Val-Val-C₄-Val-Val-Pyr-OH 138*

137 (95.0 mg, 0.10 mmol, 1.0 eq) wurde in Methanol (10 mL) gelöst und unter Argon 10 % Pd/C (10.0 mg) zugegeben. Wasserstoff wurde unter Rühren eine Stunde eingeleitet. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde der Katalysator über Celite abfiltriert, mit Methanol nachgewaschen und das Lösemittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der farblose Feststoff wurde in Dichlormethan (5 mL) gelöst und dann mit TFA (5 mL) versetzt. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt, mit Wasser und 5 %iger Salzsäurelösung (2 mL) versetzt und anschließend lyophilisiert. Der so erhalten Feststoff wurde in Wasser (1 mL) aufgenommen und mit einer konz. Natronlauge (ca. 30 μL) versetzt, so dass die gesamte Lösung basisch (pH~8) war. Anschließend wurde mit 0.1 N HCl der pH-Wert auf 5 eingestellt. Der ausgefallene weiße Feststoff wurde abfiltriert, mit Wasser nachgewaschen und erneut lyophilisiert, so dass man **138** (80.0 mg, 0.10 mmol, quant.) als Produkt erhielt.

$\text{C}_{37}\text{H}_{57}\text{N}_{11}\text{O}_9$ 799.92 g/mol.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOH-d_3) δ = 1.10 (m, 24H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.64 (m, 4H, CH_2), 2.15 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.37 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3.30 (m, 4H, CH_2), 4.36

(m, 2H, *NHCH*), 4.74 (m, 2H, *NHCH*), 7.01 (m, 4H, Pyrrol-*CH*), 8.14 (d, $J = 7.55$ Hz, 2H, *NHCH-Val*), 8.29 (m, 4H, Gua- NH_2), 8.57 (m, 2H, *NHCH-Val*), 11.51 (m, 1H, Gua-*NH*), 12.53 (br, 1H, Pyrrol-*NH*), 12.71 (br, 1H, Gua-*NH*), 13.03 (br, 1H, Pyrrol-*NH*),.

$^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 18.46$ ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 19.22 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 30.21 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 30.27 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 30.32 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 30.48 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 38.05 (CH_2), 57.85 (CHNH), 57.94 (CHNH), 58.03 (CHNH), 113.30 (Pyrrol-*CH*), 113.79 (Pyrrol-*CH*), 114.51 (Pyrrol-*CH*), 125.90 (C_q), 129.66 (C_q), 129.97 (C_q), 130.04 (C_q), 130.09 (C_q), 149.07 (C_q), 159.11 (C_q), 159.30 (C_q), 159.41 (C_q), 161.99 (C_q), 170.46 (C_q), 170.54 (C_q), 170.93 (C_q).

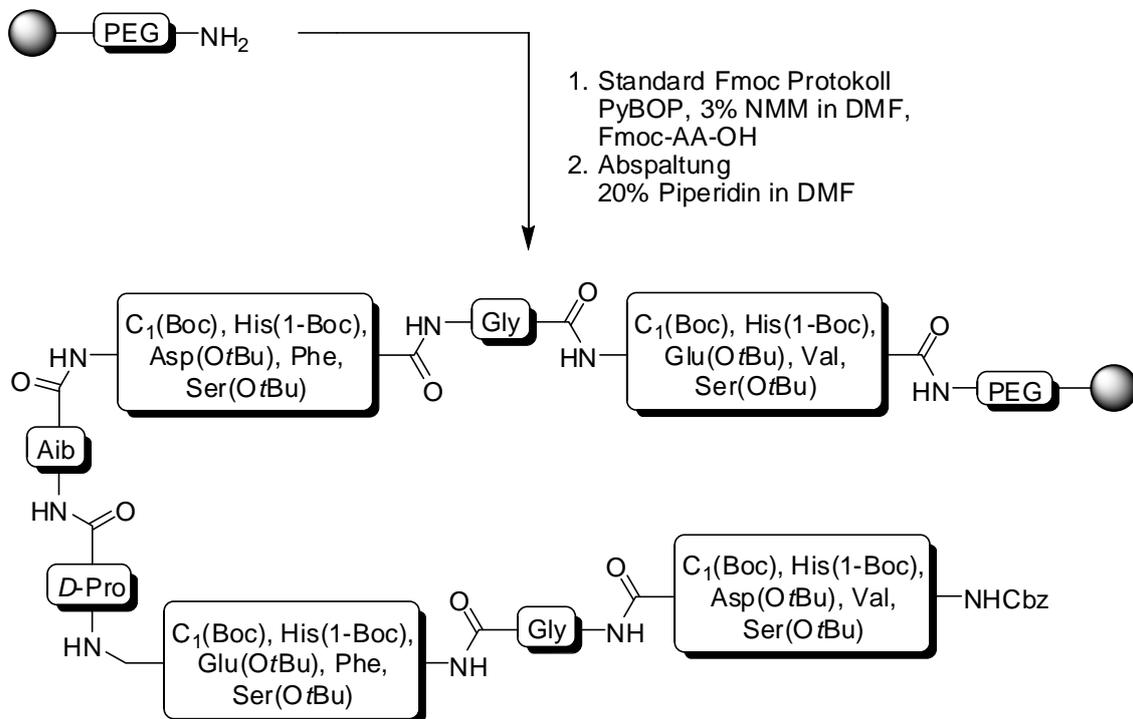
Schmp. 247 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3288.04, 3093.26, 2964.05, 2931.27, 2874.38, 1640.16, 1553.38, 1470.46, 1372.10, 1294.97, 1257.36, 1202.40, 1151.29, 820.56, 760.78.

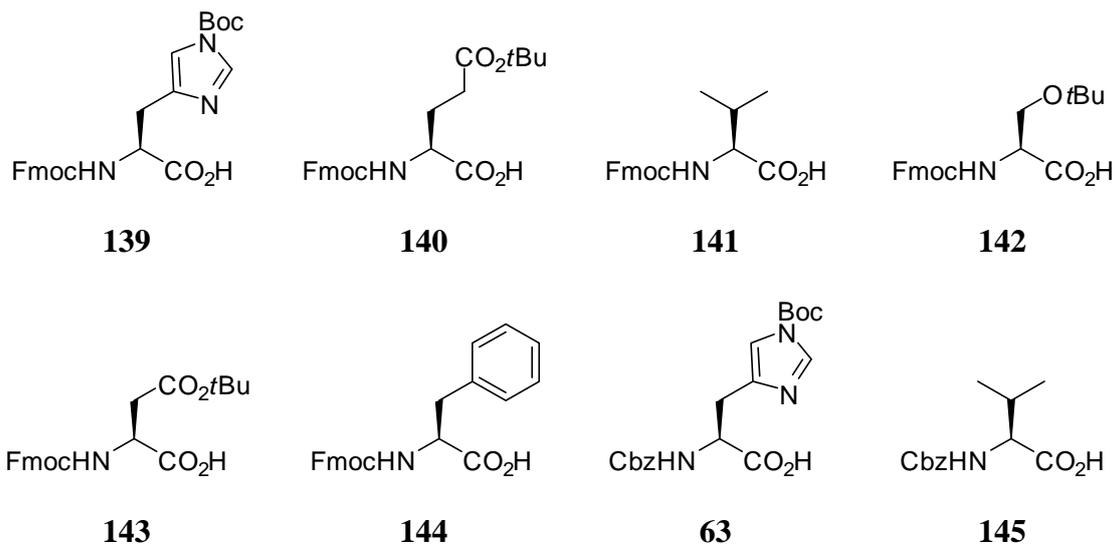
ESI-MS (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{37}\text{H}_{57}\text{N}_{11}\text{NaO}_9^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 822.423, gef.: 822.423.

7.6 Bibliothek

7.6.1 Synthese der 625 Mitglieder umfassenden Bibliothek (81)

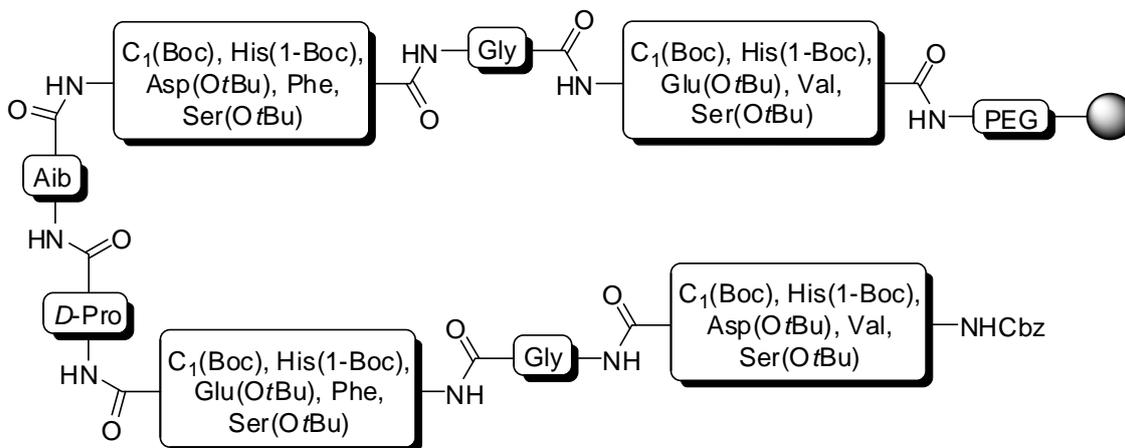


Verwendete Aminosäuren:



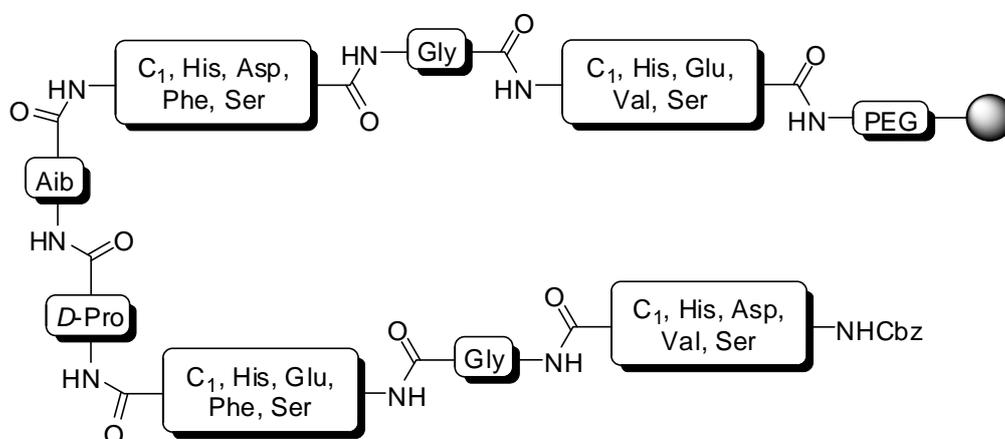
Es wurden folgende Aminosäuren in den einzelnen Synthesestufen verwendet. Bei der ersten Kupplung wurde das Fmoc-geschützte C₁-Arginin Analogon **72**, Fmoc-His(1-Boc) **139**, Fmoc-Glu(O*t*Bu) **140**, Fmoc-Val **141** und Fmoc-Ser(O*t*Bu) verwendet **142**. Für den zweiten und siebten Kupplungsschritt wurde Fmoc-Gly verwendet. Für die dritte Kupplung wurden die Aminosäuren Fmoc-C₁(Boc) **72**, Fmoc-His(1-Boc) **139**, Fmoc-Asp(O*t*Bu) **143**, Fmoc-Phe **144** und Fmoc-Ser(O*t*Bu) **142** verwendet. Die folgenden zwei Kupplungen wurden mit Fmoc-Aib **148** und Fmoc-*D*-Pro **149** durchgeführt. Für den sechsten Kupplungsschritt wurden die Aminosäuren Fmoc-C₁(Boc) **72**, Fmoc-His(1-Boc) **139**, Fmoc-Glu(O*t*Bu) **140**, Fmoc-Phe **144** und Fmoc-Ser(O*t*Bu) **142** verwendet. Die letzte Kupplung wurde dann mit den Cbz-geschützten Aminosäuren Cbz-C₁(Boc) **77**, Cbz-His(1-Boc) **63**, Cbz-Asp(O*t*Bu) **147**, Cbz-Val **145** und Cbz-Ser(O*t*Bu) **146** durchgeführt.

7.6.2 Entschützung der 625 Mitglieder umfassenden Bibliothek (82)



81

TFA in DCM



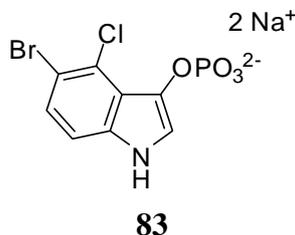
82

Vor dem Abspalten der Seitenschutzgruppen musste das Harz zunächst gewaschen und getrocknet werden. Dafür wurden die Mitglieder der einzelnen Reaktionsgefäße mit Dichlormethan (3x mit 150 mL), Methanol (2x mit 150 mL), Diethylether (1x mit 150 mL) und erneut mit Dichlormethan (2x mit 150 mL) gewaschen. Anschließend wurde das Harz an der Membranpumpe für ca. 15 Minuten getrocknet. Das so behandelte Harz wurde anschließend mit einer Lösung aus DCM/TFA (1/1) versetzt und für 4 Stunden bei

Raumtemperatur geschüttelt. Dieser Schritt wurde ein zweites Mal wiederholt. Anschließend wurden die Mitglieder erneut mit Dichlormethan (5x 150 mL) gewaschen und über Nacht am Membranpumpenvakuum getrocknet.

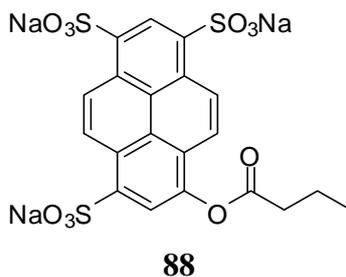
7.7 Screening der Bibliothek

7.7.1 Screening zur Phosphatspaltung^[98]



Die in den *MikroKans* verschlossenen einzelnen Katalysatoren wurden geöffnet und einige wenige Harzkügelchen entnommen und in ein well einer klaren 96er Well Multititerplatte der Firma Nunc gegeben. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Harzkügelchen sich am Boden der wells befinden. Anschließend wurde eine Lösung hergestellt, wobei das Indolderivat **83** in Bis/Tris-Puffer/Wasser der Konzentration 10 mM gelöst wurde und die Endkonzentration des Indolderivates **83** 1 mM betrug. Der pH-Wert der Lösung betrug 6.0. Von dieser Lösung wurden 350 μL in jedes well gegeben und darauf geachtet, dass sich alle Harzkügelchen in der Lösung befinden und keine Luftblasen in den wells vorhanden sind. Wichtig bei diesem Screening war die Tatsache, dass die einzelnen Mikrotiterplatten nicht mit einem dazu passenden Deckel abgedeckt werden durften, da sonst keine Katalyse zu beobachten war. Mit Hilfe eines Mikroskopes BX51 der Firma Olympus wurden die Multititerplatten über einen Zeitraum von bis zu zwei Tagen beobachtet. Dabei trat eine Blaufärbung der Harzkügelchen wie auch der Lösung ein. Ebenfalls konnte man bei guten Katalysatoren blaue Flocken in der Lösung schwimmen sehen. Durch die unterschiedlichen Geschwindigkeiten bei der Bildung der Blaufärbung konnten gute Katalysatoren von schlechten unterschieden werden, die dann für Studien in Lösung nachsynthetisiert werden konnten.

7.7.2 Screening zur Esterspaltung ^[131]



Die in den *MikroKans* verschlossenen einzelnen Katalysatoren wurden geöffnet und einige wenige Harzkügelchen entnommen und in ein well einer klaren 96er Well Multititerplatte der Firma Nunc gegeben. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Harzkügelchen sich am Boden der wells befinden. In jedes well wurden zunächst 45 μL einer Pufferlösung (Bis/Tris-Puffer in Wasser) der Konzentration 20 mM zugegeben. Anschließend wurde das käufliche Pyrenderivat **88** in Wasser gelöst, wobei es eine Konzentration von 2 mM hatte. Von dieser Lösung wurden jeweils 5 μL in jedes well der Multititerplatte gegeben und mit der Pipettenspitze leicht gemischt. Nun wurde die Fluoreszenz mit einem FP-6500 der Firma Jasco und einem angeschlossenen Mikroplatten Lesegerät FMP-963 der gleichen Firma bei einer Anregungswellenlänge von 460 nm und einer Emissionswellenlänge von 530 nm bei Raumtemperatur beobachtet. Durch die unterschiedlicher Intensitäten der einzelnen Mitglieder konnten sehr gute Katalysatoren von schlechten unterschieden werden, die dann für weitere Studien in Lösung nachsynthetisiert werden konnten.

7.8 Allgemeine Reaktionsvorschriften für die Peptidsynthese ^[132, 133]

Anbringung der ersten Aminosäure auf Wang-Harz:

Wang-Harz (300 mg, 1.1 mmol/g, 0.33 mmol, 1.0 eq) wurde in einer Mischung aus Dichlormethan und DMF (8:2, 10 mL) für 30 Minuten quellen gelassen. Das Lösemittelgemisch wurde abgesaugt und erneut eine Mischung aus Dichlormethan und DMF (8:2, 10 mL) zugegeben. Zu dem Harz wurden NMM (3 %, 300 μ L), die Fmoc-geschützte Aminosäure (0.66 mmol, 2.0 eq), HOBt (90 mg, 0.66 mmol, 2.0 eq), DIC (85 mg, 105 mL, 0.66 mmol, 2.0 eq) und DMAP (10 mg) hinzugegeben und die Reaktionsmischung für 16 Stunden bei Raumtemperatur über Argon geschüttelt. Das Lösemittelgemisch wurde abgesaugt und das Harz mit Dichlormethan (3x10 mL) gewaschen. Um sicherzustellen, dass die Hydroxylfunktion des Harzes vollständig zum Ester umgesetzt wird, wurde der Kupplungsschritt wiederholt, indem man die Aminosäure (0.33 mmol, 1.0 eq), NMM (3 %, 300 μ L), HOBt (45 mg, 0.33 mmol, 1.0 eq), DIC (45 mg, 55 mL, 0.33 mmol, 1.0 eq) und DMAP (10 mg) hinzugibt und für weitere 4 Stunden bei Raumtemperatur unter Argon schüttelt. Das Lösemittelgemisch wurde abgesaugt und mit Dichlormethan (3x10 mL) und mit DMF (10 mL) gewaschen. Im Anschluss an den Waschvorgang wurde die Schutzgruppe abgespalten.

Anbringung der ersten Aminosäure auf RinkAmid Harz:

Vor der Anbringung der ersten Aminosäure an das RinkAmid Harz musste die Fmoc-Schutzgruppe am Harz abgespalten werden. Dazu ließ man zunächst das Harz (300 mg, 0.74 mmol/g, 0.22 mmol, 1.0 eq) für 1 Stunde in DMF (10 mL) quellen. Danach wurde die Schutzgruppe gemäß dem Standardprotokoll abgespalten. Das Harz wurde danach in DMF (10 mL), das 3 % NMM (300 μ L) enthält, suspendiert, anschließend die Fmoc-geschützte Aminosäure (0.55 mmol, 2.5 eq) und PyBOP (290 mg, 0.55 mmol, 2.5 eq) hinzugegeben und das Reaktionsgefäß für vier bis fünf Stunden geschüttelt. Die Reaktionslösung wurde abgesaugt und das Harz mit DMF (3x10 mL) gewaschen, bevor erneut die Schutzgruppe abgespalten wurde.

Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe vom polymeren Träger:

Die Fmoc-Schutzgruppe wurde abgespalten, indem man das Harz mit einer Mischung aus DMF (2x10 mL), das 20 % Piperidin enthält, für 30 Minuten schüttelt und das Harz

anschließend mindestens fünfmal mit DMF (je 10 mL) wäscht, um letzte Reste an Piperidin zu entfernen.

Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger:

Bevor das Produkt vom polymeren Träger abgespalten werden konnte, musste es sorgfältig gewaschen werden, um letzte Reste an DMF zu entfernen, da schon Spuren an DMF die Ausbeuten an Produkt dramatisch senken. Das Harz wurde zunächst mit Dichlormethan (3x10 mL), anschließend mit Methanol (3x10 mL), Diethylether (10 mL) und zum Abschluss noch mit Dichlormethan (2x10 mL) gewaschen. Nach kurzem Trocknen im Membranpumpenvakuum wurde das Produkt vom Harz entsprechend folgender Protokolle abgespalten.

1. Wang Harz: Das getrocknete, vollständig von DMF befreite Harz wurde mit einer 1:1 Mischung aus trockenem Dichlormethan und TFA (10 mL) für zwei bis drei Stunden geschüttelt, wobei das Harz eine tiefrote Farbe annahm. Das Lösemittel wurde durch Vakuumfiltration entfernt und das Harz mit frischer Abspalllösung (10 mL) gewaschen. Die braune bis rote Reaktionslösung, wurde am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck auf 2-3 mL eingengt und mit dem 10fachen Volumen an trockenem Diethylether versetzt, woraufhin weiße Feststoffe erhalten werden konnten.

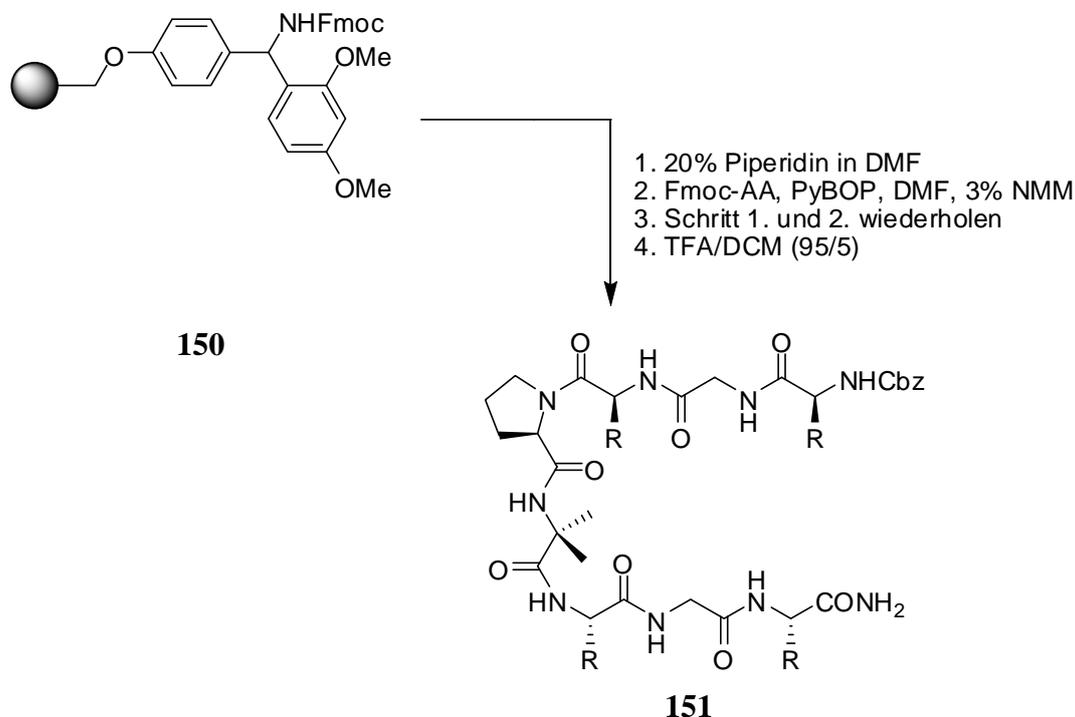
2. Rink-Amid Harz: Das getrocknete, vollständig von DMF befreite Harz wurde mit einer Mischung aus TFA, das 5 % trockenes Dichlormethan (10 mL) enthält, für zwei bis drei Stunden geschüttelt, wobei das Harz eine tiefrote Farbe annahm. Das Lösemittel wurde durch Vakuumfiltration entfernt und das Harz noch einmal mit frischer Abspalllösung (10 mL) gewaschen. Die braune bis rote Reaktionslösung wurde am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck auf 2-3 mL eingengt und mit dem 10fachen Volumen an trockenem Diethylether versetzt, woraufhin farblose Feststoffe erhalten werden konnten.

Die Feststoffe wurden über eine P4 Fritte durch Vakuumfiltration entfernt oder mittels Zentrifuge abgetrennt und mit trockenem Diethylether (20 mL) gewaschen. Anschließend wurde das Produkt mit wenig verdünnter Salzsäure (0.1 M, 2 mL) und bidestilliertem Wasser (30 mL) versetzt und lyophilisiert. Auf diese Weise konnten voluminöse farblose Feststoffe erhalten werden.

Detektion von freien Aminofunktionen an polymeren Trägern (Kaiser Test):^[134]

Es wurden Lösungen aus Ninhydrin (1.00 g) in Ethanol (10 mL) und Phenol (40.0 g) in Ethanol (10 mL) angesetzt. Einige Harzkügelchen des zu analysierenden Harzes wurden mit je 0.5 mL der beiden Lösungen versetzt und für eine Minute auf 100 °C erhitzt. Polymerkügelchen mit freien Aminofunktionen färbten sich tiefblau, während Harz ohne freie Aminofunktionen farblos blieb.

7.9 Synthese von Oktapeptiden für Katalysestudien in Lösung

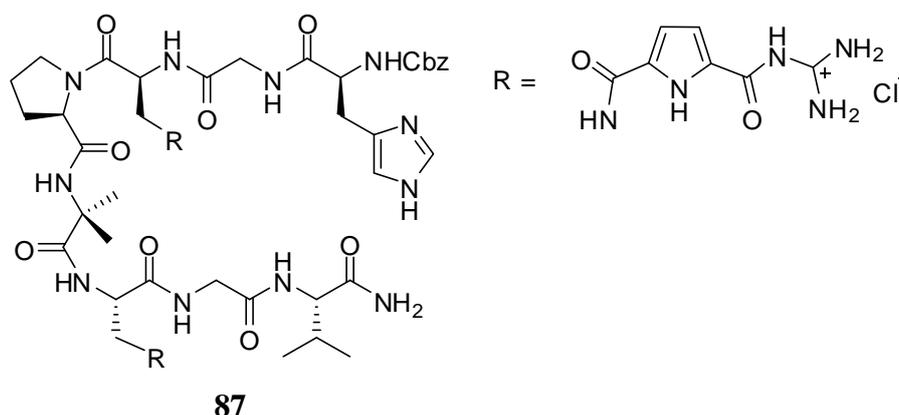


Die Synthese der Oktapeptide wurde an RinkAmid-Harz nach dem Standardprotokoll (siehe Abschnitt 7.8) durchgeführt. Bevor die erste Aminosäure an das Harz gekuppelt werden konnte, musste zunächst die Fmoc-Schutzgruppe vom Harz entfernt werden. Dazu ließ man zunächst das Harz **150** (300 mg, 0.74 mmol/g, 0.22 mmol, 1.0 eq) für 1 Stunde in DMF (10 mL) quellen. Anschließend wurde die Schutzgruppe gemäß dem Standardprotokoll abgespalten (siehe vorherigen Abschnitt). Das Harz wurde danach in DMF (10 mL), das 3 % NMM (300 µL) enthielt, suspendiert. Dazu wurde die Fmoc-geschützte Aminosäure (0.55 mmol, 2.5 eq) und PyBOP (290 mg, 0.55 mmol, 2.5 eq) gegeben und das Reaktionsgefäß für vier bis fünf Stunden geschüttelt. Die Reaktionslösung wurde abgesaugt und das Harz mit DMF (3x10 mL) gewaschen. Ein negativer Kaisertest (siehe Abschnitt 7.8) deutete dabei auf eine vollständige Umsetzung hin. Die Fmoc-Schutzgruppe wurde erneut entfernt (siehe Abschnitt 7.8) und die nächste Aminosäure wurde auf identischem Wege gekuppelt.

Das Produkt wurde nach intensiven Waschvorgängen mit Dichlormethan, Methanol und Diethylether wie im vorherigen Abschnitt bereits beschrieben mit einer Mischung aus Dichlormethan und TFA (5/95) vom Harz abgespalten. Das Lösemittel wurde unter

vermindertem Druck entfernt und das zurückbleibende orange Öl mit Diethylether (ca. 20 mL) versetzt. Der dabei ausgefallene weiße Feststoff wurde abzentrifugiert, mit verd. Salzsäurelösung (2 mL) und bidestilliertem Wasser versetzt und anschließend mehrmals lyophilisiert. So erhielt man voluminöse, farblose Feststoffe.

CbzNH-L-His-Gly-L-C₁-D-Pro-Aib-L-C₁-Gly-L-Val-NH₂ (87)



C₅₂H₇₁Cl₂N₂₁O₁₄ 1285.16 g/mol.

Ausbeute 127 mg (0.10 mmol, 65 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.83 (m, 6H, CH₃-Val), 1.31 (m, 3H, CH₃-Aib), 1.33 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.72 (m, 1H, CH₂-Pro), 1.85 (m, 1H, CH₂-Pro), 1.99 (m, 2H, CH₂-Pro), 2.92 (m, 1H, CH₂-His), 3.10 (m, 2H, CH₂-His, CH-Val), 3.63-3.92 (m, 10H, CH₂-Gly, CH₂-Pro, CH₂-C₁), 4.11 (m, 1H, NHCH), 4.22 (m, 1H, NHCH), 4.29 (m, 1H, NHCH), 4.40 (m, 1H, NHCH), 4.75 (m, 1H, NHCH), 4.98 (m, 2H, CH₂-Phe), 6.81 (m, 4H, Pyrrol-CH), 7.07 (m, 1H, NH), 7.18-7.39 (m, 8H, CH-Ph, NH₂, CH-His), 7.62 (m, 1H, NH), 7.79 (m, 1H, NH), 8.01 (m, 1H, NH), 8.36 (m, 10H, Gua-NH₂, NH), 8.96 (m, 1H, CH-His), 11.65 (m, 2H, Gua-NH), 12.34 (m, 2H, Pyrrol-NH), 14.14 (s, 1H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 17.89 (CH₃-Val), 19.23 (CH₃-Val), 24.59 (CH₃-Aib), 25.13 (CH₃-Aib), 25.40 (CH₂-Pro), 27.03 (CH₂-Pro), 28.86 (CH₂-His), 30.09 (CH-Val), 41.94 (CH₂-Gly), 41.97 (CH₂-C₁), 42.24

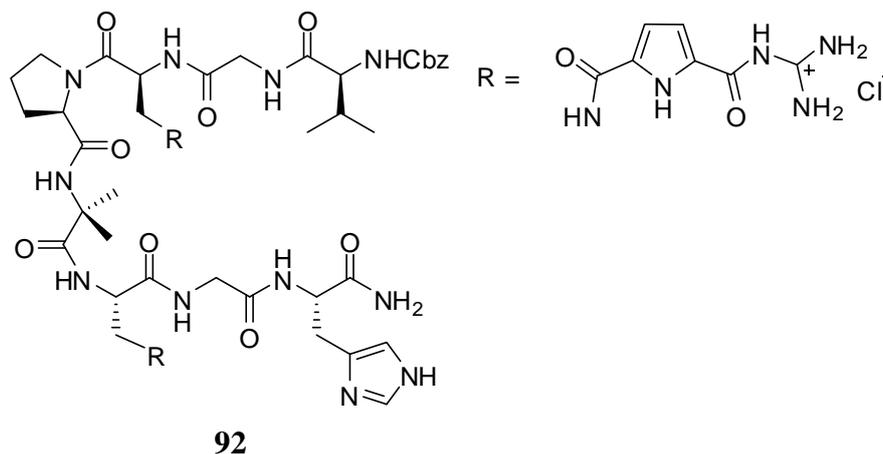
(CH₂-C₁), 42.31 (CH₂-Gly), 47.21 (CH₂-Pro), 51.52 (CH), 53.67 (CH), 56.01 (C_q-Aib), 57.72 (CH), 60.40 (CH), 65.67 (CH₂-Ph), 112.02 (CH), 112.72 (CH), 115.68 (CH-His), 117.04 (CH), 118.00 (CH), 125.68 (C_q), 127.57 (CH-Ph), 127.84 (CH-Ph), 128.37 (CH-Ph), 129.06 (C_q-His), 129.42 (C_q), 132.31 (C_q), 133.82 (CH-His), 136.75 (C_q-Ph), 155.35 (C_q-Bn), 155.92 (C_q), 158.49 (C_q), 158.75 (C_q), 159.65 (C_q), 159.68 (C_q), 161.45 (C_q), 168.84 (C_q), 170.29 (C_q), 170.55 (C_q), 172.90 (C_q), 174.52 (C_q).

Schmp. 235 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3317.93, 2966.95, 2937.06, 2878.24, 2366.23, 2339.23, 1654.62, 1541.81, 1475.28, 1284.36, 1202.40, 1138.76.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₅₂H₆₉N₂₁NaO₁₄⁺ [M+Na]⁺: 1234.523, gef.: 1234.519.

CbzNH-L-Val-Gly-L-C₁-D-Pro-Aib-L-C₁-Gly-L-His-NH₂ (92)



C₅₂H₇₁Cl₂N₂₁O₁₄ 1285.16 g/mol.

Ausbeute 177 mg (0.14 mmol, 66 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.90 (m, 6H, CH₃-Val), 1.34 (m, 6H,

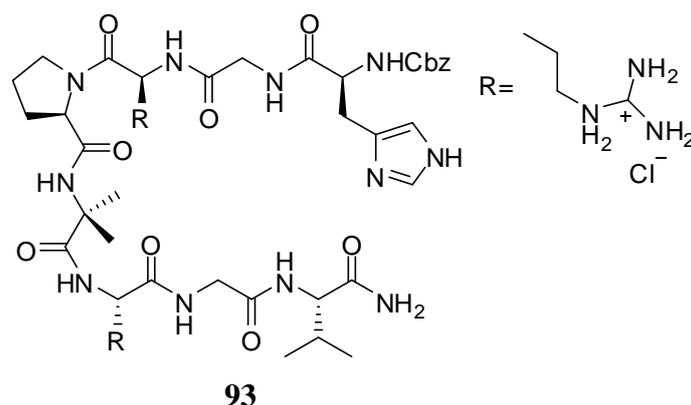
CH_3 -Aib), 1.63-2.28 (m, 4H, CH_2 -Pro), 3.02 (m, 1H, CH_2 -His), 3.21 (m, 1H, CH_2 -His), 3.32-3.95 (m, 11H, CH -Val, CH_2 -Gly, CH_2 -Pro, CH_2 -C₁), 4.07 (m, 1H, NHCH), 4.29 (m, 2H, NHCH), 4.57 (m, 2H, NHCH), 5.04 (m, 2H, CH_2 -Phe), 6.84 (m, 4H, Pyrrol-CH), 7.37 (m, 11H, CH -Ph, NH_2 , CH -His, NH), 7.86 (m, 1H, NH), 8.24 (m, 2H, NH), 8.58 (m, 1H, NH), 8.74 (m, 1H, NH), 9.03 (m, 1H, CH -His), 11.71 (s, 2H, Gua- NH), 12.16 (s, 1H, Pyrrol- NH), 12.35 (s, 1H, Pyrrol- NH), 14.41 (s, 2H, NH -His).

^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ = 18.14 (CH_3 -Val), 19.27 (CH_3 -Val), 24.56 (CH_3 -Aib), 25.11 (CH_3 -Aib), 26.05 (CH_2 -Pro), 26.59 (CH_2 -Pro), 28.73 (CH_2 -His), 30.21 (CH -Val), 41.86 (CH_2 -Gly), 42.07 (CH_2 -C₁), 42.16 (CH_2 -C₁), 42.47 (CH_2 -Gly), 47.28 (CH_2 -Pro), 51.18 (CH), 51.80 (CH), 53.25 (CH), 56.03 (C_q -Aib), 57.50 (CH), 60.28 (CH), 65.51 (CH_2 -Ph), 116.68 (CH -His), 127.74 (CH), 127.81 (CH), 127.92 (CH), 127.95 (CH), 128.36 (CH), 128.40 (CH), 129.63 (C_q -His), 132.46 (C_q), 133.49 (CH -His), 135.54 (C_q), 136.76 (C_q -Ph), 136.99 (C_q), 155.62 (C_q -Bn), 156.28 (C_q), 156.55 (C_q), 159.64 (C_q), 161.46 (C_q), 169.03 (C_q), 170.31 (C_q), 170.58 (C_q), 171.42 (C_q), 171.73 (C_q), 171.89 (C_q), 172.61 (C_q), 174.95 (C_q).

Schmp. 206 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3298.64, 3044.09, 2971.77, 1655.59, 1543.74, 1476.24, 1441.53, 1403.92, 1320.04, 1283.39, 818.63, 760.78, 625.79.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $C_{52}H_{70}N_{21}O_{14}^+$ $[M+H]^+$: 1212.541, gef.: 1212.542.

CbzNH-L-His-Gly-L-Arg-D-Pro-Aib-L-Arg-Gly-L-Val-NH₂ (93)

C₄₈H₇₁F₆N₁₇O₁₄ 1224.17 g/mol.

Ausbeute 192 mg (0.16 mmol, 75 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.83 (m, 6H, CH₃-Val), 1.32 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.34 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.51 (m, 5H, CH₂-Arg), 1.70 (m, 2H, CH₂-Arg), 1.84 (m, 2H, CH₂-Pro, CH₂-Arg), 1.96 (m, 2H, CH₂-Pro), 2.08 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.93 (m, 1H, CH₂-His), 3.02-3.87 (m, 12H, CH₂-His, CH-Val, CH₂-Arg, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.07 (m, 2H, NHCH), 4.21 (m, 1H, NHCH), 4.37 (m, 1H, NHCH), 4.49 (m, 1H, NHCH), 4.98 (m, 2H, CH₂-Ph), 6.91-7.55 (m, 19H, CH-Ph, NH₂, CH-His, NH-Arg, NH₂-Arg, NH), 7.64 (d, *J* = 8.47 Hz, 1H, NH), 7.80 (m, 1H, NH), 7.93 (m, 1H, NH), 8.25 (m, 1H, NH), 8.39 (m, 1H, NH), 8.85 (m, 1H, CH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 17.86 (CH₃-Val), 19.26 (CH₃-Val), 24.58 (CH₂-Pro), 24.75 (CH₂-Arg), 24.89 (CH₃-Aib), 25.28 (CH₃-Aib), 27.19 (CH₂-Arg), 27.99 (CH₂-Arg), 28.14 (CH₂-His), 28.86 (CH₂-Pro), 30.15 (CH-Val), 40.41 (CH₂-Arg), 40.49 (CH₂-Arg), 41.95 (CH₂-Gly), 42.31 (CH₂-Gly), 47.16 (CH₂-Pro), 50.57 (CH), 53.86 (CH), 56.08 (C_q-Aib), 57.61 (CH), 57.68 (CH), 60.41 (CH), 65.63 (CH₂-Ph), 117.11 (CH-His), 127.59 (CH-Ph), 127.87 (CH-Ph), 128.41 (CH-Ph), 129.84 (C_q-His), 133.98 (CH-His), 136.85 (C_q-Ph), 155.96 (C_q-Bn), 156.83 (C_q-Arg), 156.91 (C_q-Arg), 158.71 (TFA-Quartett), 158.96 (TFA-Quartett), 159.21

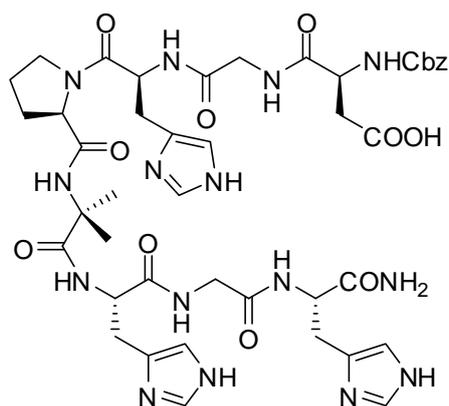
(TFA-Quartett), 159.46 (TFA-Quartett), 168.86 (C_q), 169.04 (C_q), 170.51 (C_q), 170.76 (C_q), 172.21 (C_q), 172.38 (C_q), 172.91 (C_q), 174.62 (C_q).

Schmp. 192 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3336.25, 3205.11, 3066.26, 2968.87, 2940.91, 2879.20, 1667.16, 1540.85, 1454.06, 1389.46, 1365.35, 1247.72, 1202.40, 1134.90, 1051.01, 835.99, 801.28, 721.25, 699.07, 627.72.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $C_{44}H_{70}N_{17}O_{10}^+$ $[M+H]^+$: 996.549, gef.: 996.549.

CbzNH-L-Asp-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-His-NH₂ (100)



100

$C_{43}H_{55}N_{15}O_{12}$ 973.99 g/mol.

Ausbeute 236 mg (0.24 mmol, 69 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ = 1.25 (s, 3H, CH_3 -Aib), 1.26 (s, 3H, CH_3 -Aib), 1.82 (m, 2H, CH_2 -Pro), 1.90 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.05 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.68 (m, 1H, CH_2 -Asp), 2.94 (m, 3H, CH_2 -His), 3.13 (m, 4H, CH_2 -His, CH_2 -Asp), 3.67 (m, 6H, CH_2 -Gly, CH_2 -Pro), 4.21 (m, 1H, NHCH), 4.36 (m, 1H, NHCH), 4.43 (m, 1H, NHCH), 4.50 (m, 2H, NHCH), 5.02 (m, 2H, CH_2 -Ph), 7.34 (m, 10H, CH-Ph, NH_2 , CH-His), 7.66 (d, J = 7.56 Hz, 1H, NH), 7.85 (d, J = 7.77 Hz, 1H, NH), 7.92 (t, 1H, NH-Gly), 7.97 (d,

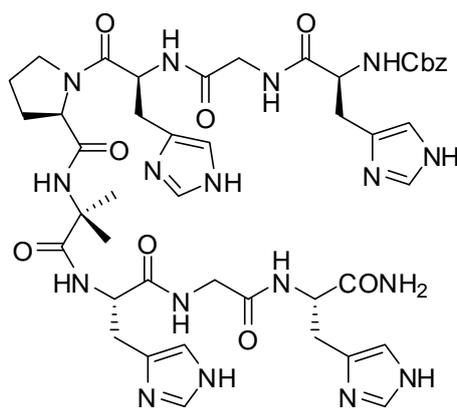
$J = 7.89$ Hz, 1H, *NH*), 8.09 (d, $J = 8.17$ Hz, 1H, *NH*), 8.23 (t, 1H, *NH*-Gly), 8.27 (s, 1H, *NH*), 8.95 (m, 3H, *CH*-His), 14.25 (s, 3H, *NH*-His).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 24.58$ (CH_2 -Pro), 24.78 (CH_3 -Aib), 24.90 (CH_3 -Aib), 25.74 (CH_2 -Pro), 26.22 (CH_2 -His), 26.68 (CH_2 -His), 28.8 (CH_2 -His), 36.29 (CH_2 -Asp), 42.10 (CH_2 -Gly), 42.39 (CH_2 -Gly), 47.28 (CH_2 -Pro), 50.28 (CH), 51.45 (CH), 51.76 (CH), 52.37 (CH), 56.03 (C_q -Aib), 60.54 (CH-Pro), 65.71 (CH_2 -Ph), 116.86 (CH-His), 117.03 (CH-His), 117.27 (CH-His), 127.77 (CH-Ph), 127.88 (CH-Ph), 128.38 (CH-Ph), 129.13 (C_q -His), 129.57 (C_q -His), 129.90 (C_q -His), 133.73 (CH-His), 133.79 (CH-His), 133.87 (CH-His), 136.76 (C_q -Ph), 156.01 (C_q -Bn), 168.97 (C_q), 170.77 (C_q), 171.50 (C_q), 171.80 (C_q), 171.89 (C_q), 172.42 (C_q), 174.76 (C_q).

Schmp. 114 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3311.18, 3152.08, 3037.34, 2882.09, 2639.11, 1671.98, 1541.81, 1432.85, 1249.65, 1203.36, 1135.87, 835.99, 799.35, 722.21, 627.72.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{43}\text{H}_{55}\text{N}_{15}\text{NaO}_{12}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 996.405, gef.: 996.406.

CbzNH-L-His-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-His-NH₂ (101)**101**

C₄₅H₅₇N₁₇O₁₀ 996.04 g/mol.

Ausbeute 268 mg (0.27 mmol, 77 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.24 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.25 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.80 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.89 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.05 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.93 (m, 4H, CH₂-His), 3.18 (m, 4H, CH₂-His), 3.71 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.37 (m, 1H, NHCH), 4.43 (m, 1H, NHCH), 4.51 (m, 2H, NHCH), 4.81 (m, 1H, NHCH), 4.98 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.31 (m, 11H, CH-Ph, NH₂, CH-His), 7.64 (d, *J* = 8.12 Hz, 1H, NH), 7.88 (d, *J* = 7.61 Hz, 1H, NH), 7.93 (t, 1H, NH-Gly), 8.09 (t, 1H, NH-Gly), 8.35 (m, 2H, NH), 8.95 (d, *J* = 8.07 Hz, 4H, CH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 24.58 (CH₂-Pro), 24.75 (CH₃-Aib), 24.92 (CH₃-Aib), 25.75 (CH₂-Pro), 26.32 (CH₂-His), 26.72 (CH₂-His), 27.05 (CH₂-His), 28.83 (CH₂-His), 41.99 (CH₂-Gly), 42.43 (CH₂-Gly), 47.28 (CH₂-Pro), 50.22 (CH-His), 51.80 (CH-His), 52.42 (CH-His), 53.66 (CH-His), 56.04 (C_q-Aib), 60.42 (CH-Pro), 65.71 (CH₂-Ph), 116.86 (CH-His), 117.06 (CH-His), 117.34 (CH-His), 118.27 (CH-His), 127.59 (CH-Ph), 127.87 (CH-Ph), 128.39 (CH-Ph), 129.11 (C_q-His), 129.58 (C_q-His), 129.62 (C_q-His), 129.94 (C_q-His), 133.75 (CH-His), 133.81 (CH-His), 133.90 (CH-His), 136.78 (C_q-Ph), 155.99 (C_q-Bn), 168.89 (C_q), 168.95 (C_q), 169.05 (C_q), 170.77 (C_q), 170.82 (C_q), 171.85 (C_q), 172.49

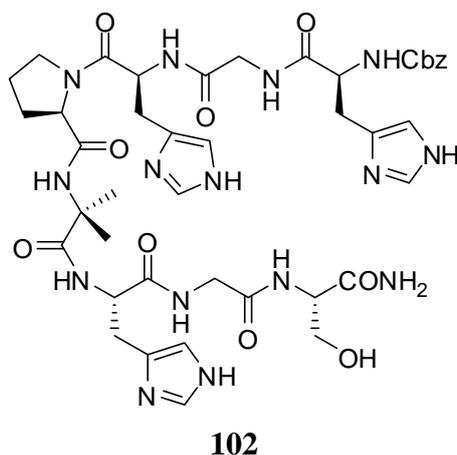
(C_q), 174.84 (C_q).

Schmp. 131 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3298.64, 3146.29, 3033.48, 2861.84, 2634.29, 1672.95, 1542.77, 1432.85, 1255.43, 1203.36, 1134.90, 835.99, 799.35, 722.21, 628.68.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₄₅H₅₇N₁₇NaO₁₀⁺ [M+Na]⁺: 1018.437, gef.: 1018.436.

CbzNH-L-His-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-Ser-NH₂ (102)



C₄₂H₅₅N₁₅O₁₁ 945.98 g/mol.

Ausbeute 253 mg (0.27 mmol, 76 %).

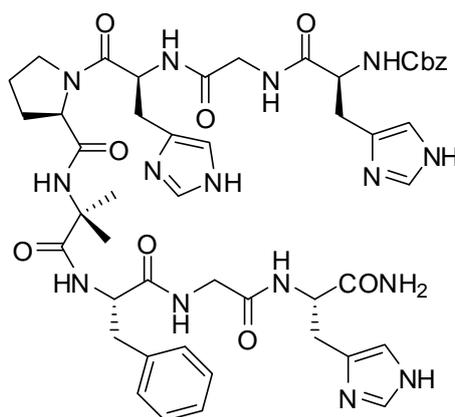
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.23 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.29 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.80 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.92 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.06 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.93 (m, 3H, CH₂-His), 3.12 (m, 3H, CH₂-His), 3.23 (m, 2H, CH₂-Ser), 3.68 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.21 (m, 2H, NHCH), 4.37 (m, 1H, NHCH), 4.51 (m, 1H, NHCH), 4.83 (m, 1H, NHCH), 4.98 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.13 (s, 2H, NH₂), 7.32 (m, 8H, CH-Ph, CH-His), 7.62 (d, J = 8.07 Hz, 1H, NH), 7.74 (d, J = 8.13 Hz, 1H, NH), 7.97 (m, 2H, NH), 8.33 (m, 2H, NH), 8.95 (m, 3H, CH-His), 14.25 (s, 3H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 24.65 (CH₂-Pro), 24.74 (CH₃-Aib), 25.15 (CH₃-Aib), 26.14 (CH₂-Pro), 26.35 (CH₂-His), 27.07 (CH₂-His), 28.82 (CH₂-His), 41.97 (CH₂-Gly), 42.38 (CH₂-Gly), 47.33 (CH₂-Pro), 50.20 (CH), 52.23 (CH), 53.65 (CH), 55.41 (CH), 56.10 (C_q-Aib), 60.58 (CH-Pro), 61.61 (CH₂-Ser), 65.71 (CH₂-Ph), 117.03 (CH-His), 117.09 (CH-His), 117.36 (CH-His), 127.60 (CH-Ph), 127.88 (CH-Ph), 128.41 (CH-Ph), 129.13 (C_q-His), 129.55 (C_q-His), 129.80 (C_q-His), 133.81 (CH-His), 133.86 (CH-His), 133.90 (CH-His), 136.80 (C_q-Ph), 155.98 (C_q-Bn), 168.98 (C_q), 169.07 (C_q), 170.73 (C_q), 170.79 (C_q), 172.01 (C_q), 172.32 (C_q), 174.52 (C_q).

Schmp. 112 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3297.69, 3150.15, 3039.26, 2927.41, 2878.24, 2634.29, 1671.02, 1542.77, 1432.85, 1254.47, 1202.40, 1134.90, 835.99, 799.35, 721.25, 627.72.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₄₂H₅₅N₁₅NaO₁₁⁺ [M+Na]⁺: 968.410, gef.: 968.410.

CbzNH-L-His-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-Phe-Gly-L-His-NH₂ (103)**103**

C₄₈H₅₉N₁₅O₁₀ 1006.08 g/mol.

Ausbeute 292 mg (0.29 mmol, 83 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.08 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.23 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.79 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.94 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.03 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.94 (m, 4H, CH₂-His, CH₂-Phe), 3.15 (m, 4H, CH₂-His, CH₂-Phe), 3.68 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.28 (m, 2H, NHCH), 4.38 (m, 1H, NHCH), 4.50 (m, 1H, NHCH), 4.61 (m, 1H, NHCH), 4.95 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.28 (m, 15H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.63 (m, 1H, NH), 7.69 (m, 1H, NH), 7.95 (t, 1H, NH-Gly), 8.05 (d, *J* = 8.10 Hz, 1H, NH), 8.18 (d, *J* = 7.62 Hz, 1H, NH), 8.28 (m, 1H, NH), 8.94 (m, 3H, CH-His), 14.26 (s, 3H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 23.83 (CH₃-Aib), 24.73 (CH₂-Pro), 25.79 (CH₃-Aib), 26.57 (CH₂-Pro), 26.66 (CH₂-His), 27.06 (CH₂-His), 28.71 (CH₂-His), 35.92 (CH₂-Phe), 41.89 (CH₂-Gly), 42.59 (CH₂-Gly), 47.32 (CH₂-Pro), 49.85 (CH), 51.75 (CH), 53.65 (CH), 54.95 (CH), 55.97 (C_q-Aib), 60.29 (CH-Pro), 65.69 (CH₂-Ph), 116.81 (CH-His), 117.06 (CH-His), 117.22 (CH-His), 126.30 (CH-Ph), 127.58 (CH-Ph), 127.86 (CH-Ph), 128.16 (CH-Ph), 128.38 (CH-Ph), 129.05 (CH-Ph), 129.16 (C_q-His), 129.55 (C_q-His), 129.61 (C_q-His), 133.75 (CH-His), 133.80 (CH-His), 133.89 (CH-His), 136.76 (C_q-Ph), 138.30 (C_q-Ph), 155.97

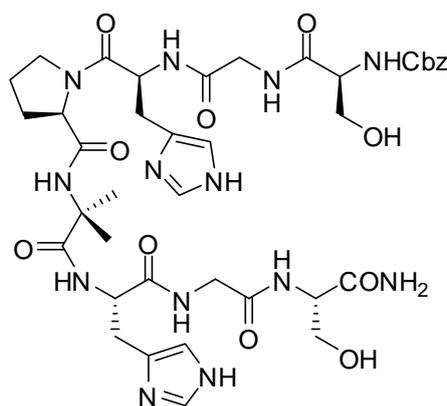
(C_q -Bn), 168.69 (C_q), 168.81 (C_q), 169.23 (C_q), 170.72 (C_q), 171.78 (C_q), 172.07 (C_q), 172.76 (C_q), 174.57 (C_q).

Schmp. 164 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3298.64, 3152.08, 3034.44, 2931.27, 2878.24, 2625.25, 1671.02, 1542.77, 1438.64, 1252.54, 1202.40, 1134.90, 835.03, 799.35, 721.25, 701.00, 628.68.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $C_{48}H_{59}N_{15}NaO_{10}^+$ $[M+Na]^+$: 1028.446, gef.: 1028.447.

CbzNH-L-Ser-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-Ser-NH₂ (104)



104

$C_{39}H_{53}N_{13}O_{12}$ 895.92 g/mol.

Ausbeute 257 mg (0.29 mmol, 82 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ = 1.24 (s, 3H, CH_3 -Aib), 1.29 (s, 3H, CH_3 -Aib), 1.79 (m, 2H, CH_2 -Pro), 1.92 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.06 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.92 (m, 1H, CH_2 -His), 3.11 (m, 2H, CH_2 -His), 3.24 (m, 1H, CH_2 -His), 3.71 (m, 10H, CH_2 -Gly, CH_2 -Pro, CH_2 -Ser), 4.07 (m, 1H, NHCH), 4.20 (m, 2H, NHCH), 4.49 (m, 1H, NHCH), 4.76 (m, 1H, NHCH), 5.02 (m, 2H, CH_2 -Ph), 7.29 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH_2), 7.71 (d, J = 7.95 Hz, 1H, NH), 7.96 (t, 1H, NH-Gly), 8.07 (m, 1H, NH), 8.24 (m, 2H, NH), 8.39 (m,

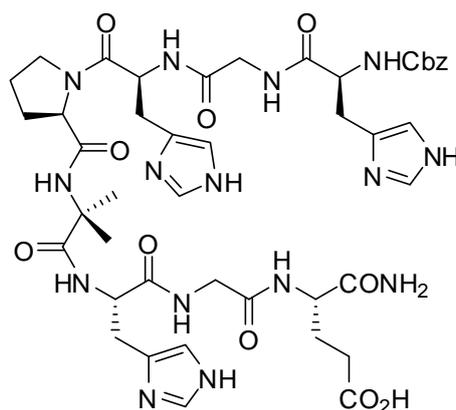
1H, *NH*), 8.95 (m, 2H, *CH*-His), 14.39 (s, 2H, *NH*-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 24.62 (CH₂-Pro), 24.85 (CH₃-Aib), 25.01 (CH₃-Aib), 26.13 (CH₂-Pro), 26.20 (CH₂-His), 28.80 (CH₂-His), 42.07 (CH₂-Gly), 42.31 (CH₂-Gly), 47.31 (CH₂-Pro), 50.29 (CH), 52.19 (CH), 55.35 (CH), 56.09 (C_q-Aib), 57.13 (CH), 60.69 (CH-Pro), 61.61 (CH₂-Ser), 61.74 (CH₂-Ser), 65.66 (CH₂-Ph), 117.10 (CH-His), 117.32 (CH-His), 127.79 (CH-Ph), 127.87 (CH-Ph), 128.38 (CH-Ph), 129.07 (C_q-His), 129.70 (C_q-His), 133.76 (CH-His), 133.87 (CH-His), 136.85 (C_q-Ph), 156.05 (C_q-Bn), 168.97 (C_q), 169.06 (C_q), 170.71 (C_q), 170.89 (C_q), 171.95 (C_q), 172.19 (C_q), 174.42 (C_q).

Schmp. 134 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3308.29, 3152.08, 3039.26, 2931.27, 2882.09, 2635.25, 1671.98, 1541.81, 1437.67, 1249.65, 1203.36, 1134.90, 1081.87, 835.99, 800.31, 722.21, 627.72.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₃₉H₅₃N₁₃NaO₁₂⁺ [M+Na]⁺: 918.383, gef.: 918.383.

CbzNH-L-His-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-Glu-NH₂ (105)**105**

C₄₄H₅₇N₁₅O₁₂ 988.02 g/mol.

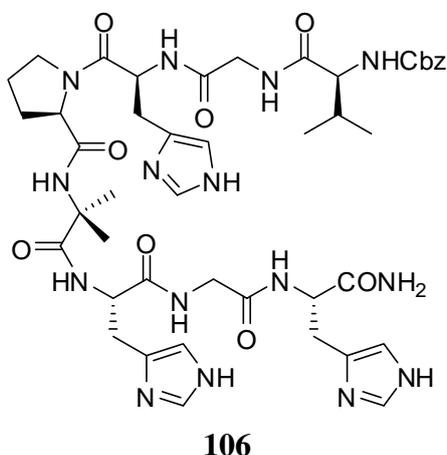
Ausbeute 298 mg (0.30 mmol, 86 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.23 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.27 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.77 (m, 3H, CH₂-Pro, CH₂-Glu), 1.98 (m, 3H, CH₂-Pro, CH₂-Glu), 2.24 (m, 2H, CH₂-Pro, CH₂-Glu), 2.93 (m, 2H, CH₂-His), 3.14 (m, 3H, CH₂-His), 3.24 (m, 1H, CH₂-His), 3.77 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.19 (m, 2H, NHCH), 4.40 (m, 2H, NHCH), 4.83 (m, 1H, NHCH), 4.97 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.31 (m, 10H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.62 (d, *J* = 8.35 Hz, 1H, NH), 7.81 (d, *J* = 7.77 Hz, 1H, NH), 7.87 (d, *J* = 7.96 Hz, 1H, NH), 7.94 (t, 1H, NH-Gly), 8.34 (m, 2H, NH), 8.95 (m, 3H, CH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 24.61 (CH₂-Pro), 24.68 (CH₃-Aib), 25.06 (CH₃-Aib), 25.87 (CH₂-Pro), 26.35 (CH₂-His), 27.06 (CH₂-His), 27.31 (CH₂-Glu), 28.84 (CH₂-His), 30.20 (CH₂-Glu), 41.95 (CH₂-Gly), 42.37 (CH₂-Gly), 47.32 (CH₂-Pro), 50.16 (CH), 52.07 (CH), 52.50 (CH), 53.64 (CH), 56.05 (C_q-Aib), 60.43 (CH-Pro), 65.70 (CH₂-Ph), 117.07 (CH-His), 117.10 (CH-His), 117.34 (CH-His), 127.60 (CH-Ph), 127.87 (CH-Ph), 128.39 (CH-Ph), 129.09 (C_q-His), 129.54 (C_q-His), 129.84 (C_q-His), 133.82 (CH-His), 133.90 (CH-His), 133.94 (CH-His), 136.78 (C_q-Ph), 155.96 (C_q-Bn), 168.92 (C_q), 168.99 (C_q), 170.70 (C_q), 170.78 (C_q), 172.46 (C_q), 173.20 (C_q), 173.92 (C_q), 173.95 (C_q), 174.74 (C_q).

Schmp.	136 °C.
IR	(KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3297.68, 3152.08, 3038.30, 2931.27, 2878.24, 2640.07, 1670.05, 1541.81, 1437.67, 1254.47, 1202.40, 1134.90, 835.03, 799.35, 721.25, 628.68.
HR-MS	(pos. ESI): ber. für $\text{C}_{44}\text{H}_{57}\text{N}_{15}\text{NaO}_{12}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 1010.420, gef.: 1010.422.

CbzNH-L-Val-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-His-NH₂ (106)



$\text{C}_{44}\text{H}_{59}\text{N}_{15}\text{O}_{10}$ 958.03 g/mol.

Ausbeute 268 mg, (0.28 mmol, 80 %).

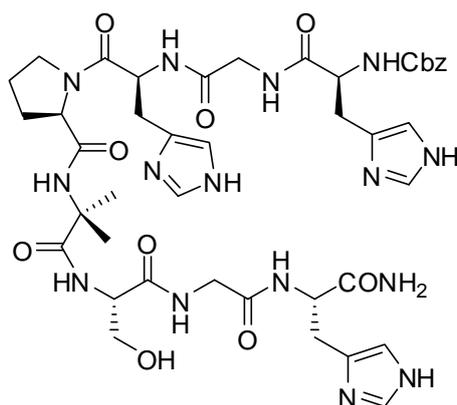
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.83 (dd, 6H, CH₃-Val), 1.24 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.26 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.79 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.93 (m, 2H, CH₂-Pro, CH-Val), 2.04 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.93 (m, 2H, CH₂-His), 3.17 (m, 4H, CH₂-His), 3.69 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 3.86 (m, 1H, NHCH), 4.21 (m, 1H, NHCH), 4.50 (m, 2H, NHCH), 4.80 (m, 1H, NHCH), 5.01 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.31 (m, 10H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.86 (d, J = 7.78 Hz, 1H, NH), 7.91 (t, 1H, NH-Gly), 8.09 (d, J = 8.41 Hz, 1H, NH), 8.22 (d, J = 8.18 Hz, 1H, NH), 8.27 (t, 1H, NH-Gly), 8.37 (s, 1H, NH), 8.95 (m, 3H, CH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 18.13 (CH₃-Val), 19.20 (CH₃-Val), 24.59 (CH₂-Pro), 24.68 (CH₃-Aib), 24.99 (CH₃-Aib), 25.75 (CH₂-Pro), 26.38 (CH₂-His), 26.72 (CH₂-His), 28.79 (CH₂-His), 30.19 (CH-Val), 41.82 (CH₂-Gly), 42.41 (CH₂-Gly), 47.28 (CH₂-Pro), 50.11 (CH), 51.75 (CH), 52.37 (CH), 56.03 (C_q-Aib), 60.21 (CH), 60.45 (CH), 65.53 (CH₂-Ph), 116.85 (CH-His), 117.05 (CH-His), 117.29 (CH-His), 127.73 (CH-Ph), 127.85 (CH-Ph), 128.37 (CH-Ph), 129.10 (C_q-His), 129.59 (C_q-His), 129.93 (C_q-His), 133.74 (CH-His), 133.79 (CH-His), 133.90 (CH-His), 136.96 (C_q-Ph), 156.31 (C_q-Bn), 168.90 (C_q), 168.93 (C_q), 168.98 (C_q), 170.81 (C_q), 171.79 (C_q), 171.89 (C_q), 172.48 (C_q), 174.79 (C_q).

Schmp. 145 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3298.64, 3150.15, 3039.26, 2878.24, 2642.96, 1671.02, 1541.81, 1431.89, 1240.97, 1202.40, 1133.94, 835.03, 799.35, 721.25, 628.68.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₄₄H₅₉N₁₅NaO₁₀⁺ [M+Na]⁺: 980.446, gef.: 980.453.

CbzNH-L-His-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-Ser-Gly-L-His-NH₂ (107)**107**

C₄₂H₅₅N₁₅O₁₁ 945.98 g/mol.

Ausbeute 267 mg (0.28 mmol, 81 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.31 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.35 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.83 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.96 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.07 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.92 (m, 3H, CH₂-His), 3.14 (m, 3H, CH₂-His), 3.66 (m, 8H, CH₂-Gly, CH₂-Pro, CH₂-Ser), 4.12 (m, 1H, NHCH), 4.25 (m, 1H, NHCH), 4.36 (m, 1H, NHCH), 4.50 (m, 1H, NHCH), 4.82 (m, 1H, NHCH), 5.01 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.32 (m, 10H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.54 (d, *J* = 6.90 Hz, 1H, NH), 7.64 (d, *J* = 8.23 Hz, 1H, NH), 7.98 (d, *J* = 8.10 Hz, 1H, NH), 8.23 (d, *J* = 7.86 Hz, 1H, NH), 8.31 (t, 1H, NH-Gly), 8.43 (s, 1H, NH), 8.96 (m, 3H, CH-His), 14.45 (s, 3H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 24.44 (CH₃-Aib), 24.59 (CH₂-Pro), 25.42 (CH₃-Aib), 26.20 (CH₂-Pro), 26.68 (CH₂-His), 26.98 (CH₂-His), 28.81 (CH₂-His), 41.92 (CH₂-Gly), 42.52 (CH₂-Gly), 47.19 (CH₂-Pro), 50.06 (CH), 51.64 (CH), 53.63 (CH), 56.02 (C_q-Aib), 56.32 (CH), 60.03 (CH), 61.07 (CH₂-Ser), 65.71 (CH₂-Ph), 116.75 (CH-His), 117.07 (CH-His), 117.37 (CH-His), 127.60 (CH-Ph), 127.87 (CH-Ph), 128.39 (CH-Ph), 128.90 (C_q-His), 129.50 (C_q-His), 129.61 (C_q-His), 133.74 (CH-His), 133.77 (CH-His), 133.88 (CH-His), 136.76 (C_q-Ph), 155.97 (C_q-Bn), 168.63 (C_q), 168.86 (C_q), 169.05 (C_q), 170.68 (C_q), 171.00 (C_q), 171.76

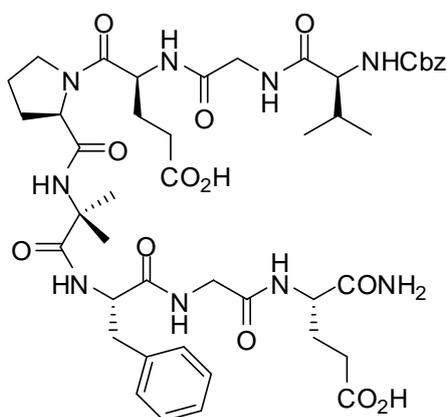
(C_q), 172.41 (C_q), 174.77 (C_q).

Schmp. 132 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3298.64, 3152.08, 3037.34, 2931.27, 2878.24, 2635.25, 1671.02, 1541.81, 1436.71, 1252.54, 1202.40, 1133.94, 835.03, 799.35, 721.25, 628.68.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₄₂H₅₅N₁₅NaO₁₁⁺ [M+Na]⁺: 968.410, gef.: 968.410.

CbzNH-L-Val-Gly-L-Glu-D-Pro-Aib-L-Phe-Gly-L-Glu-NH₂ (108)



C₄₅H₆₁N₉O₁₄ 952.02 g/mol.

Ausbeute 318 mg (0.33 mmol, 95 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.85 (dd, 6H, CH₃-Val), 1.06 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.26 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.74 (m, 5H, CH₂-Glu, CH₂-Pro, CH-Val), 1.98 (m, 4H, CH₂-Glu, CH₂-Pro), 2.29 (m, 4H, CH₂-Glu, CH₂-Pro), 3.13 (m, 2H, CH₂-Phe), 3.57 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 3.85 (m, 2H, NHCH), 4.19 (m, 2H, NHCH), 4.54 (m, 1H, NHCH), 5.02 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.26 (m, 13H, CH-Ph, NH₂, NH), 7.44 (d, *J* = 8.39 Hz, 1H, NH), 7.62 (d, *J* = 6.96 Hz, 1H, NH), 7.88 (t, 1H, NH-Gly), 8.10 (t, 1H, NH-Gly), 8.14 (d,

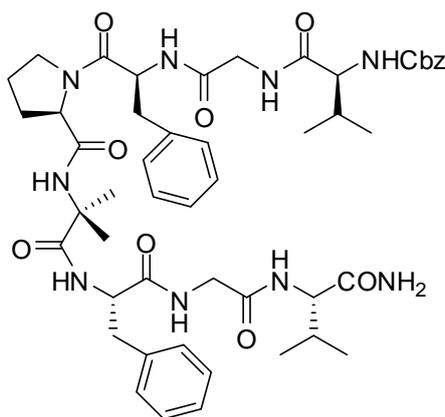
$J = 7.38$ Hz, 1H, *NH*), 8.84 (s, 1H, *NH*), 12.14 (s, 2H, *COOH*-Glu).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 18.16$ (CH_3 -Val), 19.25 (CH_3 -Val), 23.40 (CH_3 -Aib), 24.89 (CH_2 -Pro), 26.06 (CH_2 -Glu), 26.09 (CH_3 -Aib), 26.91 (CH_2 -Pro), 28.66 (CH_2 -Glu), 29.81 (CH_2 -Glu), 30.18 (CH -Val), 30.23 (CH_2 -Glu), 35.71 (CH_2 -Phe), 41.52 (CH_2 -Gly), 42.56 (CH_2 -Gly), 47.16 (CH_2 -Pro), 50.03 (CH), 51.86 (CH), 55.82 (C_q -Aib), 55.86 (CH), 60.00 (CH), 60.30 (CH), 65.47 (CH_2 -Ph), 126.32 (CH -Ph), 127.73 (CH -Ph), 127.81 (CH -Ph), 128.27 (CH -Ph), 128.37 (CH -Ph), 128.92 (CH -Ph), 137.06 (C_q -Ph), 138.22 (C_q -Ph), 156.25 (C_q -Bn), 168.63 (C_q), 168.82 (C_q), 170.62 (C_q), 171.49 (C_q), 172.20 (C_q), 173.14 (C_q), 173.25 (C_q), 173.83 (C_q), 173.96 (C_q), 175.10 (C_q).

Schmp. 172 °C (Zersetzung).

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3319.86, 3061.44, 2967.91, 2936.09, 1655.59, 1542.77, 1456.96, 1243.86, 1202.40, 701.00, 589.15, 467.65.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{45}\text{H}_{61}\text{N}_9\text{NaO}_{14}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 874.423, gef.: 874.423.

CbzNH-L-Val-Gly-L-Phe-D-Pro-Aib-L-Phe-Gly-L-Val-NH₂ (109)**109**

C₄₉H₆₅N₉O₁₀ 940.09 g/mol.

Ausbeute 264 mg (0.28 mmol, 80 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.83 (m, 12H, CH₃-Val), 1.07 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.26 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.53 (m, 1H, CH₂-Pro), 1.71 (m, 1H, CH₂-Pro), 1.84 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.98 (m, 2H, CH-Val), 2.86 (dd, 1H, CH₂-Phe), 3.00 (dd, 1H, CH₂-Phe), 3.10 (dd, 1H, CH₂-Phe), 3.21 (m, 1H, CH₂-Phe), 3.50 (m, 1H, CH₂-Pro), 3.64 (dt, 2H CH₂-Pro, CH₂-Gly), 3.87 (m, 3H, CH₂-Gly), 4.13 (m, 4H, CH), 4.76 (m, 1H, CH), 5.02 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.26 (m, 18H, CH-Ph, NH₂, NH), 7.54 (d, *J* = 9.03 Hz, 1H, NH), 7.66 (d, *J* = 7.97 Hz, 1H, NH), 7.90 (t, 1H, NH-Gly), 8.06 (m, 1H, NH), 8.26 (d, *J* = 7.58 Hz, 1H, NH), 8.49 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 17.79 (CH₃-Val), 18.29 (CH₃-Val), 19.22 (CH₃-Val), 19.25 (CH₃-Val), 23.68 (CH₃-Aib), 24.56 (CH₂-Pro), 26.07 (CH₃-Aib), 28.54 (CH₂-Pro), 30.08 (CH-Val), 30.16 (CH-Val), 35.98 (CH₂-Phe), 37.59 (CH₂-Phe), 41.58 (CH₂-Gly), 42.42 (CH₂-Gly), 47.13 (CH₂-Pro), 52.20 (CH), 54.90 (CH), 55.98 (C_q-Aib), 57.58 (CH), 60.12 (CH), 60.37 (CH), 65.45 (CH₂-Ph), 126.25 (CH-Ph), 126.60 (CH-Ph), 127.71 (CH-Ph), 127.80 (CH-Ph), 128.13 (CH-Ph), 128.21 (CH-Ph), 128.36 (CH-Ph), 129.04 (CH-Ph), 129.25 (CH-Ph), 137.00 (C_q-Ph), 137.06

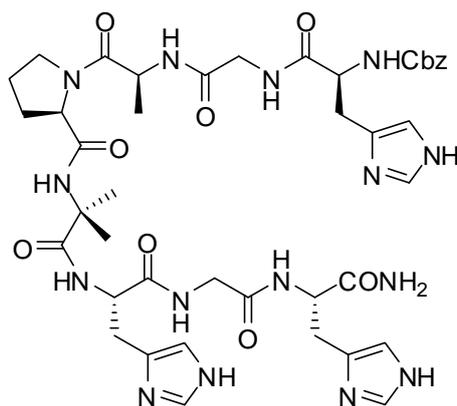
NH-Gly), 8.11 (d, $J = 8.60$ Hz, 1H, *NH*), 8.24 (m, 2H, *NH*), 8.98 (m, 3H, *CH*-His), 14.48 (s, 6H, *NH*-His).

^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 17.96$ (CH_3 -Ala), 24.59 (CH_2 -Pro), 24.75 (CH_3 -Aib), 24.95 (CH_3 -Aib), 25.71 (CH_2 -Pro), 26.15 (CH_2 -His), 26.67 (CH_2 -His), 28.80 (CH_2 -His), 41.95 (CH_2 -Gly), 42.41 (CH_2 -Gly), 47.32 (CH_2 -Pro), 50.13 (CH), 50.25 (CH), 51.77 (CH), 52.34 (CH), 56.04 (C_q -Aib), 60.57 (CH), 65.54 (CH_2 -Ph), 116.83 (CH-His), 117.03 (CH-His), 117.29 (CH-His), 127.77 (CH-Ph), 127.87 (CH-Ph), 128.37 (CH-Ph), 129.06 (C_q -His), 129.56 (C_q -His), 129.85 (C_q -His), 133.69 (CH-His), 133.81 (CH-His), 136.88 (C_q -Ph), 155.88 (C_q -Bn), 168.97 (C_q), 168.99 (C_q), 169.02 (C_q), 170.80 (C_q), 171.80 (C_q), 172.43 (C_q), 173.17 (C_q), 174.77 (C_q).

Schmp. 157 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3297.68, 3152.08, 3035.41, 2936.09, 2878.24, 2797.24, 2640.07, 1671.02, 1541.81, 1437.67, 1253.50, 1202.40, 1135.87, 835.03, 799.35, 721.25, 702.93.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{42}\text{H}_{56}\text{N}_{15}\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 930.433, gef.: 930.433.

CbzNH-L-His-Gly-L-Ala-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-His-NH₂ (111)**111**

C₄₂H₅₅N₁₅O₁₀ 929.98 g/mol.

Ausbeute 285 mg (0.31 mmol, 88 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.21 (d, J = 6.90 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.23 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.26 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.81 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.93 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.07 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.95 (m, 2H, CH₂-His), 3.17 (m, 4H, CH₂-His), 3.54 (m, 1H, CH₂-Pro), 3.74 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.20 (m, 1H, NHCH), 4.37 (m, 1H, NHCH), 4.48 (m, 3H, NHCH), 4.99 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.30 (m, 10H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.68 (d, J = 8.10 Hz, 1H, NH), 7.85 (d, J = 7.88 Hz, 1H, NH), 7.90 (t, 1H, NH-Gly), 8.06 (d, J = 8.27 Hz, 1H, NH), 8.18 (d, J = 6.63 Hz, 1H, NH), 8.31 (t, 1H, NH-Gly), 8.98 (m, 3H, CH-His), 14.48 (s, 6H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 16.94 (CH₃-Ala), 24.54 (CH₃-Aib), 24.59 (CH₂-Pro), 25.19 (CH₃-Aib), 25.76 (CH₂-Pro), 26.71 (CH₂-His), 26.96 (CH₂-His), 28.77 (CH₂-His), 41.87 (CH₂-Gly), 42.44 (CH₂-Gly), 46.82 (CH), 47.11 (CH₂-Pro), 51.74 (CH), 52.32 (CH), 53.73 (CH), 56.04 (C_q-Aib), 60.38 (CH), 65.68 (CH₂-Ph), 116.80 (CH-His), 117.00 (CH-His), 117.06 (CH-His), 127.58 (CH-Ph), 127.86 (CH-Ph), 128.39 (CH-Ph), 129.46 (C_q-His), 129.60 (C_q-His), 129.86 (C_q-His), 133.68 (CH-His), 133.80 (CH-His), 133.83 (CH-His), 136.79 (C_q-Ph), 155.99 (C_q-Bn), 168.59 (C_q), 168.97 (C_q), 170.63 (C_q), 170.81 (C_q), 171.29 (C_q), 171.79

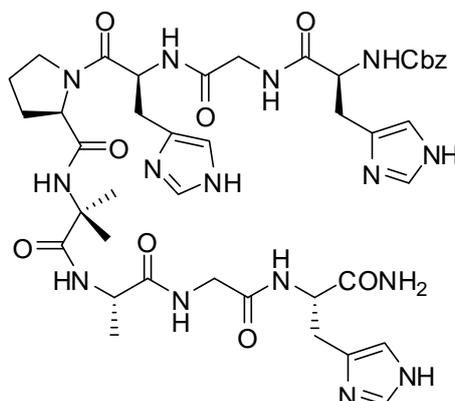
(C_q), 172.71 (C_q), 174.82 (C_q).

Schmp. 153 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3297.68, 3152.08, 3035.41, 2936.09, 2878.24, 2797.24, 2640.07, 1671.02, 1541.81, 1437.67, 1253.50, 1202.40, 1135.87, 835.03, 799.35, 721.25, 702.93, 627.72.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₄₂H₅₆N₁₅O₁₀⁺ [M+H]⁺: 930.433, gef.: 930.433.

CbzNH-L-His-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-Ala-Gly-L-His-NH₂ (112)



112

C₄₂H₅₅N₁₅O₁₀ 929.98 g/mol.

Ausbeute 290 mg (0.31 mmol, 89 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.30 (d, J = 7.03 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.30 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.33 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.82 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.95 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.08 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.93 (m, 3H, CH₂-His), 3.16 (m, 3H, CH₂-His), 3.69 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.10 (m, 1H, NHCH), 4.23 (m, 1H, NHCH), 4.38 (m, 1H, NHCH), 4.48 (m, 1H, NHCH), 4.84 (m, 1H, NHCH), 4.99 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.31 (m, 10H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.64 (d, J = 4.74 Hz, 1H, NH), 7.93 (t, 1H, NH-Gly), 8.01 (d, J = 8.51 Hz, 1H, NH), 8.31 (m, 1H, NH), 8.42 (t, 1H, NH-Gly), 8.97 (m, 3H, CH-His),

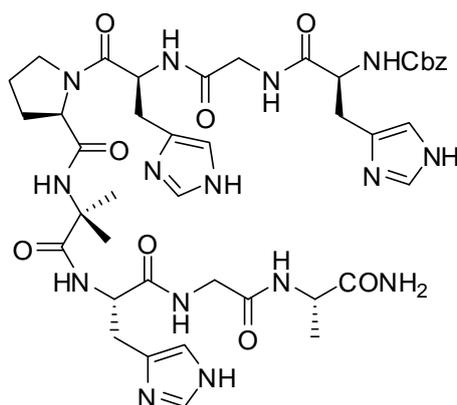
14.48 (s, 6H, *NH*-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 16.91 (CH₃-Ala), 24.42 (CH₃-Aib), 24.64 (CH₂-Pro), 25.52 (CH₃-Aib), 26.32 (CH₂-Pro), 26.61 (CH₂-His), 26.99 (CH₂-His), 28.84 (CH₂-His), 41.92 (CH₂-Gly), 42.51 (CH₂-Gly), 47.29 (CH₂-Pro), 49.41 (CH), 50.05 (CH), 51.73 (CH), 53.64 (CH), 55.92 (C_q-Aib), 60.42 (CH), 65.70 (CH₂-Ph), 116.74 (CH-His), 117.04 (CH-His), 117.30 (CH-His), 127.60 (CH-Ph), 127.87 (CH-Ph), 128.39 (CH-Ph), 129.04 (C_q-His), 129.50 (C_q-His), 129.65 (C_q-His), 133.68 (CH-His), 133.73 (CH-His), 133.84 (CH-His), 136.77 (C_q-Ph), 155.97 (C_q-Bn), 168.73 (C_q), 168.80 (C_q), 169.23 (C_q), 170.69 (C_q), 171.80 (C_q), 172.27 (C_q), 173.34 (C_q), 174.70 (C_q).

Schmp. 151 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3298.68, 3152.08, 3033.43, 2939.00, 2877.56, 2792.12, 2642.11, 1671.02, 1540.12, 1438.66, 1250.11, 1202.40, 1138.82, 832.33, 801.24, 735.25, 700.74.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₄₂H₅₆N₁₅O₁₀⁺ [M+H]⁺: 930.433, gef.: 930.433.

CbzNH-L-His-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-Ala-NH₂ (113)**113**

C₄₂H₅₅N₁₅O₁₀ 929.98 g/mol.

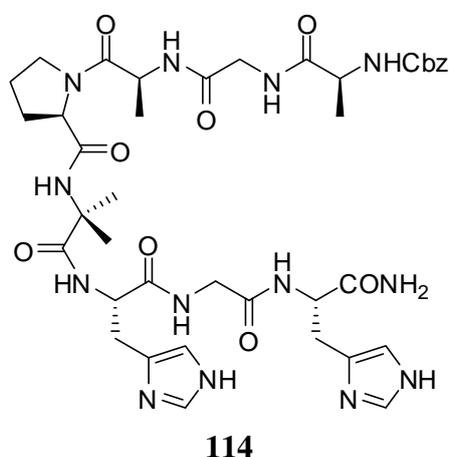
Ausbeute 270 mg (0.29 mmol, 83 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.22 (d, J = 7.27 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.24 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.28 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.80 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.91 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.06 (m, 1H, CH₂-Pro), 3.08 (m, 6H, CH₂-His), 3.70 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.19 (m, 2H, NHCH), 4.37 (m, 1H, NHCH), 4.45 (m, 1H, NHCH), 4.83 (m, 1H, NHCH), 4.98 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.20 (m, 10H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.63 (d, J = 8.40 Hz, 1H, NH), 7.80 (d, J = 7.79 Hz, 1H, NH), 7.94 (m, 1H, NH), 8.32 (t, 1H, NH-Gly), 8.39 (m, 1H, NH), 8.97 (m, 3H, CH-His), 14.48 (s, 6H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 17.95 (CH₃-Ala), 24.63 (CH₂-Pro), 24.67 (CH₃-Aib), 25.14 (CH₃-Aib), 25.90 (CH₂-Pro), 26.25 (CH₂-His), 27.02 (CH₂-His), 28.83 (CH₂-His), 41.94 (CH₂-Gly), 42.31 (CH₂-Gly), 47.33 (CH₂-Pro), 48.36 (CH), 50.12 (CH), 52.42 (CH), 53.61 (CH), 56.06 (C_q-Aib), 60.49 (CH), 65.68 (CH₂-Ph), 117.03 (CH-His), 117.06 (CH-His), 117.33 (CH-His), 127.58 (CH-Ph), 127.85 (CH-Ph), 128.38 (CH-Ph), 129.04 (C_q-His), 129.49 (C_q-His), 129.76 (C_q-His), 133.76 (CH-His), 133.85 (CH-His), 133.88 (CH-His), 136.77 (C_q-Ph), 155.94 (C_q-Bn), 168.62 (C_q), 168.91 (C_q), 168.94 (C_q), 170.66 (C_q), 170.76 (C_q), 172.41 (C_q), 174.26 (C_q), 174.68 (C_q).

- Schmp.** 161 °C.
- IR** (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3297.68, 3132.28, 3030.21, 2939.99, 2858.32, 2802.54, 2640.07, 1675.92, 1541.00, 1437.67, 1255.57, 1232.24, 1137.70, 799.35.
- HR-MS** (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{42}\text{H}_{56}\text{N}_{15}\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 930.433, gef.: 930.433.

CbzNH-L-Ala-Gly-L-Ala-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-His-NH₂ (114)



C₃₉H₅₃N₁₃O₁₀ 863.92 g/mol.

Ausbeute 290 mg (0.34 mmol, 96 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.20 (m, 6H, CH₃-Ala), 1.24 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.26 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.81 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.92 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.04 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.88-3.28 (m, 4H, CH₂-His), 3.32-3.81 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.05 (m, 1H, NHCH), 4.20 (m, 1H, NHCH), 4.48 (m, 3H, NHCH), 5.01 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.33 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.54 (d, J = 6.91 Hz, 1H, NH), 7.90 (t, 1H, NH-Gly), 8.05 (m, 1H, NH), 8.19 (m, 1H, NH), 8.99 (m, 2H, CH-His), 14.44 (s, 4H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 16.79 (CH₃-Ala), 17.90 (CH₃-Ala), 24.56

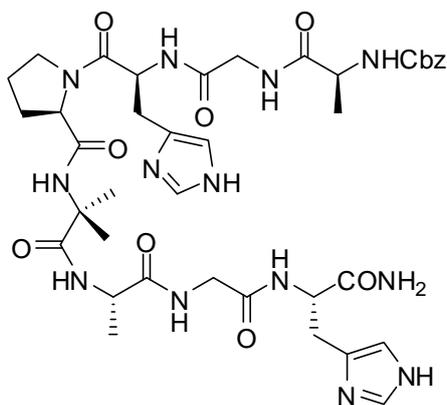
(CH₂-Pro), 24.58 (CH₃-Aib), 25.14 (CH₃-Aib), 25.76 (CH₂-Pro), 26.71 (CH₂-His), 28.72 (CH₂-His), 41.78 (CH₂-Gly), 42.41 (CH₂-Gly), 46.85 (CH), 47.07 (CH₂-Pro), 50.19 (CH), 51.69 (CH), 52.30 (CH), 56.03 (C_q-Aib), 60.44 (CH), 65.50 (CH₂-Ph), 116.79 (CH-His), 117.01 (CH-His), 127.77 (CH-Ph), 127.85 (CH-Ph), 128.38 (CH-Ph), 129.58 (C_q-His), 129.85 (C_q-His), 133.67 (CH-His), 133.80 (CH-His), 136.92 (C_q-Ph), 155.88 (C_q-Bn), 168.90 (C_q), 170.48 (C_q), 170.79 (C_q), 171.38 (C_q), 171.76 (C_q), 172.64 (C_q), 172.95 (C_q), 174.76 (C_q).

Schmp. 157 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3302.88, 3132.98, 3033.43, 2942.20, 2847.56, 2795.73, 2633.00, 1671.02, 1544.12, 1442.12, 1252.97, 1212.57, 1131.62, 831.72, 805.24, 739.19, 700.74.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₃₉H₅₄N₁₃O₁₀⁺ [M+H]⁺: 864.411, gef.: 864.411.

CbzNH-L-Ala-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-Ala-Gly-L-His-NH₂ (115)



115

C₃₉H₅₃N₁₃O₁₀ 863.92 g/mol.

Ausbeute 287 mg (0.33 mmol, 95 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.19 (d, *J* = 6.98 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.30 (d,

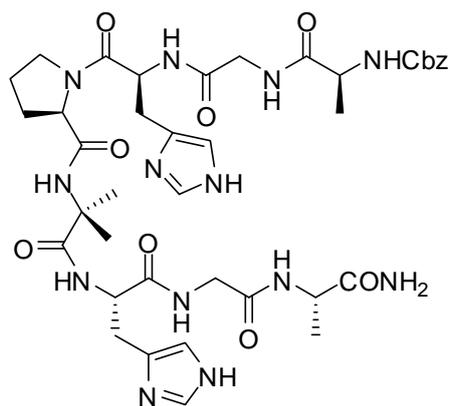
$J = 6.64$ Hz, 3H, CH_3 -Ala), 1.30 (s, 3H, CH_3 -Aib), 1.33 (s, 3H, CH_3 -Aib), 1.79 (m, 2H, CH_2 -Pro), 1.94 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.07 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.92 (m, 2H, CH_2 -His), 3.14 (m, 2H, CH_2 -His), 3.66 (m, 6H, CH_2 -Gly, CH_2 -Pro), 4.07 (m, 2H, NHCH), 4.23 (m, 1H, NHCH), 4.47 (m, 1H, NHCH), 4.79 (m, 1H, NHCH), 5.00 (m, 2H, CH_2 -Ph), 7.31 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH_2), 7.52 (d, $J = 6.88$ Hz, 1H, NH), 7.64 (d, $J = 6.66$ Hz, 1H, NH), 7.92 (t, 1H, NH-Gly), 8.02 (d, $J = 8.28$ Hz, 1H, NH), 8.16 (m, 1H, NH), 8.96 (m, 2H, CH-His), 14.44 (s, 4H, NH-His).

^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 16.86$ (CH_3 -Ala), 17.95 (CH_3 -Ala), 24.41 (CH_3 -Aib), 24.64 (CH_2 -Pro), 25.54 (CH_3 -Aib), 26.24 (CH_2 -Pro), 26.60 (CH_2 -His), 28.82 (CH_2 -His), 41.86 (CH_2 -Gly), 42.51 (CH_2 -Gly), 47.28 (CH_2 -Pro), 49.42 (CH), 50.06 (CH), 50.13 (CH), 51.69 (CH), 55.93 (C_q -Aib), 60.52 (CH), 65.54 (CH_2 -Ph), 116.77 (CH-His), 116.80 (CH-His), 127.79 (CH-Ph), 127.86 (CH-Ph), 128.37 (CH-Ph), 129.10 (C_q -His), 129.66 (C_q -His), 133.71 (CH-His), 133.76 (CH-His), 136.89 (C_q -Ph), 155.87 (C_q -Bn), 168.84 (C_q), 169.20 (C_q), 171.79 (C_q), 172.25 (C_q), 173.12 (C_q), 173.37 (C_q), 174.69 (C_q).

Schmp. 153 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3287.23, 3131.75, 3030.21, 2945.23, 2844.25, 2812.24, 2645.10, 1675.00, 1540.97, 1439.51, 1258.42, 1241.21, 1151.81, 802.27, 725.25, 712.42.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $C_{39}H_{54}N_{13}O_{10}^+$ $[M+H]^+$: 864.411, gef.: 864.411.

CbzNH-L-Ala-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-Ala-NH₂ (116)**116**

C₃₉H₅₃N₁₃O₁₀ 863.92 g/mol.

Ausbeute 289 mg (0.33 mmol, 96 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.19 (d, J = 7.13 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.22 (d, J = 7.13 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.24 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.29 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.80 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.91 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.06 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.86-3.29 (m, 4H, CH₂-His), 3.48-3.81 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.05 (m, 1H, NHCH), 4.19 (m, 2H, NHCH), 4.47 (m, 1H, NHCH), 4.77 (m, 1H, NHCH), 5.00 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.18 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.51 (d, J = 6.99 Hz, 1H, NH), 7.76 (d, J = 7.80 Hz, 1H, NH), 7.94 (d, J = 6.73 Hz, 1H, NH), 8.19 (t, 1H, NH-Gly), 8.29 (m, 1H, NH), 8.97 (m, 2H, CH-His), 14.43 (s, 4H, NH-His).

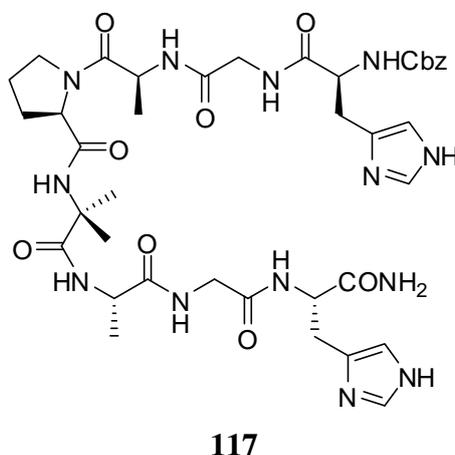
¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 17.97 (CH₃-Ala), 17.99 (CH₃-Ala), 24.61 (CH₂-Pro), 24.77 (CH₃-Aib), 25.05 (CH₃-Aib), 25.93 (CH₂-Pro), 26.21 (CH₂-His), 28.80 (CH₂-His), 41.92 (CH₂-Gly), 42.27 (CH₂-Gly), 47.31 (CH₂-Pro), 48.31 (CH), 50.09 (CH), 50.18 (CH), 52.39 (CH), 56.06 (C_q-Aib), 60.60 (CH), 65.52 (CH₂-Ph), 117.11 (CH-His), 117.30 (CH-His), 127.77 (CH-Ph), 127.85 (CH-Ph), 128.37 (CH-Ph), 129.08 (C_q-His), 129.75 (C_q-His), 133.76 (CH-His), 133.90 (CH-His), 136.89 (C_q-Ph), 155.85 (C_q-Bn), 168.53 (C_q), 168.98 (C_q), 169.02 (C_q), 170.74 (C_q), 172.31 (C_q), 173.10 (C_q), 174.22 (C_q), 174.59 (C_q).

Schmp. 149 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3305.35, 3147.38, 3033.43, 2917.36, 2882.25, 2787.12, 2625.26, 1681.42, 1543.19, 1441.14, 1245.27, 1196.27, 1139.25, 832.33, 798.22, 738.25, 709.14.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{N}_{13}\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 864.411, gef.: 864.411.

CbzNH-L-His-Gly-L-Ala-D-Pro-Aib-L-Ala-Gly-L-His-NH₂ (117)



$\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{N}_{13}\text{O}_{10}$ 863.92 g/mol.

Ausbeute 273 mg (0.32 mmol, 90 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.20 (d, J = 6.95 Hz, 3H, CH_3 -Ala), 1.29 (s, 3H, CH_3 -Aib), 1.30 (d, J = 7.55 Hz, 3H, CH_3 -Ala), 1.33 (s, 3H, CH_3 -Aib), 1.81 (m, 2H, CH_2 -Pro), 1.95 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.05 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.87-3.23 (m, 4H, CH_2 -His), 3.52-3.82 (m, 6H, CH_2 -Gly, CH_2 -Pro), 4.06 (m, 1H, NHCH), 4.22 (m, 1H, NHCH), 4.37 (m, 1H, NHCH), 4.47 (m, 1H, NHCH), 4.55 (m, 1H, NHCH), 4.99 (m, 2H, CH_2 -Ph), 7.31 (m, 9H, CH -Ph, CH -His, NH_2), 7.67 (d, J = 6.19 Hz, 1H, NH), 7.89 (m, 1H, NH), 8.07 (m, 1H, NH), 8.15 (d, J = 6.77 Hz, 1H, NH), 8.24 (m, 1H, NH), 8.96 (m, 2H, CH -His), 14.41 (s, 4H, NH-His).

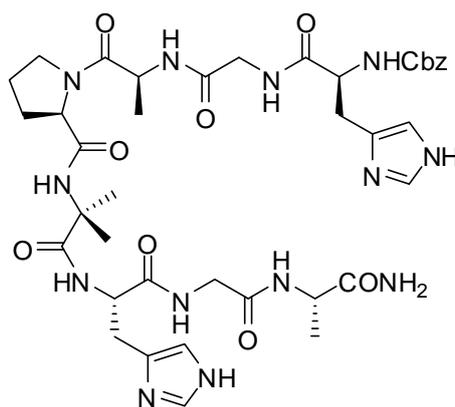
^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ = 16.79 (CH_3 -Ala), 16.92 (CH_3 -Ala), 24.22 (CH_3 -Aib), 24.65 (CH_2 -Pro), 25.73 (CH_3 -Aib), 26.64 (CH_2 -Pro), 26.97 (CH_2 -His), 28.75 (CH_2 -His), 41.83 (CH_2 -Gly), 42.54 (CH_2 -Gly), 46.68 (CH), 47.06 (CH_2 -Pro), 49.56 (CH), 51.65 (CH), 53.72 (CH), 55.92 (C_q -Aib), 60.33 (CH), 65.71 (CH_2 -Ph), 116.75 (CH-His), 117.12 (CH-His), 127.63 (CH-Ph), 127.89 (CH-Ph), 128.42 (CH-Ph), 129.46 (C_q -His), 129.67 (C_q -His), 133.73 (CH-His), 133.91 (CH-His), 136.80 (C_q -Ph), 156.00 (C_q -Bn), 168.43 (C_q), 169.18 (C_q), 170.57 (C_q), 171.11 (C_q), 171.78 (C_q), 172.65 (C_q), 173.37 (C_q), 174.87 (C_q).

Schmp. 155 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3274.22, 3131.75, 3015.97, 2934.34, 2812.65, 2801.42, 2667.98, 1659.92, 1540.97, 1425.29, 1276.49, 1212.53, 1198.26, 803.82.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{N}_{13}\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 864.411, gef.: 864.411.

CbzNH-L-His-Gly-L-Ala-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-Ala-NH₂ (118)



118

$\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{N}_{13}\text{O}_{10}$ 863.92 g/mol.

Ausbeute 278 mg (0.32 mmol, 92 %).

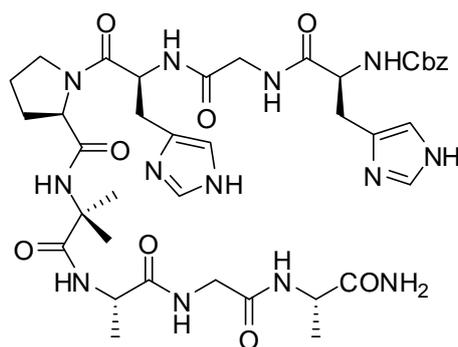
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.07 (d, J = 6.70 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.22 (d, J = 7.04 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.23 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.28 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.74 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.94 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.07 (m, 1H, CH₂-Pro), 3.08 (m, 4H, CH₂-His), 3.69 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.19 (m, 2H, NHCH), 4.38 (m, 1H, NHCH), 4.45 (m, 1H, NHCH), 4.55 (m, 1H, NHCH), 4.99 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.19 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.67 (d, J = 8.34 Hz, 1H, NH), 7.77 (m, 1H, NH), 7.83 (m, 1H, NH), 7.92 (m, 1H, NH), 8.21 (m, 1H, NH), 8.27 (t, 1H, NH-Gly), 8.99 (m, 2H, CH-His), 14.44 (s, 4H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 17.01 (CH₃-Ala), 18.03 (CH₃-Ala), 24.55 (CH₃-Aib), 24.66 (CH₂-Pro), 25.32 (CH₃-Aib), 25.89 (CH₂-Pro), 27.01 (CH₂-His), 28.79 (CH₂-His), 41.83 (CH₂-Gly), 42.32 (CH₂-Gly), 46.75 (CH), 47.16 (CH₂-Pro), 48.30 (CH), 52.46 (CH), 53.72 (CH), 56.08 (C_q-Aib), 60.44 (CH), 65.71 (CH₂-Ph), 117.09 (CH-His), 117.13 (CH-His), 127.62 (CH-Ph), 127.90 (CH-Ph), 128.43 (CH-Ph), 129.47 (C_q-His), 129.81 (C_q-His), 133.92 (CH-His), 133.96 (CH-His), 136.83 (C_q-Ph), 156.00 (C_q-Bn), 168.53 (C_q), 168.55 (C_q), 170.60 (C_q), 170.81 (C_q), 171.36 (C_q), 172.75 (C_q), 174.27 (C_q), 174.81 (C_q).

Schmp. 156 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3297.88, 3128.64, 3040.40, 2942.20, 2840.12, 2801.23, 2629.87, 1671.02, 1552.55, 1439.54, 1245.91, 1221.57, 1135.69, 839.50, 705.74.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₃₉H₅₄N₁₃O₁₀⁺ [M+H]⁺: 864.411, gef.: 864.411.

CbzNH-L-His-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-Ala-Gly-L-Ala-NH₂ (119)**119**

C₃₉H₅₃N₁₃O₁₀ 863.92 g/mol.

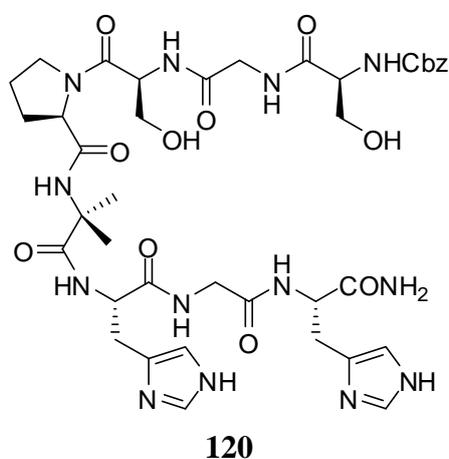
Ausbeute 260 mg (0.30 mmol, 86 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.22 (d, J = 7.16 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.32 (d, J = 7.56 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.34 (s, 6H, CH₃-Aib), 1.81 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.95 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.09 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.92 (m, 2H, CH₂-His), 3.11 (m, 2H, CH₂-His), 3.68 (m, 6H, CH₂-Gly, CH₂-Pro), 4.07 (m, 1H, NHCH), 4.16 (m, 1H, NHCH), 4.24 (m, 1H, NHCH), 4.37 (m, 1H, NHCH), 4.86 (m, 1H, NHCH), 4.99 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.20 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.63 (d, J = 8.39 Hz, 1H, NH), 7.86 (m, 2H, NH), 8.29 (m, 1H, NH), 8.49 (m, 1H, NH), 8.97 (m, 2H, CH-His), 14.44 (s, 4H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 16.96 (CH₃-Ala), 17.84 (CH₃-Ala), 24.28 (CH₃-Aib), 24.72 (CH₂-Pro), 25.78 (CH₃-Aib), 26.28 (CH₂-Pro), 27.03 (CH₂-His), 28.84 (CH₂-His), 41.84 (CH₂-Gly), 42.44 (CH₂-Gly), 47.32 (CH₂-Pro), 48.33 (CH), 49.54 (CH), 49.94 (CH), 53.61 (CH), 55.97 (C_q-Aib), 60.44 (CH), 65.71 (CH₂-Ph), 117.08 (CH-His), 117.32 (CH-His), 127.63 (CH-Ph), 127.89 (CH-Ph), 128.41 (CH-Ph), 129.06 (C_q-His), 129.48 (C_q-His), 133.80 (CH-His), 133.89 (CH-His), 136.79 (C_q-Ph), 155.95 (C_q-Bn), 168.75 (C_q), 168.89 (C_q), 170.63 (C_q), 172.38 (C_q), 173.35 (C_q), 174.23 (C_q), 174.29 (C_q), 174.59 (C_q).

- Schmp.** 158 °C.
- IR** (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3302.22, 3122.84, 3021.99, 2924.57, 2852.53, 2797.73, 2667.98, 1672.12, 1532.62, 1425.29, 1282.91, 1215.55, 1204.47, 812.93.
- HR-MS** (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{N}_{13}\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 864.411, gef.: 864.411.

CbzNH-L-Ser-Gly-L-Ser-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-His-NH₂ (120)



$\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{N}_{13}\text{O}_{12}$ 895.92 g/mol.

Ausbeute 254 mg (0.28 mmol, 81 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.23 (s, 3H, CH_3 -Aib), 1.26 (s, 3H, CH_3 -Aib), 1.81 (m, 2H, CH_2 -Pro), 1.92 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.05 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.98 (m, 2H, CH_2 -His), 3.18 (m, 2H, CH_2 -His), 3.68 (m, 10H, CH_2 -Gly, CH_2 -Pro, CH_2 -Ser), 4.07 (m, 1H, NHCH), 4.25 (m, 1H, NHCH), 4.42 (m, 1H, NHCH), 4.49 (m, 1H, NHCH), 4.57 (m, 1H, NHCH), 5.02 (m, 2H, CH_2 -Ph), 7.32 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH_2), 7.80 (d, $J = 7.71$ Hz, 1H, NH), 7.89 (m, 1H, NH), 8.02 (t, 1H, NH-Gly), 8.17 (t, 1H, NH-Gly), 8.28 (d, $J = 4.97$ Hz, 1H, NH), 8.97 (m, 2H, CH-His), 14.40 (s, 4H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 24.50 (CH_2 -Pro), 24.53 (CH_3 -Aib), 25.21

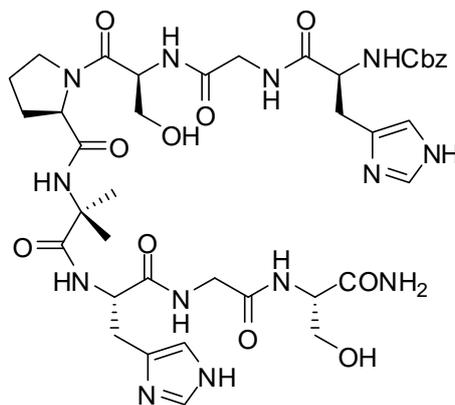
(CH₃-Aib), 25.76 (CH₂-Pro), 26.71 (CH₂-His), 28.81 (CH₂-His), 41.90 (CH₂-Gly), 42.38 (CH₂-Gly), 47.31 (CH₂-Pro), 51.67 (CH), 52.32 (CH), 53.29 (CH), 56.03 (C_q-Aib), 57.21 (CH), 60.31 (CH), 61.24 (CH₂-Ser), 61.76 (CH₂-Ser), 65.65 (CH₂-Ph), 116.82 (CH-His), 117.09 (CH-His), 127.82 (CH-Ph), 127.88 (CH-Ph), 128.39 (CH-Ph), 129.60 (C_q-His), 129.86 (C_q-His), 133.72 (CH-His), 133.86 (CH-His), 136.88 (C_q-Ph), 156.06 (C_q-Bn), 168.92 (C_q), 170.54 (C_q), 170.67 (C_q), 170.80 (C_q), 171.76 (C_q), 172.69 (C_q), 174.56 (C_q), 174.80 (C_q).

Schmp. 162 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3310.21, 3152.08, 3044.09, 2931.27, 2882.09, 1672.95, 1541.81, 1431.89, 1257.36, 1203.36, 1134.90, 836.95, 800.31, 722.21, 627.72.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₃₉H₅₄N₁₃O₁₂⁺ [M+H]⁺: 896.401, gef.: 896.401.

CbzNH-L-His-Gly-L-Ser-D-Pro-Aib-L-His-Gly-L-Ser-NH₂ (121)



121

C₃₉H₅₃N₁₃O₁₂ 895.92 g/mol.

Ausbeute 301 mg (0.34 mmol, 96 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.25 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.30 (s, 3H, CH₃-Aib),

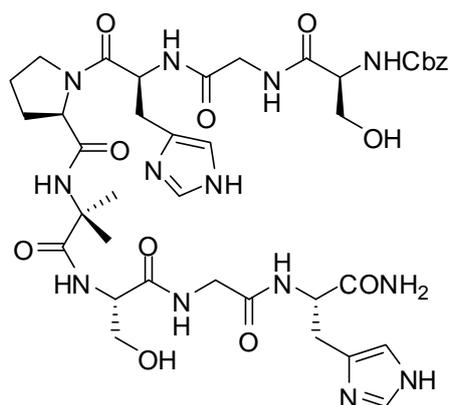
1.84 (m, 2H, CH_2 -Pro), 1.96 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.07 (m, 1H, CH_2 -Pro), 2.91-3.28 (m, 4H, CH_2 -His), 3.54-3.93 (m, 10H, CH_2 -Gly, CH_2 -Pro, CH_2 -Ser), 4.24 (m, 2H, NHCH), 4.40 (m, 1H, NHCH), 4.53 (m, 1H, NHCH), 4.65 (m, 1H, NHCH), 5.01 (m, 2H, CH_2 -Ph), 7.27 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH_2), 7.67 (d, $J = 8.29$ Hz, 1H, NH), 7.87 (d, $J = 7.92$ Hz, 1H, NH), 7.98 (t, 1H, NH-Gly), 8.16 (d, $J = 7.07$ Hz, 1H, NH), 8.24 (t, 1H, NH-Gly), 9.00 (m, 2H, CH-His), 14.42 (s, 4H, NH-His).

^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) $\delta = 24.53$ (CH_2 -Pro), 24.71 (CH_3 -Aib), 25.22 (CH_3 -Aib), 26.10 (CH_2 -Pro), 27.03 (CH_2 -His), 28.84 (CH_2 -His), 41.81 (CH_2 -Gly), 42.31 (CH_2 -Gly), 47.35 (CH_2 -Pro), 52.14 (CH), 53.20 (CH), 53.69 (CH), 55.28 (CH), 56.08 (C_q -Aib), 60.35 (CH), 61.35 (CH_2 -Ser), 61.63 (CH_2 -Ser), 65.69 (CH_2 -Ph), 116.98 (CH-His), 117.12 (CH-His), 127.60 (CH-Ph), 127.86 (CH-Ph), 128.40 (CH-Ph), 129.44 (C_q -His), 129.74 (C_q -His), 133.78 (CH-His), 133.88 (CH-His), 136.80 (C_q -Ph), 155.96 (C_q -Bn), 168.85 (C_q), 168.89 (C_q), 169.73 (C_q), 170.54 (C_q), 170.72 (C_q), 171.96 (C_q), 172.56 (C_q), 174.55 (C_q).

Schmp. 155 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3310.21, 3150.15, 3061.44, 2936.09, 2882.09, 2635.25, 1672.95, 1541.81, 1436.71, 1256.40, 1203.36, 1135.87, 1082.83, 1054.87, 836.95, 800.31, 722.21, 627.72.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $C_{39}H_{54}N_{13}O_{12}^+$ $[M+H]^+$: 896.401, gef.: 896.401.

CbzNH-L-Ser-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-Ser-Gly-L-His-NH₂ (122)**122**

C₃₉H₅₃N₁₃O₁₂ 895.92 g/mol.

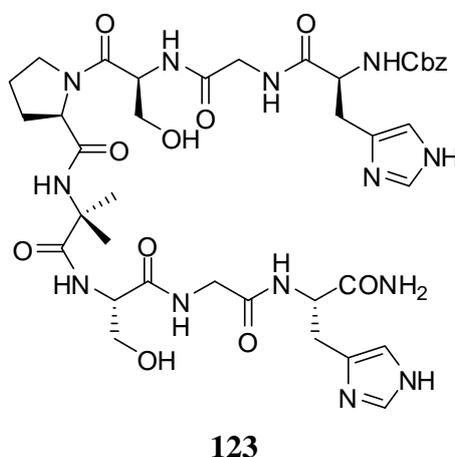
Ausbeute 284 mg (0.32 mmol, 91 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.31 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.35 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.77 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.93 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.06 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.90 (m, 2H, CH₂-His), 3.07 (m, 1H, CH₂-His), 3.18 (m, 1H, CH₂-His), 3.65 (m, 10H, CH₂-Gly, CH₂-Pro, CH₂-Ser), 4.04 (m, 1H, NHCH), 4.13 (m, 1H, NHCH), 4.24 (m, 1H, NHCH), 4.50 (m, 1H, NHCH), 4.73 (m, 1H, NHCH), 5.00 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.30 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.54 (d, *J* = 6.75 Hz, 1H, NH), 7.98 (m, 1H, NH), 8.13 (m, 1H, NH), 8.23 (t, 1H, NH-Gly), 8.35 (m, 1H, NH), 8.96 (m, 2H, CH-His), 14.41 (s, 4H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 24.39 (CH₃-Aib), 24.62 (CH₂-Pro), 25.48 (CH₃-Aib), 26.18 (CH₂-Pro), 26.65 (CH₂-His), 28.79 (CH₂-His), 42.01 (CH₂-Gly), 42.53 (CH₂-Gly), 47.22 (CH₂-Pro), 50.17 (CH), 51.64 (CH), 56.05 (C_q-Aib), 56.37 (CH), 57.17 (CH), 60.47 (CH), 61.06 (CH₂-Ser), 61.76 (CH₂-Ser), 65.67 (CH₂-Ph), 116.77 (CH-His), 117.36 (CH-His), 127.80 (CH-Ph), 127.88 (CH-Ph), 128.39 (CH-Ph), 128.93 (C_q-His), 129.63 (C_q-His), 133.73 (CH-His), 133.76 (CH-His), 136.86 (C_q-Ph), 156.07 (C_q-Bn), 168.72 (C_q), 168.96 (C_q), 169.05 (C_q), 170.88 (C_q), 171.03 (C_q), 171.77 (C_q), 172.41 (C_q), 174.77 (C_q).

- Schmp.** 158 °C.
- IR** (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3310.21, 3149.22, 3039.19, 2938.45, 2882.09, 1672.95, 1541.81, 1431.35, 1255.11, 1203.36, 1135.98, 836.95, 800.31, 722.21, 627.72.
- HR-MS** (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{N}_{13}\text{O}_{12}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 896.401, gef.: 896.401.

CbzNH-L-His-Gly-L-Ser-D-Pro-Aib-L-Ser-Gly-L-His-NH₂ (123)



$\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{N}_{13}\text{O}_{12}$ 895.92 g/mol.

Ausbeute 311 mg (0.35 mmol, 99 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.30 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.35 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.80 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.95 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.06 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.92 (m, 2H, CH₂-His), 3.15 (m, 2H, CH₂-His), 3.51-3.83 (m, 10H, CH₂-Gly, CH₂-Pro, CH₂-Ser), 4.12 (m, 1H, NHCH), 4.27 (m, 1H, NHCH), 4.37 (m, 1H, NHCH), 4.47 (m, 1H, NHCH), 4.59 (m, 1H, NHCH), 4.99 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.31 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.57 (d, J = 6.87 Hz, 1H; NH), 7.65 (d, J = 8.29 Hz, 1H; NH), 7.89 (d, J = 8.48 Hz, 1H, NH), 7.94 (t, 1H, NH-Gly), 8.07 (d, J = 6.91 Hz, 1H, NH), 8.21 (t, 1H, NH-Gly), 8.35 (s, 1H, NH), 8.96 (m, 2H, CH-His), 14.37

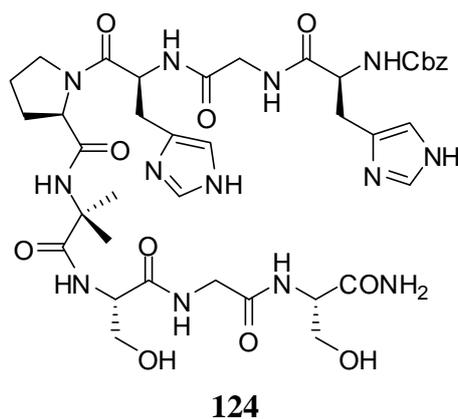
(s, 4H, *NH*-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 24.28 (CH₃-Aib), 24.50 (CH₂-Pro), 25.60 (CH₃-Aib), 26.68 (CH₂-Pro), 27.01 (CH₂-His), 28.82 (CH₂-His), 41.71 (CH₂-Gly), 42.50 (CH₂-Gly), 47.24 (CH₂-Pro), 51.60 (CH), 53.28 (CH), 53.69 (CH), 56.02 (C_q-Aib), 56.35 (CH), 60.20 (CH), 61.07 (CH₂-Ser), 61.33 (CH₂-Ser), 65.70 (CH₂-Ph), 116.73 (CH-His), 117.09 (CH-His), 127.62 (CH-Ph), 127.87 (CH-Ph), 128.40 (CH-Ph), 129.46 (C_q-His), 129.63 (C_q-His), 133.73 (CH-His), 133.89 (CH-His), 136.79 (C_q-Ph), 155.96 (C_q-Bn), 168.91 (C_q), 168.97 (C_q), 169.56 (C_q), 170.49 (C_q), 171.01 (C_q), 171.74 (C_q), 172.72 (C_q), 174.87 (C_q).

Schmp. 157 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3310.21, 3153.98, 3032.77, 2936.24, 2882.09, 1672.95, 1541.81, 1429.98, 1261.22, 1203.36, 1130.12, 836.95, 800.31, 722.21, 627.72.

HR-MS (pos. ESI): ber. für C₃₉H₅₄N₁₃NaO₁₂⁺ [M+Na]⁺: 918.383, gef.: 918.383.

CbzNH-L-His-Gly-L-His-D-Pro-Aib-L-Ser-Gly-L-Ser-NH₂ (124)

C₃₉H₅₃N₁₃O₁₂ 895.92 g/mol.

Ausbeute 298 mg (0.33 mmol, 95 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.36 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.37 (s, 3H, CH₃-Aib), 1.82 (m, 2H, CH₂-Pro), 1.97 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.09 (m, 1H, CH₂-Pro), 2.94 (m, 2H, CH₂-His), 3.13 (m, 2H, CH₂-His), 3.69 (m, 10H, CH₂-Gly, CH₂-Pro, CH₂-Ser), 4.19 (m, 1H, NHCH), 4.27 (m, 1H, NHCH), 4.38 (m, 1H, NHCH), 4.58 (m, 1H, NHCH), 4.85 (m, 1H, NHCH), 5.02 (m, 2H, CH₂-Ph), 7.27 (m, 9H, CH-Ph, CH-His, NH₂), 7.50 (d, *J* = 7.34 Hz, 1H, NH), 7.64 (d, *J* = 8.23 Hz, 1H, NH), 7.85 (d, *J* = 7.89 Hz, 1H, NH), 7.99 (t, 1H, NH-Gly), 8.30 (t, 1H, NH-Gly), 9.00 (m, 2H, CH-His), 14.42 (s, 4H, NH-His).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ = 24.50 (CH₃-Aib), 24.63 (CH₂-Pro), 25.52 (CH₃-Aib), 26.20 (CH₂-Pro), 27.01 (CH₂-His), 28.78 (CH₂-His), 41.89 (CH₂-Gly), 42.52 (CH₂-Gly), 47.19 (CH₂-Pro), 50.01 (CH), 53.61 (CH), 53.66 (CH), 55.35 (CH), 56.08 (C_q-Aib), 60.43 (CH), 61.22 (CH₂-Ser), 61.59 (CH₂-Ser), 65.70 (CH₂-Ph), 117.07 (CH-His), 117.37 (CH-His), 127.61 (CH-Ph), 127.87 (CH-Ph), 128.39 (CH-Ph), 128.91 (C_q-His), 129.47 (C_q-His), 133.74 (CH-His), 133.87 (CH-His), 136.78 (C_q-Ph), 155.94 (C_q-Bn), 168.60 (C_q), 168.86 (C_q), 169.05 (C_q), 170.63 (C_q), 170.80 (C_q), 171.97 (C_q), 172.32 (C_q), 174.51 (C_q).

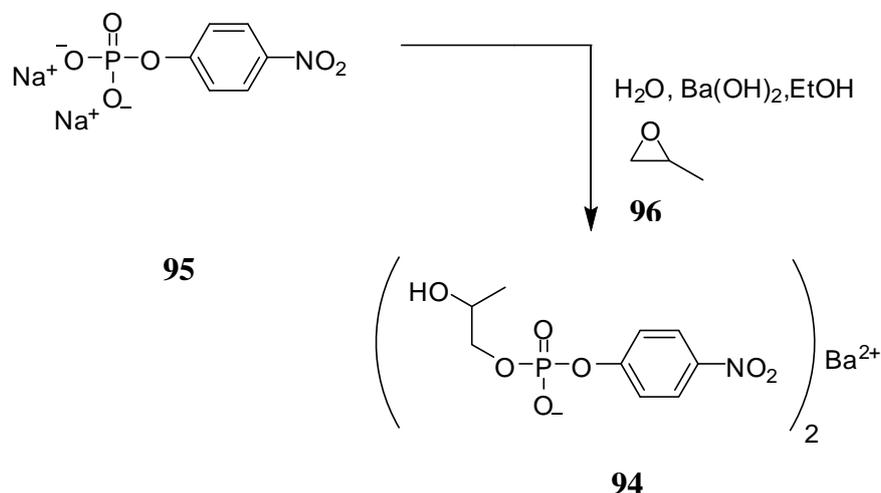
Schmp. 163 °C.

IR (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3310.21, 3151.45, 3054.02, 2933.59, 2882.09, 1672.95, 1541.81, 1433.23, 1259.22, 1203.36, 1132.77, 836.95, 800.31, 722.21, 627.72.

HR-MS (pos. ESI): ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{N}_{13}\text{O}_{12}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 896.401, gef.: 896.400.

7.10 Synthese eines Nitrophenolphosphatderivates als Substrat für die Katalyse

7.10.1 Synthese von Nitrophenylphosphat **94** ^[119]



Eine Lösung von **95** (1.32 g, 5.02 mmol, 1.0 eq) in Wasser (ca. 50 mL) wurde über eine Säule, gefüllt mit saurem Ionenaustauscher, filtriert und das Filtrat mit wässriger Amoniaklösung auf pH 8.0 eingestellt. **96** (20 ml, 0.29 mol, 56.9 eq) wurde zugegeben und die Lösung für 40 Stunden bei 35 °C gerührt. Nicht abreagiertes 1,2-Epoxypropan (**96**) wurde unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt. Die restliche Lösung wurde erneut über eine Säule mit saurem Ionenaustauscher filtriert. Das Filtrat wurde mit einer carbonatfreien Bariumhydroxidlösung neutralisiert und unter vermindertem Druck bei Raumtemperatur am Rotationsverdampfer auf ca. 10 mL eingengt. Anschließend wurde Ethanol (20 mL) zugegeben und das dabei ausgefallene *p*-Nitrophenylphosphat (**95**) abfiltriert. Das Filtrat wurde erneut auf 10 mL eingengt und anschließend zu einer Lösung aus Ethanol in Aceton (1/9, 300 mL) unter heftigem Rühren gegeben. Das dabei ausgefallene Produkt wurde abfiltriert und lyophilisiert. So erhielt man **94** (607 mg, 1.76 mmol, 35 %) als farblosen Feststoff.

$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{BaN}_2\text{O}_{14}\text{P}_2$ 689.65 g/mol.

R_f 0.05 (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol, 9/1).

- ¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.95 (d, *J* = 6.21 Hz, 3H, CHCH₃), 3.49 (m, 1H, CHCH₃), 3.60 (m, 1H, OCH₂), 3.67 (m, 1H, OCH₂), 5.18 (d, *J* = 4.04 Hz, 1H, HOCH), 7.36 (m, 2H, CH_{Ar}), 8.14 (m, 2H, CH_{Ar}).
- ¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-d₆) δ = 19.76 (CHCH₃), 65.78 (CHCH₃), 70.53 (OCH₂), 119.76 (CH_{Ar}), 124.97 (CH_{Ar}), 141.10 (Ar-C_q), 148.88 (Ar-C_q).
- Schmp.** 202 °C.
- IR** (KBr-pellet) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3348.46, 3119.30, 3073.98, 2974.66, 2936.09, 2887.88, 2838.70, 1610.27, 1590.99, 1510.95, 1490.70, 1348.96, 1258.32, 1092.48, 1053.91, 923.74, 857.20, 815.74, 741.50, 615.18, 562.15.
- HR-MS** (neg. ESI): ber. für C₂₇H₃₃N₃Na₂O₂₁P₃⁻ [3M+2Na]⁻: 874.062, gef.: 874.065; ber. für C₁₈H₂₂N₂NaO₁₄P₂⁻ [2M+Na]⁻: 575.045, gef.: 575.046; ber. für C₉H₁₁NO₇P⁻ [M]⁻: 276.028, gef.: 276.027.

8 ANHANG

8.1 Literaturverzeichnis

- [1] L. Stryer, J. M. Berg, J. L. Tymoczko, *Biochemie*, 5 ed., Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, **2003**.
- [2] Z. G. Hajos, D. R. Parrish, *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1615-1621.
- [3] U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1971**, *10*, 496-497.
- [4] S. Juliá, J. Masana, J. C. Vega, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 929-930.
- [5] W. Langenbeck, *Liebigs Ann.* **1929**, *469*, 16-25.
- [6] K. A. Ahrendt, C. J. Borths, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4243-4244.
- [7] A. B. Northrup, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6798-6799.
- [8] B. List, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5573-5590.
- [9] B. List, R. A. Lerner, C. F. B. III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395-2396.
- [10] W. Notz, B. List, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7386-7387.
- [11] B. List, P. Pojarliev, C. Castello, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 573-575.
- [12] E. R. Jarvo, S. J. Miller, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 2481-2495.
- [13] S. J. Miller, *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 601-610.
- [14] K. Sakthivel, W. Notz, T. Bui, C. F. B. III, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5260-5267.
- [15] A. Córdova, W. Notz, C. F. B. III, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 301-303.
- [16] P. I. Dalko, L. Moisan, *Angew. Chem.* **2005**, *116*, 5248-5286.
- [17] B. Fubini, C. O. Areán, *Chem. Soc. Rev.* **1999**, *28*, 373-382.
- [18] A. Berkessel, *Current Opinion in Chemical Biology* **2003**, *7*, 409-419.
- [19] D. L. Boger, J. Desharnais, K. Capps, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4270-4309.
- [20] F. Balkenhohl, C. Bussche-Hiinnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2436-2488.
- [21] V. Prelog, M. Wilhelm, *Helvetica Chimica Acta* **1954**, *37*, 1634-1660.
- [22] H. Pracejus, *Liebigs Ann.* **1960**, *634*, 9-22.
- [23] P. I. Dalko, L. Moisan, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3840-3864.
- [24] P. R. Schreiner, *Chem. Soc. Rev.* **2003**, *32*, 289-296.
- [25] M. J. Gaunt, C. C. C. Johansson, A. McNally, N. T. Vo, *Drug Discovery Today* **2006**, *12*, 8-26.
- [26] G. Lelais, D. W. C. MacMillan, *Aldrichimica Acta* **2006**, *39*, 79-87.
- [27] B. R. Buckley, *Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. B* **2007**, *103*, 90-106.
- [28] J. D. Revell, H. Wennemers, *Top. Curr. Chem.* **2007**, *277*, 251-266.
- [29] J. v. Liebig, *Liebigs Ann.* **1860**, *113*, 246-247.
- [30] G. Bredig, P. S. Fiske, *Biochem. Z.* **1912**, *46*, 7.
- [31] T. J. Peelen, Y. Chi, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11598-11599.
- [32] H. D. King, Z. Meng, D. Denhart, R. Mattson, R. Kimura, D. Wu, Q. Gao, J. E. Macor, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3437-3440.
- [33] Y. Huang, A. M. Walji, C. H. Larsen, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15051-15053.
- [34] D. D. Steiner, N. Mase, C. F. B. III, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 3772-3776.
- [35] R. M. Wilson, W. S. Jen, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11616-11617.
- [36] J. W. Yang, M. T. H. Fonseca, N. Vignola, B. List, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 110-112.

- [37] S. Lee, D. W. C. MacMillan, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11413-11424.
- [38] F. Wu, H. Li, R. Hong, L. Deng, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 961-964.
- [39] K. F. Mark Bell, K. A. Jorgensen, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5407-5410.
- [40] H. Li, Y. Wang, L. Tang, F. Wu, X. Liu, C. Guo, B. M. Foxman, L. Deng, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 107-110.
- [41] H. Li, J. Song, X. Liu, L. Deng, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8948-8949.
- [42] G. Bartoli, M. Bosco, A. Carlone, A. Cavalli, M. Locatelli, A. Mazzanti, P. Ricci, L. Sambri, P. Melchiorre, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5088-5092.
- [43] M. Marigo, T. Schulte, J. Franzén, K. A. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15710-15711.
- [44] R. Rios, H. Sunden, I. Ibrahim, G.-L. Zhao, L. Eriksson, A. Cordova, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 8547-8551.
- [45] T. Marcelli, R. N. S. v. d. Haas, J. H. v. Maarseveen, H. Hiemstra, *Angew. Chem.* **2006**, *117*, 943-945.
- [46] J. Song, Y. Wang, L. Deng, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6048-6049.
- [47] T. B. Poulsen, C. Alemparte, S. Saaby, M. Bella, K. A. Jorgensen, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2956-2959.
- [48] L. Bernardi, F. Fini, R. P. Herrera, A. Ricci, V. Sgarzania, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 375-380.
- [49] Y.-Q. Wang, J. Song, R. Hong, H. Li, L. Deng, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8156-8157.
- [50] D. Pettersen, M. Marcolini, L. Bernardi, F. Fini, R. P. Herrera, V. Sgarzani, A. Ricci, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6269-6272.
- [51] X. Liu, H. Li, L. Deng, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 167-169.
- [52] M. A. Calter, R. M. Phillips, C. Flaschenriem, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14566-14567.
- [53] P. McDaid, Y. Chen, L. Deng, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 348-350.
- [54] M. S. Taylor, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1550-1573.
- [55] M. S. Taylor, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10558-10559.
- [56] M. S. Sigman, P. Vachal, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1336-1338.
- [57] Y. Takemoto, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 4299-4306.
- [58] T. Okino, Y. Hoashi, Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12672-12673.
- [59] A. Berkessel, F. Cleemann, S. Mukherjee, T. N. Müller, J. Lex, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 817-821.
- [60] Y. Sohtome, A. Tanatani, Y. Hashimoto, K. Nagasawa, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5589-5592.
- [61] D. P. Curran, L. H. Ko, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6647-6650.
- [62] A. Wittkopp, P. R. Schreiner, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 407-414.
- [63] G. D. Joly, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4102-4103.
- [64] J.-I. Oku, S. Inoue, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1981**, 229-230.
- [65] Y. Shvo, M. Gal, Y. Becker, A. Elgavi, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 911-924.
- [66] S. J. Miller, G. T. Copeland, N. Papaioannou, T. E. Horstmann, E. M. Ruel, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1629-1630.
- [67] T. S. Haque, J. C. Little, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6975-6985.
- [68] S. R. Raghobhama, S. K. Awasthi, P. Balaram, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1998**, 137-143.
- [69] G. T. Copeland, E. R. Jarvo, S. J. Miller, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6784-6785.
- [70] E. R. Jarvo, C. A. Evans, G. T. Copeland, S. J. Miller, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5522-5527.
- [71] G. T. Copeland, S. J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4306-4307.

- [72] G. T. Copeland, S. J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10125-10126.
- [73] D. J. Guerin, T. E. Horstmann, S. J. Miller, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1107-1109.
- [74] J. E. Imbriglio, M. M. Vasbinder, S. J. Miller, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3741-3743.
- [75] S. Colonna, H. Molinari, S. Banfi, S. Juliá, J. Masana, A. Alvarez, *Tetrahedron* **1983**, *39*, 1635-1641.
- [76] A. Berkessel, N. Gasch, K. Glaubitz, C. Koch, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3839-3842.
- [77] M. S. Sigman, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4901-4902.
- [78] A. Esposito, E. Delort, D. Lagnoux, F. Djojo, J.-L. Reymond, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1419-1421.
- [79] D. Lagnoux, E. Delort, C. Douat-Casassus, A. Esposito, J.-L. Reymond, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1215-1226.
- [80] J. E. Coleman, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1992**, *21*, 441-483.
- [81] D. M. Quinn, *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 955-979.
- [82] J. Venkatraman, S. C. Shankaramma, P. Balaram, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3131-3152.
- [83] C. M. Wilmot, J. M. Thornton, *J. Mol. Biol.* **1988**, *203*, 221-232.
- [84] J. A. Smith, L. G. Pease, *CRC Crit. Rev. Biochem.* **1980**, *8*, 315-399.
- [85] A. Raw, P. Balaram, *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2577-2583.
- [86] H. E. Stanger, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4236-4237.
- [87] J. T. Blank, S. J. Miller, *Biopolymers* **2006**, *84*, 38-47.
- [88] E. Delort, N.-Q. Nguyen-Trung, T. Darbre, J.-L. Reymond, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4468-4480.
- [89] C. Schmuck, L. Geiger, *Chem. Commun.* **2005**, 772-774.
- [90] K. S. Lam, M. Lebl, V. Krchnak, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 411-448.
- [91] K. S. Lam, S. E. Salmon, E. M. Hersh, V. J. Hruby, W. M. Kazmierski, R. J. Knapp, *Nature* **1991**, *354*, 82-83.
- [92] R. A. Houghten, C. Pinilla, S. E. Blondelle, J. R. Appel, C. T. Dooley, J. H. Cuervo, *Nature* **1991**, *354*, 84-86.
- [93] A. Furka, F. Sebestyen, M. Asgedom, G. Dibo, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1991**, *37*, 487-493.
- [94] K. C. Nicolaou, J. A. Pfefferkorn, H. J. Mitchell, A. J. Roecker, S. Barluenga, G.-Q. Cao, R. L. Affleck, J. E. Lillig, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9954-9967.
- [95] M. Fasaro, R. B. W. Jr., *Chemistry & Industry* **1998**, 777-780.
- [96] X.-Y. Xiao, Z. Parandoosh, M. P. Nova, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6029-6033.
- [97] D. Hudson, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 617-624.
- [98] A. Berkessel, D. A. Hérault, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 99-102.
- [99] V. Bickert, *Diplomarbeit* **2003**, Universität zu Würzburg.
- [100] C. Schmuck, V. Bickert, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4579-4581.
- [101] C. Schmuck, J. Dudaczek, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7101-7105.
- [102] A. Treibs, H. G. Kolm, *Analen der Chemie* **1958**, *614/615*, 179-198.
- [103] H. G. Becker, W. Berger, G. Domschke, E. Fanghänel, J. Faust, M. Fischer, F. Gentz, K. Gewalt, R. Gluch, R. Mayer, K. Müller, D. Pavel, H. Schmidt, K. Schollberg, K. Schwetlick, E. Seiler, G. Zeppenfeld, *Organikum*, VCH: Weinheim, **1999**.
- [104] K. J. Morgan, D. P. Morrey, *Tetrahedron* **1966**, *22*, 57-62.
- [105] K. J. Morgan, D. P. Morrey, *Tetrahedron* **1971**, *27*, 245-253.
- [106] P. E. Sonnet, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1970**, *7*, 399-400.
- [107] M. A. Marques, R. M. Doss, A. R. Urbach, P. B. Dervan, *Helvetica Chimica Acta* **2002**, *85*, 4485-4517.
- [108] C. Schmuck, J. Dudaczek, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3326-3330.
- [109] C. Schmuck, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 709-718.
- [110] M. McWatt, G.-J. Boons, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2535-2545.

- [111] C. L. Nesloney, J. W. Kelly, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1996**, *4*, 739-766.
- [112] L. Peterlin-Masic, D. Kikelj, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7073-7105.
- [113] L.-h. Zhang, G. S. Kauffman, J. A. Pesti, J. Yin, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6918-6920.
- [114] B. Aerbischer, P. Frey, H. R. Haerter, P. L. Herrling, W. Muller, W. Olverman, J. C. Watkins, *Helvetica Chimica Acta* **1989**, *72*, 1043.
- [115] W. Wienand, *Dissertation* **2002**, Universität zu Köln.
- [116] L. Geiger, *Dissertation* **2004**, Universität zu Würzburg.
- [117] C. Toniolo, M. Crisma, F. Formaggio, C. Peggion, *Biopolymers* **2001**, *60*, 396-419.
- [118] M. Heller, *Diplomarbeit* **2006**, Universität zu Würzburg.
- [119] D. M. Brown, D. A. Usher, *J. Chem. Soc.* **1965**, 6558-6564.
- [120] V. Jubian, R. P. Dixon, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1120-1121.
- [121] L. Bonfá, M. Gatos, F. Mancin, P. Tecilla, U. Tonellato, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 3943-3949.
- [122] F. Mancin, E. Rampazzo, P. Tecilla, U. Tonellato, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 281-288.
- [123] T. Tozawa, S. Tokita, Y. Kubo, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3455-3457.
- [124] A. L. Lehninger, D. L. Nelson, M. M. Cox, *Prinzipien der Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, **1994**.
- [125] T. Darbre, J.-L. Reymond, *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 925-934.
- [126] A. Clouet, T. Darbre, J.-L. Reymond, *Biopolymers* **2006**, *84*, 114-123.
- [127] J. Kofoed, J.-L. Reymond, *Current Opinion in Chemical Biology* **2005**, *9*, 656-664.
- [128] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, 2 ed., VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, **1992**.
- [129] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1997**.
- [130] J. W. Harbuck, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3618-3621.
- [131] E. Delort, T. Darbre, J.-L. Reymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15642-15643.
- [132] M. Heil, *Dissertation* **2004**, Universität zu Würzburg.
- [133] P. Wich, *Diplomarbeit* **2005**, Universität zu Würzburg.
- [134] E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.

8.2 Abkürzungsverzeichnis

[ES]	Konzentration des Enzym-Substrat-Komplexes	His	Histidin
[E _t]	gesamte Konzentration des Enzymes	HOAc	Essigsäure/Eisessig
[P]	Konzentration des Produktes	HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
[S]	Konzentration des Substrates	HR-MS	hochauflösende Massenspektrometrie
°C	Grad Celsius	Hz	Hertz
Å	Ångström	IR	Infrarotspektroskopie
Abb.	Abbildung	Kat.	Katalysator
abs.	absolut/absolutiert	L	Liter
Ac	Acetyl	Me	Methyl
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid	MeOH	Methanol
Aib	α-Aminoisobutyrsäure	Mg	Miligramm
Ala	Alanin	MHz	Megahertz
Asp	Asparaginsäure	Min	Minute(n)
Ar	Aryl	mL	Milliliter
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl	Mm	Millimeter
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -Butyloxycarbonat	mM	Millimolar
Bu	Butyl	Mmol	Millimolar
CBS	Carboxylat-Bindungsstelle	Mol	Mol
δ	chemische Verschiebung	MS	Massenspektrometrie
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan	NaOH	Natronlauge
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en	NaOMe	Natriummethanolat
DC	Dünnschichtchromatographie	NEt ₃	Triethylamin
DCM	Dichlormethan	NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
dest.	destilliert	Ph	Phenyl
DIC	Diisopropylcarbodiimid	Phe	Phenylalanin
DMAP	<i>p</i> - <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin	PIDA	Jodbenzol-diacetat
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	Ppm	parts per million
DMSO	Dimethylsulfoxid	PyBOP	1-Benzotriazolyl- <i>oxy</i> -trispyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat
EDTA	Ethylendiamintetraacetat	R _f	Retentionsfaktor

EE	Diethylether	RP	Reverse Phase Kieselgel
ee-Werte	Enantiomerenüberschuß	Schmp.	Schmelzpunkt
EI	Elektronenstoßionisation	Ser	Serin
eq	Äquivalent(e)	SPPS	solid phase peptide synthesis
ES	Enzym-Substrat-Komplex	tBu	<i>tert</i> -Butyl
ESI	Elektronensprayionisation	TEA	Triethylamin
Fmoc	9-Fluorenylmethyloxycarbonyl	TFA	Trifluoressigsäure
FT-IR	Fourier-Transformation- Infrarotspektrometrie	TFMSA	Trifluormethansulfonsäure
g	Gramm	THF	Tetrahydrofuran
ges.	Gesättigte	UV	Ultraviolett
Glu	Glutaminsäure	Val	Valin
h	Stunde	verd.	verdünnt
HCl	Salzsäure	µL	Mikroliter
HCTU	O-(1H-6-Chlorbenzotriazol-1- yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium Hexafluorphosphat		