

Dissertation

**Die Aza-Wittig-Reaktion in der
Synthese bioaktiver Naturstoffe**

zur Erlangung des akademischen Grades *doctor rerum naturalium*
(Dr. rer. nat.)
im Fach Chemie

an der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

eingereicht von

M. Sc. Patrick Loos

geboren am 22. Juni 1982 in Fürth

Gutachter: 1. Prof. Dr. Hans-Dieter Arndt (FSU Jena)

2. Prof. Dr. Georg Pohnert (FSU Jena)

Tag der öffentlichen Verteidigung: 30. Januar 2013

1 Allgemeine Einleitung	9
1.1 Was wir von Naturstoffen lernen können.....	10
1.2 Naturstoffforschung im Rahmen dieser Arbeit	11
1.3 Vorkommen von Azol(in)en in Naturstoffen	14
1.3.1 Biosynthese von Thiazolen und Oxazolen in Microcin B17	16
1.3.2 Biosynthese der Cyanobactine am Beispiel von Patellamid A.....	18
1.3.3 Imidazoline und Imidazole in Naturstoffen	21
1.4 Telomere, Telomerase und Shelterin.....	23
1.4.1 Struktur von G-Quadruplexen in humanen Telomeren	23
1.4.2 G-Quadruplexe in Promotoren als Transkriptionsregulatoren	29
1.4.3 Telomerase.....	29
1.4.4 Die Rolle des Shelterins	31
1.4.5 Telomestatin stabilisiert korbähnliche G-Quadruplexe.....	34
1.4.6 Wirkungsweise des Telomestatins: Wirkort Telomer	35
1.4.7 Wirkungsweise des Telomestatins: andere Wirkorte	37
1.4.8 Synthetische Analoga des Telomestatins und Vergleich der Wirksamkeit ..	39
1.5 Synthese von Imidazolinen und Imidazolen.....	43
1.5.1 Synthese aus α -Halo-Carbonylverbindungen	43
1.5.2 Synthese aus Isocyaniden	43
1.5.3 Synthese aus 1,2-Diketonen, Aldehyden und Ammoniak	44
1.5.4 Zyklisierende Dehydrierung von α -Acylamino-Carbonylverbindungen.....	44
1.5.5 Hydrazinolyse von Imidazo[1,2- <i>a</i>]pyrimidinen	44
1.5.6 Synthese von Benzimidazolen aus <i>o</i> -Phenylendiaminen	44
1.5.7 Synthese mit 2-Amidoacrylaten und Benzylazid	45
2 Ziele der Arbeit.....	47
2.1 Vorteile einer Aza-Wittig Imidazol(in)synthese	48
2.2 Aza-Wittig inspirierte Totalsynthese von Telomestatin.....	50
3 Imidazol(in)synthese mit der Aza-Wittig Reaktion.....	53
3.1 Vorarbeiten: Aza-Wittig Ringschlüsse von Estern und Thioestern	54
3.2 Einleitung: Imidazolinsynthesen mithilfe der Aza-Wittig Reaktion	55
3.3 Synthesekonzept	57

3.4	Imidazol(in)synthese.....	58
3.4.1	Modifikation von N_{α} -Boc- <i>L</i> -Asparagin	58
3.4.2	Optimierung des Diazotransfers	59
3.4.3	Anwendung des optimierten Diazotransfers auf andere Substrate	61
3.4.4	Acylierung des Sulfonamids – Optimierung.....	62
3.4.5	Substratbreite der Acylierung, Aza-Wittig Ringschlüsse und Enantiomerenüberschüsse.....	65
3.4.6	Stabilität von Tosylimidazolin	67
3.4.7	Aza-Wittig Reaktionen in der Mikrowelle	69
3.4.8	Aromatisierung durch reduktive Eliminierung	69
3.5	Mehrfache Aza-Wittig-Ringschlüsse.....	71
3.6	Fazit	73
4	Beiträge zur Totalsynthese von Telomestatin	75
4.1	Einleitung – Telomestatin als Syntheseziel	76
4.1.1	Retrosynthetische Überlegungen zur Makrozyklisierung.....	76
4.1.2	Biomimetische Synthese des Zyklisierungsvorläufers	81
4.1.3	Totalsynthese von (<i>R</i>)-Telomestatin durch Doi et al.	83
4.1.4	Studien zu Makrothiolactonisierungen	84
4.1.5	Multiple Ringschlüsse von Azolinen in der Naturstoffsynthese.....	87
4.1.6	Telomestatin-ähnliche Naturstoffe.....	89
4.2	Synthese der Bausteine	91
4.3	Verknüpfung der Bausteine, dreifacher Aza-Wittig Ringschluss und Arbeiten zur dreifachen Oxidation	96
4.4	Optimierung der Oxidation von 5-Methyloxazolin 140 und Anwendung auf Trisoxazolin 135	103
4.5	Chromatographische Reinigung des Heptaoxazols 136	107
4.6	Strategie II: via doppeltem Aza-Wittig Ringschluss	109
4.7	Strategie III: mit Trityl- und Alloc-Schutzgruppe	112
4.7.1	Bausteinsynthese, Verknüpfung und Aza-Wittig Reaktion	112
4.7.2	Oxidation zum Heptaoxazol und anschließender Azidtransfer	114
4.7.3	Modifikation der funktionellen Gruppen und anschließende Oxidation zu Heptaoxazol 154	116
4.7.4	Entschützung von Heptaoxazol 154 und Arbeiten zur Makrothiolactonisierung	119

4.8 Strategie IV: Arbeiten zur Makrothiolactonisierung von Bisoxazolinen	123
4.9 Fazit	128
4.10Ausblick.....	129
5 Schlusswort	133
6 Experimenteller Teil.....	135
6.1 Methoden.....	136
6.1.1 Geräte und Verfahren	136
6.1.2 Chromatographie	137
6.1.3 Reagenzien und Lösungsmittel.....	139
6.1.4 Pufferlösungen.....	141
6.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften	142
6.3 Synthese von Imidazolinen und Imidazolen mithilfe der Aza-Wittig-Reaktion	144
6.4 Arbeiten zur Totalsynthese von Telomestatin.....	182
7 Abkürzungsverzeichnis.....	219
8 Literaturverzeichnis	223
9 Analytische Daten zur zur Imidazol(in)synthese.....	238
10 Analytische Daten zur Telomestatinsynthese	273
11 Danksagung.....	305
12 Selbstständigkeitserklärung	307

*„Trotzdem wird das chemische Rätsel des Lebens nicht gelöst
werden, bevor die organische Chemie nicht ein anderes,
noch schwierigeres Kapitel, die Eiweißstoffe bewältigt hat.“*

Prof. Emil Fischer, anlässlich der Verleihung
des Nobelpreises am 12. Dezember 1902.

1 Allgemeine Einleitung

1.1 Was wir von Naturstoffen lernen können

Seit den ersten Synthesen von Oxalsäure^[1] und Harnstoff^[2] in den Jahren 1825 – 1828 durch Friedrich Wöhler lassen sich Chemiker durch Naturstoffe inspirieren und versuchen sie synthetisch herzustellen.

Häufig verschaffen sich Organismen durch die Produktion von Naturstoffen, die nicht essentiell für ihren Stoffwechsel benötigt werden, sog. Sekundärmetaboliten, einen Vorteil gegenüber Konkurrenten, schützen sich vor Feinden oder leiten Signale an andere Organismen weiter. So produzieren Myxobakterien der Gattung *Sorangium* die Makrolide Epothilon A (**1**) und B (**2**, Abb. 1), die stark antifungale Wirkung zeigen.^[3-4] Durch Produktion der Epothilone kann das Bakterium sich im Kampf um Nährstoffe gegen Pilze besser durchsetzen. Die Biosynthese von Naturstoffen wird also durch den evolutionären Druck gelenkt unter dem ihre Produzenten stehen.

Nach der Isolation eines Naturstoffs folgen häufig Tests zur biologischen Wirksamkeit. Nicht selten wird dabei festgestellt, dass die Substanz z.B. eine antibakterielle, antivirale oder cytostatische Wirkung hat. So wurde gefunden, dass Epothilone apoptotisch auf Mausfibroblasten wirken.^[3] Das bedeutet aber nicht unbedingt, dass man den Naturstoff als Leitstruktur für ein Antibiotikum, Virostatikum oder Zytostatikum heranziehen kann, weil dazu viele andere Bedingungen erfüllt sein müssen. Einige Beispiele dafür sind die Migration durch Zellmembranen, die Löslichkeit in physiologischen Medien und eine ausgewogene Balance zwischen Stabilität und definiertem Metabolismus bzw. Ausscheidung. So zeigte sich bei der Behandlung von Mäusen, dass Epothilon B *in vivo* stark cytotoxisch wirkt.

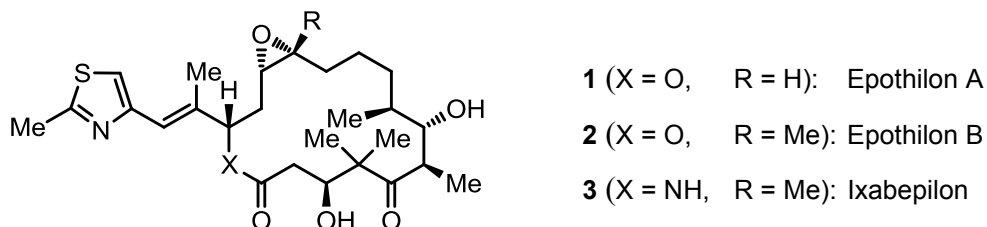


Abb. 1: Strukturen von Epothilon A und B sowie von Ixabepilon.

Allerdings kann man fast immer sowohl aus der Struktur des Naturstoffs, als auch aus seiner molekularen Wirkungsweise neue Erkenntnisse gewinnen, die dann bei der Entwick-

lung von Arzneistoffen helfen können.^[5] Im Fall von Epothilon B wurde durch Austausch des Lactons gegen ein Lactam die Stabilität verbessert und die Toxizität soweit verringert, dass das Epothilonderivat Ixabepilon (**3**, Handelsname Ixempra[®]) in den USA für die Behandlung von metastatischem Brustkrebs zugelassen wurde.

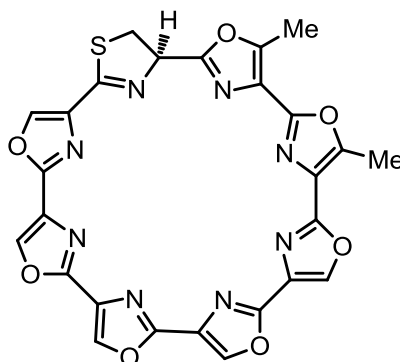
In manchen Fällen lässt sich auch die Biosynthese des Naturstoffs als Vorlage für neue biomimetische Syntheseansätze nutzen. Das Polyketid Epothilon B wird biosynthetisch durch Kooperation zweier komplexer Biosynthesemaschinerien, einer Polyketidsynthase (PKS) und einer nichtribosomalen Peptidsynthetase hergestellt.^[6] Bei vielen Sekundärmetaboliten handelt es sich jedoch um ribosomal hergestellte Peptide, die posttranslational modifiziert wurden. So können durch einen vergleichsweise geringen biosynthetischen Aufwand Substanzen mit großer Strukturvariabilität und im Vergleich zu Peptiden signifikant erhöhter Stabilität generiert werden. Zu diesen Peptidmodifikationen gehören u.a. die Makrozyklisierung, die Proteasen den Abbau des Peptids erschwert und zugleich die Membrangängigkeit erhöht. Weitere Beispiele^[7] sind das oxidative Quervernetzen von Seitenketten, Dehydratisierung von Serin oder Threonineinheiten, Lanthioninbildung, die Bildung von Disulfidbrücken und die Kondensation von Cystein-, Serin- oder Threonineinheiten zu Thiazolinen und Oxazolinen sowie deren Oxidation.

1.2 Naturstoffforschung im Rahmen dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit war, neue synthetische Methoden zu entwickeln, die geeignet sind um Oxazol(in)e und Thiazol(in)e in komplexe Substrate zu integrieren^[8], weil diese beiden posttranslationalen Modifikationen besonders häufig in Naturstoffen auftreten. Unsere Azol(in)synthesen sind konzeptionell eng mit den bisher bekannten Azol(in)biosynthesen verwandt und sollen in Zukunft biomimetische Totalsynthesen azol(in)haltiger Naturstoffe mit interessanten Wirkungsspektren ermöglichen.

Der Naturstoff Telomestatin (**4** in Abb. 2), der aus dem Bakterium *Streptomyces anulatus* 3533-SV4 isoliert wurde^[9], ist sowohl biologisch, wie auch strukturell interessant. Man fand, dass bei Behandlung mit Telomestatin in einer Reihe von Krebszelllinien Apoptose induziert wird.^[10-12] Allerdings wurden bisher weder der genaue Wirkmechanismus noch die Biosynthese dieses Naturstoffs aufgeklärt. Fermentativ konnte Telomestatin bisher nur in sehr geringen Mengen gewonnen werden (3.2 mg aus 90 L Medium).^[13]

Zudem findet sich in Telomestatin eine besonders hohe Azol(in)dichte.



4: Telomestatin

Abb. 2: Struktur von Telomestatin 4.

Um Telomestatin für die Wirkstoffforschung nutzbar zu machen sollte im Rahmen dieser Arbeit eine flexible, biomimetische Synthesestrategie untersucht werden. Ein solcher Zugang würde in einem zweiten Schritt die Herstellung von Derivaten und die Funktionalisierung mit chemischen Sonden ermöglichen. So könnten neue Einblicke in die Wirkorte und die Wirkungsweise des Telomestatins gewonnen werden.

Eine weitere Zielsetzung dieser Arbeit war die Erweiterung der zuvor entwickelten Thiazol(in)- und Oxazol(in)synthesen auf Imidazol(in)e. Diese Erweiterung hat den flexiblen Austausch von 1,3-Azol(in)en in Naturstoffen zum Ziel und soll die Synthese neuartiger Derivate eröffnen, die bisher nur schwer zugänglich sind.

Einleitend werden in den folgenden Kapiteln zunächst prominente Beispiele für azolinhaltige Naturstoffe besprochen (Kap. 1.3). Dann möchte ich am Beispiel des Sekundärmetaboliten Microcin B17 erläutern, wie Oxazoline und Thiazoline biochemisch hergestellt werden können (Kap. 1.3.1). In Kap. 1.3.2 sollen wichtige Aspekte der Biosynthese der Patellamide vorgestellt werden. Diese Naturstoffklasse ist mit dem Telomestatin eng verwandt, ihre Biosynthese ist jedoch erheblich besser untersucht worden. Im Bezug auf den Austausch von Oxazol(in)en und Thiazol(in)en gegen Imidazol(in)e möchte ich auf das Vorkommen von Imidazolen in Naturstoffen eingehen (Kap. 1.3.3).

Um zu erläutern, warum ein synthetischer Zugang zu Telomestatin von großem Interesse ist, werden in Kap. 1.4 die Wirkorte behandelt, denen bisher eine Interaktion mit Telomestatin zugeschrieben wird.

Im Hinblick auf eine milde Imidazol(in)synthese, die in der Synthese komplexer Naturstoffe zum Einsatz kommen kann wird in Kap. 1.5 eine Auswahl bisher bekannter Imidazol(in)synthesen vorgestellt, bevor die Ziele dieser Arbeit präzisiert und die Ergebnisse vorgestellt werden.

1.3 Vorkommen von Azol(in)en in Naturstoffen

Einige Beispiele für peptidartige Sekundärmetaboliten, die Azol(in)e enthalten, sind in Abb. 3 zu sehen. Die Bezeichnung „peptidartig“ soll zum Ausdruck bringen, dass die Substanzen zumindest theoretisch auf ein ribosomal hergestelltes Peptid zurückgeführt werden können. Dies konnte jedoch noch nicht für alle Vertreter gezeigt werden.

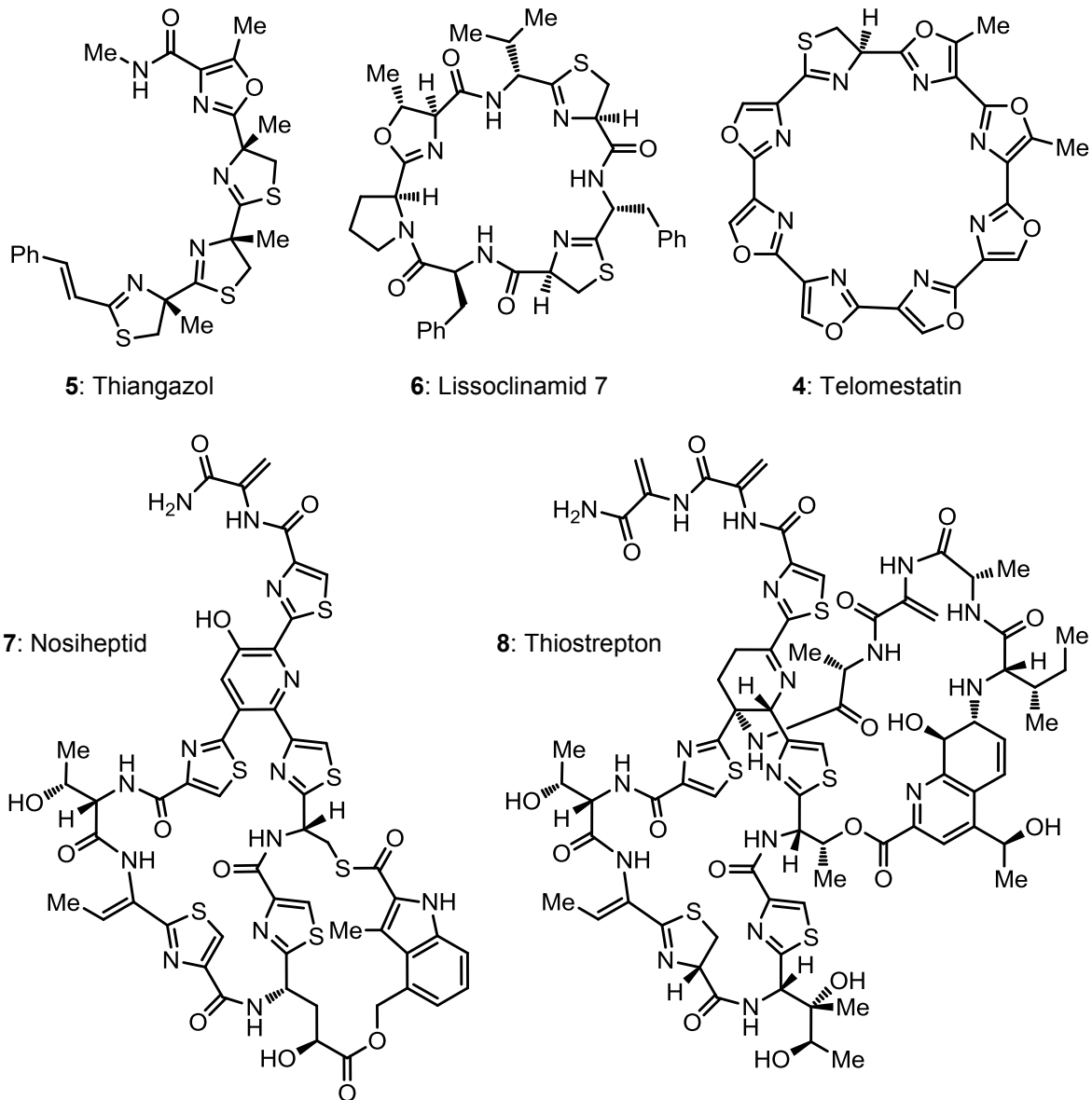


Abb. 3: Beispiele für Naturstoffe, die Thiazol(in)e und Oxazol(in)e enthalten.

Abb. 3 zeigt das lineare Tristhiazolin Thiangazol (**5**)^[14], das Cyanobactin Lissoclinamid 7 (**6**)^[15-16], das Heptaoxazol Telomestatin (**4**)^[9] und die beiden komplexen Thiopeptide Nosiheptid (**7**)^[17] und Thiostrepton (**8**).^[18] Diese Beispiele repräsentieren aber nur einen Bruchteil der bekannten Azol(in)naturstoffe.^[19-22] In den letzten Jahren wurden diverse Studien zur Biosynthese der Cyanobactine, darunter auch Lissoclinamid 7 (Kap. 1.3.2), sowie zur Biosynthese des Thiostreptons^[7, 18, 23-25] und des Nosiheptids^[17, 26] veröffentlicht. Alle werden demnach durch posttranslationale Modifikation ribosomal hergestellter Peptide produziert! Zwar lassen sich aufgrund der chemischen Strukturen im Falle von Thiangazol und Telomestatin ähnliche Biosynthesen vermuten, Arbeiten dazu wurden jedoch bisher noch nicht veröffentlicht.

Im Folgenden soll die Biosynthese von Azol(in)en am Beispiel von Microcin B17 veranschaulicht werden. Danach wird die Biosynthese von Patellamid A besprochen, das mit dem Telomestatin strukturell verwandt ist. Es wird spekuliert, dass die Biosynthese von Telomestatin ähnlich abläuft.^[22]

1.3.1 Biosynthese von Thiazolen und Oxazolen in Microcin B17

Die genauesten Untersuchungen zur Azolbiosynthese in Peptiden wurden bis heute anhand des Genclusters von Microcin B17 (9 in Abb. 4) durchgeführt.

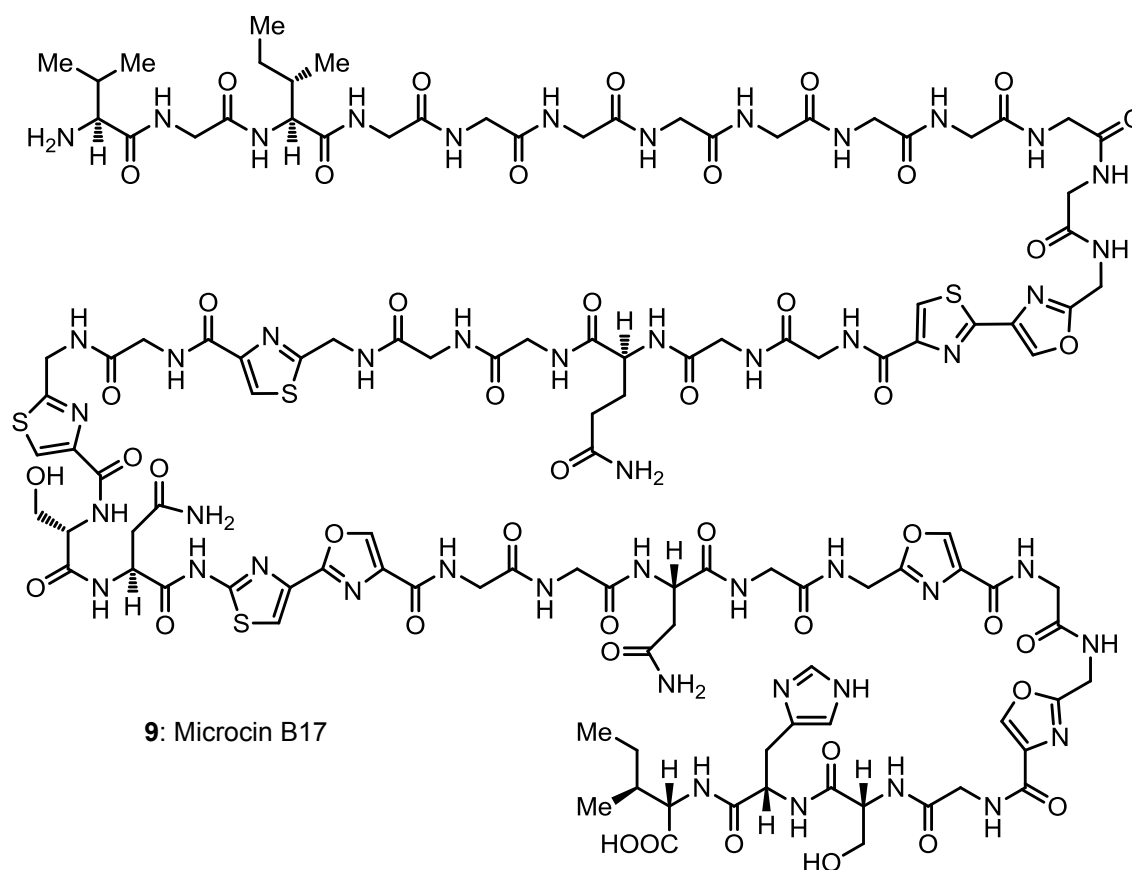
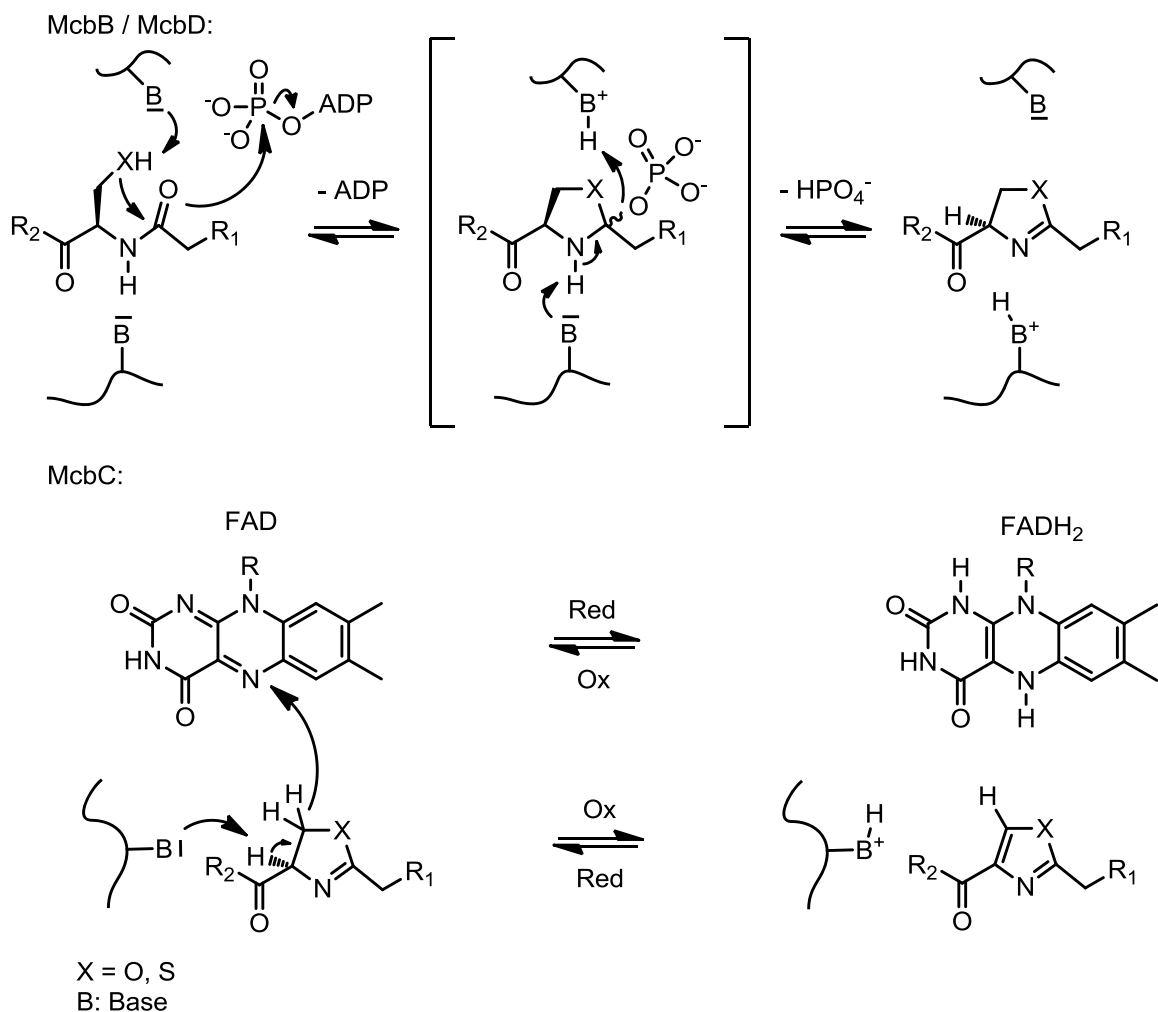


Abb. 4: Struktur von Microcin B17 (*Escherichia coli*).

Nachdem Microcin B17, ein Hemmer der bakteriellen Gyrase^[27], aus *Escherichia Coli* isoliert worden war^[28], ergaben Arbeiten zur Strukturaufklärung, dass der Naturstoff vier Thiazole und vier Oxazole enthielt, obwohl der Rest des Moleküls stark an ein ribosomal hergestelltes Peptid erinnert.^[29] Aus Markierungsexperimente ging hervor, dass es sich um ein aus 43 Aminosäuren bestehendes Peptid handelt, das posttranslational modifiziert wird. Eine genauere Untersuchung der Biosynthese ergab, dass sich Microcin B17 aus einem ribosomal hergestellten Peptid mit 69 Aminosäuren ableitet (Pre-MccB17). Die 26 zusätzlichen Aminosäuren bilden eine sogenannte Leitsequenz über die das Peptid wahrscheinlich von den Enzymen erkannt wird, die für die Reifung zu Microcin B17 verantwortlich

sind. Sieben Gene (*mcbABCDEFG*)^[30-31], denen die posttranslationalen Modifikationen zugeschrieben werden, wurden identifiziert, und ihre Funktionen teilweise aufgeklärt.

Walsh und Mitarbeiter berichteten, dass es sich bei McbB um ein Zink-haltiges Protein, bei McbC um ein Flavoprotein und bei McbD um ein ATP-abhängiges Protein handelt und dass McbB und McbD für die Zyklodehydratisierung zuständig sind.^[30-32] Vor Kurzem fanden Mitchell et al., dass pro Azolin ein Molekül ATP verbraucht wird und dass bei Reaktion in H₂¹⁸O kein ¹⁸O-markiertes Phosphat entsteht.^[33] Auf dieser Grundlage wurde ein Mechanismus postuliert, der in Schema 1 (oben) zu sehen ist.



Schema 1: Postulierte Azolbiosynthese in Microcin B17.^[30, 33]

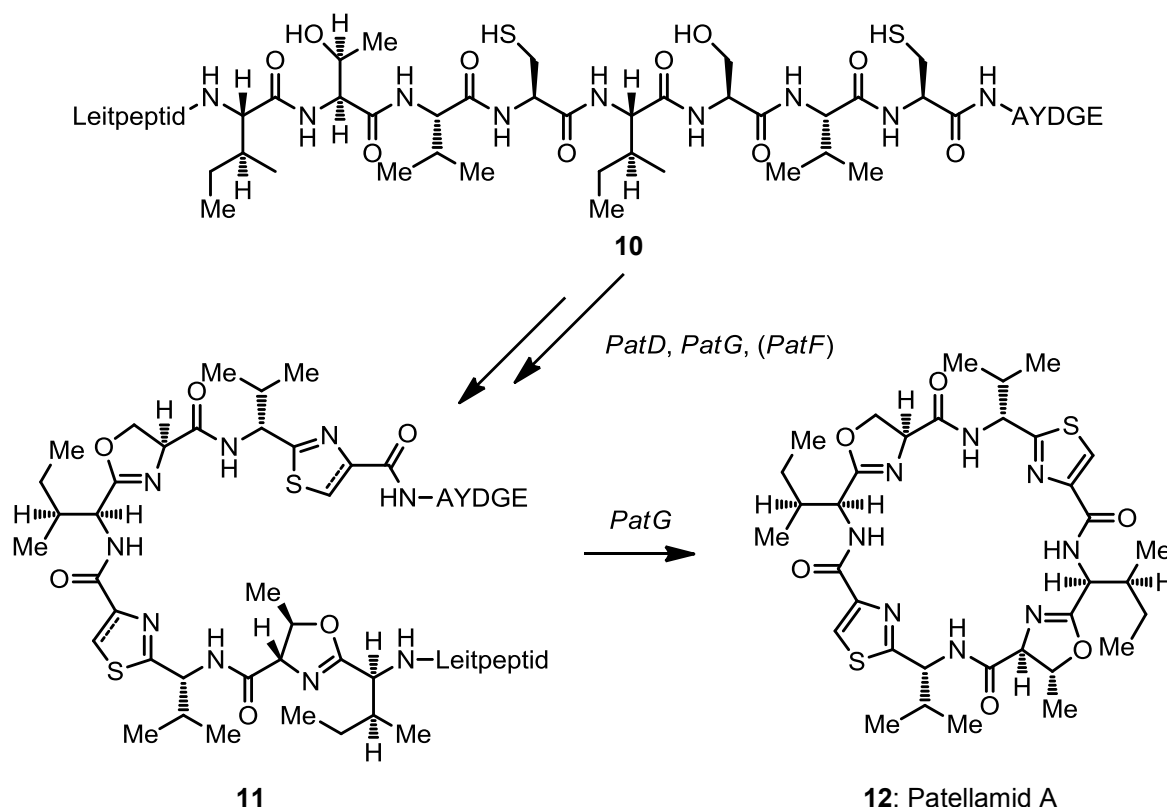
Demnach könnte eine Phosphorylierung des Amidsauerstoffs die Bildung des Azolins durch Eliminierung eines Phosphatmoleküls erleichtern. Man nimmt an, dass die Oxidation

des Oxazolins durch das FAD in MbcC stattfindet (Schema 1, unten). Abschließend verkürzt die Abspaltung der Leitsequenz das Oktaazol von 69 auf 43 Aminosäuren.

1.3.2 Biosynthese der Cyanobactine am Beispiel von Patellamid A

Bei den Patellamiden handelt es sich um makrozyklische Sekundärmetaboliten, die zuerst aus Manteltieren isoliert wurden.^[34] Allerdings mussten bald sowohl die Struktur^[35], wie auch der produzierende Organismus revidiert werden. Man fand dass die Patellamide durch Cyanobakterien produziert werden, die in Symbiose mit den Manteltieren leben.^[36]

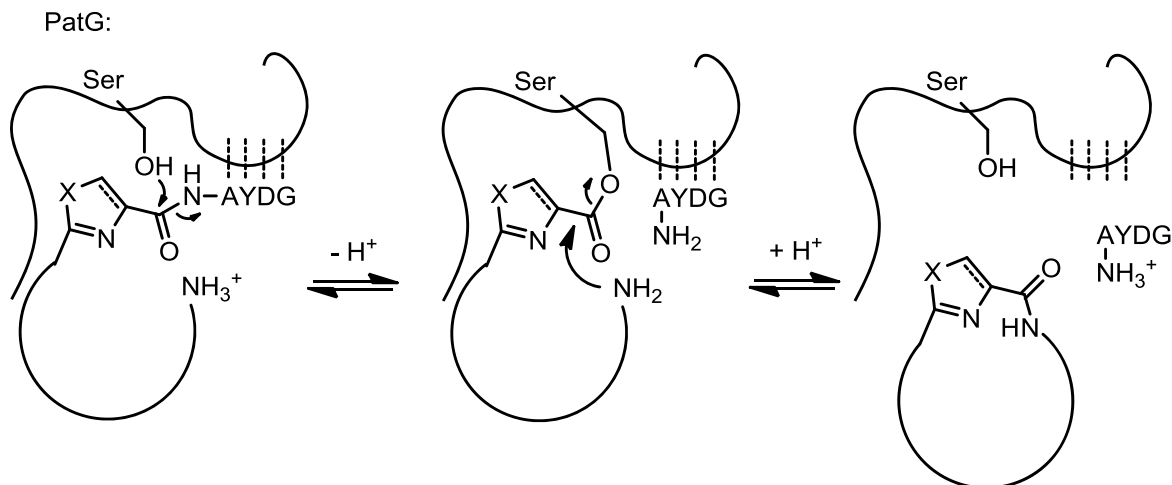
Arbeiten von Schmidt und Mitarbeitern bestätigten die Annahme, dass Patellamide auch durch Kombination von ribosomaler Peptidsynthese, Zyklodehydratisierung und Oxidation hergestellt werden, ähnlich wie Microcin B17.^[36] Hier kommt es allerdings zusätzlich zur Makrozyklisierung. Schema 2 zeigt die postulierte Biosynthese am Beispiel von Patellamid A (12).



Schema 2: Postulierte Biosynthese von Patellamid A durch den *Pat* Gencluster.

Die Erkennung der Substrate erfolgt durch N- und C-terminale Leitsequenzen, die das strukturgebende Peptid flankieren (**10**). Dadurch können Aminosäuren des Strukturpeptids ausgetauscht werden, was die Biosynthese verschiedener peptidischer Makrozyklen durch denselben Gencluster erlaubt.^[37-38]

Nach der ribosomalen Peptidsynthese werden Cysteine wahrscheinlich durch *PatD* zu Thiazolinen dehydratisiert. *PatG* soll für die Oxidation der Heterozyklen und die Makrozyklisierung zuständig sein. Es wird allerdings noch spekuliert, ob *PatF* für die Zyklodehydratisierung der Serin- und Threonineinheiten verantwortlich ist.^[38] Die genaue Reihenfolge der Reaktionen ist noch unbekannt, man weiß bisher nur, dass das N-terminale Thiazol(in) vor der Makrozyklisierung eingeführt wird. Man kann jedoch vermuten, dass die Makrozyklisierung einen der letzten Schritte der Biosynthese darstellt, weil beispielsweise bei der Zyklisierung von **11** die N- und C-terminalen Leitsequenzen verloren gehen. Die Gruppen um Jaspars und Naismith untersuchten die Makrozyklisierung der Patellamide durch das Enzym PatG (Schema 3).^[39] Man fand dass das Enzym nur die C-terminale Leitsequenz, aber nicht die Sequenz des Produkts der Makrozyklisierung erkennt, wodurch es viele verschiedene Substrate umsetzen kann.



Schema 3: Makrozyklisierung durch PatG.

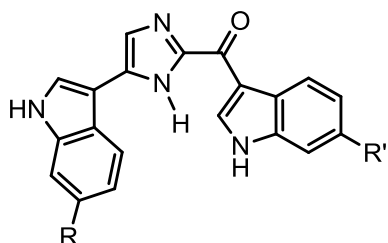
Nötig ist jedoch die Anwesenheit eines Prolins, Azolins oder Azols am C-Terminus, wahrscheinlich aus sterischen Gründen. Unklar bleibt jedoch, ob alle Heterozyklen eingeführt werden bevor die Makrozyklisierung stattfindet. Die Aktivierung des Zyklisierungsvorläufers erfolgt durch Ausbildung eines Esters mit einer Serinseitenkette, insgesamt handelt es sich jedoch um eine Transpeptidierung.

Die Biosynthesemaschinerie *Pat* toleriert erstaunlicherweise eine Vielzahl verschiedener Peptidvorläufer. Nicht nur die Patellamide, sondern auch Ulithiacyclamid und die Lissoclinamide sind Produkte dieses Genclusters. Außerdem wurde eine sehr hohe Ähnlichkeit mit Genen festgestellt, aus denen die Patelline, Trunkamid und über 100 andere zyklische Peptide hervorgehen.^[38] Deswegen wurden diese Naturstoffe unter dem Überbegriff Cyanobactine zusammengefasst.

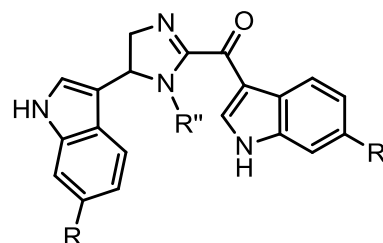
Die Patellamide werden also aus einem ribosomal produzierten Oktapeptid hergestellt. Eine ähnliche Biosynthese aus einem Cystein-, zwei Threonin- und fünf Serinbausteinen ist auch für das Telomestatin vorstellbar, wurde jedoch bislang nicht belegt.

1.3.3 Imidazoline und Imidazole in Naturstoffen

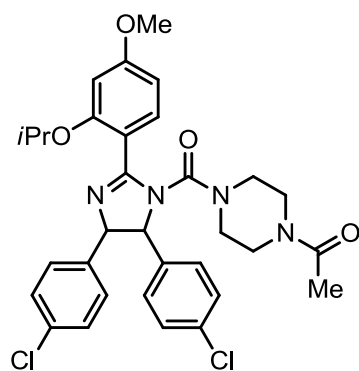
Abgesehen von Imidazolen, die sich aus Histidin ableiten sind nur wenige Naturstoffe bekannt, die Imidazol(in)e enthalten (Abb. 5).^[20]



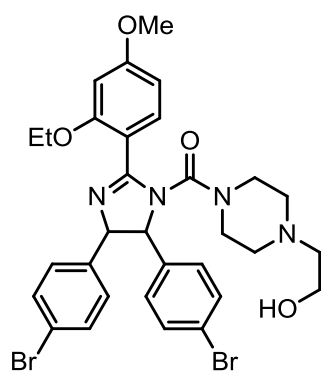
Nr	R =	R' =	Bezeichnung
13	H	OH	Topsentin
14	Br	OH	Bromotopsentin
15	H	H	Deoxytopsentin



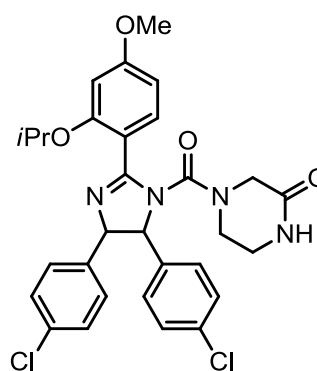
Nr	R =	R' =	R'' =	Bezeichnung
16	Br	H	H	4,5-Dihydro-6''-Deoxy-bromotopsentin
17	Br	Br	Me	Topsentin C



18: Nutlin 1



19: Nutlin 2



20: Nutlin 3

Nr	R =	Bezeichnung
21	H	Lepidilin A
22	Me	Lepidilin B

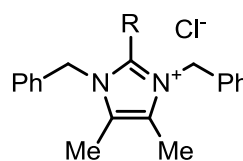


Abb. 5: Beispiele für Naturstoffe, die Imidazoline und Imidazole enthalten.

Ein Grund dafür ist wahrscheinlich, dass biosynthetisch zwar Cystein-, Serin- und Threonineinheiten durch Zyklodehydratisierung in Thiazoline und Oxazoline überführt werden können, es jedoch keine analoge, proteinogene Aminosäure (z.B. β -Aminoalanin) gibt, aus der Imidazoline entstehen könnten.

Zu den imidazolhaltigen Naturstoffen gehören u.a. Topsentin **13** und einige davon abgeleitete Analoga **14**, **15**, **16** und **17** die antiviral und cytotoxisch wirken.^[40-41] Bei den Nutlins1-3 (**18**, **19** und **20**) handelt es sich um hochsubstituierte Imidazoline, deren apoptotische Wirkung auf das Binden an MDM2 und die Aktivierung des p53-Tumorsuppressor-Signalwegs zurückgeführt wurde.^[42] Als letztes Beispiel sollen noch die cytotoxisch wirkenden Lepidiline A (**21**) und B (**22**)^[43] erwähnt werden.

1.4 Telomere, Telomerase und Shelterin

Telomere schützen eukaryotische Chromosome vor dem Abbau durch Nukleasen, stabilisieren das Genom und spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Krebs und bei Alterungsprozessen.^[44] Ihre Verlängerung durch das Enzym Telomerase wird in Zellen streng kontrolliert.^[45] Die Entdeckung dieser Prozesse wurde 2009 mit dem Nobelpreis für Physiologie oder Medizin gewürdigt. Eine weitere regulatorische Funktion übernimmt der Multi-Protein-Komplex Shelterin^[46], der an Telomere bindet. Der Naturstoff Telomestatin moduliert diese Prozesse. Im Folgenden sollen die Funktionen und das Zusammenspiel von Telomer, Telomerase und Shelterin im Hinblick auf die Wirkung von Telomestatin und dessen mögliche Wirkorte beschrieben werden.

1.4.1 Struktur von G-Quadruplexen in humanen Telomeren

Die Enden menschlicher Chromosome bestehen aus 5-8 kb langen Wiederholungen der Sequenz $d(\text{TTAGGG})_n$, den sogenannten Telomeren. Man fand, dass die beiden Stränge nicht gleich lang sind. Am 3'-Ende der Telomere befindet sich ein einzelsträngiger Überhang aus 100-200 Basen.^[44] Die guaninreichen Wiederholungssequenzen bilden G-Quartetts, bei denen jeweils vier Guanine durch Hoogsteen-Basenpaarung miteinander verknüpft sind (Abb. 6, links). Wenn sich zwei oder mehr G-Quartetts übereinanderlagern, bezeichnet man diese Sekundärstrukturen als G-Quadruplexe (Abb. 6, rechts). G-Quadruplexe können durch Stapelwechselwirkungen und durch monovalente Kationen wie Na^+ oder K^+ stabilisiert werden^[47] und werden in verschiedene Kategorien eingeteilt. Intermolekulare G-Quadruplexe bestehen aus zwei bis vier DNA-Strängen. Intramolekulare G-Quadruplexe bestehen aus einem DNA-Strang. Es sollen hier nur intramolekulare G-Quadruplexe diskutiert werden, weil G-Quadruplexen, die sich aus einem Strang bilden können, *in vivo* besonders große Bedeutung zukommt. Man unterscheidet außerdem verschiedene Schleifen, die Anfang und Ende der Quartettstapel miteinander verbinden. So sind in Abb. 6 drei *double-chain-reversal* Schleifen zu sehen, die diagonal, also entlang der Quartettstapel, verlaufen. In diesem Fall bildet sich eine Struktur, die wie ein Propeller aussieht. Außerdem sind laterale Schleifen (diagonal über Ober- oder Unterseite des G-Quadruplexes) sowie kantenverbrückende Schleifen möglich.^[48]

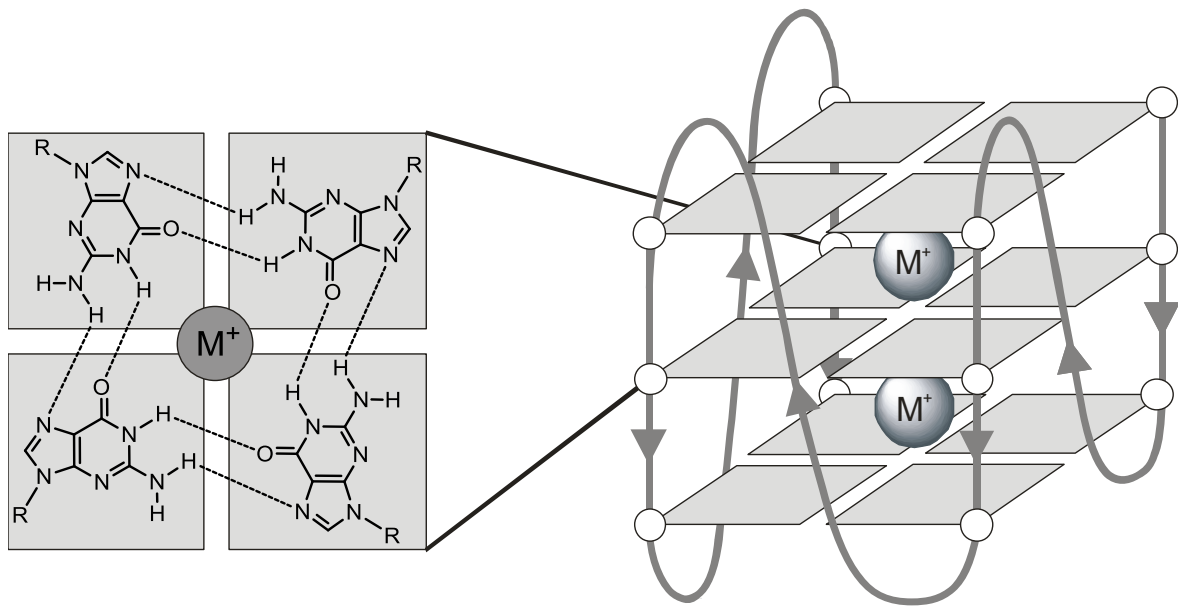


Abb. 6: Beispiel für ein G-Quartett (links) und schematische Darstellung eines G-Quadruplexes mit drei G-Quartetts und drei *double chain reversal* Schleifen (rechts).

Die Guanosineinheiten der G-Quartetts werden außerdem nach der Konformation ihrer glykosidischen Bindung in *anti* und *syn* eingeteilt (Abb. 7).

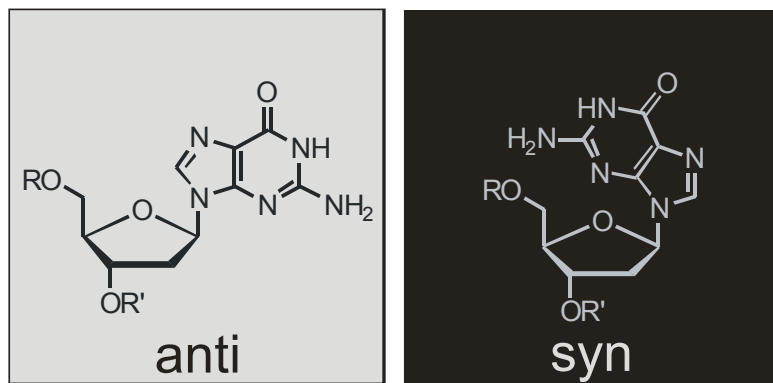
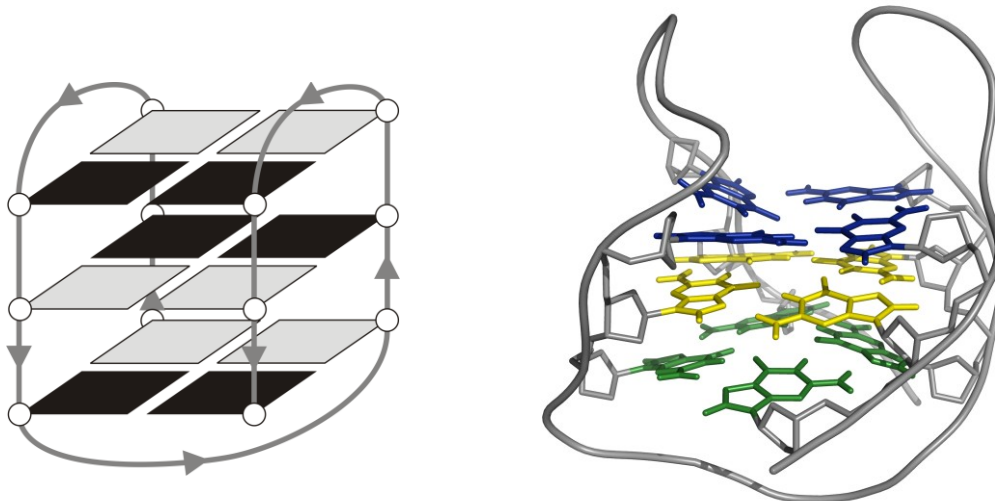


Abb. 7: Guanosen wird in G-Quartetts nach der Konformation an der glykosidischen Bindung in *anti* (links) und *syn* (rechts) eingeteilt.

Frühe Arbeiten konzentrierten sich auf G-Quadruplexe, die von einer vierfach wiederholten, humanen Telomersequenz $d[AGGG(TTAGGG)_3]$ angenommen werden.

NMR-Messungen in Na^+ -reicher Lösung^[49] in Kombination mit Computerberechnungen ergaben, dass unter diesen Bedingungen ein G-Quadruplex mit Korbstruktur entsteht (**Na⁺-NMR**, Abb. 8).



Na⁺-NMR, AGGG(TTAGGG)₃ in Na⁺-haltiger Lösung

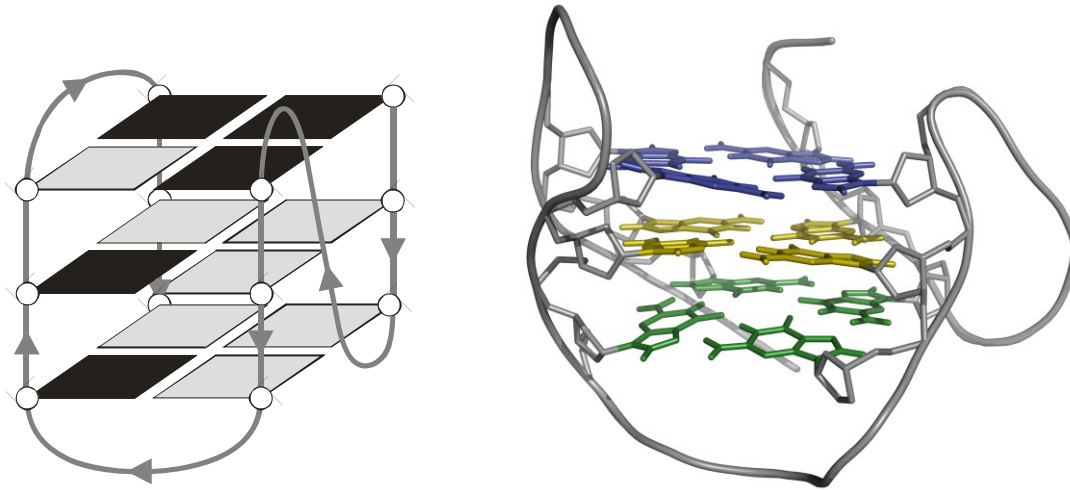


K⁺-Krist., AGGG(TTAGGG)₃ kristallisiert aus K⁺-haltiger Lösung

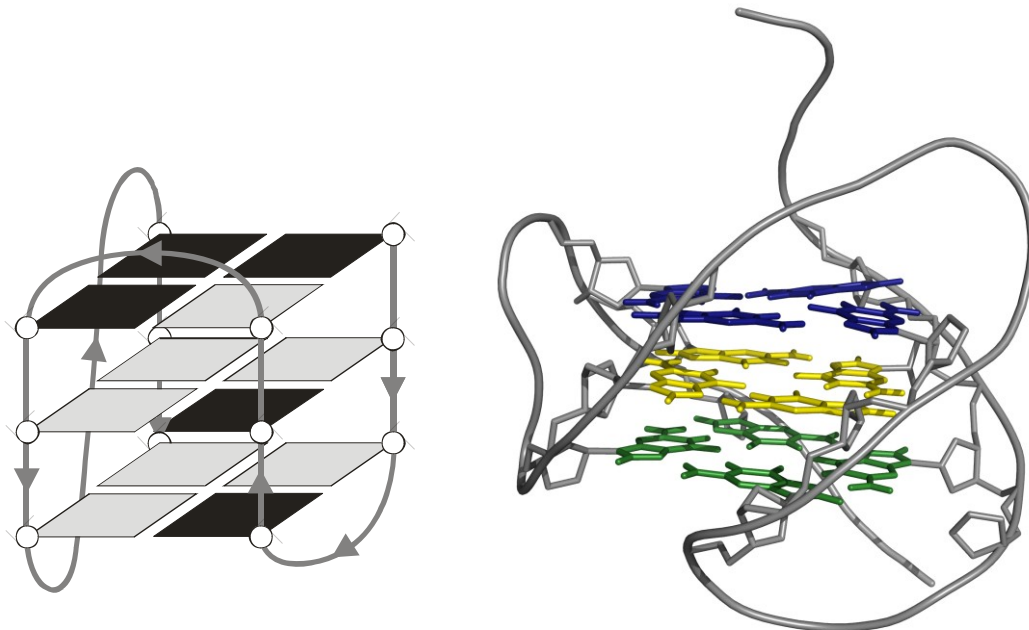
Abb. 8: Schematische und dreidimensionale Darstellung von **Na⁺-NMR**^[49] und **K⁺-Krist.**^[50]; Schemata: schwarz: syn-orientiertes Guanin; grau: anti-orientiertes Guanin; 3D-Strukturen: nur die Guanine der Quartetts sind vollständig dargestellt (blau, gelb, grün), das Rückgrat der Nukleotidsequenz ist als graue Schleife dargestellt.

Später konnte die gleiche Sequenz aus K⁺-reicher Lösung kristallisiert werden (**K⁺-Krist.**)^[50]. Diese Kristallstruktur zeigte einen propellerförmigen G-Quadruplex mit drei *double-chain-reversal* Schleifen.

Physiologisch relevanter als die Stabilisierung von G-Quadruplexen mit Na⁺ ist die Stabilisierung mit K⁺, weil K⁺ in erheblich höherer Konzentration in der Zelle vorliegt.



K⁺-NMR-1, TTGGG(TTAGGG)₃A in K⁺-haltiger Lösung



K⁺-NMR-2, TTAGGG(TTAGGG)₃TT in K⁺-haltiger Lösung

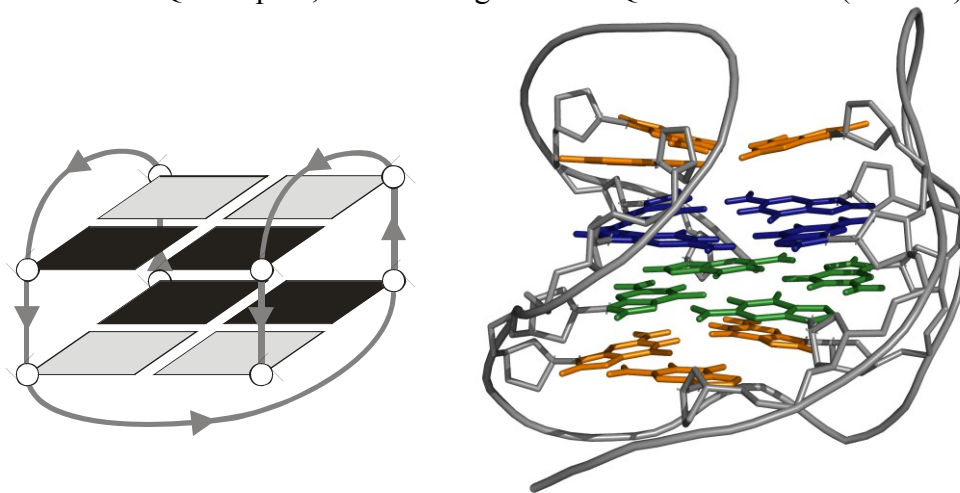
Abb. 9: Schematische und dreidimensionale Darstellung von **K⁺-NMR-1**^[51] und **K⁺-NMR-2**^[52]; Schemata: schwarz: syn-orientiertes Guanin; grau: anti-orientiertes Guanin; 3D-Strukturen: nur die Guanine der Quartetts sind vollständig dargestellt (blau, gelb, grün), das Rückgrat der Nukleotidsequenz ist als graue Schleife dargestellt.

Allerdings fand man bei NMR-Experimenten mit der Sequenz d[AGGG(TTAGGG)₃] in K⁺-reicher Lösung eine Mischung verschiedener Konformationen, wobei eine Konformation mit einem Anteil von 60 – 70 % vorlag.^[51]

Erst durch den Austausch einiger Nukleotide, die den G-Quadruplex flankieren lag diese Hauptkonformation zu etwa 97 % vor. Die Struktur der neuen Sequenz $d[TTGGG(TTAGGG)_3A]$ in K^+ -reicher Lösung wurde wieder durch NMR-Spektroskopie und Computersimulationen berechnet (**K⁺-NMR-1**, Abb. 9).^[51]

Schon kurze Zeit später konnte eine weitere Hybridstruktur aufgeklärt werden^[52], die **K⁺-NMR-1** sehr ähnlich war. Die neue Hybridstruktur **K⁺-NMR-2** unterschied sich nur in der Anordnung der Schleifen und der Stellung der Guanine innerhalb der Tetraden (Abb. 9). Beide G-Quadruplexe bestanden jedoch aus zwei kantenverbrückenden Schleifen und einer *double-chain-reversal* Schleife. Auch die Existenz von **K⁺-NMR-2** wurde fast gleichzeitig durch eine andere Arbeitsgruppe bestätigt.^[53-54]

Kürzlich wurde die Struktur eines weiteren G-Quadruplexes der Sequenz $d[(GGGTTA)_3GGGT]$ in K^+ -reicher Lösung bestimmt.^[55] Dabei handelt es sich um einen korbähnlichen G-Quadruplex, der aus lediglich zwei Quartetts besteht (Abb. 10).



K⁺-NMR-3, $(GGGTTA)_3GGGT$ in K^+ -haltiger Lösung

Abb. 10: Schematische und dreidimensionale Darstellung von **K⁺-NMR-3**^[55]; Schema: schwarz: syn-orientiertes Guanin; grau: anti-orientiertes Guanin; 3D-Struktur: nur die Guanine der Quartetts (blau, grün) und Tripel (orange) sind vollständig dargestellt, das Rückgrat der Nukleotidsequenz ist als graue Schleife dargestellt.

Dieser G-Quadruplex (**K⁺-NMR-3**) zeigte sogar einen höheren Schmelzpunkt als **K⁺-NMR-1** und **K⁺-NMR-2**, was unter anderem auf die Bildung zweier Basentripel ober- und unterhalb des G-Quadruplexes zurückgeführt wurde.

Die beiden Hybridstrukturen **K⁺-NMR-1** und **K⁺-NMR-2**, die korb-ähnliche Struktur **K⁺-NMR-3** und möglicherweise andere G-Quadruplexe liegen also in einem Gleichgewicht vor, dass stark davon abhängt, welche Sequenzen 3'- und 5'-Ende flankieren.^[52, 54] Einige der untersuchten Nukleotidsequenzen mit verschiedenen flankierenden Nukleotiden sowie ihre präferierte G-Quadruplexstruktur sind in Tabelle 1 dargestellt.

Nr.	Nukleotidsequenz		bevorzugt gebildeter G-Quadruplex	
1	TA	GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG		K⁺-NMR-1 (60 – 70 %) ^[51]
2	TT	GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG	A	K⁺-NMR-1 (95 %) ^[51]
3	AAA	GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG	AA	K⁺-NMR-1 (haupts.) ^[56]
4	TTA	GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG	TT	K⁺-NMR-2 (ca. 75 %) ^[52]
5		GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG	T	K⁺-NMR-3 (ca. 60 %) ^[55]

Tabelle 1: Nukleotidsequenzen und bevorzugt gebildete G-Quadruplexe. **Fett** dargestellte Nukleotidsequenzen entsprechen der Sequenz in humanen Telomeren.

Die in Tabelle 1, Nr. 1 gezeigte Sequenz ist Bestandteil humaner Telomere. Diese Sequenz bildet eine Mischung von G-Quadruplexen, wobei **K⁺-NMR-1** mit 60 – 70 % bevorzugt gebildet wird. Durch Austausch zweier Nukleotide wurde diese Konformation fast ausschließlich gebildet (95 %, Nr. 2). Nach Austausch der flankierenden Nukleotide durch Adenin (Nr. 3) bildete sich auch hauptsächlich **K⁺-NMR-1**, in diesem Fall wird ein Adenin-Tripel auf den G-Quadruplex gestapelt.

Wurde jedoch die natürliche Sequenz Nr. 1 nur leicht modifiziert, indem am 5'-Ende ein weiteres Thymidin und am 3'-Ende zwei Thyminde angefügt wurden (Nr. 4), so fand man mit einem Anteil von 75 % hauptsächlich die zweite Hybridstruktur **K⁺-NMR-2**. Eine ebenfalls sehr ähnliche Sequenz ist in Zeile Nr. 5 gezeigt. Diese Sequenz bildet in K⁺-reicher-Lösung zu ca. 60 % den korbähnlichen G-Quadruplex **K⁺-NMR-3**. Dabei ist zu betonen, dass die Sequenzen in Nr. 1, Nr. 4 und Nr. 5 alle Teil der beim Mensch vorkommenden Telomersequenz sind.

Weitere Publikationen beschreiben G-Quadruplexe mit längeren Schleifen^[57] und die Bildung von G-Quadruplexen unter Simulation intrazellulärer Bedingungen (*molecular crowding*).^[58]

Es gab bisher nur wenige Untersuchungen zu G-Quadruplexstrukturen längerer Telomersequenzen^[57, 59-68]. Diese Arbeiten werden dadurch erschwert, dass häufig viele verschiedene G-Quadruplexe in einer Mischung vorliegen, deren Gleichgewicht schon durch minimale Veränderungen verschoben wird.^[69] Deshalb muss zur Strukturaufklärung meist die Sequenz vielfach modifiziert werden, um einen bestimmten G-Quadruplex zu bevorzugen oder die NMR-basierte Strukturaufklärung zu ermöglichen.

Welcher G-Quadruplex *in vivo* ausgebildet wird oder ob eine Mischung verschiedener Konformere vorliegt konnte bis heute nicht eindeutig festgestellt werden. Es gibt allerdings verschiedene Theorien, wie G-Quadruplex Strukturen höherer Ordnung aussehen könnten.^[70] Da Gleichgewichte zwischen den G-Quadruplexen sehr leicht verschoben werden können ist anzunehmen, dass auch *in vivo* – beispielsweise durch Proteinbindung – die Faltung von G-Quadruplexen reguliert wird. Eine Besonderheit aller bisher gefundenen G-Quadruplexe in K⁺-haltiger Lösung besteht darin, dass 5'- und 3'-Ende der Sequenz auf unterschiedlichen Seiten des Quadruplexes liegen. Das erlaubt prinzipiell das Stapeln mehrerer G-Quadruplexe in einer längeren Sequenz. Die Bildung solcher konsekutiver G-Quadruplexe wurde unter anderem durch AFM-Aufnahmen nachgewiesen.^[64, 67]

1.4.2 G-Quadruplexe in Promotoren als Transkriptionsregulatoren

G-Quadruplexe können auch als Transkriptionsregulatoren fungieren. Ein Beispiel ist das Gen *c-MYC*^[71], das in vielen Tumoren aktiviert ist und u.a. die Proliferation erhöht. In der Promotorregion von *c-MYC* wurde eine Sequenz gefunden, die einen G-Quadruplex bildet. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Expression dieses Gens durch einen G-Quadruplex-Stabilisator inhibiert werden kann.^[72] Für jedes der sechs Schlüsselmerkmale von Krebserkrankungen wurde mindestens ein Gen gefunden, in dessen Promotor sich ein G-Quadruplex bilden kann^[48, 73].

1.4.3 Telomerase

Schon 1961 untersuchten Hayflick et al. das Phänomen, dass sich somatische Zellen nicht unbegrenzt teilen können.^[74] Einen Grund für diese Hayflick-Grenze sieht man in der unvollständigen Replikation der Telomere. Greider und Mitarbeiter fanden, dass jede Zelltei-

lung zu einer Verkürzung der Telomere um 100 - 200 Basen führt.^[75] Wird eine gewisse Telomerlänge unterschritten, so tritt die Zelle in die Seneszenz ein und teilt sich nicht weiter.^[76] Allerdings soll nicht die Telomerlänge selbst, sondern eine veränderte Telomerstruktur das Eintreten in die Seneszenz auslösen.^[77] Wird die Telomerlänge dennoch weiter unterschritten, so wird Apoptose beobachtet.^[78]

Als Telomerase bezeichnet man einen Proteinkomplex, der aus Dyskerin (DKC1), einer katalytischen Untereinheit TERT (*Telomerase reverse transcriptase*) und einem RNA Templat TERC (*Telomerase RNA component*) besteht. Telomerase wirkt als reverse Transkriptase und kann Telomere verlängern (Abb. 11), ist aber in somatischen Zellen nicht aktiv.^[79]

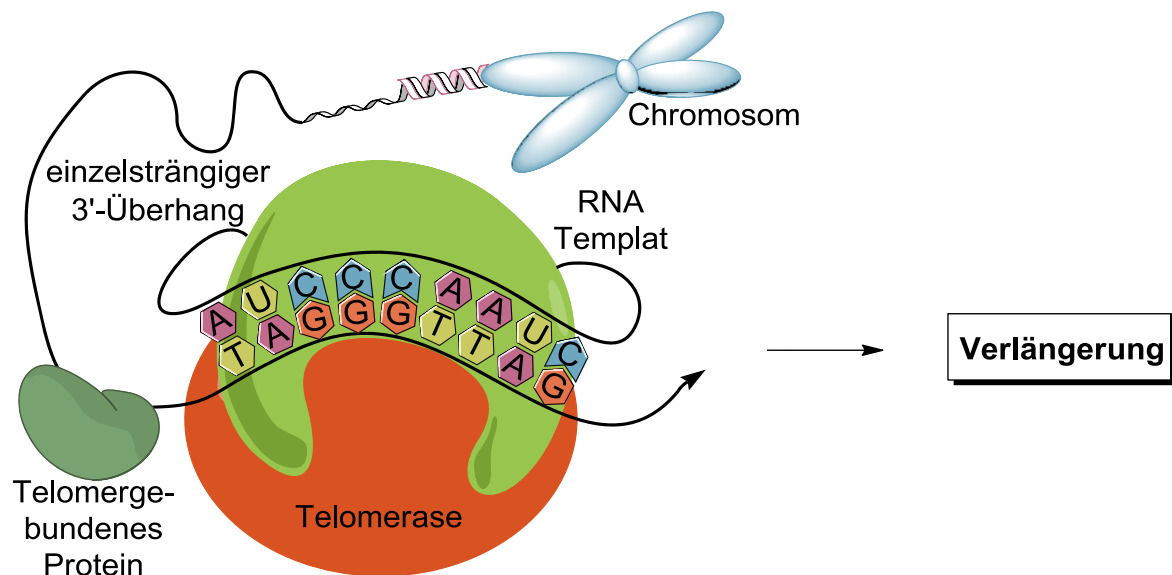


Abb. 11: Telomerase bindet an Telomere und verlängert sie mit Hilfe des RNA Templats TERC.

In Stammzellen und in 85 – 90 % aller Krebszellen^[45, 80] wurde jedoch Telomeraseaktivität und eine Verlängerung der Telomere festgestellt, so dass sich diese Zellen zumindest in Bezug auf die Telomere potentiell unbegrenzt teilen können. Die Gruppe um Weinberg berichtete, dass die Inhibierung von Telomerase in Tumorzellen mit aktivierter Telomerase zu geringerem Tumorwachstum bzw. Zelltod führt.^[81-82] Aus diesem Grund und weil es zahlreiche Hinweise gibt, dass G-Quadruplexe viele onkogene Promotoren kontrollieren, haben sich G-Quadruplexe, Telomer und Telomerase in den letzten Jahren zu intensiv untersuchten Zielstrukturen für neue Wirkstoffe gegen Krebs entwickelt.^[83]

Besonders vielversprechend ist beispielsweise der Wirkstoff Imetalstat (GRN163L)^[84-86] der z. Zt. in der klinischen Phase II getestet wird. Es handelt sich um ein modifiziertes Oligonukleotid der Sequenz 5'-TAGGGTTAGACAA-3', das an TERC binden kann und dadurch Telomerase inhibiert. Alle Phosphodiester des Oligonukleotids wurden durch N3'→P5' Thiophosphoramidate ersetzt, wodurch die Affinität gesteigert und die Anfälligkeit für den Abbau durch Nukleasen verringert werden konnte. Außerdem wurde das Molekül mit einem Palmitoylrest versehen, der für eine bessere Zellgängigkeit sorgt.^[87]

Die Bildung von G-Quadruplexen verhindert, dass sich eine Watson-Crick Basenpaarung mit dem RNA-Templat der Telomerase ausbilden kann. Deshalb können Sequenzen mit G-Quadruplexen nur dann von Telomerase verlängert werden, wenn die G-Quadruplexe zuvor aufgefaltete werden.^[88]

Der doppelsträngige Teil der Telomere kann zum größten Teil durch konventionelle Polymerasen dupliziert werden, Telomerase kommt hauptsächlich bei der Verlängerung der Enden zum Einsatz.^[78] Die bei der Verlängerung durch Polymerasen entstehende Replikationsgabel bzw. der aufgefaltete 3'-Überhang (bei der Verlängerung durch Telomerase) wird neben den Proteinen der Replikationsmaschinerie durch spezielle telomerbindende Proteine stabilisiert, die Replikation und Verlängerung steuern.^[89]

, der im Folgenden besprochen wird.

1.4.4 Die Rolle des Shelterins

Eine wichtige Rolle spielt dabei der Proteinkomplex Shelterin, der nach heutigem Wissensstand ausschließlich an die Telomere bindet. Dazu gehören TRF1 (*telomeric-repeat-binding factor 1*), TRF2, TIN2 (*TRF1-interacting protein 2*), RAP1 (*transcriptional repressor/activator protein 1*), POT1 (*protection of telomeres 1*) und TPP1 (*POT1- and TIN2 organizing protein*)^[78] (Abb. 12).

Der Shelterinkomplex kontrolliert u.a. die Länge und Stabilität der Telomere. Die Telomere interagieren jedoch noch mit einer Vielzahl weiterer Faktoren^[90], die für die Reparatur und Replikation der Telomere zuständig sind. Ein Beispiel dafür ist die *RecQ-like* Helikase WRN. Menschen mit defektem WRN-Gen zeigen Werner's Syndrom, das durch extrem verstärkte Alterungserscheinungen in der Lebensmitte gekennzeichnet ist und auf die fehlerhafte Stabilisierung und Replikation der Telomere zurückgeführt wird.^[91]

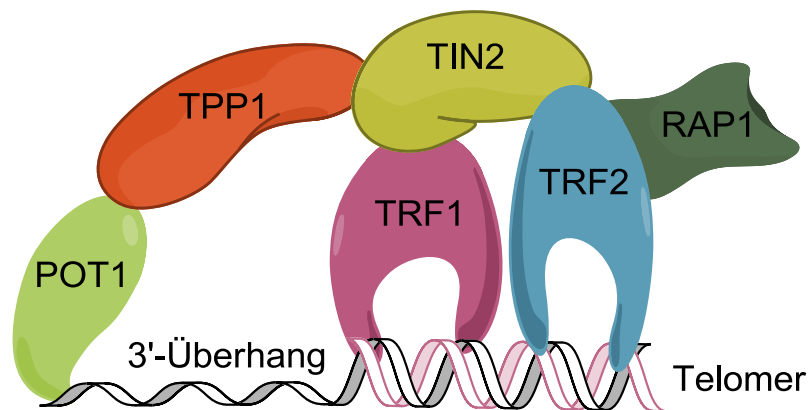


Abb. 12: Schematische Struktur des Shelterins bestehend aus TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, POT1 und TPP1 gebunden an den doppelsträngigen Teil des Telomers und den 3'-Überhang.

TRF1 und TRF2 binden an den doppelsträngigen Teil des Telomers, POT1 an den 3'-Überhang^[92]. TIN2 und TPP1 verbinden TRF1, TRF2 und POT1. RAP1 bindet an TRF2. Die Funktionen der einzelnen Untereinheiten bzw. des vollständigen Komplexes sind noch nicht im Detail bekannt, deshalb sollen hier nur einige wenige Eigenschaften exemplarisch hervorgehoben werden.

Es wurde gezeigt, dass POT1 die Länge der Telomere reguliert, indem es über den Shelterinkomplex die Verlängerung durch Telomerase steuert.^[93-94] Kann POT1 durch Mutation der DNA-Bindedomäne nicht mehr an den 3'-Überhang binden, so wird das Telomer unkontrolliert verlängert.^[93] POT1 kontrolliert auch die Basensequenz am Ende des 5'-Strangs. Ein *Knockdown* von POT1 in humanen Tumorzellen führt zu einer zufälligen Reihenfolge der Nukleotide am 5'-Ende der Telomere. Wenn POT1 aktiv ist, dann endet die Sequenz immer mit ATC-5'.^[95] Die Sequenz am 3'-Ende ist hingegen nicht genau definiert.^[96]

Werden Telomere auf eine kritische Länge verkürzt, so kommt es zu einer DDR (DNA damage response).^[97] Es konnte z.B. gezeigt werden, dass der *Knockdown*^[98] bzw. *Knock-out*^[99] von TRF2 zu einer DDR führt, die durch die ATM-Kinase (*Ataxia telangiectasia mutated* Kinase) mediiert wird. Dadurch kommt es zu Seneszenz oder Apoptose. Der Faktor TRF2 schützt die Chromosome auch vor NHEJ (*non-homologous end joining*) und homologer Rekombination.^[98, 100] Außerdem wurde auch eine direkte Inhibierung der ATM-Kinase durch TRF2 festgestellt.^[101]

Eine weitere Sekundärstruktur, die am Ende der Telomere nachgewiesen wurde, ist der sog. t-loop (*telomeric loop*, Abb. 13).

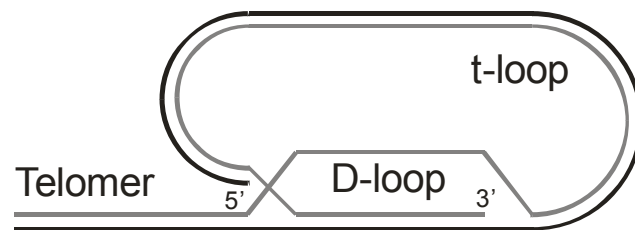


Abb. 13: Struktur von t-loop (*telomeric loop*) und D-loop (*displacement loop*).^[102]

Dabei faltet sich das einsträngige 3'-Ende des Telomers zu einer lassoartigen Struktur, paart sich mit dem komplementären Strang und bildet dadurch einen D-loop (*displacement loop*).^[103]

Eine Studie hat gezeigt, dass TRF2 *in vitro* telomerähnliche Substrate in Schleifenform bringen kann.^[104] Auch TRF1 kann aus Telomer-DNA Schleifen formen, Knicke bilden und Strangpaarungen induzieren.^[105-107] Die genaue Rolle der t-loops ist jedoch noch unklar.^[78]

Es sind allerdings auch Proteine, die DNA-Schäden reparieren an den komplexen Wechselwirkungen zwischen Telomer, Telomerase und Shelterin beteiligt. Diese Interaktion erscheint zunächst paradox, weil die Enden der Chromosomen, ja gerade nicht als Läsionen erkannt und die 3'-Überhänge nicht durch Polymerasen zum Doppelstrang ergänzt werden sollen.^[78]

Der Shelterinkomplex interagiert wahrscheinlich mit Proteinen, die DNA-Schäden reparieren, so dass die Reparaturenzyme das Telomer von einem Doppelstrangbruch unterscheiden können. Man vermutet, dass die Reparaturenzyme auch an der Bildung von t-loops beteiligt sind.^[78, 108-109]

Diese t-loops, die evtl. durch Shelterin stabilisiert werden, könnten auch den 3'-Überhang vor einer Erkennung durch DDR-assoziierte Proteine schützen.^[90] Außerdem wurde postuliert, dass t-loops und G-Quadruplexe zusammen Strukturen höherer Ordnung bilden.^[110] Hierfür liegen zwar erste Belege vor^[102], es ist aber noch nicht bekannt, wie solche t-loop-G-Quadruplex-Hybride genau aussehen bzw. inwieweit sie *in vivo* relevant sind.

Man kennt einen weiteren Mechanismus, der Telomere unabhängig von Telomerase verlängern kann. Dieser Prozess wird als ALT (*alternative lengthening of telomeres*) bezeichnet.

net. Bei ALT dient das doppelsträngige Telomer eines anderen Chromosoms als Templat, dass zur Verlängerung der Telomere benutzt wird.^[78]

Lange wurde angenommen, dass Telomer-DNA nicht in RNA übersetzt wird. Vor einigen Jahren erschienen erste Studien, die diese Annahme widerlegen.^[111-112] Es wurde beschrieben, dass TRF1 RNA Polymerase II zum Telomer rekrutiert und die Transkription in RNA fördert. Die dabei entstehende TERRA (*telomeric repeat-containing RNA*) wird vom Cytosin-reichen Strang abgelesen, enthält Wiederholungen von UUAGGG, hat eine Länge von 1-6 kb und ist polyadenyliert. Auch konnte gezeigt werden, dass TERRA Telomerase inhibiert, einerseits durch Blockieren des Templats TERC^[112] aber offenbar auch durch nicht-kompetitive Mechanismen.^[113] TERRA interagiert mit TRF1, TRF2 und ORC1 (*origin recognition complex*)^[114], aber auch anderen Proteinen der DDR-Maschinerie.

1.4.5 Telomestatin stabilisiert korbähnliche G-Quadruplexe

Im Jahr 2001 wurde der Naturstoff Telomestatin durch Shin-ya und Mitarbeiter aus *Streptomyces anulatus* 3533-SV4 isoliert und seine Struktur aufgeklärt.^[9] Bis heute hat Telomestatin eine besonders hohe Bedeutung als Telomeraseinhibitor, was auf eine starke und selektive Bindung an G-Quadruplexe zurückgeführt wird.^[115] Hurley et al. beschrieben, dass Telomestatin im Vgl. zu intermolekularen G-Quadruplexen bevorzugt an intramolekulare G-Quadruplexe bindet. Um die Selektivität des Telomestatins für G-Quadruplexe näher zu untersuchen wurde ein Polymerase-Stop-Assay^[116] durchgeführt. Dieses Assay nutzt aus, dass G-Quadruplexe ein Hindernis für DNA-Polymerasen darstellen. Je stabiler der Quadruplex desto wahrscheinlicher ist ein Abbruch der Replikation, was zu einer Anhäufung verkürzter DNA-Sequenzen führt. Mithilfe dieser Methode wurde eine Diskriminierung zwischen G-Quadruplex-DNA und Duplex-DNA durch Telomestatin mit einem Verhältnis von ca. 70:1 bestimmt.^[117] Eine hohe Selektivität für G-Quadruplexe neben Duplex-DNA ist für den Einsatz von G-Quadruplex-stabilisierenden Molekülen *in vivo* besonders wichtig.

Der korbähnliche G-Quadruplex Na^+ -NMR, der durch die Sequenz d[TTAGGG]₄ in Na^+ -reicher Lösung gebildet wird, wurde durch CD-Spektroskopie und insbesondere durch

NMR-Studien (vide supra) charakterisiert. Die Gruppe um Hurley untersuchte die Interaktion dieser Sequenz mit Telomestatin unter Zuhilfenahme von CD-Spektroskopie, *surface plasmon resonance* und Polymerase-Stop-Assay.^[118] Sie beschrieben die Bindung von Telomestatin an diese Sequenz mit einer Stöchiometrie von 2:1. Die durch Telomestatin gebundene Konformation zeigte ein ähnliches CD-Spektrum, wie die korbähnliche Struktur **Na⁺-NMR**. Außerdem war bei Telomestatinzugabe mittels CD-Spektroskopie eine Gleichgewichtsverschiebung vom *random coil* Oligonukleotid hin zu einem G-Quadruplex zu beobachten, der auch ein sehr ähnliches CD-Spektrum, wie dieser korbähnliche G-Quadruplex hat. Dieses CD-Spektrum wurde mit Telomestatin sowohl in Abwesenheit von Na⁺- oder K⁺-Ionen in der Lösung^[117], als auch in Anwesenheit von K⁺-Ionen gemessen. Daraus wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass die Mischung der Hybrid-G-Quadruplexe **K⁺-NMR-1**, **K⁺-NMR-2** und eventuell vorhandener weiterer G-Quadruplexe in K⁺-haltiger Lösung bei Zugabe von Telomestatin in einen oder mehrere korbähnliche G-Quadruplexe umgefaltet werden.^[118] In einer anderen Publikation wurden diese Ergebnisse durch Markierung des 3'-Endes mit ¹²⁵I und Zerfallsstudien der entsprechenden G-Quadruplexe bestätigt.^[119]

Allerdings wurde noch nicht näher untersucht, ob Telomestatin an einen der beiden bekannten korbähnlichen G-Quadruplexe **Na⁺-NMR** bzw. **K⁺-NMR-3** bindet oder an eine bisher unbekannte Konformation. Außerdem gibt es bisher keine Informationen über den genauen Bindungsmodus des Telomestatins.

Zwar gab es auch schon Dockingstudien von Telomestatin an die humane Telomerasequenz^[115, 120], allerdings wurden diese Berechnungen unter der Annahme durchgeführt, dass Telomestatin an **Na⁺-NMR** bindet. Eine experimentelle Grundlage, wie z.B. die Kombination mit NMR-Spektroskopie, kam in diesen Arbeiten nicht zur Anwendung.

1.4.6 Wirkungsweise des Telomestatins: Wirkort Telomer

Als die Isolation und Strukturaufklärung des Telomestatins durch die Gruppe von Shin-ya berichtet wurde, fand sich in der gleichen Arbeit der Hinweis, dass es sich um einen spezifischen Telomeraseinhibitor handelt.^[9]

Die Inhibierung der Telomerase durch Telomestatin wurde zunächst durch ein TRAP (*telomeric repeat amplification protocol*) Assay quantifiziert und ergab eine IC₅₀ von

5 nM. Erst sechs Jahre später zeigte sich, dass die bei diesem Assay gemessenen IC_{50} -Werte wahrscheinlich sehr viel höher liegen.^[121]

Bei einem TRAP-Assay wird zuerst ein Oligonukleotid durch Telomerase verlängert. Nach der Verlängerung der Telomersequenz wird sowohl die Telomersequenz als auch ein interner Standard, der nicht durch Telomerase verlängert werden kann durch PCR vervielfältigt. Man ging zunächst davon aus, dass bei Zugabe G-Quadruplex-stabilisierender Moleküle der erste Schritt behindert wird, dass aber die Amplifizierung von Standard und Telomersequenz während der PCR im gleichen Maße stattfindet.

Mergny, Shin-ya et al. zeigten allerdings 2007, dass die PCR der Telomersequenz durch die G-Quadruplex-stabilisierenden Moleküle behindert wird, so dass Standard und Telomersequenz nicht im gleichen Maße vervielfältigt werden. Deshalb musste der IC_{50} für die Inhibierung von Telomerase auf 900 nM korrigiert werden.^[121] Dieser Wert wurde mit einem direkten Assay ohne PCR-Schritt ermittelt. Diese Methode ist allerdings sehr stark von den verwendeten Versuchsbedingungen, wie Länge und Art des Primers abhängig. Ein anderes modifiziertes TRAP-Assay, bei dem die Inhibitoren vor dem PCR-Schritt entfernt wurden lieferte einen Wert von 600 nM.^[122]

Es gibt eine Reihe von Arbeiten, die sich mit dem Wirkmechanismus des Telomestatin beschäftigen. So wurde festgestellt, dass Telomestatin *in vitro* an den 3'-Telomerüberhang bindet.^[123] Damit konsistent ist die Beobachtung, dass die Anwesenheit von Telomestatin in EcR293 Zellen (embryonalen Nierenzellen) zur Freisetzung von POT1, nicht aber von TRF2 führt.^[124]

Die Behandlung mit Telomestatin führt zu starker Verkürzung des 3'-Überhangs in Krebszellen (SiHa, HeLa, MCF-7 Zellen).^[125] Der doppelsträngige Teil des Telomers wurde bei kurzer Behandlung allerdings nicht verkürzt (Behandlung mit 5 μ M Telomestatin für 48 Stunden).^[125] Dies geschieht wahrscheinlich durch Stabilisierung von G-Quadruplexen, was in A549 Zellen durch Dimethylsulfat (DMS) *footprinting* belegt wurde.^[123] Die Verkürzung des 3'-Überhangs ist auch konsistent mit der Dissoziation von POT1. Eine mögliche Erklärung dafür könnte ein Strangbruch sein, der durch S1 Nuklease induziert wird. S1 Nuklease baut einzelsträngige DNA und RNA ab. Doppelsträngige DNA und sekundäre DNA-Strukturen werden aber weniger effektiv gespalten. *In vitro* wurde gezeigt, dass ein G-Quadruplex bildendes Oligomer bei Zugabe von Telomestatin effektiver von S1 Nuklease gespalten wird.^[117, 125] Man folgerte, dass Telomestatin zur Bildung einer G-

Quadruplex-Struktur führt, bei der bestimmte Bereiche der Schleifen leicht von S1 Nuklease adressiert werden können.

Verschiedene Krebszelllinien wurden mit Telomestatin behandelt, wobei unmittelbarer Zelltod beobachtet wurde. Bei einer Konzentration von 5 μM kam es z.B. innerhalb von sieben Tagen zur Apoptose von 90 % aller Krebszellen (SiHa, HeLa, MCF-7). Normale fibroblastische Zellen wurden bei gleicher Konzentration jedoch nicht abgetötet, sie konnten sich drei Wochen lang weiter teilen und überlebten insgesamt 40 Tage.^[125]

Dieses schnelle Absterben von Krebszellen kann nicht durch eine Verkürzung der Telomere alleine erklärt werden, weil eine unvollständige Replikation die Telomere erst nach erheblich längerer Zeit auf kritische Länge verkürzen würde.

Es wurde auch gezeigt, dass die Behandlung mit Telomestatin in diesen Krebszellen zur Dissoziation von TRF2, nicht jedoch von TRF1 führt. In normalen Zellen wurde aber keine Freisetzung von TRF2 beobachtet.^[125] TRF2 wird allerdings in normalen Zellen weniger stark exprimiert, als in Krebszellen.^[126-128]

Eine Störung der Bindung von TRF2^[125] und POT1^[129] an das Telomer könnte DDR auslösen, was den unmittelbaren Zelltod der Krebszelllinien erklären würde.

Allerdings konnte die starke und insbesondere die selektive Dissoziation von TRF2 bei Behandlung von Krebszellen mit Telomestatin bis heute nicht erklärt werden. Außerdem ist unbekannt, ob der doppelsträngige Teil der Telomere mit Telomestatin auch G-Quadruplexe bildet. Dies konnte bisher nur *in vitro* nachgewiesen werden. Sollte das der Fall sein, so wäre auch noch zu untersuchen, warum Dissoziation von TRF2, nicht jedoch von TRF1 beobachtet wird.

Während der Replikation durch Polymerasen wird auch der doppelsträngige Teil der Telomere entwunden. In den dabei entstehenden Replikationsgabeln könnten sich G-Quadruplexe bilden, die – durch Telomestatin stabilisiert – zu einer Behinderung der Replikation führen.^[129] In diesem Zusammenhang wurde z.B. schon gezeigt, dass andere G-Quadruplex-stabilisierende Moleküle die *RecQ-like* Helikase WRN inhibieren.^[130]

1.4.7 Wirkungsweise des Telomestatins: andere Wirkorte

Auch in multiplen Myelomen^[10], Neuroblastomen^[11] und in Krebszellen der akuten Leukämie^[12] fand man, dass Telomestatin Apoptose induziert. Diese apoptotische Wirkung

wird aber nicht nur auf eine Wirkung am Telomer, sondern auch auf andere DNA-Zielstrukturen, zurückgeführt. Z. B. wurde die Bildung von DNA Schäden (*DNA damage foci*) nicht nur im Bereich der Telomere beobachtet.^[129]

Außerdem beschreiben mehrere Arbeiten, dass Telomestatin G-Quadruplexe in den Promotorregionen verschiedener Onkogene adressiert. Bisher wurde diese Interaktion in Bezug auf die Onkogene RET^[131], PDGFR- β ^[132], c-MYC^[133] und HIF-1 α ^[134] berichtet.

Auch in ALT-positiven Zellen wurde die Beeinträchtigung eines Komplexes beobachtet, der durch Topo III (Topoisomerase III α), BLM (Bloom's Syndrom Helikase) und TRF2 gebildet wird.^[135] Es wurde postuliert, dass die Störung der Interaktion von Topo III und Komponenten des Shelterin-Komplexes auch hier DDR auslöst.

Einem G-Quadruplex im Promotor des Proto-Onkogens *c-Myb* (in Gliom-Stammzellen) wird auch Genregulation zugeschrieben.^[136] Die Gruppe um Nakano beschrieb eine reduzierte Expression dieses Gens bei Behandlung von Gliom-Stammzellen mit Telomestatin. Außerdem wurde berichtet, dass durch Telomestatin in Gliom-Stammzellen, aber nicht in normalen Zellen, DNA-Schäden innerhalb der Telomere, aber auch in anderen Bereichen der DNA sowie Apoptose induziert werden.^[137] Mäuse mit Glioblastom-Tumoren, die mit Telomestatin behandelt wurden zeigten verringertes Tumorwachstum.^[137]

Eine weitere mögliche Zielstruktur des Telomestatins könnten RNA-G-Quadruplexe sein. Zwar wurden diese Strukturen bisher weit weniger intensiv untersucht als DNA-G-Quadruplexe, sie scheinen jedoch nicht so viele verschiedene Faltungen anzunehmen.^[70]

Auch eine Interaktion von Telomestatin mit TERRA ist denkbar. Eine Beeinflussung der Interaktion von TERRA und Shelterin^[114, 138] könnte beispielsweise zur Destabilisierung der Telomere und des Heterochromatins führen.

Obwohl sich also schon eine Reihe von Publikationen mit dem Wirkmechanismus des Telomestatins beschäftigen, gibt es noch viele unverstandene Aspekte, die aufgeklärt werden müssen. Besonders wichtig wäre es herauszufinden, wie dieser Naturstoff zwischen Krebszellen und normalen Zellen differenzieren kann. Diese Information wäre für die Entwicklung neuer Arzneistoffe von großer Bedeutung.

1.4.8 Synthetische Analoga des Telomestatsins und Vergleich der Wirksamkeit

Es gibt eine Vielzahl von Strukturklassen, häufig polyzyklische Aromaten, für die eine Bindung an G-Quadruplexe beschrieben wurde.^[139-141] Viele dieser Moleküle wurden durch die Struktur des Telomestatsins inspiriert. Wichtige Merkmale für derartige Analoga sind hohe Affinitäten für G-Quadruplexe und gleichzeitig eine möglichst geringe Affinität für Duplex-DNA bzw. Duplex-RNA. In Zellkulturen und *in vivo* soll Apoptose ausschließlich in Krebszellen induziert werden, ohne dass gesunde Zellen absterben. Einige Substanzen mit besonders hoher Affinität sollen im Folgenden vorgestellt werden.

Leider wurden Affinitäten für viele dieser Verbindungen mit dem unmodifizierten TRAP Assay bestimmt. Da dieses Verfahren für die Bestimmung des IC₅₀ von G-Quadruplexstabilisatoren ungeeignet ist (*vide supra*) werden hier nur Ergebnisse diskutiert, die durch andere Assay's, wie Schmelzpunktmessungen oder Induktion von Apoptose in Zelllinien, ermittelt wurden.

Zunächst lag es nahe, die Affinität synthetisch hergestellter Vorläufer des Telomestatsins für G-Quadruplexe zu untersuchen (Abb. 14).

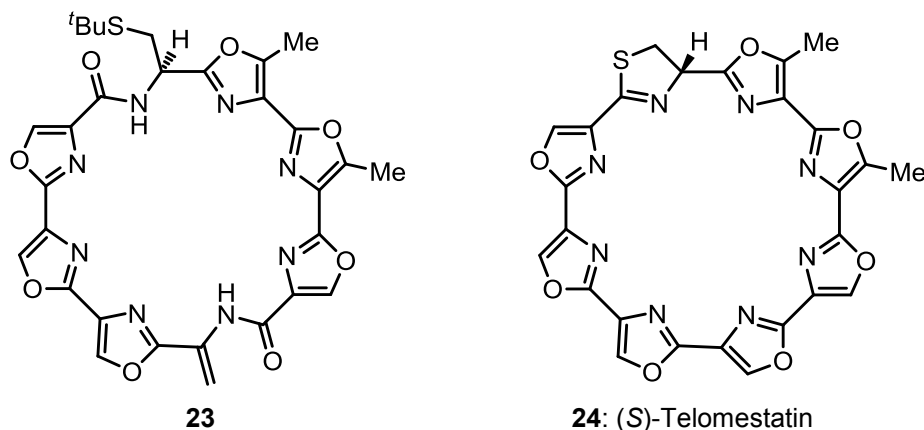


Abb. 14: Vorläufer von Telomestatin **23** (Moody et al.) und Enantiomer des Telomestatsins (**24**) (Doi et al.), die auf ihre Affinität für G-Quadruplexe untersucht wurden.

Der Telomestatinvorläufer **23** zeigte z.B. eine Erhöhung der Schmelztemperatur T_m der Sequenz 5'-AGGG(TTAGGG)₃ von 69 auf mehr als 92 °C.^[142] Interessanterweise zeigten Vorläufermoleküle ohne Makrozyklus keine Erhöhung von T_m .

Die Schmelzpunkte der Sequenz d[TTAGGG]₄ mit Telomestatin **4** und (*S*)-Telomestatin **24** wurden durch Doi und Mitarbeiter bestimmt.^[143] Interessanterweise wurde für (*S*)-Telomestatin **24** sogar eine etwas höhere T_m von 62.3 °C als für Telomestatin selbst ($T_m = 56.3$ °C) gemessen.

Nagasawa und Mitarbeiter publizierten Studien zu mehreren Analoga des Telomestatins, die neben einem aromatischen Makrozyklus auch polare Seitenketten enthielten, um sowohl die G-Quartetts als auch das Phosphatrückgrat der Schleifen zu adressieren (Abb. 15).

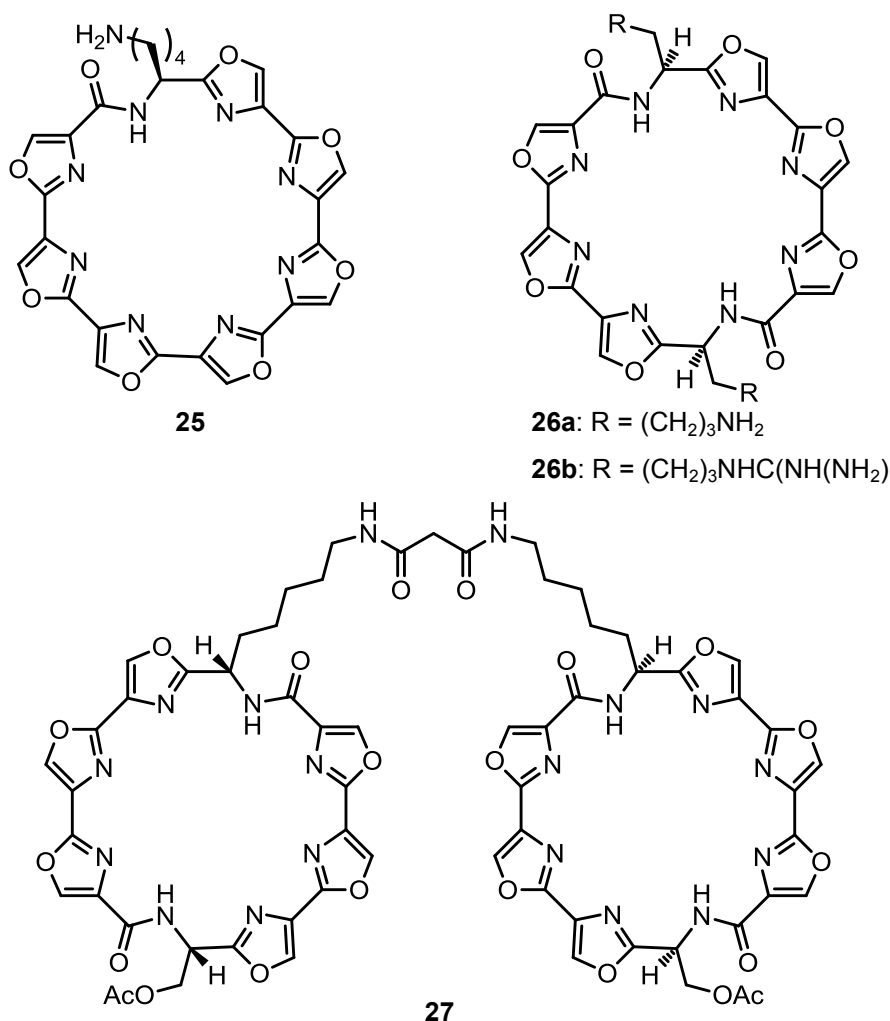


Abb. 15: Heptaoxazol **28** und Hexaoxazole **26a** und **26b** mit polaren Seitenketten und Hexaoxazoldimer **27** (Nagasawa et al.).

Für Heptaoxazolamin **25** wurde beispielsweise eine apoptotische Wirkung auf HeLa-Zellen mit einem IC₅₀ von 2.2 µM berichtet.^[144] Die Affinität der C₂-symmetrischen Hexaoxazole (**26a**, **26b**) für die Sequenz d[TTAGGG]₄ wurde durch

Schmelzpunktsbestimmungen quantifiziert.^[145-146] In diesem Fall wurde für Telomestatin eine T_m von 47.8 °C gemessen, die Schmelzpunkte betragen für **26a** 38.1 °C und für **26b** 53.2 °C. Es wurde ebenfalls untersucht, bei welchen Konzentrationen diese Substanzen Apoptose in HeLa-Zellen induzieren. Das primäre Amin **26a** zeigte einen IC_{50} -Wert von 7.4 μ M, für Guanidinderivat **26b** wurde ein IC_{50} von 0.5 μ M gemessen.

Beide Assays ergaben also eine etwas niedrigere Aktivität von Amin **26a** und eine etwas höhere Aktivität von Guanidinderivat **26b** im Vergleich zu Telomestatin. Die Gruppe um Nagasawa synthetisierte auch das Hexaoxazoldimer **27**.^[147-148] Für dieses Molekül wurde eine 1:1 Stöchiometrie bei der Bindung an $d[TTAGGG]_4$ gefunden, der IC_{50} (3 μ M) war aber wieder mit dem regulären TRAP Assay bestimmt worden.

In der Gruppe um Rice entstanden auch eine Reihe von Telomestatinanaloga (Abb. 16). Bisisopropylhexaoxazol **29** zeigte Wirksamkeit gegen humane lymphoblastische Leukämie (RPMI 8402) und Zelllinien eines Mundhöhlenkarzinoms (KB3-1) mit IC_{50} -Werten von jeweils 0.4 μ M. Zudem wurde Verbindung **29** als selektiv für G-Quadruplexe in Gegenwart von Duplexen beschrieben.^[149] Hexaoxazol **29** war jedoch sehr schlecht wasserlöslich und nicht für weiterführende *in vivo* Experimente geeignet.

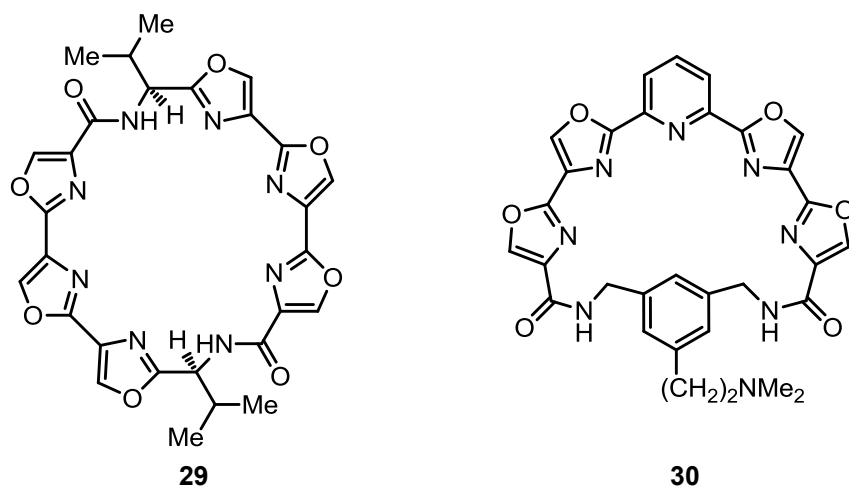


Abb. 16: Telomestatinanaloga **29** und **30** (Rice et al.).^[149-150]

Deshalb wurden neue Analoga mit polaren Seitenketten entwickelt. Die besten Eigenschaften zeigte Tetraoxazolylpyridin **30** mit IC_{50} -Werten von 0.18 und 0.04 μ M (RPMI 8402, KB3-1), guter Löslichkeit in Wasser und keiner Affinität für DNA-Duplexe. Telomestatinanalogon **30** wurde für ein Xenograft Assay mit humanem Brustkrebs (MDA-

MB-435) in Mäusen ausgewählt. Dabei wurden Tumorgrößen von 27.7 % *T/C* (durchschnittliche Tumorgröße behandelter i. Vgl. zu unbehandelten Tieren) gemessen, ohne dass Gewichtsverlust oder andere sichtbare Nebenwirkungen zu beobachten waren.^[150]

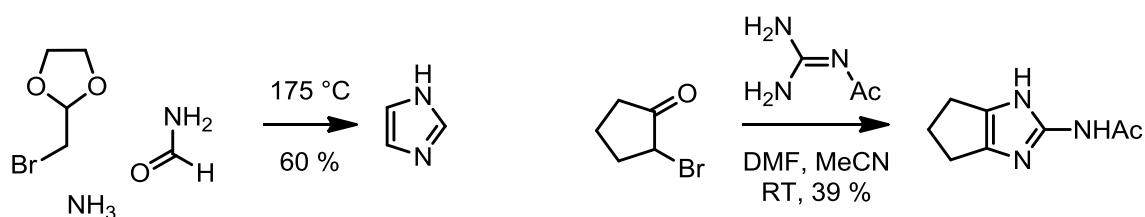
Bei all diesen Beispielen wurden fast ausschließlich Oxazole in naturstoffinspirierte Analoga eingebaut. Insbesondere für Hexaoxazol **29** wäre der Austausch von Oxazolbausteinen gegen Imidazole interessant, weil dadurch eine höhere Wasserlöslichkeit erzielt werden könnte. Bisher bekannte Synthesestrategien für Imidazole werden im folgenden Kapitel besprochen.

1.5 Synthese von Imidazolen und Imidazolen

Die Synthese von Thiazolen und Oxazolen wurde bereits ausführlich beschrieben^[8], weshalb sich diese Arbeit im Folgenden auf ausgewählte Beispiele für die Synthese von Imidazolen beschränken soll. Über die Synthese von Imidazolen und anderen fünfgliedrigen Heterozyklen ist kürzlich auch ein Übersichtsartikel erschienen.^[151]

1.5.1 Synthese aus α -Halo-Carbonylverbindungen

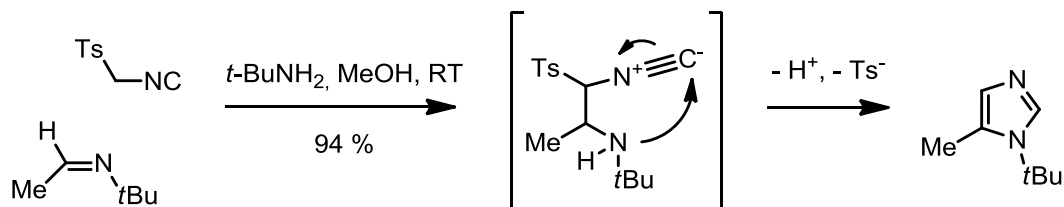
Bei der Reaktion von Ammoniak, Bromoacetaldehydethylenacetal und Formamid wurden zwei Zwei-Atom-Bausteine und Ammoniak verknüpft (Schema 4, linke Seite).^[152] Ähnliche Reaktionen mit Amidinen führen zu 2-Aminoimidazolen (rechte Seite).^[153]



Schema 4: Imidazolsynthese aus α -Halo-Carbonylverbindungen.

1.5.2 Synthese aus Isocyaniden

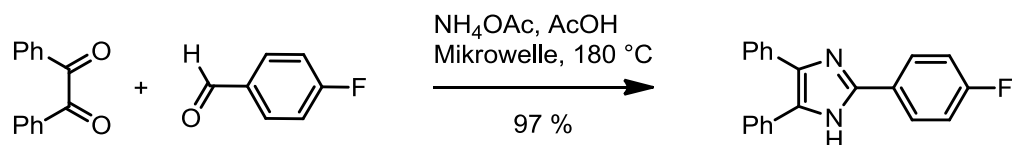
Tosylmethylisocyanid (TosMIC) reagiert mit N-Alkyliminen zu N-Alkylimidazolen (Schema 5).^[154] Beachtenswert ist hier die reduktive Aromatisierung zum Imidazol durch die Eliminierung von Toluolsulfonat.



Schema 5: Imidazolsynthese mit TosMIC.

1.5.3 Synthese aus 1,2-Diketonen, Aldehyden und Ammoniak

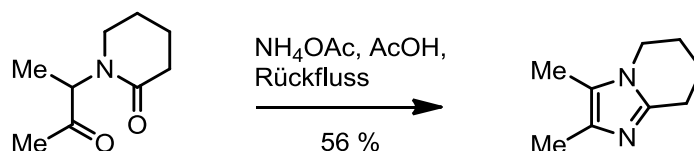
Die Reaktion eines 1,2-Diketons, eines Aldehyds und zwei Molekülen Ammoniak führt zur Bildung dreifach substituierter Imidazole (Schema 6).^[155]



Schema 6: Imidazolsynthese mit 1,2-Diketonen.

1.5.4 Zyklisierende Dehydrierung von α -Acylamino-Carbonylverbindungen

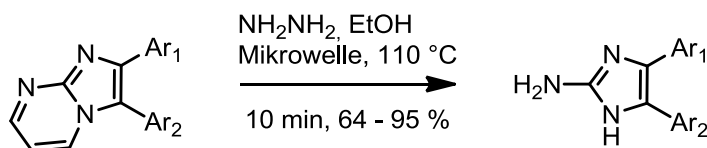
2-Acylaminoketone können mit Ammoniak zu Imidazolen umgesetzt werden (Schema 7).



Schema 7: Imidazolsynthese aus 2-Acylaminoketonen.

1.5.5 Hydrazinolyse von Imidazo[1,2-*a*]pyrimidinen

Van der Eycken et al. beschrieben die Synthese von 2-Aminoimidazolen durch eine Hydrazinolyse verschiedener Imidazo[1,2-*a*]pyrimidine (Schema 8).^[156]

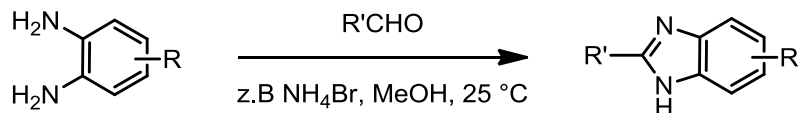


Schema 8: Mikrowellenunterstützte Hydrazinolyse von Imidazo[1,2-*a*]pyrimidinen.

1.5.6 Synthese von Benzimidazolen aus *o*-Phenylendiaminen

Eine klassische Methode zur Synthese von Benzimidazolen stellt die Kondensation von *o*-Phenylendiaminen und Aldehyden dar (Schema 9). Als Additive wurden z.B. NH₄Br^[157],

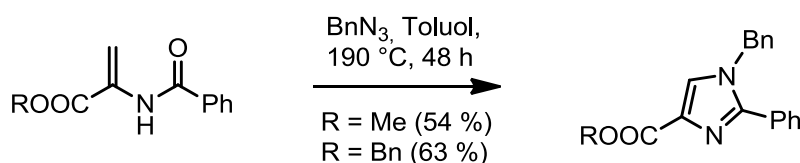
SiO₂/ZnCl₂^[158], CoCl₂×6H₂O^[159], NaHSO₃^[160] und eine Reihe weiterer Reagenzien^[161-166] verwendet. Das dabei entstehende Benzimidazolin kann z.B. durch Luftsauerstoff oxidiert werden.^[164]



Schema 9: Synthese von Benzimidazolen mit Ammoniumbromid.

1.5.7 Synthese mit 2-Amidoacrylaten und Benzylazid

Die hohe Elektrophilie der 2-Amidoacrylate in Schema 10 wurde für eine Reaktion mit Benzylazid unter Abspaltung von Stickstoff genutzt.^[167] Allerdings waren hohe Temperaturen und lange Reaktionszeiten nötig um moderate Ausbeuten zu erzielen.



Schema 10: Imidazolsynthese 2-Amidoacrylaten.

All diese Synthesen haben mindestens einen der folgenden Nachteile: die Wahl der Substituenten in Position 2, 4 und 5 ist oft stark eingeschränkt, die Reaktionen werden häufig unter stark basischen oder stark sauren Bedingungen durchgeführt und die Reaktionspartner sind meist hochreaktiv und können nicht in komplexeren Substraten eingesetzt werden. Aus diesen Gründen sollte ein neuer Zugang zu Imidazol(in)en mithilfe der Aza-Wittig Reaktion entwickelt werden. Dieses Konzept wird im nächsten Kapitel vorgestellt.

2 Ziele der Arbeit

2.1 Vorteile einer Aza-Wittig Imidazol(in)synthese

Naturstoffe, die Oxazol(in)e oder Thiazol(in)e enthalten, werden meist aus Dipeptidbausteinen hergestellt, die als C-terminale Aminosäure entweder Serin, Threonin oder Cystein beinhalten. Deswegen werden Oxazole und Thiazole meist über Position 2 (N-Terminus des Dipeptids) und Position 5 (C-Terminus des Dipeptids) in komplexere Strukturen integriert.

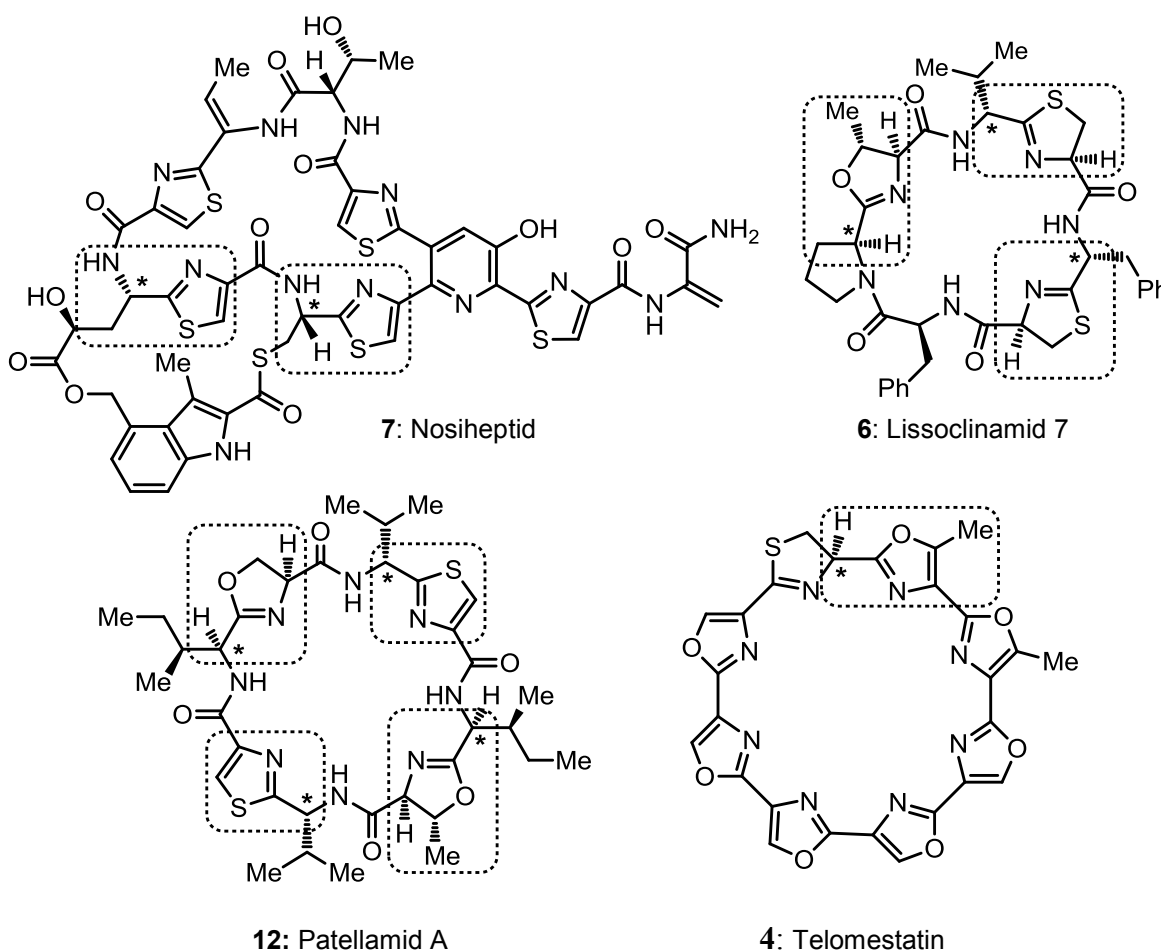


Abb. 17: Beispiele für Naturstoffe mit Azol(in)en, die in Position 2 stereogene Zentren tragen.

Außerdem handelt es sich bei dem Kohlenstoffatom, das mit Position 2 verknüpft ist, häufig um ein stereogenes Zentrum. (Abb. 17).

Viele Azolsynthesen sind mit peptidischen Strukturelementen bzw. einer definierten Anordnung der Substituenten am Azol nicht kompatibel. Außerdem kommt es bei den har-

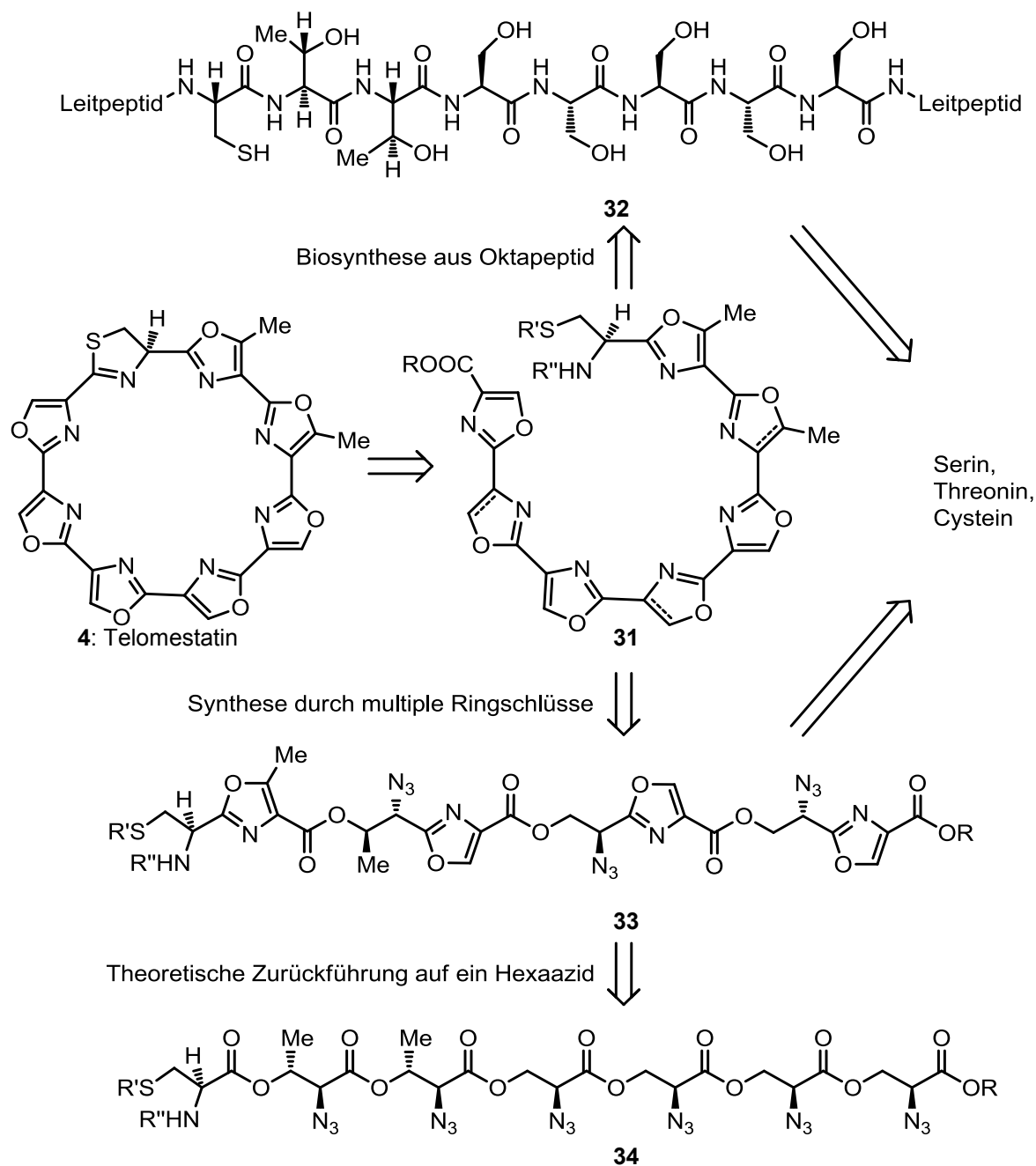
schon Bedingungen, die bei der Synthese vieler Azol(in)e zur Anwendung kommen leicht zur Epimerisierung stereogener Zentren in Position 2 des Azol(in)s.

Für Oxazole und Thiazole konnte bereits gezeigt werden, dass die Aza-Wittig Reaktion mit Peptidstrukturen kompatibel ist und stereogene Zentren in Position 2 toleriert.^[168-171] Eine Ausweitung auf die Imidazol(in)synthese würde u.a. den Austausch von Oxazolen oder Thiazolen in Naturstoffen durch Imidazole erlauben. So wären Analoga mit neuen Eigenschaften leicht zugänglich. Ein Imidazol bietet außerdem die Möglichkeit, zusätzliche Substituenten am Stickstoff in Position 1 einzuführen. Neben der Einführung von Reportergruppen könnten z.B. Löslichkeit, Membrangängigkeit oder Selektivität durch solche Substituenten optimiert werden.

Im Rahmen dieser Doktorarbeit sollte eine flexible, Aza-Wittig gestützte Imidazolinsynthese entwickelt werden. Es sollte weiterhin untersucht werden, ob diese Synthese unter Retention stereogener Zentren durchführbar ist.

2.2 Aza-Wittig inspirierte Totalsynthese von Telomestatin

In den Kapiteln 1.3.1 und 1.3.2 wurde dargelegt, wie Naturstoffe durch ribosomale Peptidsynthese und Modifikation des Translationsprodukts in Cyanobakterien hergestellt werden. Dieses Konzept sollte auf eine Totalsynthese von Telomestatin angewandt werden (Schema 11).



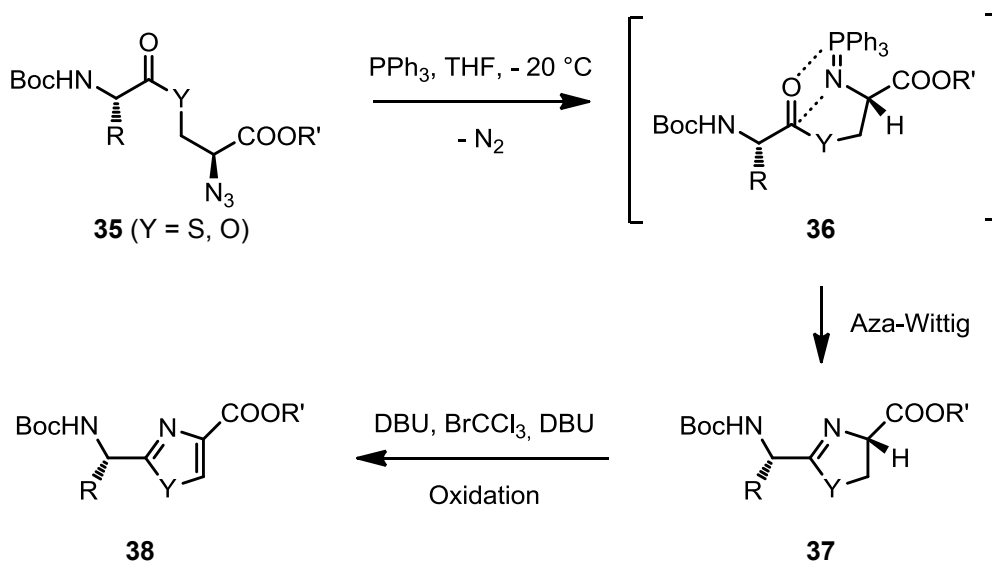
Schema 11: Biomimetische Totalsynthese von Telomestatin mithilfe der Aza-Wittig Reaktion.

Telomestatin kann retrosynthetisch auf Heptaazol(in) **31** zurückgeführt werden. Biosynthetisch könnte man Telomestatin bzw. den Vorläufer **31** auf ein Strukturpeptid zurückführen, das von zwei Leitsequenzen flankiert wird (**32**). In der Totalsynthese planen wir, die Synthese von Heptaazol(in) **31** durch einen multiplen Ringschluß an Trisazid **33** zu realisieren. Das Heptaazol(in) **31** könnte, in Analogie zur vermuteten Biosynthese, theoretisch auch auf ein Hexaazid **34** zurückgeführt werden. Allerdings zersetzen sich Ester, die von mehreren Aziden flankiert werden häufig sehr leicht (wie bereits beschrieben von Riedrich^[8] und in Kap. 3.5), wahrscheinlich aufgrund der erhöhten Elektrophilie des Carbonylkohlenstoffs. Um dieses Stabilitätsproblem zu vermeiden wurden vier der Oxazole schon in die Bausteine integriert. Die Oxazolbausteine sollten, wie höchstwahrscheinlich auch in der Biosynthese, durch Verknüpfung von Serin, Threonin und Cystein entstehen und durch drei Veresterungen in den Ringschlußvorläufer **33** überführt werden.

3 Imidazol(in)synthese mit der Aza-Wittig Reaktion

3.1 Vorarbeiten: Aza-Wittig Ringschlüsse von Estern und Thioestern

Die Herstellung von Oxazolinen und Thiazolinen aus β -Azidoestern bzw. -thioestern war bereits Thema der Dissertation von Dr. M. Riedrich (Schema 12).^[8, 169-170]



Schema 12: Vorarbeiten zur Aza-Wittig Synthese von Thiazol(in)en und Oxazol(in)en durch Riedrich.

Riedrich konnte zeigen, dass β -Azido(thio)ester **35** mit Triphenylphosphin zu Iminophosphoranen **36** umgesetzt werden können, die ihrerseits in einer Aza-Wittig Reaktion zu den Thiazolinen bzw. Oxazolinen **37** weiterreagieren. Diese Azoline konnten dann mit DBU und BrCCl_3 zu den Azolen **38** oxidiert werden.

Als ich die Arbeiten zu dieser Dissertation begann, erprobte M. Riedrich gerade verschiedene Phosphine und Versuchsbedingungen für diesen Ringschluß. Bei den von Riedrich optimierten Bedingungen wurden schließlich 1.5 Äq. PPh_3 pro Azid, Pyridin oder 2,6-Lutidin als Lösungsmittel und $80\text{ }^\circ\text{C}$ Reaktionstemperatur verwendet.

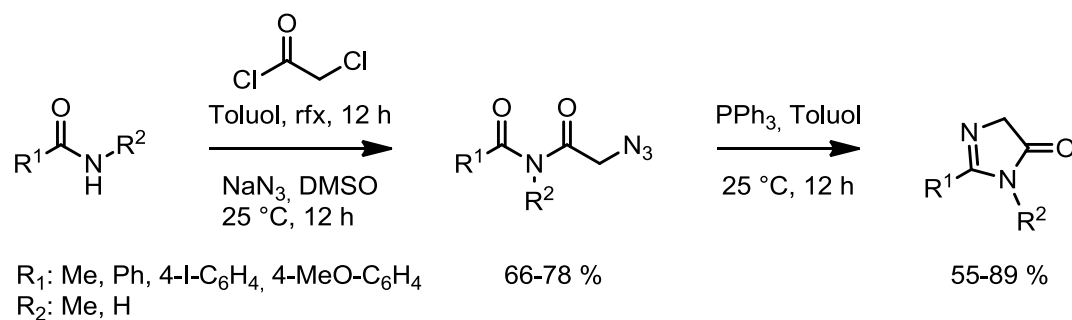
In den folgenden Kapiteln stelle ich zunächst bekannte Aza-Wittig Imidazolsynthesen vor (Kap. 3.2). Amide sind im Allgemeinen unreaktiver als Ester oder gar Thioester und müssen aktiviert werden, um effizient mit Iminophosphoranen zu reagieren. Die Aktivierungsmethoden, die bisher zum Einsatz gekommen sind, möchte ich deshalb genauer beleuchten. In Kap. 3.3 stelle ich das Synthesekonzept vor, das im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurde. In einer retrosynthetischen Zerlegung erläutere ich in Kap. 3.4 eine Stra-

tegie, um den Zyklisierungsvorläufer herzustellen, bevor in den darauf folgenden Kapiteln die Ergebnisse der Arbeit vorgestellt werden.

3.2 Einleitung: Imidazolinsynthesen mithilfe der Aza-Wittig Reaktion

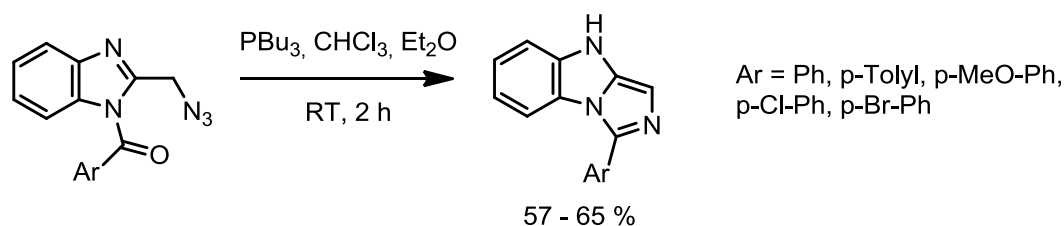
Bisher gibt es nur einige wenige Beispiele, bei denen Amidcarbonylgruppen mit Iminophosphoranen zu Imidazol(in)en umgesetzt wurden, weil eine Aktivierung des Amids nötig ist, um für diese Umsetzung gute Ausbeuten zu erzielen.

Um Amide für Aza-Wittig Reaktionen zu aktivieren, kann z. B. ein weiterer Acylsubstituent am Stickstoff eingeführt werden (Schema 13).^[172] Diese Methode wurde durch Eguchi et al.^[173-174] sowie durch die Gruppe von Magomedov genutzt, um Imidazoindoline aus Indolonen herzustellen.^[175]



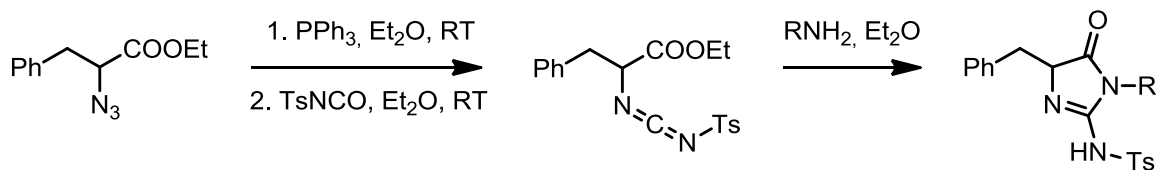
Schema 13: Synthese von Imidazolinonen mittels Aza-Wittig Ringschluß.^[172]

Molina et al. nutzten 2-Azidomethyl-*N*-Acyl-Benzimidazole um Imidazo[1,5-*a*]-benzimidazole herzustellen (Schema 14).^[176]



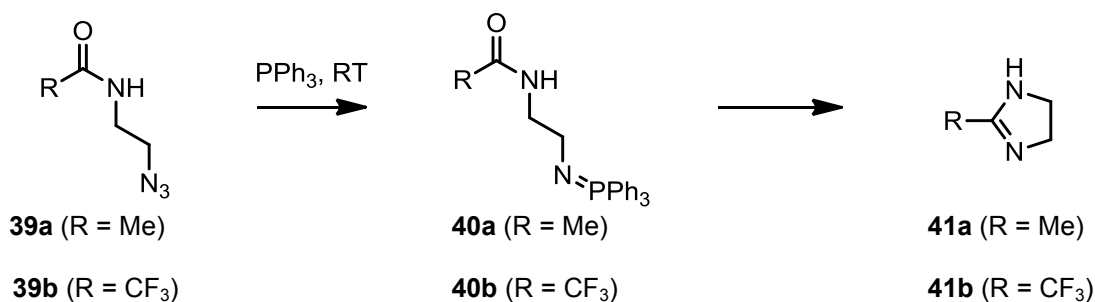
Schema 14: Synthese von Imidazobenzimidazolen mittels Aza-Wittig Ringschluß.

Das Iminophosphoran kann auch zuerst mit einem Isocyanat zum Carbodiimid umgesetzt werden (Schema 15). Dieses addiert leicht Amine, die dann intramolekular mit Estern zu 2-Amino-Imidazol-5-onen reagieren können.^[177] Ähnliche Reaktionen wurden auch mit β -Acetoxyaziden durchgeführt.^[178]



Scheme 15: Synthese von 2-Amino-Imidazol-5-onen mithilfe der Aza-Wittig Reaktion.

Einen Vergleich der Reaktivität aktivierter und nicht aktivierter Amide lassen Arbeiten von Gololobov et al. (Tabelle 2) zu.^[179]

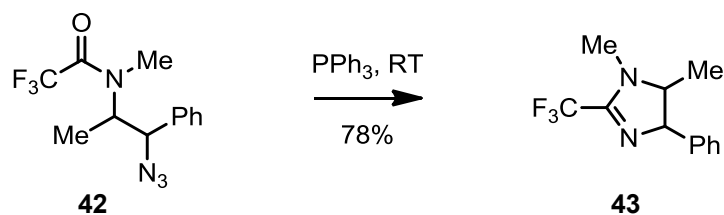


	R =	Ausbeute (%)	Bedingungen	Ausbeute (%)
a	Me	83	180 °C, 5 h	72
b	CF ₃	92	120 °C, 4 h	80

Tabelle 2: Aza-Wittig Reaktion mit Amiden.

N-(2-Azidoethyl)acetamid **39a** wurde mit Triphenylphosphin in Iminophosphoran **40a** überführt. Der Ringschluß zu Imidazolin **41a** erforderte jedoch sehr hohe Temperaturen (180 °C, 5 h, 72 %). Das elektronenärmere Amid **40b** konnte unter etwas milderen Bedingungen umgesetzt werden (120 °C, 4 h, 80 %).

Der Ringschluß von β -Azidoamid **42** wird sowohl durch die elektronenziehende Trifluormethylgruppe als auch durch mehrere Substituenten begünstigt, so dass Imidazolin **43** bei Raumtemperatur in 78 % Ausbeute erhalten werden konnte (Schema 16).

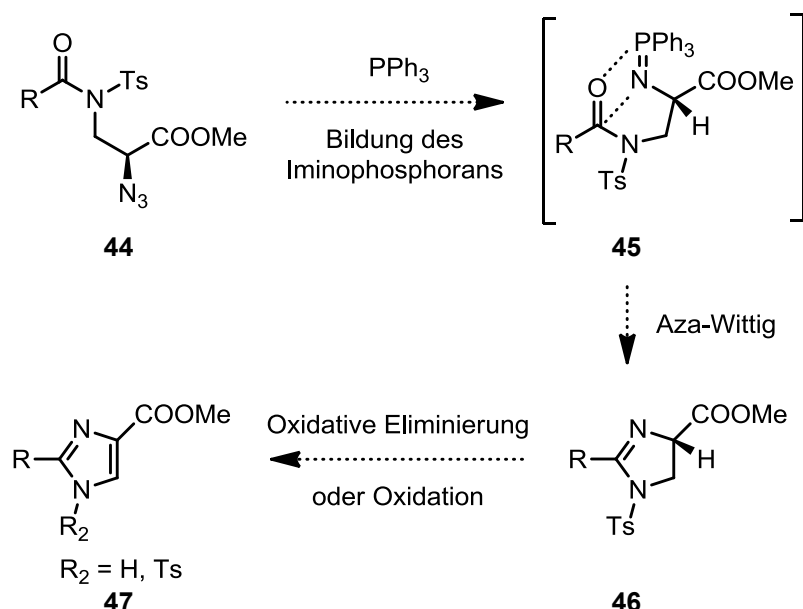


Scheme 16: Synthese des hochsubstituierten Imidazolins **43**.

Alle bislang beschriebenen Synthesen erfordern also besondere Substitutionsmuster am Imidazolin, so dass die Substituenten in Position 2, 4 und 5 nicht frei wählbar sind. Ohne aktivierende Gruppen erfolgt ein Ringschluß nur unter sehr harschen Bedingungen (**40a** → **41a**).

3.3 Synthesekonzept

Analog zur Aza-Wittig Synthese von Thiazolen und Oxazolen wurde angestrebt, ein aktiviertes β -Azidoamid **44** mit Triphenylphosphin, zum Iminophosphoran **45** umzusetzen (Schema 17).



Schema 17: Konzept für eine Aza-Wittig inspirierte Imidazol(in)synthese.

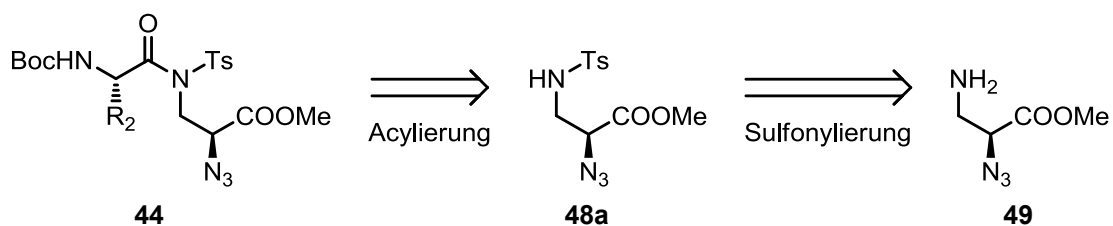
Die Reaktion des Iminophosphorans mit der Carbonylgruppe des Amids sollte durch Einführung eines möglichst elektronenziehend substituierten Amids ermöglicht werden. Um den Substituenten in Position 2 des Imidazol(in)s **46** frei wählen zu können, sollten leicht entfernbare, elektronenziehende Gruppen am Amidstickstoff untersucht werden. Wir wählten als aktivierenden Substituenten die Tosylgruppe, zum Einen, weil sie UV-aktiv ist, zum Anderen, weil schon mehrfach beschrieben wurde, dass durch Eliminierung von Toluolsulfinat Heterozyklen aromatisiert werden können.^[180-183] Zu diesem Zeitpunkt war

nicht bekannt, ob ein Tosylimidazolin ausreichend stabil sein würde um isoliert zu werden oder ob unter den Reaktionsbedingungen eine Aromatisierung zu Imidazol **47** durch Eliminierung von Toluolsulfinsäure stattfinden würde.

Zudem werden durch die aktivierende Gruppe am N-1 des Imidazols die N-Atome differenziert, was für Folgeschritte hilfreich sein solltte.

3.4 Imidazol(in)synthese

Um das aktivierte β -Azidoamid **44** herzustellen, entschlossen wir uns für eine Funktionalisierung von Aminoazid **49** durch Acylierung und Sulfonylierung (Schema 18). Die Acylierung sollte im letzten Schritt durchgeführt werden. So kann eine Reihe von Zyklisierungssubstraten in nur einem Schritt aus Tosylamin **48a** hergestellt werden.



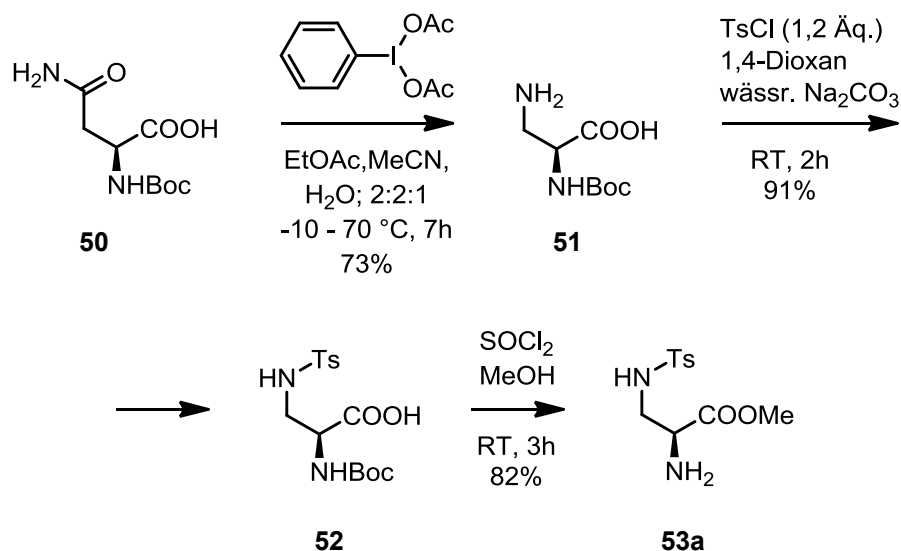
Schema 18: Retrosynthese des Zyklisierungsvorläufers.

Das Tosylamin **48a** sollte leicht durch Reaktion des primären Amins **49** mit Tosylchlorid zugänglich sein. Aminoazid **49** ist durch Hofmann-Umlagerung aus N_α -Boc-*L*-Asparagin leicht zugänglich.^[184]

3.4.1 Modifikation von N_α -Boc-*L*-Asparagin

Amin **51** war in enantiomerenreiner Form kommerziell erhältlich, kann aber günstig aus N_α -Boc-*L*-Asparagin **50** hergestellt werden (Schema 19).^[184] Mithilfe der hypervalenten Iodverbindung Phenyliodosodiacetat (PIDA) gelang die Hofmann Umlagerung von **50** zu **51** in guter Ausbeute. Amin **51** wurde in Mengen >10 g hergestellt und durch Kristallisation gereinigt. Um eine selektive Funktionalisierung der Amine zu ermöglichen wurde das primäre Amin **51** in das Sulfonamid **52** überführt. Die Boc-geschützte Aminosäure **52**

wurde mit Thionylchlorid in MeOH versetzt. Unter diesen Bedingungen wurde zugleich die Boc-Schutzgruppe entfernt und die Carbonsäure zum Methyl ester umgesetzt. Anschließend sollte das Amin **53a** durch Diazotransfer in ein Azid überführt werden.



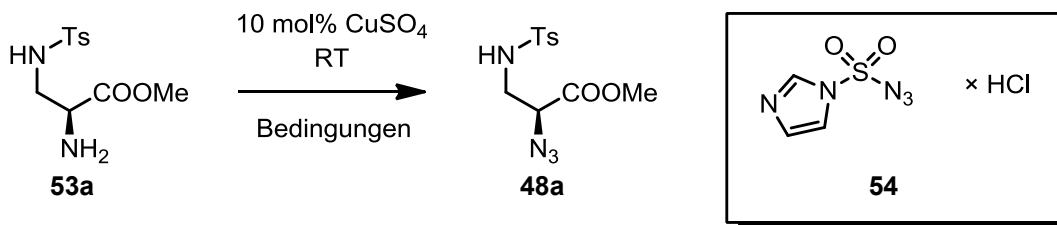
Schema 19: Synthese des Tosylamidoamins **53a** aus *N*_α-Boc-*L*-Asparagin.

3.4.2 Optimierung des Diazotransfers

Der Diazotransfer zu Azid **48a** sollte mit hohem Enantiomerenüberschuss stattfinden, um später die Synthese enantiomerenreiner Imidazoline zu ermöglichen. Die relativ hohe Azidität des Protons am C_α-Atom erschwerte die Synthese von Azid **48a** mit hohem Enantiomerenüberschuss. So lieferten die von Wong et al. berichteten Reaktionsbedingungen^[185] Azid **48a** zwar in annehmbarer Ausbeute, aber nur mit 42 % e.e. (Tabelle 3, Nr. 1). Die Verwendung von Imidazolsulfonylazid **54**^[186] führte zu teilweiser Epimerisierung und unvollständigem Umsatz (Nr. 2). Zu diesem Zeitpunkt wurde vermutet, dass die schlechten Ausbeuten im Vergleich zu anderen Substraten^[8] auf eine Wechselwirkung mit dem Stickstoff des Sulfonamids zurückzuführen sein könnten. Einige Experimente wurden deshalb mit ZnCl₂ als Katalysator durchgeführt, das schon in Anwesenheit ungeschützter Alkohole bessere Ausbeuten als CuSO₄ geliefert hatte.^[8]

Allerdings trat unter den Bedingungen von Wong mit Reagenz **54** und 5 % ZnCl₂ als Katalysator starke Epimerisierung auf (Nr. 3).

Der Enantiomerenüberschuß konnte durch die Verwendung von DMF und EtNiPr₂ auf 97 % verbessert werden (Nr. 4). Unter diesen Bedingungen lieferten verschiedene Ansatzgrößen jedoch stark unterschiedliche Ausbeuten. So konnten im 0.1 mmol-Maßstab 50 % Azid isoliert werden, mit 6.5 mmol des Amins jedoch nur 9-17 %.



Nr.	Diazodonor, Äq.	Base, Äq.	Lösungsmittel	Zeit	Ausb.	e.e. ³
1	TfN ₃ , 4.5	NEt ₃ , 5	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/H ₂ O	3.5 h	66 %	42
2	54 , 1.5	K ₂ CO ₃ , 2	MeOH	19 h	n.b. ¹	82
3	54 , 1.8	NEt ₃ , 3	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/H ₂ O	7 h	57 % ²	52
4	54 , 1.1	EtNiPr ₂ , 2.5	DMF	1-3 h	9-50 %	97
5	TfN ₃ , 6	EtNiPr ₂ , 2.5	DMF/CH ₂ Cl ₂ , 1:1	1.5 h	58 %	96

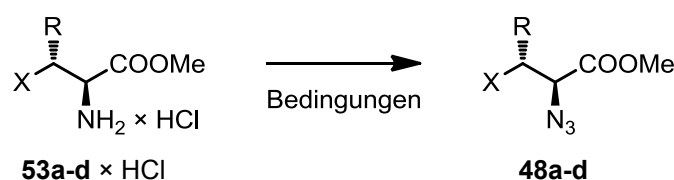
Tabelle 3: Optimierung des Azidtransfers; ¹unsaubere Reaktion, unvollst. Umsatz (HPLC); ²mit 5% ZnCl₂ als Katalysator; ³bestimmt mittels chiraler HPLC.

Deshalb wurde anstelle des Azidtransferreagenzes **54** wieder TfN₃ verwendet. Mit EtNiPr₂ als Base und einer Mischung von CH₂Cl₂ und DMF als Lösungsmittel ergaben sich reproduzierbare Ausbeuten von 58 % (5 mmol Maßstab) und minimaler Epimerisierung (96 % e.e., Nr. 5). Alle Enantiomerenüberschüsse wurden mittels chiraler HPLC bestimmt. Um zu bestätigen, dass es sich um Enantiomere handelt, konnte das nach den Bedingungen in Nr. 5 hergestellte Azid in CH₂Cl₂ gelöst, mit 20 Äq. DBU versetzt und 12 h bei RT gerührt werden (siehe auch Kap. 3.4.3). Eine Untersuchung des Produkts mittels chiraler HPLC bestätigte, dass es sich bei der zweiten Verbindung um das Epimer von **48a** handelte.

Azidtransferreagenz **54** lieferte mit anderen Substraten gute Ergebnisse und hat den Vorteil, dass es im Gegensatz zu TfN₃ nicht frisch hergestellt werden muss.^[186] Eine neuere Publikation legt jedoch nahe dass Imidazolsulfonylazid × HCl **54** weniger stabil ist, als zunächst angenommen wurde.^[187]

3.4.3 Anwendung des optimierten Diazotransfers auf andere Substrate

Dieser Azidtransfer konnte auch ohne chromatographische Reinigung des Amins durchgeführt werden. Der Einsatz der Ammoniumchloride **53a-d** × HCl verbesserte die Ausbeuten für Azido-Tosylamin **48a** von 58 auf 71 %, bei gleichem Enantiomerenüberschuss (Tabelle 4, Nr. 5). Unter den von Wong^[185] entwickelten Bedingungen (Tabelle 4, **AV1**) konnte **48a** auch in deutlich höherer Ausbeute aber ebenso niedrigem e.e. von 46 % erhalten werden. Drei andere Amine, die sich aus Cystein, Serin und Threonin ableiten, waren zuvor schon unter den Bedingungen von Wong zu den entsprechenden Aziden umgesetzt worden (Tabelle 4, Nr. 2-4).^[8]



Nr.	Azid	X	R	Bedingungen	Ausbeute (%)	e.e. (d.r.) ¹ (%)
1	48a	NHTs	H	AV1 (CuSO ₄)	84	46
2	48b	TrS	H		71	< 42
3	48c	OH	H	AV1 (ZnCl ₂)	99	57
4	48d	OH	Me		52	96.5 : 3.5 ²
5	48a	NHTs	H	AV2 (CuSO ₄)	71	96
6	48b	TrS	H		54	> 95
7	48c	OH	H	AV2 (ZnCl ₂)	85	> 99
8	48d	OH	Me		68	> 99 ³

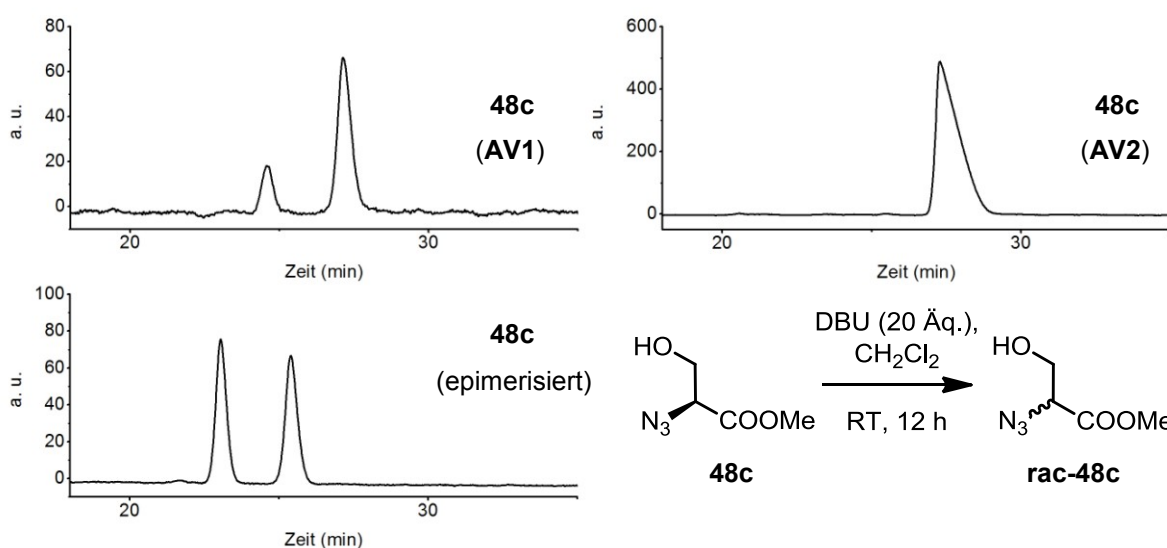
Tabelle 4: Azidtransfer nach Wong (**AV1**) und nach Optimierung (**AV2**) mit verschiedenen Substraten.¹ bestimmt mittels chiraler HPLC;² die Verbindung zeigte ein d.r. von 96.5:3.5 %;³ das d.r. war größer als 99:1, der e.e. betrug mehr als 99 %

Insbesondere bei **48b** und **48c** kam es unter diesen Bedingungen zu starker Epimerisierung. Wurden diese Substrate unter optimierten Bedingungen (**AV2**) umgesetzt, so konnten alle Azide mit mehr als 95 % e.e. isoliert werden (Nr. 6-8).

Besonders gut funktionierte die neue Methode für **48c** und **48d**. Bei e.e.-Bestimmungen mittels chiraler HPLC konnte für diese beiden Azide nur noch ein Epimer gefunden werden. Ein Beispiel für die e.e.-Bestimmungen ist in Schema 20 dargestellt. Wurde der

Azidtransfer nach **AV1** durchgeführt, so war ein Nebenprodukt bei Analyse mittels chiraler HPLC zu erkennen, das bei **AV2** nicht entstand. In NMR und nicht-chiraler HPLC war nur ein Produkt zu beobachten. Um sicherzustellen, dass es sich bei der zweiten Substanz um das Epimer handelt wurde der nach **AV2** hergestellte Azidoalkohol für 12 Stunden mit einem Überschuss DBU behandelt und erneut eine Messung mit chiraler HPLC durchgeführt.

Nebenprodukt und Produkt lagen nach dieser Behandlung in einem Verhältnis von ca. 1:1 vor.



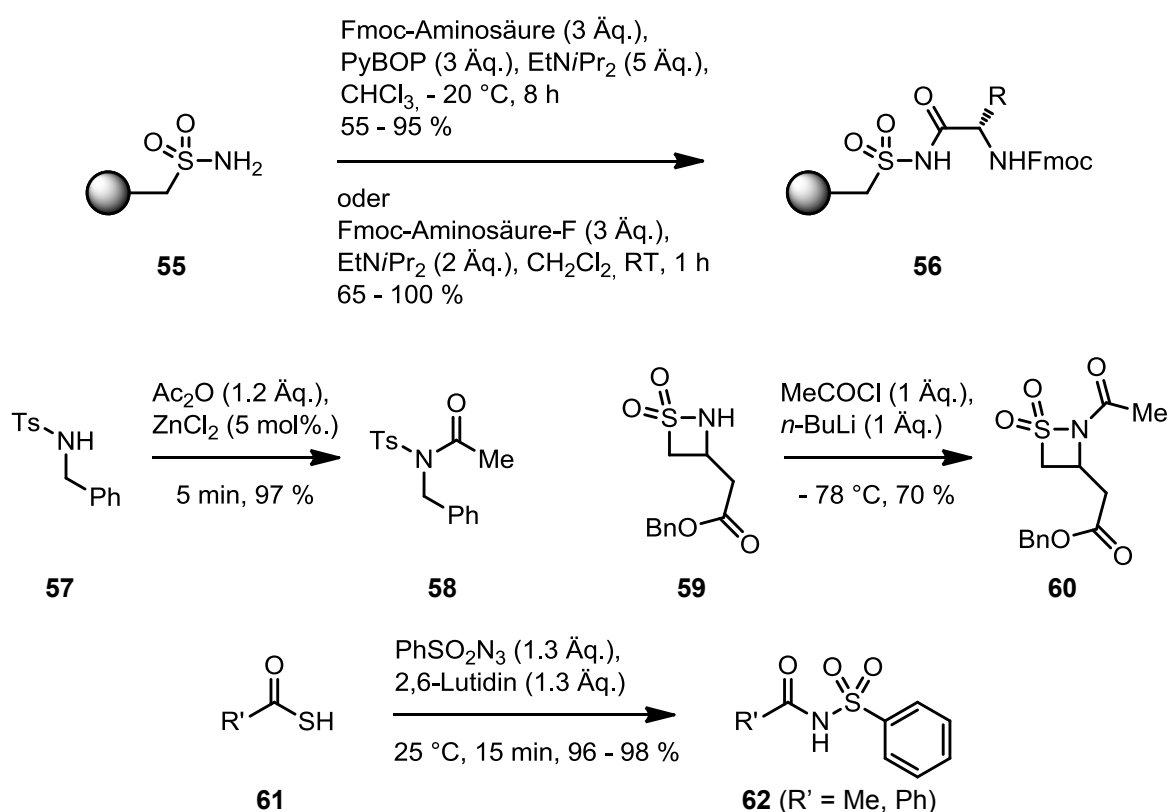
Schema 20: Bestimmung des e.e.'s von Azidoalkohol **48c** und Epimerisierung zum Racemat (die Proben mussten mit geringen Mengen MeOH und CH₂Cl₂ versetzt werden, um die Azide in Lösung zu bringen. Dadurch ergaben sich leicht unterschiedliche Retentionszeiten).

Diese Messung bestätigte also, dass es sich bei der zweiten Verbindung um das Epimer von **48c** handelt.

3.4.4 Acylierung des Sulfonamids – Optimierung

In den vergangenen Jahren wurde eine Vielzahl von Reagentien zur Synthese von Amidinen beschrieben.^[188-189] Allerdings wurde die *N*-Acylierung von sekundären Sulfonamiden mit anspruchsvollen Substraten bisher nur in wenigen Veröffentlichungen dokumentiert (Schema 21). Um festphasengebundene Sulfonamide **55** mit Fmoc-geschützten Aminosäuren zu beladen kamen PyBOP als Kupplungsreagenz^[190] oder Aminosäurefluoride^[191] zum

Einsatz. Die Acylierungsprodukte **56** konnten in guten bis sehr guten Ausbeuten isoliert werden, die Acylierung sekundärer Sulfonamide wurde jedoch nicht beschrieben. Zudem sind Boc-geschützte Aminosäurefluoride häufig instabil. Eine Reihe von Sulfonamiden wurde durch Verwendung von ZnCl_2 und Anhydriden acyliert^[192]. Ein Beispiel dafür ist die Umsetzung des Sulfonamids **57** in *N*-Acylsulfonamid **58**. Diese Methode eignet sich allerdings nur einfache bzw. kommerzielle Anhydride. Otto und Mitarbeiter beschrieben die Acylierung einiger β -Sultame mit Säurechloriden und *n*-BuLi (**59**→**60**).^[193]

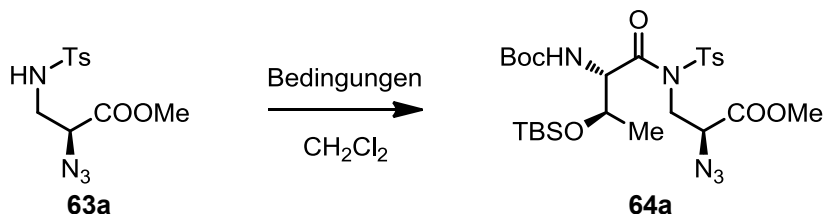


Schema 21: Beispiele für die Acylierung von Sulfonamiden.

Außerdem können Thiocarbonsäuren **61** mit Sulfonylaziden zu Acylsulfonamiden **62** umgesetzt werden.^[194]

Um geeignete Bedingungen für die Acylierung von Sulfonamid **63a** zu finden wurde das sterisch anspruchsvolle Threonin mit Boc- und TBS-Schutzgruppe als Modells substrat gewählt. Sulfonamid **63a** wurde mit dieser Aminosäure unter verschiedenen Bedingungen zu Amid **64a** umgesetzt (Tabelle 5). Steglich-Bedingungen^[195-196] lieferten zwar das Produkt in moderater Ausbeute, führten jedoch zu starker Epimerisierung (Nr. 1). Säurefluoride neigen weniger zur Epimerisierung der alpha-Position bzw. zur Bildung von Ketenen als

Säurechloride oder mit DMAP aktivierte Carbonsäuren. Außerdem waren Säurefluoride schon vorher zur Sulfonamidacylierung verwendet worden^[191]. Die Kupplung von Boc-Thr(TBS)-F mit Cs₂CO₃ als Base lieferte *N*-Acylsulfonamid **64a** mit einer moderaten Ausbeute von 51 % (Nr. 2). Ähnliche Ergebnisse wurden erzielt, wenn als Base Et₃NiPr₂ verwendet wurde (nicht gezeigt). Wurde das Säurefluorid *in situ* hergestellt, so war die Ausbeute noch geringer (Nr. 3).



Nr.	Aminosäure	Reagenz	Base (Äq.)	t (h)	Ausbeute (%)	d.r. ¹
1	Boc-Thr(TBS)-OH	DCC	DMAP (0.1)	19	58	74 : 26
2	Boc-Thr(TBS)-F	-	Cs ₂ CO ₃ (4)	7	51	>99 : 1
3	Boc-Thr(TBS)-OH	TFFH	Cs ₂ CO ₃ (4)	6	28	99 : 1
4	Boc-Thr(TBS)-OH	HATU	Cs ₂ CO ₃ (4)	1	80	99 : 1
5	Boc-Thr(TBS)-OH	HATU	Et ₃ NiPr ₂ (4)	22	14 (48% 63a)	98 : 2
6	Boc-Thr(TBS)-OH	HATU	Cs ₂ CO ₃ (2)	22	63	98 : 2
7	Boc-Thr(TBS)-OH	HBTU	Cs ₂ CO ₃ (2.5)	22	71	97 : 3

Tabelle 5: Optimierung der Sulfonamidacylierung. ¹bestimmt durch NMR-Spektroskopie und HPLC-Analyse.

Die besten Ausbeuten wurden mit dem Guanidiniumsalz HATU^[197-198] und Cs₂CO₃ erzielt (80-85 %, Nr. 4). Andere Basen lieferten wesentlich schlechte Ausbeuten, so z. B. das häufig verwendete Et₃NiPr₂ (14 %, Nr. 5). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass ein lösliches Caesiumsalz des Sulfonamids an der Reaktion beteiligt sein könnte.

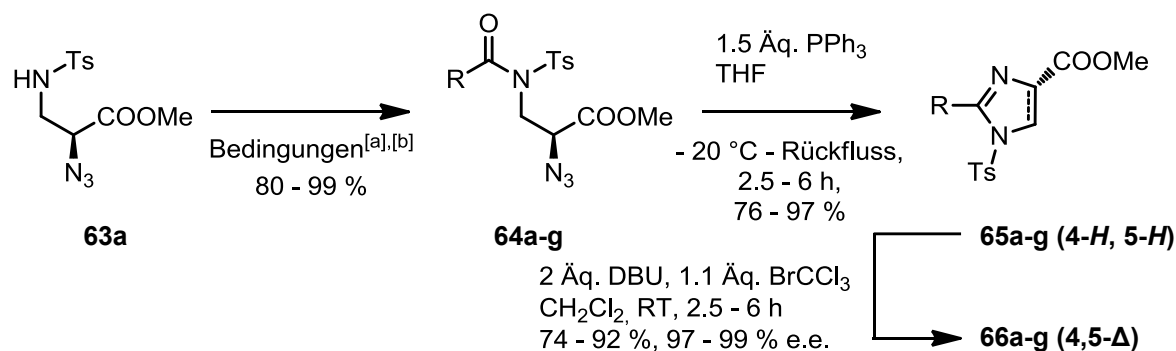
Unter den optimierten Bedingungen wurden nur 1.1 Äq. HATU und 4 Äq. Cs₂CO₃ eingesetzt. Weniger Base führte zu geringerer Ausbeute (Nr. 6). Auch die Verwendung von HATU war essentiell. So konnten bei Verwendung von HBTU nur 71% des Produkts isoliert werden (Nr. 7).

3.4.5 Substratbreite der Acylierung, Aza-Wittig Ringschlüsse und Enantiomerenüberschüsse

HATU und Cs_2CO_3 waren geeignet, um eine Reihe verschiedener Acylfragmente mit Sulfonamid **63a** zu verknüpfen (Tabelle 6). Polare und unpolare, sterisch gehinderte und ungehinderte, aliphatische und aromatische Carbonsäuren konnten so in Ausbeuten von 85-99 % in die *N*-Acylsulfonamide **64a-g** überführt werden (Einträge a-e). Boc-Phe-OH und Boc-Ala-OH lieferten jedoch erheblich schlechtere Ausbeuten von 4 bzw. 63 % (nicht gezeigt). Eine bekannte Nebenreaktion die Boc-geschützte Aminosäuren unter Kupplungsbedingungen eingehen können ist die Bildung unreaktiver Oxazolone durch intramolekularen Angriff des Carbamatsauerstoffs an den Aktivester, was die niedrigen Ausbeuten in diesen Fällen erklären könnte. Die beiden Substrate konnten alternativ durch die Verwendung des entsprechenden Säurefluorids und $\text{EtN}i\text{Pr}_2$ in Ausbeuten von 80 bzw. 97 % (Einträge f-g) erhalten werden. Nur bei *N*-Acylsulfonamid **64b** waren geringe Mengen eines zweiten Diastereomers in $^1\text{H-NMR}$ und HPLC zu erkennen (d.r.: 98 : 2). Bedingungen für die Aza-Wittig Ringschlüsse waren schon für die Synthese von Thiazolinen und Oxazolinen optimiert worden.^[8] Erfreulicherweise zeigte sich schnell, dass die *N*-Acylsulfonamide **64a-g** reaktiv genug waren, um unter diesen Bedingungen zu den Imidazolinen **65a-g** umgesetzt zu werden. Zugabe von Triphenylphosphin in THF und Erhitzen zum Rückfluss lieferte die meisten Imidazoline in guten Ausbeuten (85-97 %, Einträge a, c - e, g). Ausnahmen bildeten Thiazolidin **65b** mit 46 % sowie Phenylalaninderivat **65f** (64 %, beide nicht gezeigt). In diesen Fällen konnten gute Ausbeuten mit 2,6-Lutidin als Lösungsmittel erzielt werden (80 bzw. 76 % Ausbeute, Einträge b, f). Für *N*-Acylsulfonamid **64e** wurde ein Enantiomerenüberschuß von 94 % bestimmt. Nach Aza-Wittig Ringschluß in 2,6-Lutidin wurde ein e.e. von 82 % bestimmt. Offenbar kann der Naphtylsubstituent in Position 2 des Imidazolins **65e** ein Enolation besser stabilisieren als in den anderen untersuchten Substraten, so dass es zu teilweiser Epimerisierung bei 80 °C in 2,6-Lutidin kommt.

Alle anderen Substrate zeigten jedoch keine Epimerisierung unter diesen Bedingungen.

Die Oxidation der Imidazoline **65a-g** zu den entsprechenden Imidazolen **66a-g** konnte mit DBU und BrCCl_3 ^[199] durchgeführt werden und verlief in allen Fällen sauber und mit guter Ausbeute.



Eintrag	R	Ausbeute (%)			e.e. (%)
		64	65	66	
a		85 ^[a]	97	87	> 98 ^[d]
b		85 ^[a]	80 ^[c]	90	96 ^[e]
c		85 ^[a]	94	92	> 99 ^[e]
d		99 ^[a]	91	77	n. b.
e		85 ^[a]	85	82	-
f		80 ^[b]	76 ^[c]	74	> 99 ^[e]
g		97 ^[b]	91	76	>99 ^[e]

Tabelle 6: Substratbreite von Acylierung, Aza-Wittig Ringschluß und Oxidation. [a] Reagentien und Reaktionsbedingungen: Carbonsäure (1.1 Äq.), HATU (1.1 Äq.), Cs₂CO₃ (4 Äq.), CH₂Cl₂, 0 °C, 1-4 h; [b] Säurefluorid (2 Äq.), EtNiPr₂ (2 Äq.), CH₂Cl₂, 0 °C→RT, 1-2.5 h; [c] in 2,6-Lutidin; [d] bestimmt mittels ¹H-NMR und HPLC; [e] bestimmt mittels chiraler HPLC.

Es galt nun zu überprüfen, ob es bei der Oxidation zu den Imidazolen **66a-g** zu (teilweiser) Epimerisierung stereogener Zentren in Position 2 gekommen war. Imidazol **66a** zeigte ein

Diastereomerenverhältnis von 99 : 1 ($^1\text{H-NMR}$ und HPLC). Die Imidazole **66b**, **66c**, **66f**, **66g** wurden mittels chiraler HPLC auf ihren Enantiomerenüberschuß hin untersucht. Als Kontrolle dienten entsprechende Imidazole, die aus racemischem Cystein, D-Valin, D-Phenylalanin und D-Alanin hergestellt worden waren. Die aus Valin, Phenylalanin und Alanin hergestellten Imidazole waren enantiomerenrein. Einzig das aus Cystein synthetisierte **66b** enthielt zwei Prozent des entsprechenden Enantiomers. Genauere Untersuchungen zeigten, dass dieses Epimer schon als Nebenprodukt (ebenfalls 2 %) in *N*-Acylsulfonamid **64b** enthalten war. Die Epimerisierung am stereogenen Zentrum des Cysteins musste also entweder bei der Schützung der Aminosäure oder der Kupplung an Azido-Tosylamin **48a** aufgetreten sein. Der Ringschluss zum Imidazolin und dessen Oxidation zum Imidazol verliefen also auch für dieses Substrat epimerisierungsfrei.

3.4.6 Stabilität von Tosylimidazolinen

Einige der Imidazoline **65a-g** waren instabil und wurden leicht hydrolysiert. Beobachtet wurde dies z. B., wenn Kieselgel vor der Säulenchromatographie nicht mit Basen deaktiviert wurde oder Proben für mehrere Stunden in CHCl_3 gelöst blieben. Insbesondere dann, wenn das aktivierte Amidin nicht durch sterisch anspruchsvolle Substituenten in Position 2 gehindert war, wurde verstärkt Hydrolyse beobachtet. Im Fall von Imidazolin **65g** konnte dieses Nebenprodukt isoliert und dessen Struktur aufgeklärt werden (Abb. 18). Einen Vorschlag für den Mechanismus der Hydrolyse zeigt Schema 22. Protonierung des Imidazolins **65g** gefolgt von einem nukleophilen Angriff durch Wasser am Amidiniumkohlenstoff von **67** führt zu Intermediat **68**. Schließlich kommt es zur Öffnung des Imidazolidins und zur Bildung von Amid **69**. Das alternative Ringöffnungsprodukt mit primärem Amin und *N*-Acylsulfonamid wurde nicht gefunden. Es liegt nahe, dass dieses Hydrolyseprodukt nicht gebildet wird, weil das tosylsubstituierte Stickstoffatom sowohl aus elektronischen wie auch sterischen Gründen die bessere Abgangsgruppe ist.

Um diese Hydrolysereaktion zu unterbinden wurde die Chromatographie von Imidazolinen stets an mit NEt_3 deaktiviertem Kieselgel durchgeführt. Für NMR-Messungen wurde Benzol- d_6 oder Pyridin- d_5 verwendet. Auch für die Lagerung von Imidazolinen, aber auch Oxazolinen und Thiazolinen empfiehlt es sich die Verbindung in wenig Pyridin aufzuneh-

men und das Lösungsmittel größtenteils i.V. zu entfernen. Das Gemisch von Azolin und einem Rückstand von Pyridin kann dann bei tiefer Temperatur gelagert werden.

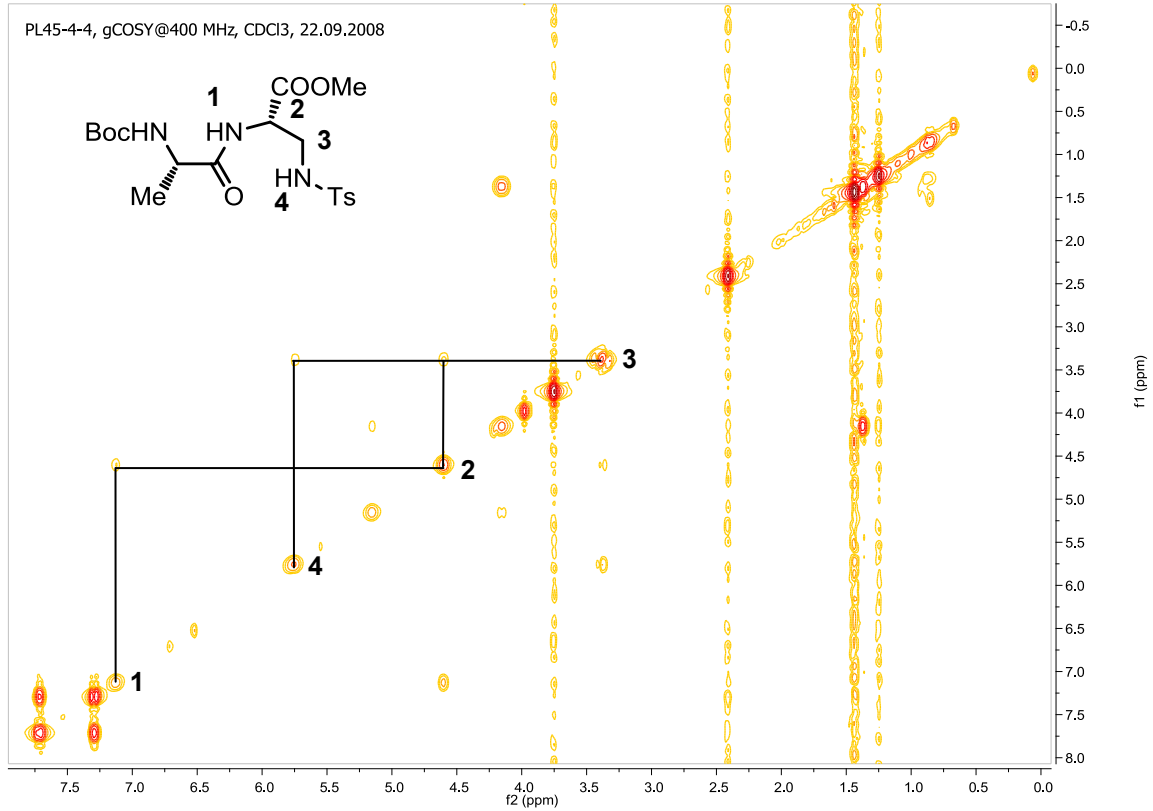
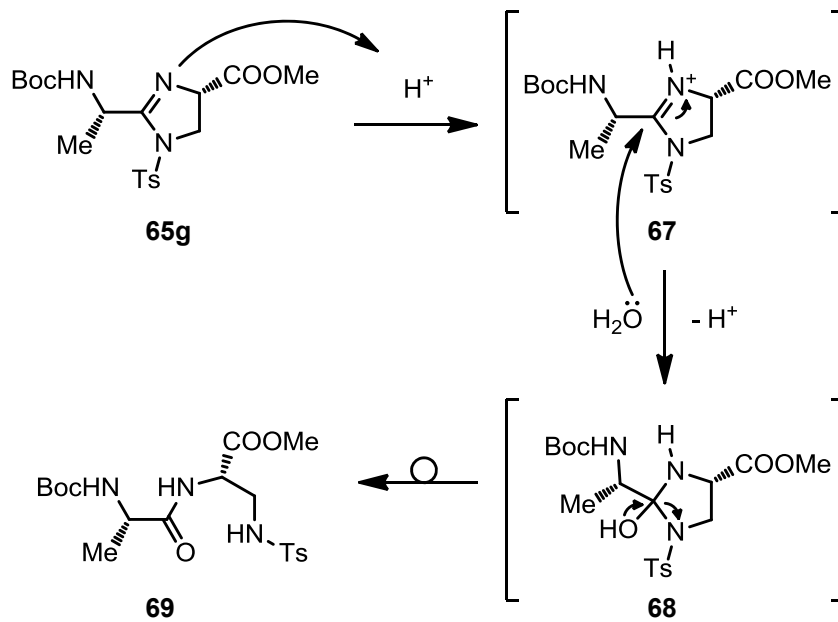


Abb. 18: Strukturaufklärung des Hydrolyseprodukts von Imidazolin **65g** (gCOSY-Spektrum).

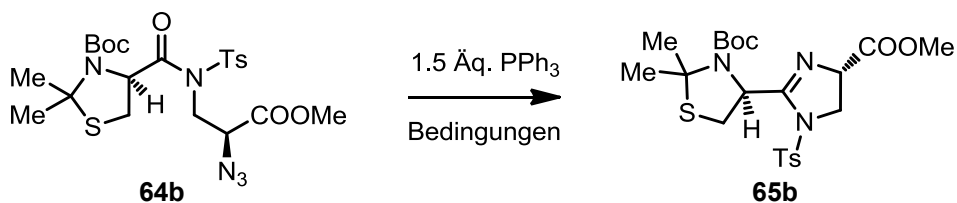


Schema 22: Mechanistischer Vorschlag für die Hydrolyse des Tosylimidazolins **65g**.

War Chloroform nötig, um das Azolin in Lösung zu bringen, so wurden einige Tropfen NEt_3 zugegeben, um Spuren von Salzsäure zu neutralisieren. Auch für die Aza-Wittig Reaktionen selbst erscheint es sinnvoll schwache Basen wie Pyridin oder das weniger nukleophile 2,6-Lutidin als Lösungsmittel einzusetzen, um säurevermittelte Nebenreaktionen bei erhöhter Temperatur zu unterdrücken.

3.4.7 Aza-Wittig Reaktionen in der Mikrowelle

Durch Erhitzen in der Mikrowelle lassen sich häufig Reaktionszeiten verringern oder Ausbeuten steigern^[200-201].



Nr.	Bedingungen	Zeit	Ausbeute (%)		
			THF	Pyridin	2,6-Lutidin
1	Rückfluss, 80 °C	6 h	46	55	80
2	Mikrowelle, 100 °C	10 min	63	64	75

Tabelle 7: Aza-Wittig Zyklisierungen in Ölbad und Mikrowelle.

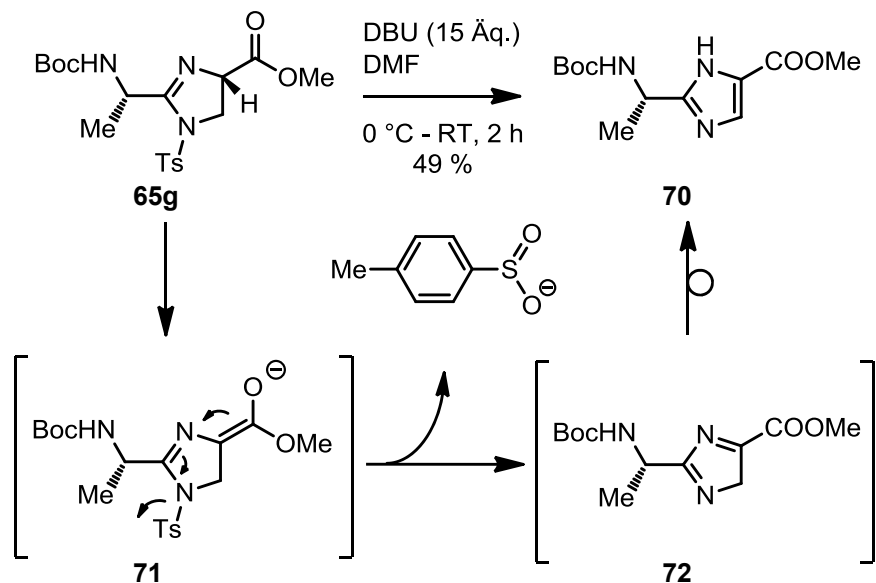
Um diesen Effekt zu untersuchen und ihn dem konventionellen Erhitzen im Ölbad gegenüberzustellen wurde *N*-Acylsulfonamid **64b** unter verschiedenen Bedingungen zu Imidazolin **65b** umgesetzt (Tabelle 7).

Dabei zeigte sich, dass Erhitzen auf 100 °C in der Mikrowelle nach nur 10 Minuten ähnliche Ausbeuten für Imidazolin **65b** lieferte, wie sechs Stunden Erhitzen zum Rückfluss (THF) bzw. auf 80 °C (Pyridin, 2,6-Lutidin).

3.4.8 Aromatisierung durch reduktive Eliminierung

Die Oxidation von Tosylimidazolin **65g** zum ungeschützten Imidazol **70** gelang mit einem Überschuss DBU in DMF (Schema 23). Wahrscheinlich eliminiert dabei Enolat **71** die

Tosylgruppe als Sulfinat. 5-*H*-Imidazol **72** kann dann zum stabileren 1-*H*-Imidazol **70** tautomerisieren. Nicht auszuschließen ist auch eine Oxidation von Imidazolin **65g** durch molekularen Sauerstoff und anschließende Abspaltung der Tosylgruppe. Kürzlich wurde berichtet, dass Aryloxazoline durch Luftsauerstoff mit Ausbeuten von 16 – 41 % zu Oxazolonen oxidiert werden können^[202]. Bei der Oxidation von Imidazolin **65g** war jedoch keine Bildung von Tosylimidazol **66g** zu beobachten (DC-Kontrolle).

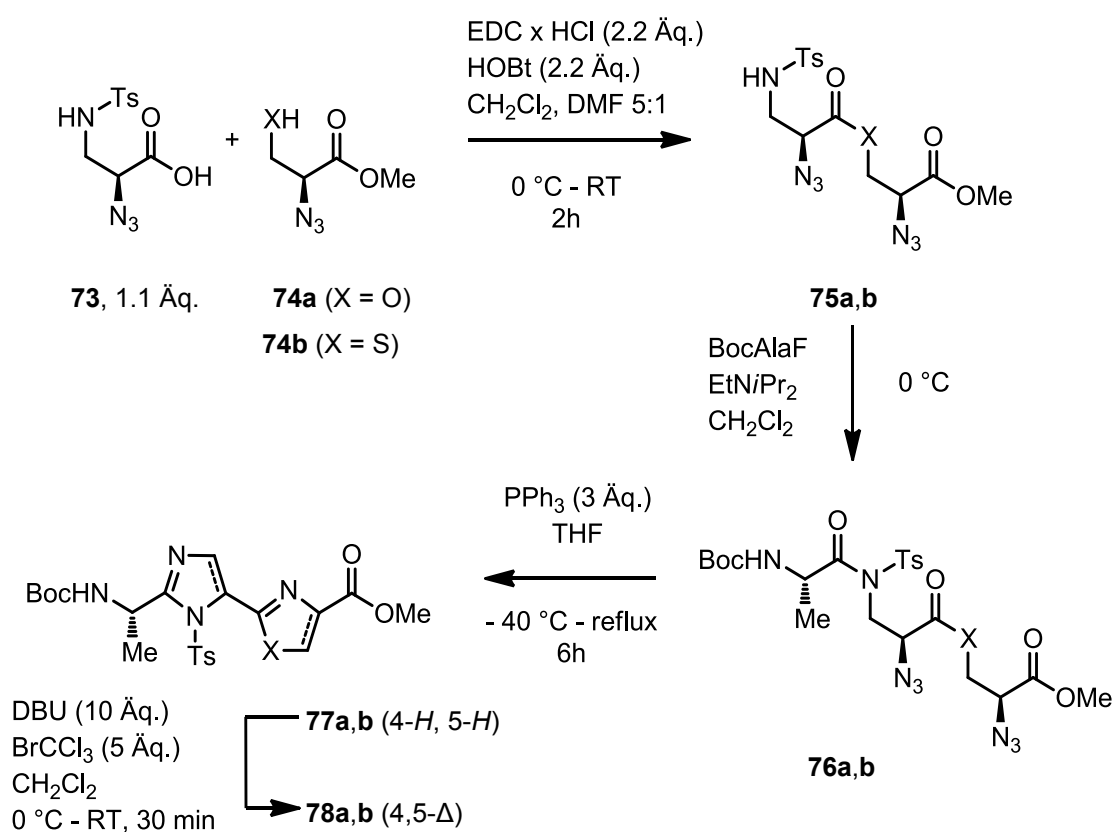


Schema 23: Oxidation durch reduktive Eliminierung von Sulfinat.

Die Oxidation durch Eliminierung von Sulfinat war allerdings nicht möglich, wenn DABCO oder DBN (15 Äq., 18 h, CH₂Cl₂) als Base verwendet wurden. In diesen Fällen wurden nur Spuren von Imidazol **70** erhalten. Auch Imidazol **70** und sein Epimer wurden mittels chiraler HPLC untersucht. Dabei zeigte sich, dass selbst unter diesen drastischen Bedingungen keine Epimerisierung eintritt.

3.5 Mehrfache Aza-Wittig-Ringschlüsse

Es konnte bereits gezeigt werden, dass mit der Aza-Wittig Reaktion sehr selektiv fünf- gliedrige Ringsysteme hergestellt werden können und dass der Ringschluß mehrerer Ester und Thioester in einem Molekül gleichzeitig möglich ist.^[8] Um diese Arbeiten auch auf Imidazoline auszudehnen wurden zwei Bisazide **76a,b** hergestellt, an denen ein doppelter Aza-Wittig Ringschluß erprobt werden sollte (Tabelle 8).



		Ausbeute (%)		
X		75	76	78
a	O	61	87 ^[a] , d.r.: 92:8	76 ^[c]
b	S	70	51 ^[b] , d.r.: 56:44	82 ^[c]

Tabelle 8: Synthese verschiedener Azolidimere durch multiple Aza-Wittig-Ringschlüsse; Bedingungen: [a]: Boc-Ala-F (2 Äq.), EtN*i*Pr₂ (1.1 Äq.), CH₂Cl₂, 0 °C, 30 min; [b]: Boc-Ala-F (1.05 Äq.), EtN*i*Pr₂ (1.05 Äq.), CH₂Cl₂, 0 °C, 45 min; [c]: Ausbeute über zwei Stufen.

Entfernung der Boc-Schutzgruppe von Aminosäure **52** mit HCl in Dioxan und Umsetzung des Ammoniumsalzes zum Azid nach **AV2** (nicht gezeigt) lieferten die α -Azidocarbonsäure **73**. Diese Carbonsäure wurde mithilfe von EDC und HOBT mit dem Alkohol **74a** (X = O) bzw. dem Thiol **74b** (X = S) in 61 bzw. 70 % Ausbeute verknüpft.

Um die Umsetzung chemoselektiv zu gestalten und Nebenreaktionen des Sulfonamids zu unterdrücken musste basenfrei gearbeitet werden. Wurde z.B. eine Base wie Et₃N zur Reaktionsmischung gegeben, so bildete sich eine Vielzahl von Nebenprodukten, wahrscheinlich weil in diesem Fall das Sulfonamid Nebenreaktionen eingeht.

Die Tosylamide **75a,b** wurden nun in CH₂Cl₂ mit Boc-Alanylfluorid und Et₃N umgesetzt. Für beide Umsetzungen waren kurze Reaktionszeiten, strikt wasserfreie Bedingungen, Temperaturen von 0 °C und die Verwendung von möglichst wenig Base nötig. Diese Bedingungen erlaubten die Isolierung von Amidoester **76a** mit 87 % Ausbeute, von Amidothioester **76b** allerdings nur mit 51 % Ausbeute. Die α -Azidoester und insbesondere der α -Azidothioester, waren instabil und wurden sehr leicht hydrolysiert, was wahrscheinlich auf eine erhöhte Elektrophilie am Carbonylkohlenstoff zurückzuführen ist. Die Synthese multipler konsekutiver Azol(in)e mithilfe der Aza-Wittig Reaktion erfordert also milde Methoden für die Synthese und Isolierung der empfindlichen Ringschlußvorläufer. Bei beiden Substraten wurde auch Epimerisierung festgestellt. Der Ester **76a** wurde mit einem Diastereomerenverhältnis von 92:8, der Thioester **76b** mit einem d.r. von 56:44 isoliert.

Trotz der hohen Empfindlichkeit der beiden Bisazide **76a** und **b** gegenüber Basen und Nucleophilen konnten beide in THF mit 3 Äq. PPh₃ glatt zu den Bisoxazolinen **77a,b** umgesetzt werden. Die Bisazoline wurden ohne Isolierung zu den Bisazolen **78a** und **b** umgesetzt, weil sie stark zu säurekatalysierter Ringöffnung bzw. Autooxidation neigten. Die Oxidationen gelangen glatt unter Standardbedingungen mit DBU (10 Äq.) und BrCCl₃ (5 Äq.). Das Imidazolyloxazol **78a** konnte mit einer Ausbeute von 76 % über zwei Stufen hergestellt werden, das Imidazolythiazol **78b** wurde in 82 % Ausbeute erhalten.

3.6 Fazit

Der methodische Teil dieser Arbeit befasste sich mit der Entwicklung einer Aza-Wittig Imidazol(in)synthese.^[203] Die Zyklisierungsvorläufer konnten mit guten Ausbeuten und sehr hohem Enantiomerenüberschuß hergestellt werden. Die Aza-Wittig Reaktionen lieferten unter optimierten Bedingungen Imidazoline in hervorragenden Ausbeuten. Die Oxidation zu den entsprechenden Imidazolen gelang unter Standardbedingungen mit DBU und BrCCl_3 mit guten Ausbeuten. Exemplarisch wurde demonstriert, dass die Oxidation auch durch eine Eliminierungsreaktion realisiert werden kann. Sowohl Ringschluß als auch Oxidation und Eliminierungsreaktion konnten bis auf wenige Ausnahmen durchgeführt werden, ohne dass eine Epimerisierung stereogener Zentren auftrat.

Untersuchungen zur Stabilität der Tosylimidazoline lieferten sowohl optimierte Bedingungen für die Ringschlüsse als auch Informationen darüber, wie Tosylimidazoline ohne Zersetzung gereinigt und analysiert werden können. Experimente zu multiplen Aza-Wittig Ringschlüssen gewährten Einsicht in die Synthese und Stabilität multipler α -Azido(thio)ester. Außerdem zeigten diese Versuche, dass die gleichzeitige Synthese von Imidazolen, Oxazolen und Thiazolen in einem Molekül mithilfe der Aza-Wittig Reaktion chemoselektiv und mit hoher Ausbeute möglich ist.

Sollen multiple Aza-Wittig Ringschlüsse zum Einsatz kommen, so muss in der Syntheseplanung berücksichtigt werden, dass die Azido(thio)ester-Vorstufen sowie die Azoline häufig leicht hydrolytisch gespalten werden können.

4 Beiträge zur Totalsynthese von Telomestatin

4.1 Einleitung – Telomestatin als Synthesziel

Wie bereits in den Kapitel 1.4 dargelegt wurde handelt es sich bei Telomestatin **4** um einen Naturstoff mit biologisch interessanter Wirkung. Telomestatin wirkt *in vitro* und *in vivo* apoptotisch auf eine Reihe von Krebszelllinien, der genaue Wirkmechanismus ist jedoch noch unbekannt. Zudem kann Telomestatin fermentativ bislang nur in sehr geringen Mengen gewonnen werden.^[13] Wir planen die Aza-Wittig Reaktion zu nutzen, um eine effiziente und flexible Syntheseroute für Telomestatin zu erschließen.

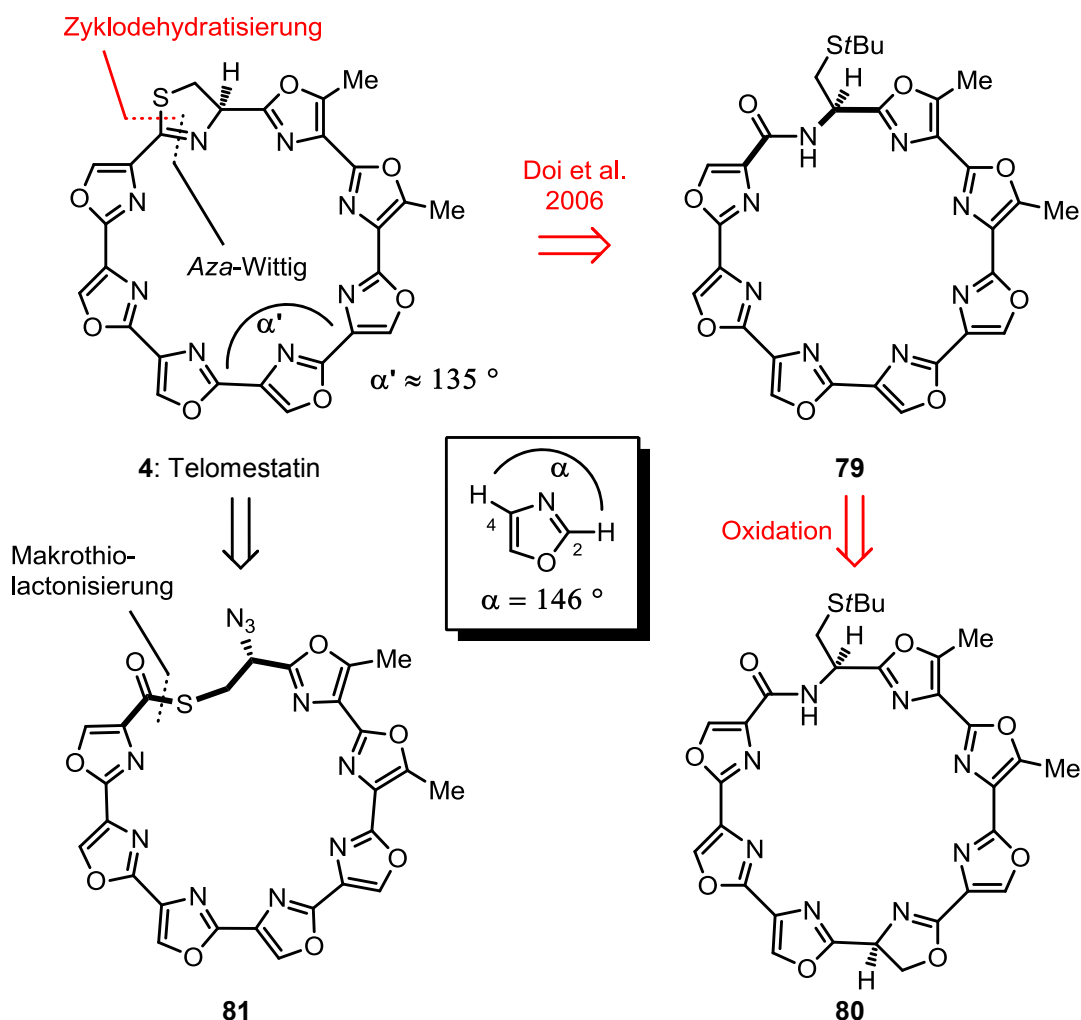
4.1.1 Retrosynthetische Überlegungen zur Makrozyklisierung

Betrachtet man das Telomestatin retrosynthetisch, so wird schnell klar, dass das Thiazolin als Letztes aufgebaut werden sollte, weil Thiazoline in vielen Fällen leicht durch Luftsauerstoff zum Thiazol oxidiert werden können.^[202]

Die einzige bisher bekannte Synthese von (*R*)-Telomestatin **4**, beschrieben durch Doi et al. (Schema 24 und Kap. 4.1.3), baute dieses Thiazolin durch die gleichzeitige Entschützung und Zyklodehydratisierung von Heptaioxazolactam **79** auf. Das Heptaioxazol **79** wurde über mehrere Stufen aus Oxazolin **80** hergestellt. Obschon mehrere synthetische Studien zum Telomestatin erschienen sind^[142, 204-208], wurde die Makrozyklisierung eines Heptaioxazols bisher noch nicht realisiert.

Warum wurde Heptaioxazolactam **79** nicht direkt durch Makrolactamisierung hergestellt? Eine mögliche Erklärung wäre, dass Makrolactam **79** unter Ringspannung steht und sich deshalb nur schwer aus der entsprechenden Heptaioxazolaminosäure herstellen lässt. Leider gibt es bis jetzt noch keine Kristallstruktur des Telomestatins oder eines makrozyklischen Vorläufers. Man kann die Ringspannung dennoch ungefähr abzuschätzen. Im unsubstituierten 1,3-Oxazol wurde für den Winkel α zwischen C2-H2 und C4-H4 ein Wert von 146° ermittelt (Schema 24).^[209] Dieser Wert war experimentell in der Gasphase bestimmt worden. In einem idealen, planaren Makrozyklus mit acht Oxazolen, die alle den gleichen Winkel α' aufspannen lässt sich geometrisch ein Winkel von 135° errechnen. Es ist also davon auszugehen, dass die Oxazole im Telomestatin unter einer Ringspannung von ca. 11° pro Oxazol stehen. Für den Zyklisierungsschritt sollte also ein flexibles Substrat, mit möglichst geringer Ringspannung gewählt werden.

Durch eine Aza-Wittig Reaktion anstelle der durch Doi umgesetzten Zyklodehydratisierung ließe sich Telomestatin auf Thioester **81** zurückführen. Im Folgenden möchte ich darlegen, warum dieser Ansatz zu einer geringeren Ringspannung und damit zu einer effizienten Zyklisierung führen könnte.



Schema 24: Retrosynthetische Analyse für die Makrozyklisierung von Telomestatin.

Für diesen Vergleich möchte ich Essigsäuremethylester und *N*-Methylacetamid heranziehen, weil für diese Verbindungen eine Reihe experimenteller und theoretischer Studien in Bezug auf Bindungslängen und -winkel sowie die Gleichgewichte zwischen *Z*- und *E*-Form publiziert wurden. Ab initio Rechnungen ergaben für *N*-Methylacetamid C-N-Bindungslängen von ca. 1.4 Å und für Essigsäuremethylthioester C-S-Bindungslängen von ca. 1.8 Å (Abb. 19).^[210-211] Der C-S-C-Bindungswinkel im Thioester ist mit 101 – 106° kleiner als im Amid (122 – 127°). Diese Werte allein erlauben jedoch kaum Aussagen über die relative Ringspannung in einem Lactam im Vergleich zu einem Thioester. Zwar

finden sich im Thioester längere C-S-Bindungen, das Molekül ist jedoch aufgrund seiner kleineren Bindungswinkel weniger gestreckt als *N*-Methylacetamid.

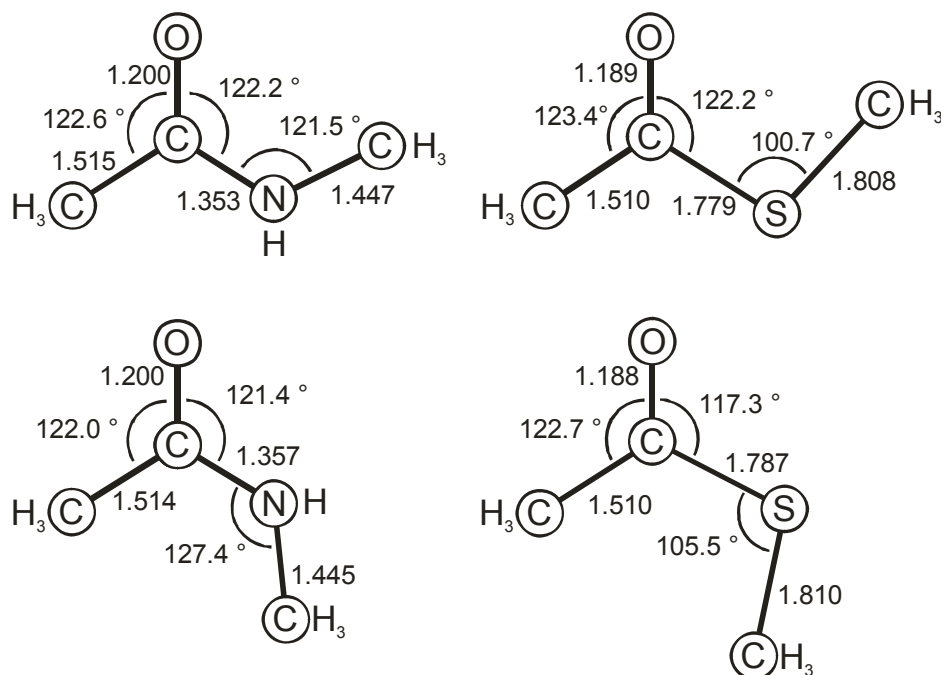


Abb. 19: Durch *ab initio* Rechnungen bestimmte Strukturen für *Z*- und *E*-*N*-Methylacetamid^[210] (links) und *Z*- und *E*-Essigsäuremethylthioester^[211] (rechts). Bindungslängen sind in Ångström angegeben.

Selbstverständlich sind jedoch die Methylgruppen beider Moleküle in der *E*-Konformation räumlich weniger weit voneinander entfernt als in der *Z*-Konformation. Deshalb sollen nun die relativen Stabilitäten von *Z*- und *E*-Konformation sowie die Rotationsbarrieren miteinander verglichen werden, um abschätzen zu können, inwieweit die *E*-Form in einem Thioester bevorzugt eingenommen werden könnte.

Amide, Ester und Thioester neigen im Allgemeinen dazu, eine *Z*-Konformation auszubilden. Diese Präferenz hat sowohl sterische (in diesem Fall Abstand der Methylgruppen) wie auch elektronische Gründe (geringeres Dipolmoment der *Z*-Form). Kürzlich wurden die freien Energien von *Z*- und *E*-Form für Essigsäuremethylester, Essigsäuremethylthioester, und *N*-Methylacetamid durch *ab initio* und DFT-Rechnungen bestimmt (Tabelle 9).^[212] Insbesondere bei Essigsäuremethylester ist demnach die *Z*-Form mit 7.42 kcal/mol Energieunterschied energetisch günstiger, als die *E*-Konformation. Dies wurde dadurch begründet, dass die Differenz der Dipolmomente zwischen *E*- und *Z*-Form hier besonders groß ist.

Konformerenpaar		ΔG_{gas}	ΔG_{aq}
ω_Z (<i>trans</i>)	ω_E (<i>cis</i>)		
		7.42	6.82
		4.38	4.26
		2.67	4.10

Tabelle 9: Energieunterschiede zwischen *E*- und *Z*-Konformer in AcOMe, AcSMe und AcNHMe angegeben in kcal/mol. In jedem der drei Konformerenpaare ist die *Z*-Form energetisch günstiger.^[212]

Insgesamt ergaben diese Berechnungen geringe Unterschiede zwischen Gasphase und solvatisierter Form. Auch die errechneten Energieunterschiede zwischen *E*- und *Z*-Form sind insbesondere beim Vergleich von Thioester und Amid sehr gering, obwohl die *Z*-Form beim Amid weniger bevorzugt wird.

Relevanter scheinen jedoch die Aktivierungsenergien für die Isomerisierung der beiden Konformere zu sein. NMR-Messungen der freien Energie von *N*-Methylacetamid in H₂O bei 333 K ergaben eine Barriere von 18.8 kcal/mol für die Umwandlung von *Z*- nach *E*-Form. In 1,2-Dichlorethan wurde ein sehr ähnlicher Wert von 18.0 kcal/mol gemessen.^[213] Die Energien, die nötig sind, um die Barriere zu überwinden sind also sehr viel höher, als die Energieunterschiede zwischen *Z*- und *E*-Form. Theoretische Studien zu den Aktivierungsenergien werden dadurch erschwert, dass die *E-Z*-Umwandlung durch verschiedene Übergangszustände, je nach Konformation der beiden Methylgruppen und dem Diederwinkel zwischen O-C-N-H_N, möglich ist.^[214] Allerdings finden sich in diesen Berechnungen (Metadynamiksimulation mit 232 Wassermolekülen) ähnliche Werte von 19.8 kcal/mol für den Übergang und ein Energieunterschied zwischen *Z*- und *E*-Form von 3.8 kcal/mol. Auch hier wurde ein geringer Unterschied zwischen ΔG_{gas} und ΔG_{aq} sowohl in Bezug auf die Energien der *Z*- und *E*-Konformation als auch in Bezug auf die Übergangszustandsenergien ermittelt.^[214] Einen direkten Vergleich mit der Rotationsbarriere von Essigsäuremethylthioester gab es in diesen Arbeiten nicht, jedoch berichteten Deerfield II und Pedersen für dieses Molekül einen *Z-E*-Energieunterschied von

4.9 kcal/mol und einer Rotationsbarriere von 10.1 kcal/mol, die durch *ab initio* Rechnungen bestimmt worden waren.^[211] Nagy, Messer et al. fanden für die Rotationsbarriere einen etwas höheren Wert von 13.1 kcal/mol.^[215] Abb. 20 fasst diese Ergebnisse zusammen. Die *Z*-Konformere von Thioester und Amid zeigen sind in Bezug auf ΔG jeweils ca. 4 kcal/mol stabiler, als die *E*-Konformere. Die Aktivierungsenergie für die Umwandlung der Konformere beträgt für den Thioester ca. 10 kcal/mol, für das Amid allerdings ca. 20 kcal/mol.

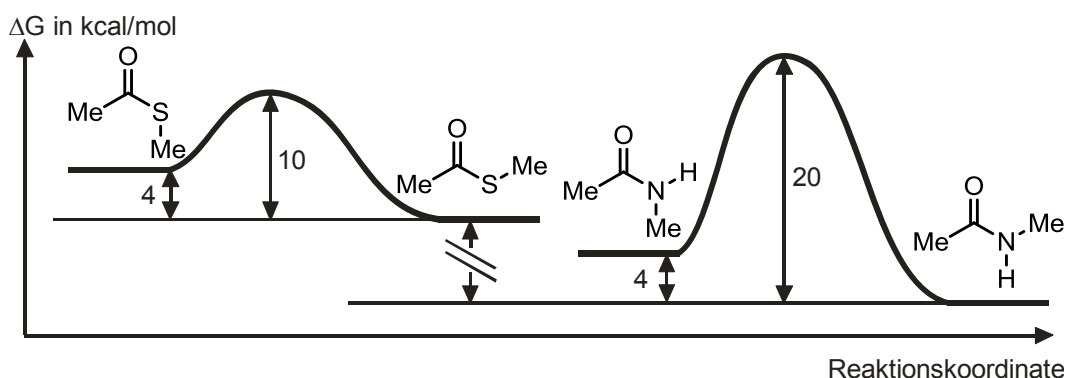


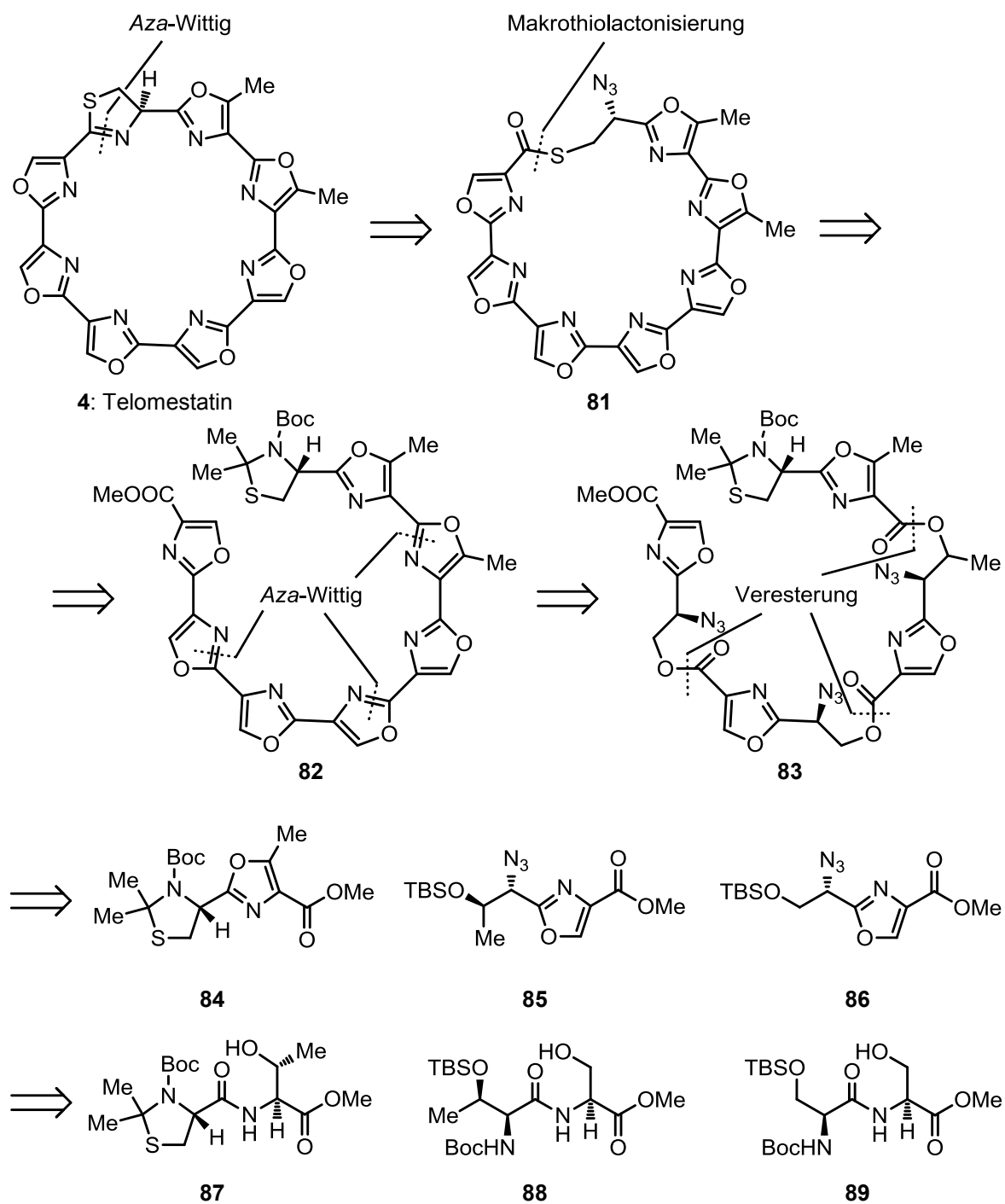
Abb. 20: Ungefähre Differenzen der freien Energien der *Z*- und *E*-Konformationen von AcSMc und AcNHMe sowie ungefähre Aktivierungsenergien für die Konformationsänderung. Diese Grafik spiegelt nur Verhältnisse in Bezug auf die Konformere wieder, nicht in Bezug auf verschiedene Moleküle.

Man kann also davon ausgehen, dass die *Z*-Konformation, die in einem Makrozyklus energetisch stabiler sein sollte als in den hier betrachteten Modellverbindungen, in einem Thiolacton leichter angenommen werden kann, als in einem Lactam. Ein weiterer Grund, warum Thiolacton **81** höchstwahrscheinlich weniger gespannt ist, als Makrolactam **79** ist die zusätzliche Methylengruppe in **81**. In Thiolacton **81** finden sich vier bis fünf frei drehbare Bindungen, im Makrolactam **79** lediglich drei frei drehbaren Bindungen (Schema 24, fett gezeichnete Bindungen).

Um diese Makrozyklisierungsstrategie zu untersuchen musste zuerst eine effiziente Synthese der entsprechenden Thiolcarbonsäure realisiert werden.

4.1.2 Biomimetische Synthese des Zyklisierungsvorläufers

Die methodischen Arbeiten zur Aza-Wittig Reaktion erlauben die gleichzeitige Synthese mehrerer Azoline in einem Molekül.



Schema 25: Retrosynthetische Analyse des Telomestatins.

Um die Synthese des Zyklisierungsvorläufers möglichst konvergent zu gestalten, planen wir durch einen multiplen Aza-Wittig Ringschluss drei Oxazoline gleichzeitig einzuführen (Schema 25). Diese Strategie zeigt auch Parallelen zur vermuteten Biosynthese des Telomestatins bei der die Oxazoline wahrscheinlich auch nach der Synthese der Peptidkette eingeführt werden (Kap. 1.3.1 und 1.3.2).

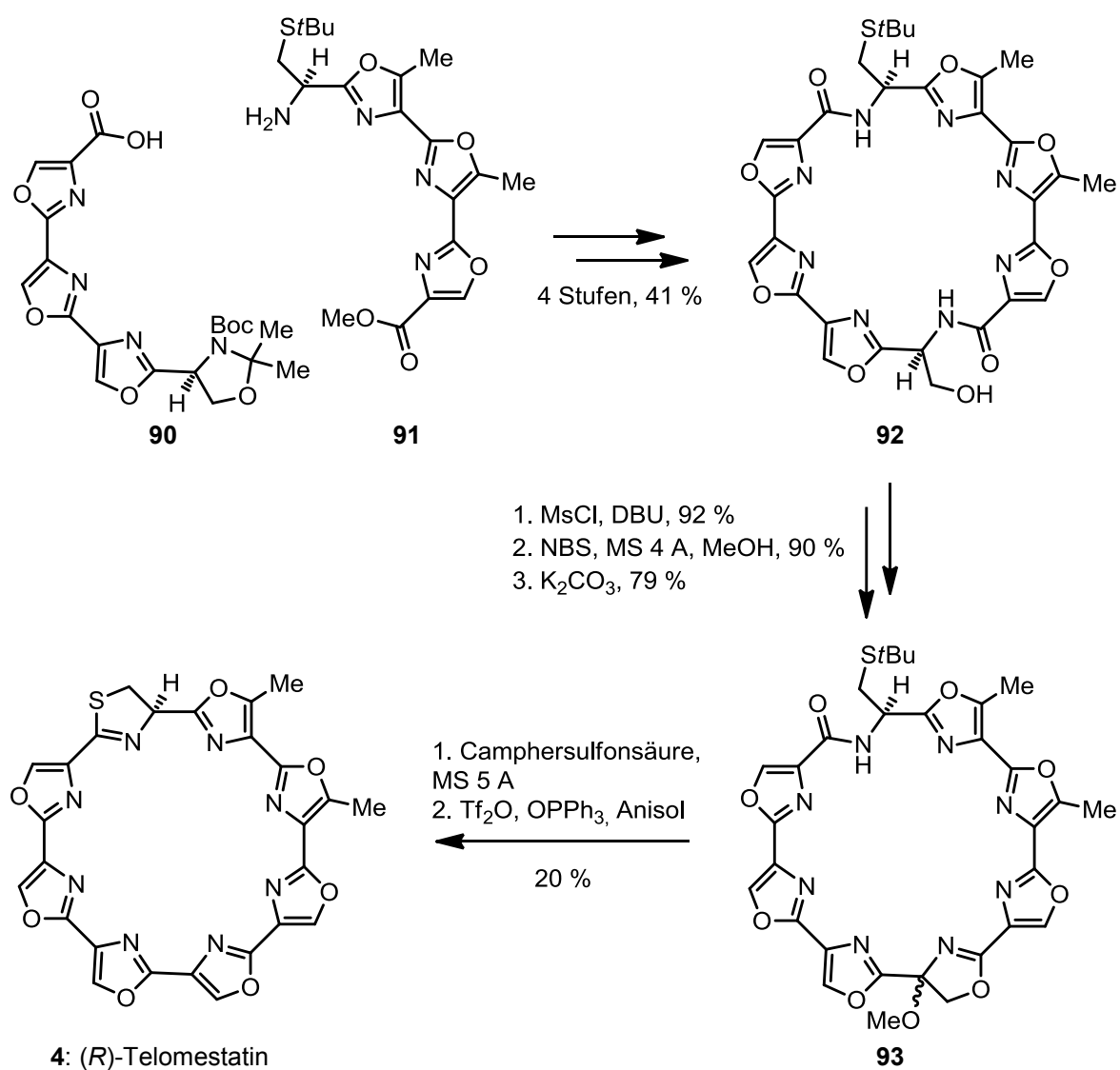
Thiolactam **81** lässt sich retrosynthetisch auf Heptaoxazol **82** zurückführen. Wir planen die Verwendung orthogonaler Schutzgruppen, um die Carbonsäure unter basischen Bedingungen, Thiol und Amin hingegen unter sauren Bedingungen freisetzen zu können. Das Boc-geschützte S-N-Ketal in **82** wurde schon mehrfach verwendet, um cysteinabgeleitete Synthesebausteine vor Epimerisierung des stereogenen Zentrums zu schützen.^[168, 171, 216-217] Drei Aza-Wittig Ringschlüsse führen Heptaoxazol **82** auf den Tris- β -azidoester **83** zurück. Durch die Arbeit an Modellsubstraten konnte schon vorher gezeigt werden, dass die Aza-Wittig Reaktion gleichzeitig mehrere Ringe schließen kann (Kap. 3.5 und Dissertation Matthias Riedrich^[8]) und mit peptidischen Strukturen kompatibel ist.^[169-170] Deshalb waren wir zuversichtlich, diese Strategie realisieren zu können. Außerdem werden bei dieser Syntheseplanung direkt aufeinanderfolgende Azidoester bzw. -thioester vermieden, weil sie potentiell sehr leicht mit Nukleophilen reagieren können und daher wahrscheinlich schwer handzuhaben sind (siehe Kap. 2.2 und 3.5). Der Tris- β -azidoester **83** lässt sich auf die Oxazolbausteine **84**, **85** und **86** zurückführen. Diese Oxazole sollten aus den Dipeptiden **87**, **88** und **89** hergestellt werden. Die Ausgangsstoffe bildeten die Aminosäuren Cystein, Threonin und Serin, die zuerst mit den orthogonalen Schutzgruppen versehen werden mussten. Nach Etablierung der Totalsynthese sollte ein Austausch dieser Bausteine leicht möglich sein und die Synthese neuer Derivate ermöglichen. In Kombination mit der zuvor entwickelten Strategie der Aza-Wittig Synthese von Thiazolen, Oxazolen und Imidazolen, würde sich so der Zugang zu einem breiten Spektrum möglicher Telomestatinanaloge eröffnen.

Um diese Strategie im Kontext bisheriger Arbeiten einordnen zu können, möchte ich als Nächstes wichtige Aspekte der durch Doi et al. publizierten Telomestatinsynthese besprechen (Kap. 4.1.3). Danach beschreibe ich bisherige Arbeiten zu Makrothiolactonierungen und multiplen Ringschlüssen (Kap. 4.1.4 und 4.1.5). Als Letztes möchte ich einige Naturs-

stoffe vorstellen, die mit dem Telomestatin verwandt sind (Kap.4.1.6). Das vorgestellte Synthesekonzept könnte auch auf diese Analoga erweitert werden.

4.1.3 Totalsynthese von (*R*)-Telomestatin durch Doi et al.

Bis heute wurde nur eine Totalsynthese des Naturstoffs (*R*)-Telomestatin **4**^[208] und eine analoge Synthese des Enantiomers (*S*)-Telomestatin berichtet.^[143] Bei der Synthese durch die Gruppe von Doi wurden zunächst die beiden Trisoxazolbausteine **90** und **91** hergestellt (Schema 26).



Schema 26: Abschluß der Totalsynthese des natürlichen (*R*)-Telomestatins **4** durch Doi et al..^[208]

Der Aufbau der Oxazole in **90** und **91** erfolgte durch Zyklodehydratisierung mit DAST bzw. Burgess Reagenz und Oxidation mit Bromtrichlormethan und DBU. Eines der 5-Methyloxazole wurde durch Swern-Oxidation und Robinson-Gabriel Zyklisierung hergestellt (siehe Kap. 4.2). Die Trisoxazole **90** und **91** wurden zu einem Amid verknüpft, anschließend wurden Amin, Alkohol und Carbonsäure entschützt und zu Makrolactam **92** umgesetzt. Der Alkohol wurde mesyliert und mit NBS und MeOH in Anwesenheit von Molekularsieb (4 Å) zu einem α -Methoxy- β -Bromoamid umgesetzt. Erhitzen in 1,4-Dioxan in Anwesenheit von K_2CO_3 lieferte 4-Methoxyoxazolin **93**. Dieses Oxazolin wurde mit Camphersulfonsäure und Molekularsieb (5 Å) in Toluol erhitzt. Dabei entstand ein Heptaoxazol durch Eliminierung von Methanol.

Als Letztes wurde das *tert*-Butylthiol mit Triphenylphosphinoxid und Triflylanhydrid gleichzeitig entschützt und zum Thiazolin umgesetzt. Diese Methode war zuvor von Kelly et al. entwickelt worden.^[218-219] (*R*)-Telomestatin wurde mit einer Ausbeute von 20 % nach Reinigung mittels präparativer HPLC erhalten.

Einige weitere Arbeiten von Chattopadhyay^[204-205], Marson^[206] und Pattenden^[207] beschäftigen sich mit der Synthese von Polyoxazolbausteinen für Telomestatin. Allerdings ist die Umsetzung der Bausteine zum Telomestatin selbst in diesen Arbeiten nicht beschrieben worden. Bei einer formalen Totalsynthese durch Moody und Mitarbeiter wurden Amide mit Rhodiumcarbenen verknüpft.^[142] Die dabei hergestellten β -Ketoamide wurden mittels Robinson-Gabriel-Zyklisierung in Oxazole überführt. Telomestatin selbst wurde in dieser Arbeit nicht hergestellt, sondern nur Intermediat, das auch schon zuvor durch Doi et al. beschrieben worden war.

4.1.4 Studien zu Makrothiolactonisierungen

Um die Makrozyklisierung von Telomestatin möglichst effizient zu gestalten, wurde in unserem Synthesegang die Makrothiolactonisierung einer Thiolcarbonsäure geplant.

Dieser synthetische Ansatz wurde im Vergleich zur Synthese von Lactamen und Lactonen nur sehr wenig untersucht. Hierbei spielt sicher eine Rolle, dass Thiolactone, im Gegensatz zu Lactamen und Lactonen, nur sehr selten natürlich vorkommen. Z. B. spielen Peptide, die zu Thiolactonen zyklisiert werden eine Rolle als temporäre Signalstoffe für das sog.

quorum sensing, einem Mechanismus mit dem Bakterien kommunizieren und ihre Zelldichte messen. [220-221]

Einige bisher bekannte Beispiele für Thiolactonisierungen sind in Abb. 21 dargestellt.

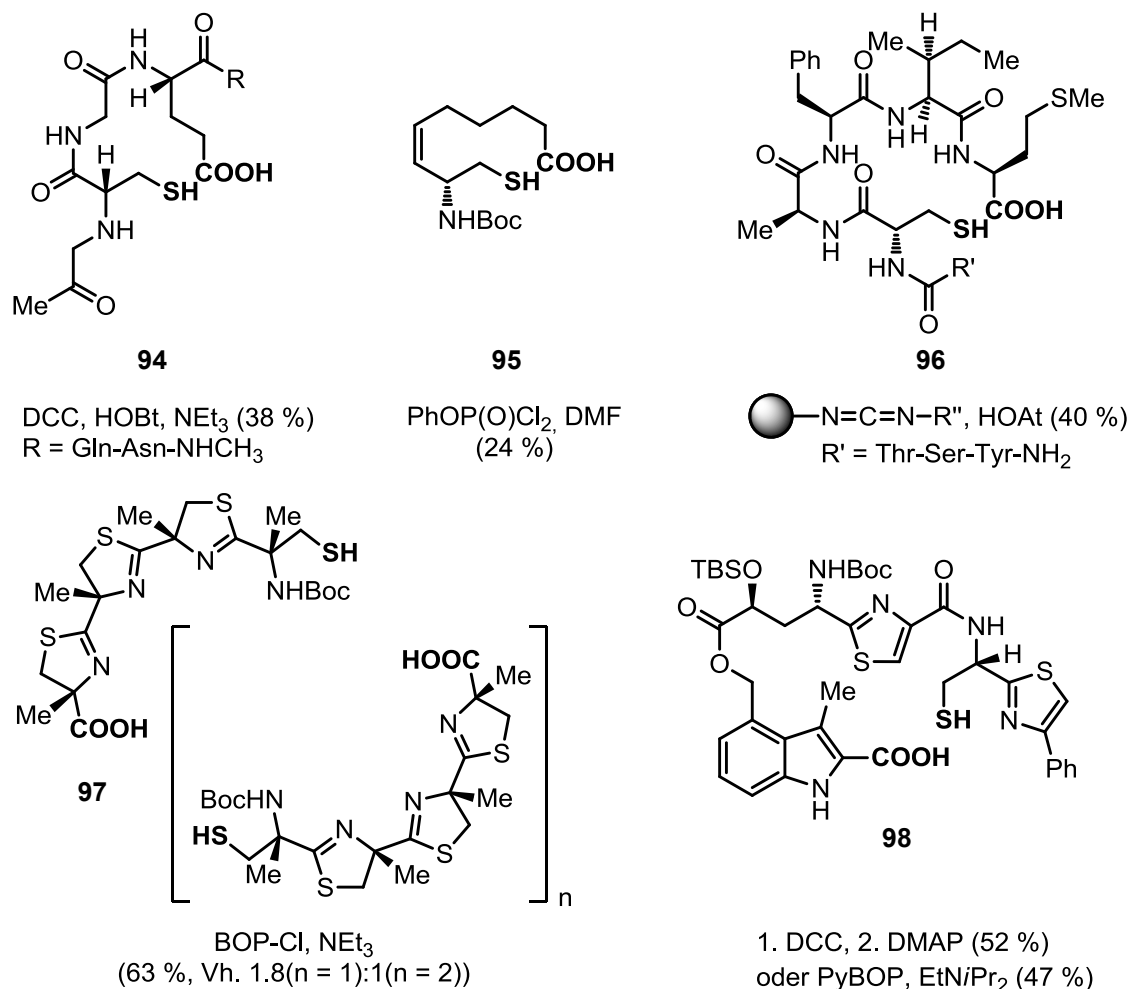


Abb. 21: Beispiele für Substrate, die durch Makrothiolactonisierung zyklisiert werden konnten. Unter den Substraten sind Reagenzien und Ausbeuten angegeben. Thiole und Carbonsäuren, die zu Thiolactonen umgesetzt wurden sind **fett** dargestellt.

Erickson und Mitarbeiter beschrieben die Zyklisierung der 12-gliedrigen Thiolcarbonsäure **94** mit DCC und HOBT in einer Ausbeute von 38 % nach Reinigung mittels präparativer HPLC. [222] Für eine Synthese von (+)-Biotin wurde der Zyklisierungsvorläufer **95** zu einem 10-gliedrigen Thiolacton zyklisiert. Dafür wurden Phenyldichlorophosphat und DMF verwendet, das Produkt konnte aber nur mit 24 % Ausbeute gewonnen werden. [223] Das Oktapeptid **96** wurde mit einem polymergebundenen Carbodiimid und HOAt in einer Aus-

beute von 40 % nach Entschützung mit TFA erhalten.^[224] Fukuyama et al. demonstrierten, dass zwei bzw. drei Tristhiazoline **97** mit BOP-Cl zu makrozyklischen Thioestern umgesetzt werden können. Bei dieser Reaktion wurden 63 % einer Mischung von Hexathiazolin und Nonathiazolin (Vh. 1.8:1) erhalten.^[225]

Das jüngste Beispiel stammt aus der Synthese eines Fragments des Naturstoffs Nosiheptid und wurde veröffentlicht, als die Arbeiten zu dieser Dissertation begannen. Die Gruppe um Moody zyklisierte Indolcarbonsäure **98** zum Thiolacton und verwendete dafür DCC und DMAP (52 % Ausbeute) bzw. PyBOP und EtNiPr₂ (47 % Ausbeute).^[226]

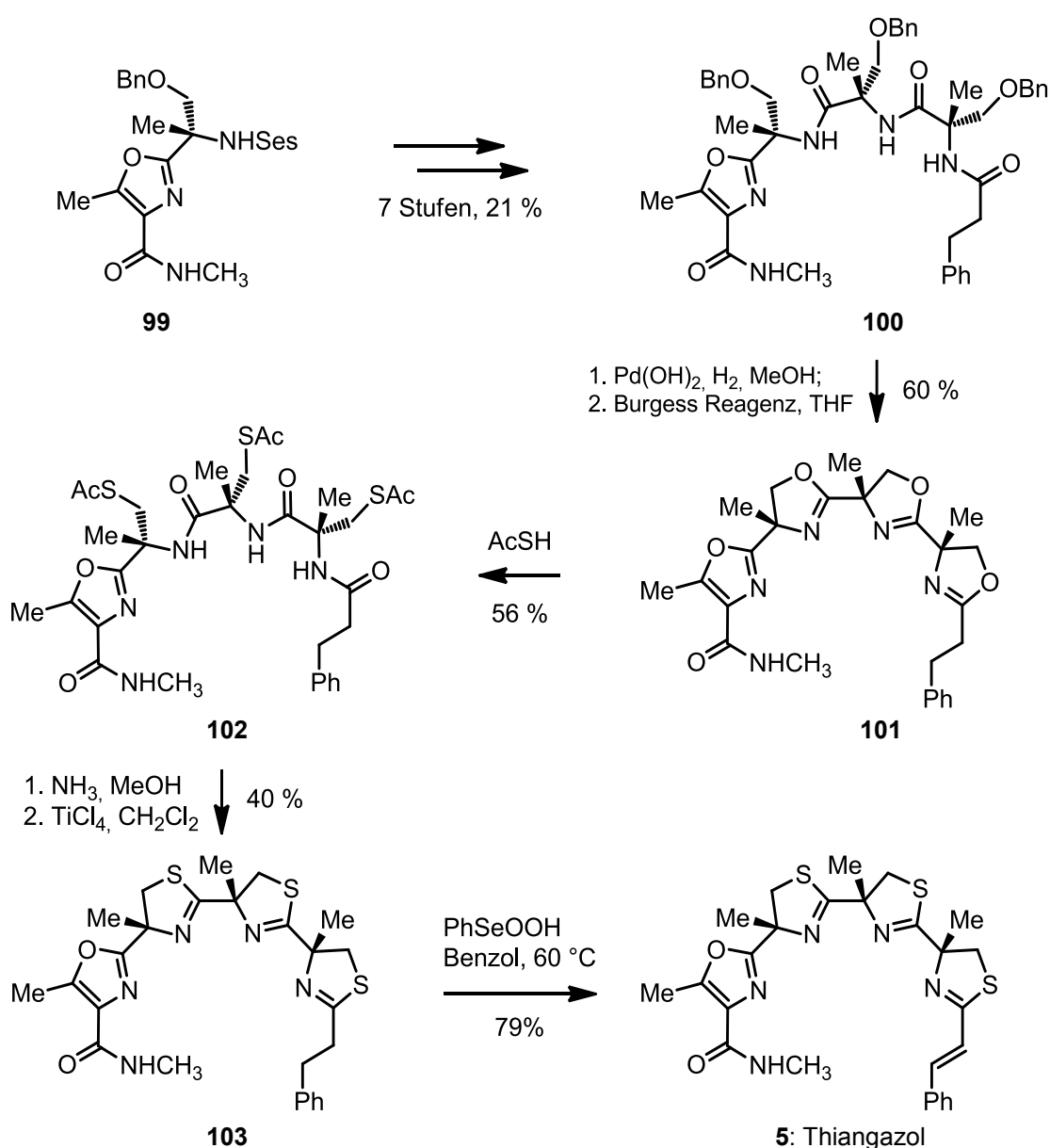
Ein grundsätzliches Problem bei der Synthese von Thiolactamen bzw. Thioestern im Allgemeinen ist, dass sie prinzipiell mit Alkoholen und Aminen zu Estern und Amiden reagieren können. Unsere Synthesestrategie erlaubt jedoch die Stabilisierung eines möglicherweise instabilen Thioesters durch nachfolgende Aza-Wittig Zyklisierung zum weitaus weniger elektrophilen Thiazolin.

Für Makrozyklisierungen durch Verknüpfung eines Thiols mit einer Carbonsäure gibt es also eine Reihe von Präzedenzfällen. Außerdem wurde diese Umsetzung unter Verwendung verschiedener Reaktionsbedingungen beschrieben. Es gibt also viele Variationsmöglichkeiten um diese Reaktion für Telomestatin zu realisieren.

4.1.5 Multiple Ringschlüsse von Azolinen in der Naturstoffsynthese

Bidirektionale Synthese gleicher oder ähnlicher Substituenten^[227-230], Dominoreaktionen^[231] und multiple Ringschlüsse sind in der Lage, die Synthese komplexer Moleküle effizient und elegant zu gestalten. Enzymatisch vermittelte multiple Ringschlüsse sind typisch für Biosynthesen von ribosomalen Naturstoffen (Kap. 1.3.2)

Hier sollen zwei Beispiele für die gleichzeitige Synthese mehrerer Azoline in einem Schritt näher diskutiert werden. Die Gruppe um Wipf demonstrierte in ihrer Totalsynthese von Thiangazol (Schema 27)^[232], dass Oxazoline und Thiazoline durch multiple Ringschlüsse

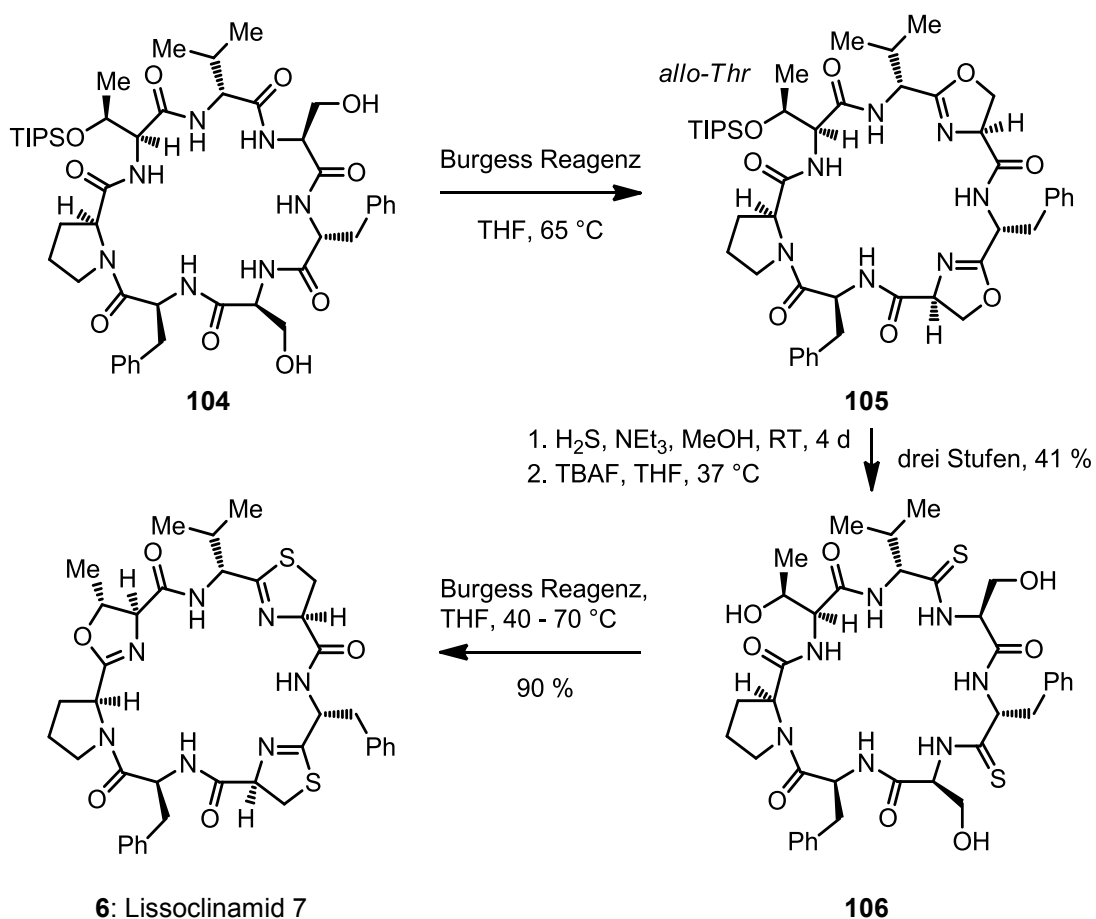


Schema 27: Multiple Ringschlüsse in einer Totalsynthese von Thiangazol (**5**).^[232]

hergestellt werden können.

Oxazolbaustein **99** wurde in 7 Stufen in den geschützten Zyklisierungsvorläufer **100** überführt. Der Trisbenzylether **100** wurde zunächst mit Wasserstoff und Pd(OH)₂ vollständig entschützt und dann mit Burgess Reagenz zu Trisoxazolin **101** umgesetzt. Die drei Oxazoline wurden mit Thioessigsäure zum Tristhioester **102** geöffnet. Daraus wurde das Tristhiol mit Ammoniak freigesetzt und mit TiCl₄ in das Trisoxazolin **103** überführt. Oxidation mit Phenylseleninsäure lieferte schließlich Thiangazol (**5**).

Auch das Zyklopeptid Lissoclinamid **7** wurde durch Wipf und Mitarbeiter mit einer ähnlichen Strategie dargestellt (Schema 28).^[16]



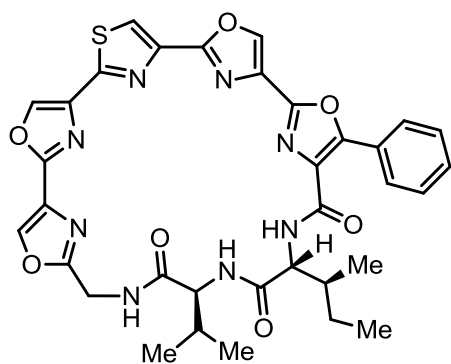
Schema 28: Totalsynthese von Lissoclinamid **7** (**6**) durch dreifache Zyklodehydratisierung.^[16]

Das Makrolaktam **104** wurde mit Burgess Reagenz in das Bisoxazolin **105** überführt. Reaktion mit H₂S führte zur Öffnung der beiden Oxazoline, wobei ein Bisthioamid entstand. Nach Entfernen der TIPS-Schutzgruppe mit TBAF wurde Trisalkohol **106** in einer Ausbeute von 41 % über drei Stufen erhalten. Im letzten Schritt wurde mit Burgess Reagenz

eine dreifache Zyklodehydratisierung durchgeführt, nach der Lissoclinamid 7 (**6**) mit einer hervorragenden Ausbeute von 90 % isoliert wurde. Es ist zu erwähnen, dass die Zyklodehydratisierung mit Burgess Reagenz unter Inversion stereogener Zentren am Alkohol verläuft.^[233] Deshalb wurde im Zyklisierungsvorläufer *allo*-Threonin eingesetzt, das bei der dreifachen Zyklodehydratisierung durch Inversion in das natürliche 2*S*-3*R*-Threonin überführt wird.

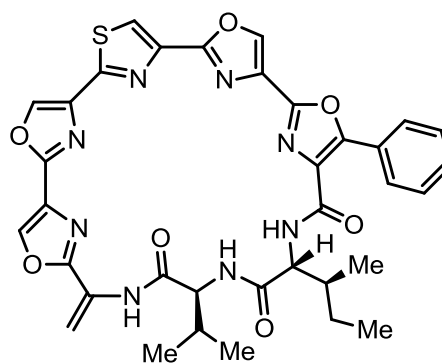
4.1.6 Telomestatin-ähnliche Naturstoffe

Eine Reihe von Naturstoffen, die dem Telomestatin strukturell sehr ähnlich sind, konnte bis heute isoliert werden (Abb. 22). Diese Analoga könnten ebenfalls durch eine Aza-Wittig Synthesestrategie erschlossen werden.



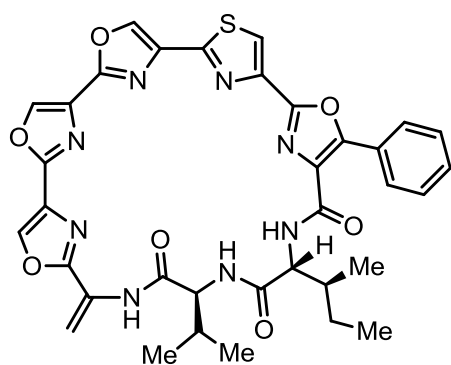
107: YM-216391

(*Streptomyces nobilis*)



108: IB-01211

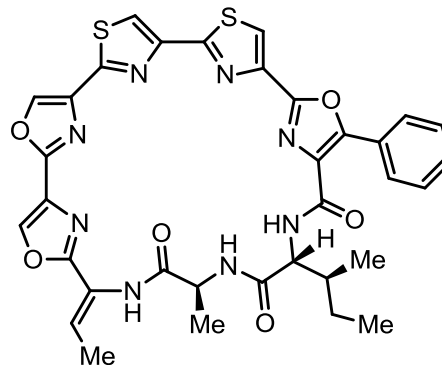
(*Thermoactinomyces* genus)



109: Mechercharmycin A bzw.

Mechercharstatin

(*Thermoactinomyces* sp.)



110: Urukthapelstatin A

(*Mechercharimyces asporophorigenus*)

Abb. 22: Mit Telomestatin verwandte Naturstoffe. Organismen, denen die Produktion des Naturstoffs zugeschrieben wird sind in Klammern angegeben.

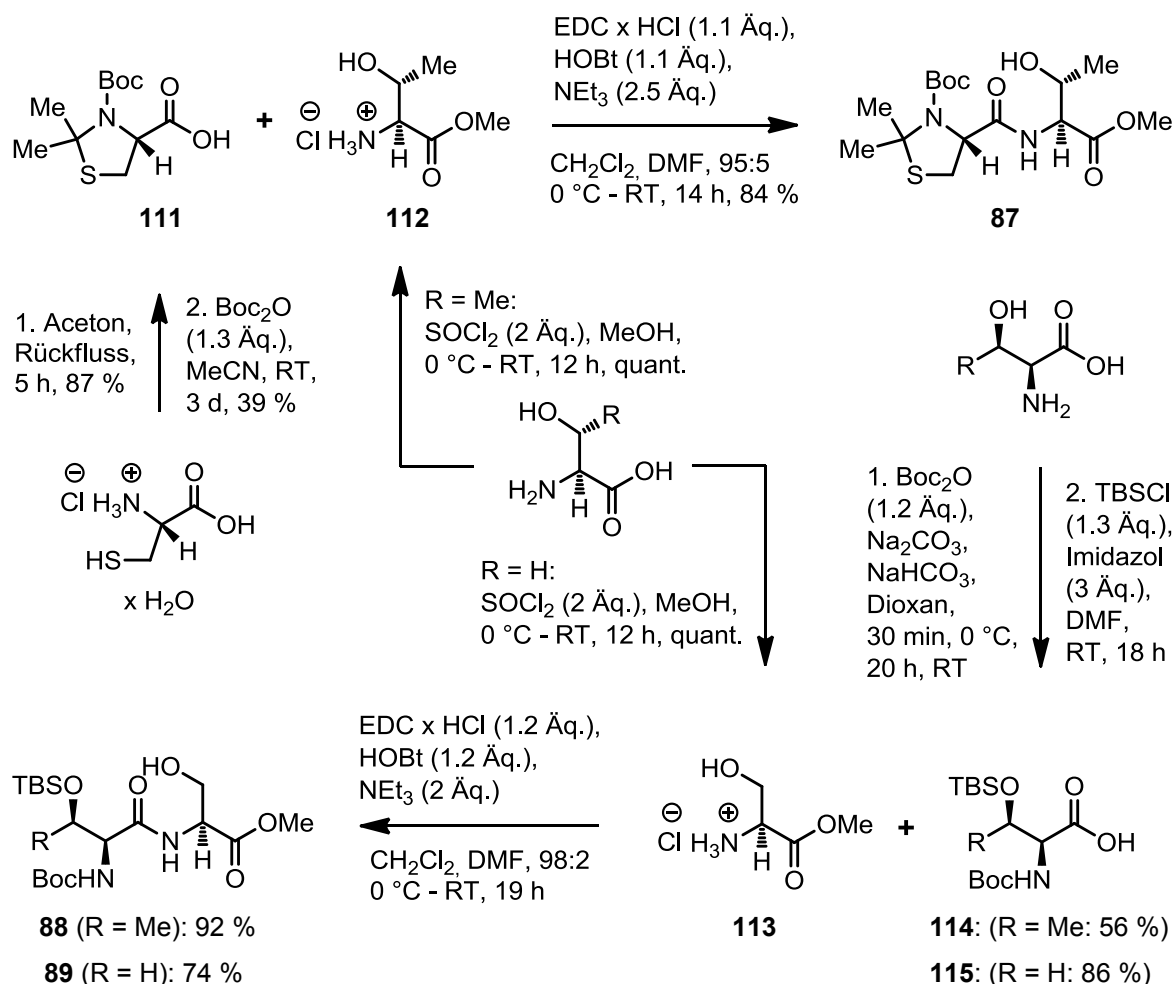
Allen gemein sind fünf konsekutive Azole, darunter ein Thiazol und ein 5-Phenyloxazol. Außerdem enthalten alle eine peptidische Untereinheit bestehend aus Valin und der nicht natürlichen Aminosäure *D-allo*-Isoleucin bzw. Alanin und *D-allo*-Isoleucin. Der am besten untersuchte Vertreter der Reihe ist das YM-216391 (**107**).^[234-235] Vor Kurzem wurde der an der Biosynthese von YM-216391 beteiligte Gencluster beschrieben^[236], außerdem wurde bereits eine Totalsynthese^[207] berichtet.

Sehr eng verwandt ist das IB-01211 (**108**),^[237] das auch schon synthetisch erschlossen wurde.^[238] Der Naturstoff Mechercharstatin (**109**),^[239] der früher als Mechercharmycin A bezeichnet wurde unterscheidet sich durch eine andere Abfolge von Oxazolen und Thiazol sowie durch eine Dehydroalanineinheit.

Urukthapelstatin A (**110**)^[240-241] enthält zwei Thiazole und eine aus Threonin abgeleitete Dehydroaminosäure. In einer synthetischen Studie konnte bisher ein linearer Vorläufer, nicht jedoch Urukthapelstatin selbst hergestellt werden.^[242]

4.2 Synthese der Bausteine

Der erste Schritt in der Aza-Wittig inspirierten Synthese von Telomestatin war die Herstellung dreier Dipeptide **87**, **88** und **89** (Schema 29).



Schema 29: Synthese der Dipeptide **87**, **88** und **89** aus Cysteinhydrochlorid Monohydrat, Threonin und Serin.

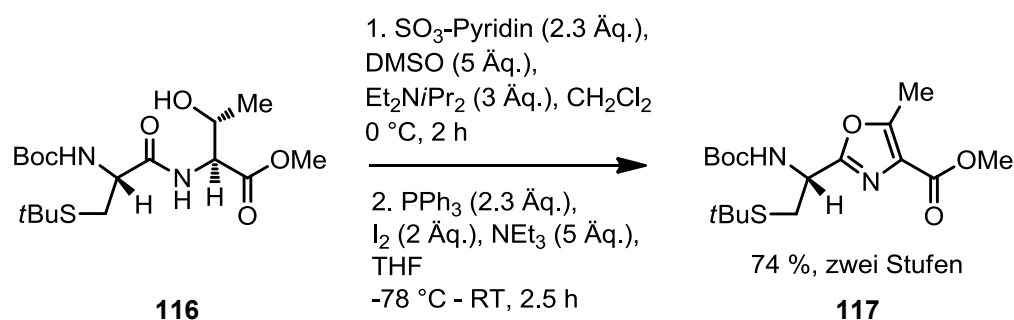
Dafür wurde zuerst *L*-Cysteinhydrochlorid Monohydrat mit Aceton in ein Thiazolidin überführt und in einem zweiten Schritt in das Boc-geschützte Dimethylthiazolidin (Boc-Dmt-OH) **111** überführt.^[243-244] Aus Threonin wurde mit Thionylchlorid und MeOH der Methyl ester **112** hergestellt.^[245] Die Kupplungspartner wurden mit EDC, HOBt und NEt_3 zu Dipeptid **87** umgesetzt.

Die Dipeptide **88** und **89** wurden beide aus Serinmethyl ester **113** hergestellt, der wie im Falle des Threoninmethyl esters durch Versetzen von Serin mit SOCl_2 und MeOH erhalten

werden konnte.^[245] Die beiden Kupplungspartner **114** und **115** konnten auch aus Serin und Threonin hergestellt werden. Dafür wurden *L*-Serin und *L*-Threonin zuerst mit einer Boc-Schutzgruppe^[246-247] und dann mit einer TBS-Schutzgruppe^[247-249] versehen. Wie schon zuvor gelang die Kupplung zu Boc-Thr(TBS)-Ser-OMe **88** und Boc-Ser(TBS)-Ser-OMe **89** mit guten Ausbeuten von 92 bzw 74 %

Geschützte Dipeptide wie **88** und **89** mit Serin als C-terminaler Aminosäure kann man häufig mit Burgess Reagenz^[250-251] oder DAST^[252] in Oxazoline überführen und mit einer Mischung aus DBU und BrCCl₃^[199] zum Oxazol oxidieren. Ersetzt man Serin durch Threonin (Dipeptid **87**), so laufen Oxidationsreaktionen zum entsprechenden Oxazol allerdings häufig mit schlechterer Ausbeute ab.^[253]

Bei der Synthese von (*R*)-Telomestatin durch Doi et al. wurde das geschützte Cystein-Threonin Dipeptid **116** in einer Parikh-Doering Oxidation^[254] mit SO₃ und DMSO zum Keton umgesetzt und dann im Sinne einer Robinson-Gabriel-Zyklisierung^[255-257] mit Iod und Triphenylphosphin nach Wipf^[253] in das 5-Methyloxazol **117** überführt (Schema 30).



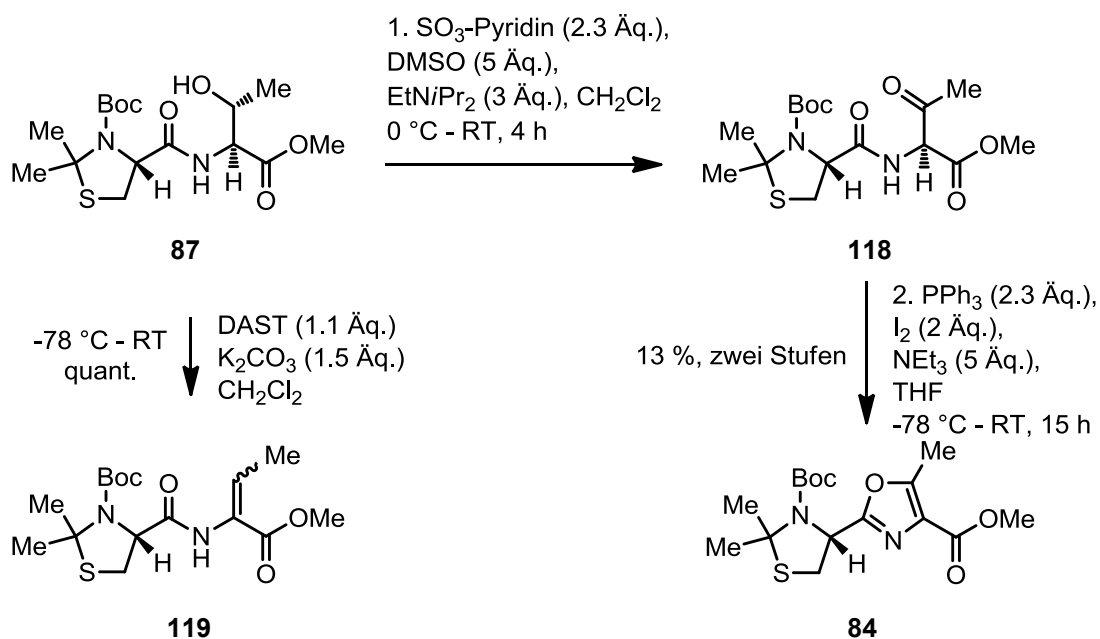
Schema 30: Synthese eines Oxazols in der Totalsynthese von Telomestatin nach Doi et al..^[208]

Wir hatten uns entschlossen, das Boc-geschützte S-N-Ketal **87** zu verwenden, weil das stereogene Zentrum des Cysteins in Dipeptid **87** vor Epimerisierung geschützt werden musste^[243].

Die Bedingungen von Doi und Mitarbeitern ergaben für das ketalgeschützte Oxazol **84** jedoch nur 13 % Ausbeute (zwei Stufen), wobei starke Zersetzung während der Oxidation beobachtet wurde (Schema 31). Weil das Schwefelatom im Ketal freier zugänglich ist, als in einem *tert*-Butylthioether, kommt es wahrscheinlich zu Nebenreaktionen. Ähnliche Er-

gebnisse wurden erzielt, wenn die Oxidation mit Dess-Martin Periodinan (DMP)^[253] durchgeführt wurde (17 % über zwei Stufen).

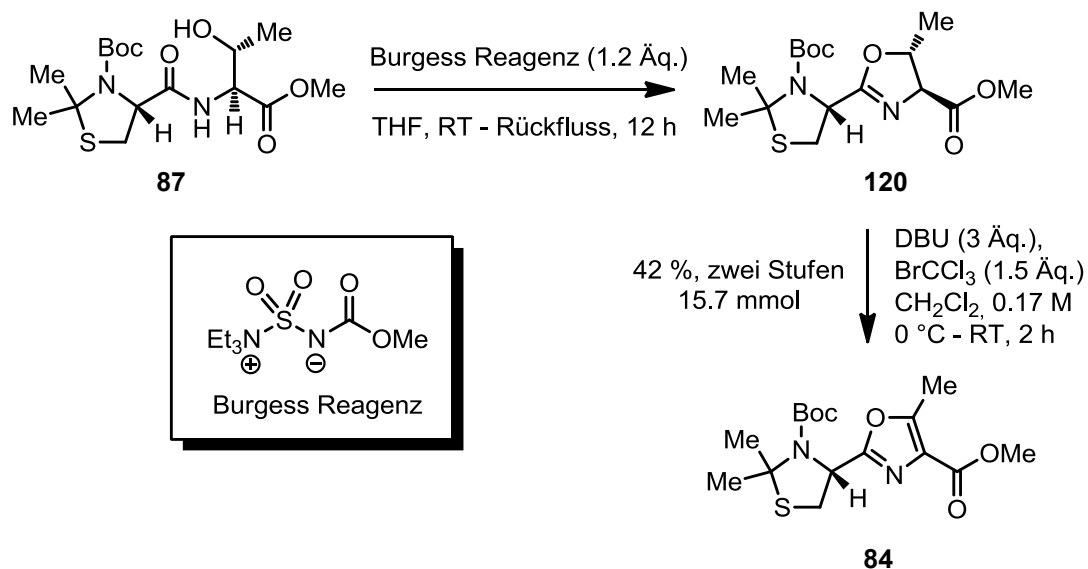
Die Verwendung von DAST zur Zyklodehydratisierung^[252] führte dagegen zur quantitativen Bildung des Dehydropeptids **119**.



Schema 31: Screening verschiedener Methoden zur Synthese von Oxazol **84** aus Dipeptid **87**.

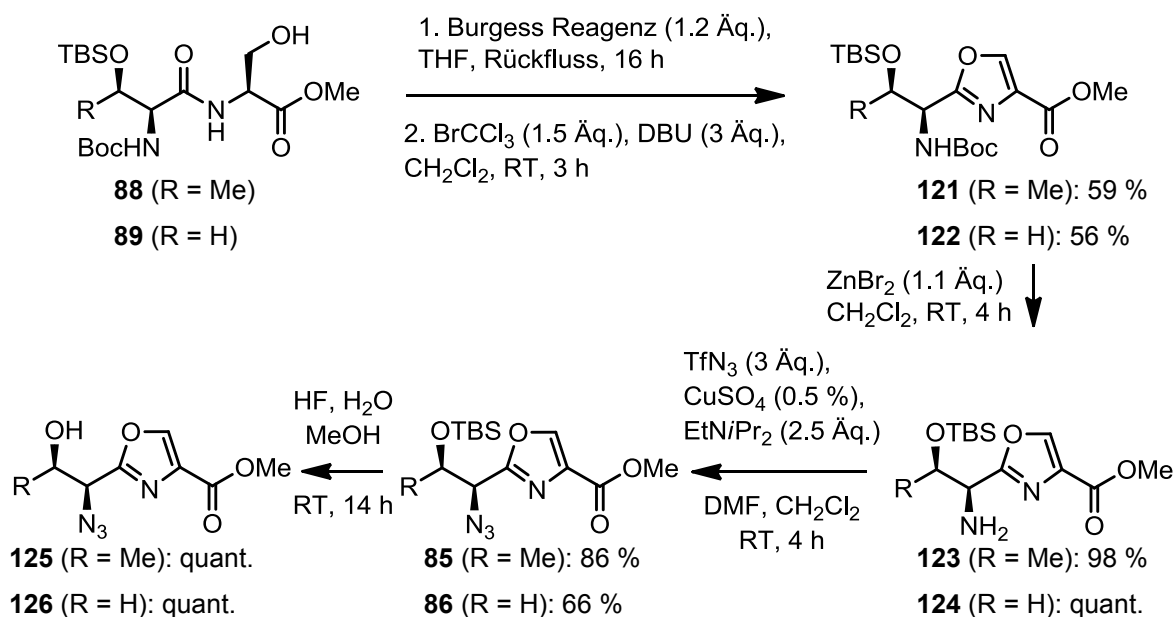
Bessere Ergebnisse wurden in diesem Fall durch die Verwendung von Burgess Reagenz und Oxidation mit BrCCl₃ und DBU erzielt, wobei Nebenreaktionen nicht völlig ausblieben (Schema 32). Dipeptid **87** wurde bei RT mit Burgess Reagenz versetzt und dann schnell zum Rückfluss erhitzt. Bei langsamem Erwärmen wurde verstärkt Eliminierung zum Dehydrodipeptid **119** beobachtet. In der darauffolgenden Oxidation wurde Oxazolin **120** bei 0 °C mit DBU und dann schnell mit BrCCl₃ versetzt und auf RT erwärmt. Die Mischung färbte sich innerhalb weniger Minuten schwarz, was bei anderen Substraten nicht zu beobachten war (vide infra). Unter diesen Bedingungen konnte Oxazol **84** in 42 % Ausbeute (zwei Stufen, 15.7 mmol Maßstab) isoliert werden.

Leichte Veränderung dieser Reaktionsbedingungen führte zu stark verminderten Ausbeuten. So konnte Oxazol **84** bei langsamem Zutropfen von DBU und BrCCl₃ in nur 25 % Ausbeute isoliert werden. Auch niedrigere Konzentrationen führten zu einer geringeren Ausbeute (25 %, 0.09 M).



Schema 32: Optimierte Synthese des Oxazols **84** aus Dipeptid **87**.

Die Zyklodehydratisierung und Oxidation der Dipeptide **88** und **89** zu den Oxazolen **121** und **122** verlief mit Ausbeuten von 59 bzw. 56 % effizienter und robuster als bei Oxazol **84** (Schema 33).



Schema 33: Synthese zweier Azidoalkohole **125** und **126** aus den Dipeptiden **88** und **89**.

Die Abspaltung der Boc-Schutzgruppen konnte nicht mit TFA durchgeführt werden, da unter diesen Bedingungen auch die TBS-Ether gespalten wurden. Zum Erfolg führte ZnBr_2 als Lewis-Säure^[258], womit die Amine **123** und **124** in sehr guten Ausbeuten erhalten wer-

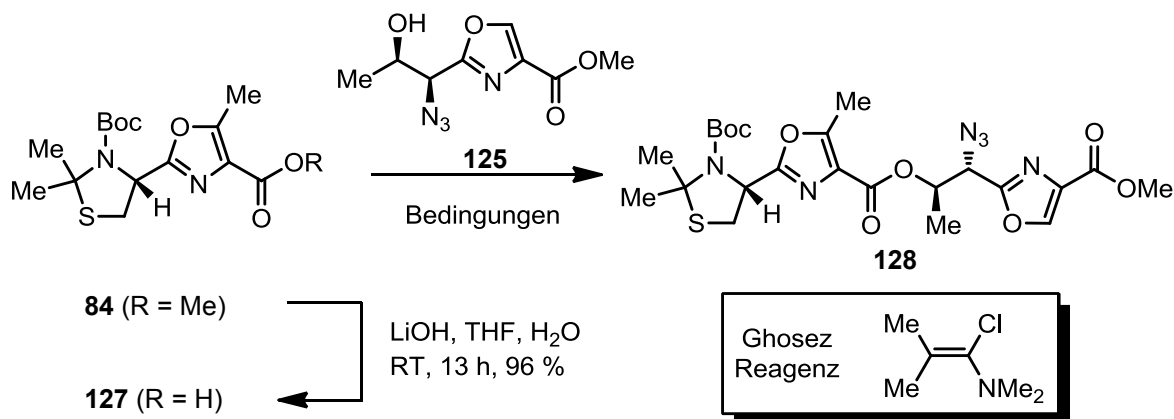
den konnten. Ein Azidtransfer unter den zuvor optimierten Bedingungen (**AV2**) lieferte die Azide **85** und **86**, die mit HF in H₂O und MeOH glatt zu den Azidoalkoholen **125** und **126** umgesetzt wurden.

Nach der Optimierung im kleineren Maßstab konnten die Oxazolazide **85** und **86** auch leicht im Decagrammmaßstab hergestellt werden.^[247] Z. B. wurde die Synthese von Dipeptid **88** mit 150 mmol (50 g) Boc-Thr(TBS)-OH und 150 mmol (23 g) Ser-OMe × HCl begonnen und lieferte 67 mmol (23 g) des Oxazolazids **85** über fünf Stufen.

Die geschützten Oxazolbausteine **85**, **86** und **87** wurden, nach Freisetzung der Alkohole bzw. der Carbonsäuren, durch Veresterung zu einer längeren Kette verknüpft, um den Vorläufer für den dreifachen Aza-Wittig Ringschluß herzustellen.

4.3 Verknüpfung der Bausteine, dreifacher Aza-Wittig Ringschluss und Arbeiten zur dreifachen Oxidation

Der erste Bisoxazolbaustein wurde aus Oxazolmethylester **84** und dem sekundären Alkohol **125** hergestellt. Methylester **84** wurde mit LiOH und H₂O in THF mit 96 % Ausbeute in Carbonsäure **127** überführt (Tabelle 10).



Nr.	Reagenz (Äq.)	Base (Äq.)	Zeit	Ausbeute
1	EDC (1.5)	EtN _i Pr ₂ (3) DMAP (0.1)	9 h	30 %
2	(COCl) ₂ (1.5), 10 Vol% DMF	EtN _i Pr ₂ (3)	9 h	26 %
3	Isobutylchloroformat (1.1)	NEt ₃ (1.1), DMAP (1)	5 h	20 %
4	Ghosez Reagenz (1.1)	Pyridin, 50 Vol %	5 h	48 %
5	Ghosez Reagenz (2)	Pyridin (10)	13 h	92 %

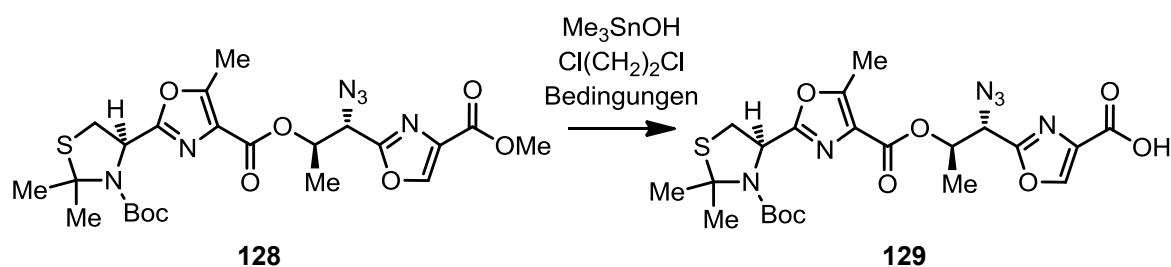
Tabelle 10: Optimierung der Veresterung zum sterisch gehindertem Azidoester **128**.

Die Verknüpfung der Carbonsäure **127** mit Alkohol **125** erforderte Optimierungsarbeit. Diese Kupplung wird dadurch erschwert, dass sowohl das 5-Methyloxazol **127** als auch der sekundäre Alkohol **125** sterisch anspruchsvoll sind. Wurden EDC, EtN_iPr₂ und DMAP verwendet, so konnte Ester **128** in lediglich 30 % Ausbeute gewonnen werden (Nr. 1). Die Carbonsäure wurde mit Oxalylchlorid und DMF zum Säurechlorid umgesetzt und danach mit dem Alkohol und EtN_iPr₂ als Base versetzt. Unter diesen Bedingungen wurden 25 % Kupplungsausbeute erreicht (Nr. 2). Mit Isobutylchloroformat, Triethylamin und 1 Äq. DMAP wurden 20 % des Esters als Mischung verschiedener Diastereomere isoliert. Die Verwendung von Ghosez Reagenz^[259-260] (1.1 Äq.) und Pyridin (50 Vol%) führte zu einer

Steigerung der Ausbeute auf 48 % (Nr. 4). Schließlich wurden zwei Äq. Ghosez Reagenz verwendet, der Überschuss i.V. entfernt und das Säurechlorid unter Verwendung von 10 Äq. Pyridin mit dem Alkohol verknüpft. Unter diesen Bedingungen konnte diese Ausbeute auf 92 % gesteigert werden (Nr. 5).

Die Verwendung von Ghosez Reagenz hat zwei große Vorteile. Erstens findet die Aktivierung zum Säurechlorid unter neutralen Bedingungen statt. Zweitens können Überschüsse i.V. entfernt werden, bevor die Alkoholkomponente zugegeben wird.^[261]

Diester **128** musste für die nachfolgenden Kupplungen selektiv in die freie Carbonsäure **129** überführt werden (Tabelle 11).

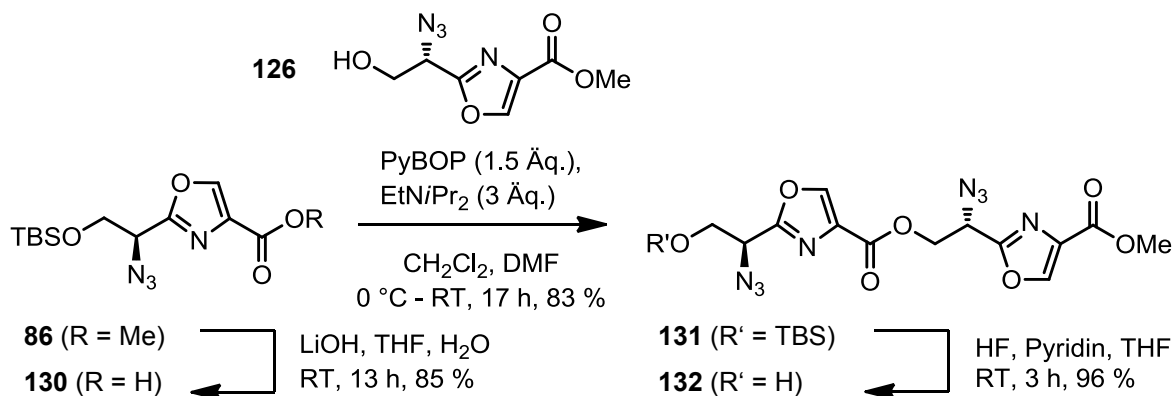


Nr.	Me ₃ SnOH	Temp.	Zeit	Ausbeute
1	2.5 Äq.	80 °C	9 h	60 % (+ 12 % 128)
2	5.5 Äq.	60 °C	2.5 h	65 % (+2 % 128)
3	2.5 Äq.	85 °C	6 h	82 % (+ 9 % 128)

Tabelle 11: Selektive Entschützung des Bisesters **128**.

Es stellte sich heraus, dass in Mischungen von LiOH, THF und Wasser der Methyl ester in **128** nicht selektiv vor dem höher substituierten Ester gespalten werden konnte. Stattdessen wurde das Reagenz Me₃SnOH verwendet, das sterisch ungehinderte Ester sehr selektiv spalten kann.^[262-263] Wurde Ester **128** bei 80 °C mit 2.5 Äq. Me₃SnOH umgesetzt, so konnten 60 % der Säure **129** und 12 % des Ausgangsmaterials isoliert werden (Nr. 1). Mehr Me₃SnOH (5.5 Äq.) bei geringerer Temperatur verbesserte dieses Ergebnis nicht (Nr. 2). Bei 85 °C und Verwendung von 2.5 Äq. Me₃SnOH konnten Ausbeuten von 82 und 9 % für Produkt und Ausgangsmaterial erzielt werden. Da mit zunehmender Reaktionszeit die verstärkte Bildung von Nebenprodukten zu beobachten war, musste diese Umsetzung eng verfolgt werden (DC-Kontrolle).

Der zweite Diester wurde hergestellt, indem die Oxazolbausteine **86** und **126** verknüpft wurden (Schema 34).



Schema 34: Synthese von Bisazidoalkohol **132**.

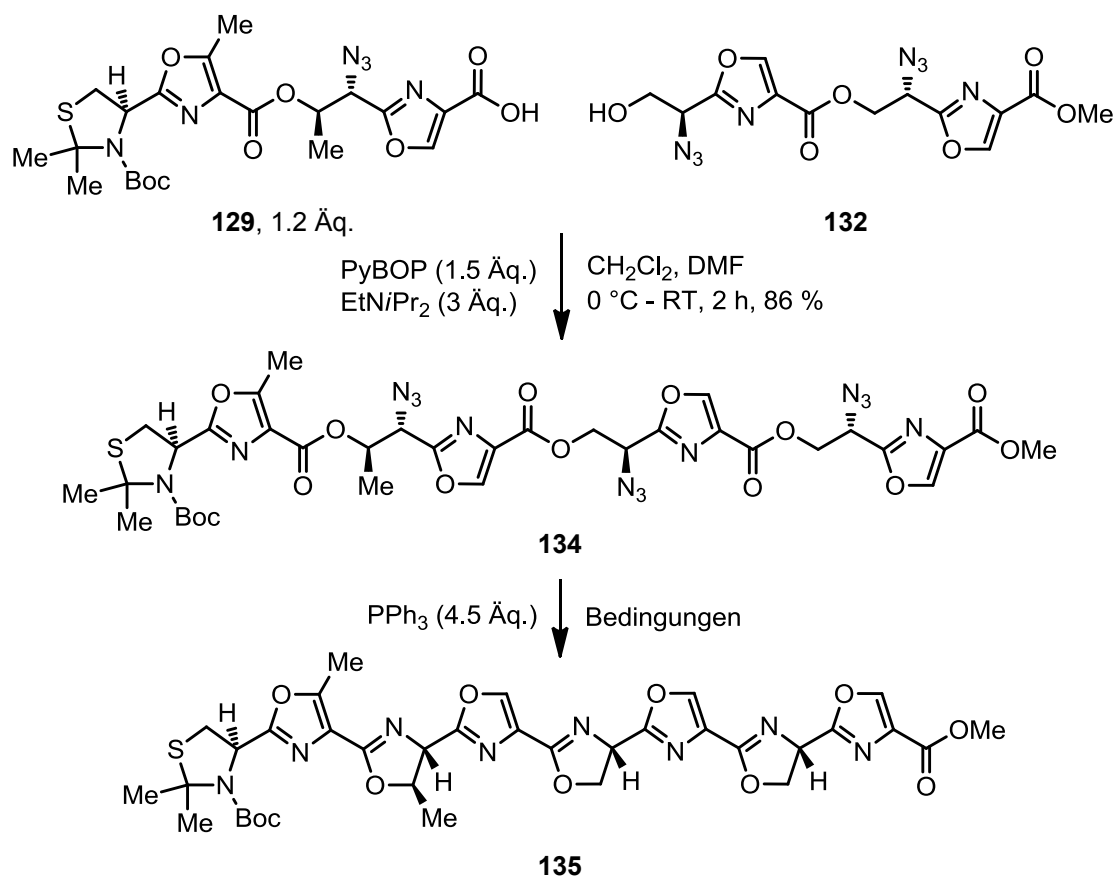
Dazu wurde der Oxazolmethylester **86** zum Einen zu Carbons\u00e4ure **130** umgesetzt und zum Anderen in Azidoalkohol **126** \u00fcberf\u00fchrt (siehe Schema 33). Oxazolcarbons\u00e4ure **130** war instabil in saurem Milieu und bei Kontakt mit feuchtem Kieselgel. Unter diesen Bedingungen kam es teilweise zur Spaltung des TBS-Ethers und der Eliminierung des Alkohols zum Azidovinylloxazol. Carbons\u00e4ure **130** und Alkohol **126** konnten mit PyBOP und EtNiPr₂ in guter Ausbeute zum Bisester **131** verkn\u00fcft werden. Es zeigte sich, dass diese Methode h\u00e4ufig f\u00fcr die Herstellung von Estern und Thioestern aus aromatischen Carbons\u00e4uren geeignet ist, sofern die Substrate eine \u00e4hnliche sterische Hinderung aufweisen, wie **126** und **130**. Auch das Dimer **131** zersetzte sich in Anwesenheit von S\u00e4ure und w\u00e4hrend der Analyse mittels HPLC, allerdings weniger stark als Monomer **130**.

Um Bisoxazol **131** mit Bisoxazolcarbons\u00e4ure **129** zu verestern musste der TBS-Ether **131** zum freien Alkohol umgesetzt werden. Bei der Reaktion mit HF in H₂O und MeOH wurden allerdings neben dem Bisoxazolalkohol **132** (64 %) auch \u00fcber 35 % des Alkohols **126** isoliert. Der β -Azidoester in **133** war im Gegensatz zum Methylester also unter den sauren, w\u00e4ssrigen Bedingungen nicht v\u00f6llig stabil, so dass die Reaktion unter wasserfreien Bedingungen mit HF und Pyridin durchgef\u00fchrt wurde. Unter diesen Bedingungen konnte das Bisoxazolalkohol **132** in 96 % Ausbeute isoliert werden.

Bisoxazolcarbons\u00e4ure **129** und Bisoxazolalkohol **132** wurden nun zu Tetraoxazol **134** umgesetzt (Tabelle 12). Wie zuvor konnte hier wieder eine Kombination von PyBOP und EtNiPr₂ verwendet werden. Das Tetraoxazol **134** wurde unter diesen Bedingungen mit einer Ausbeute von 86 % erhalten.

Ein Schl\u00fcsselschritt dieser Synthese war die Umsetzung von Tris- β -azidoester **134** in Trisoxazolin **135**. Man beachte, dass der Ringschlussvorl\u00e4ufer **134** drei Ester in chemisch

ähnlicher Umgebung enthält. Für die Bildung des Trioxazolins **135** war es nötig, dass drei Iminophosphorane selektiv mit dem benachbarten Ester zum Fünfring reagieren und weder mit einem der drei weiteren Ester, noch intermolekular mit einem zweiten Substratmolekül.



Nr.	Lösungsmittel	Temp.	Zeit	Beobachtung (LCMS, MALDI)
1	THF	Rückfluss	3.5 h	verschiedene Iminophosphorane und Amine
2	THF	100 °C, Mikrowelle	30 min	zwei Oxazoline, ein Iminophosphoran
3	DMF	150 °C, Mikrowelle	40 min	Produkt 135 , Produkt - Boc (1:9)
4	2,6-Lutidin	130 °C, Mikrowelle	40 min	Produkt 135 , 89 %

Tabelle 12: Optimierung des dreifachen Aza-Wittig Ringschlusses zu Trioxazolin **135**.

Erhitzen zum Rückfluss mit 1.5 Äq. PPh₃ pro Azid in THF lieferte nur eine Mischung von Iminophosphoranen und Nebenprodukten (LCMS), bei denen ein bzw. mehrere Azide zum Amin reduziert worden waren (Tabelle 12, Nr. 1).

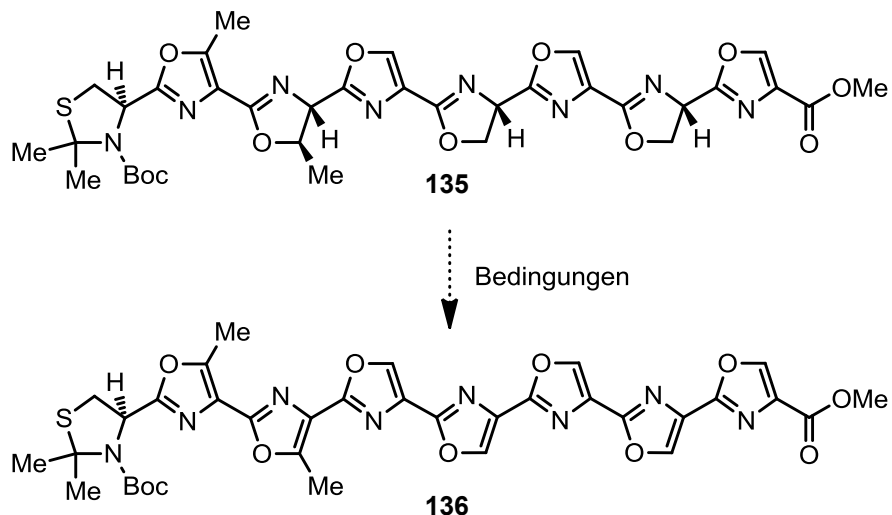
Höhere Temperatur und Erhitzen in der Mikrowelle führte zur Bildung zweier Oxazoline und eines Iminophosphorans (LCMS, Nr. 2). Wahrscheinlich wurden unter diesen Bedingungen die beiden Oxazoline gebildet, die keine Methylgruppe in Pos. 5 tragen. Noch höhere Temperatur (150 °C) und Verwendung von DMF als Lösungsmittel führte zu einem dreifachen Aza-Wittig Ringschluß, allerdings wurde außerdem die Boc-Schutzgruppe zu ca. 90 % abgespalten (LCMS, Nr. 3). Die thermische Spaltung von Boc-Schutzgruppen ist bekannt und wird manchmal zur Entschützung verwendet.^[264-265] Bei etwas niedrigerer Temperatur (130 °C) und Verwendung von 2,6-Lutidin als Lösungsmittel konnte schließlich das gewünschte Produkt **135** mit einer hervorragenden Ausbeute von 89 % isoliert werden (Nr. 4). Dieses Beispiel unterstreicht die hohe Selektivität und Effizienz der Aza-Wittig Azolinsynthese.

Nun sollte Trisoxazolin **135** durch Oxidation aller Oxazoline in Heptaoxazol **136** überführt werden. Zuerst wurden dafür DBU und BrCCl₃ unter verschiedenen Bedingungen verwendet. Dabei wurden generell Mischungen des mono- und bisoxidierten Ausgangsmaterials erhalten (LCMS), die sich jedoch durch Dünnschichtchromatographie bzw. HPLC (C18, MeCN, H₂O) nicht trennen ließen. Temperaturen über 50 °C und Reaktionszeiten von mehr als 24 h führten zu Zersetzung. Als Lösungsmittel kamen CH₂Cl₂, THF, 1,2-Dichlorethan, MeOH, MeCN, CCl₄/DMF und reines DBU zum Einsatz. In Acetonitril und reinem DBU war Zersetzung zu beobachten. Additive wie LiBr, AgOAc und CuBr₂ lieferten hauptsächlich das Bisoxidationsprodukt, in seltenen Fällen wurden in der Mischung Spuren des Heptaoxazols gefunden (LCMS).

Als Nächstes wurden verschiedene andere Oxidationsmittel erprobt (Tabelle 13). Stärkere Oxidationsmittel, wie DDQ^[266] oder CAN, führten zu Zersetzung. Das Gleiche galt für Mischungen von Cu^I/Cu^{II} und Perbenzoesäure-*tert*-butylester^[267-268], RuO₄ und NaIO₄ sowie Iod, Cu^{II} und *tert*-Butylhydroperoxid (TBHP).^[269]

Keine Oxidation fand statt mit IBX, DMSO und Pyridin.^[270] Mit SeO₂ setzte sich das Substrat in eine Mischung verschiedener Produkte um, es konnten jedoch keine selenierten oder oxidierten Produkte gefunden werden (LCMS). NBS war zuvor mit K₂CO₃ als Base für die Oxidation von Oxazolinen eingesetzt worden.^[271] Für dieses Substrat war jedoch weder mit DBU noch mit Mischungen von DBU und CuBr₂ Oxidation zu beobachten.

Bei Verwendung von MnO_2 oder NiO_2 ^[272] konnte nur Monooxidation festgestellt werden (LCMS). Mit Iod als Oxidationsmittel^[273] und DBU als Base wurde auch nur ein Oxazolinring oxidiert.



Zersetzung	Keine Oxidation	Einfach-oxidation	Einfach-, Zweifach-oxidation
DDQ, THF	Pyridin, IBX, DMSO	MnO_2 , THF	NBS, AIBN, Toluol
CAN, CH_2Cl_2	SeO_2 , Dioxan (unsauber)	NiO_2 , CH_2Cl_2	
CuBr , $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, $t\text{BuOOCOPh}$	DBU, NBS, CH_2Cl_2	DBU, I_2	
RuO_4 , NaIO_4	DBU, NBS, CuBr_2 , CH_2Cl_2	DBU, $(\text{PhSe})_2$ (unsauber)	

I_2 , TBHP, $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, DMF

Tabelle 13: Arbeiten zur dreifachen Oxidation von Trisoxazolin **135**.

Die Selenierung ähnlicher Substrate war bereits mit KHMDS und PhSeCl beschrieben worden^[274], nachfolgende Oxidation mit H_2O_2 lieferte dann das Oxazol. Bei Substrat **135** wurde mit DBU und Diphenyldiselenid einfache Phenylselenierung beobachtet, die Reaktion verlief aber unsauber und lieferte mehrere unaufgeklärte Produkte (LCMS).

Mit NBS und AIBN wurde unter radikalischen Bedingungen eine Mischung einfacher und doppelter Oxidationsprodukte erhalten (LCMS).

Obwohl die Reaktionsprodukte nicht getrennt werden konnten und somit nicht geprüft werden konnte, ob die Oxidation regioselektiv verlief, so zeigten doch Literaturbefunde^[253]

und die zuvor durchgeführte Synthese des Oxazolbausteins **84**, dass Oxazoline mit einem Methylsubstituenten in Position 5 sehr viel schwerer zu oxidieren sind, als Oxazoline, die keinen Substituenten in Position 5 tragen. Es lag also nahe, die Oxidationsreaktion an einem einfacheren Methyloxazolin zu optimieren.

4.4 Optimierung der Oxidation von 5-Methyloxazolin **140** und Anwendung auf Trisoxazolin **135**

Um die Oxidation des 5-Methyloxazolins in Trisoxazolin **135** zu optimieren wurde Azidoester **128** zu 5-Methyloxazolin **140** umgesetzt (Tabelle 14). Die zuvor optimierten Bedingungen zur Synthese von Trisoxazolin **135** konnten ohne weitere Optimierung verwendet werden und lieferten mit einer Ausbeute von 97 % 5-Methyloxazolin **140**, das unter verschiedenen Bedingungen zu Trisoxazol **141** oxidiert wurde.

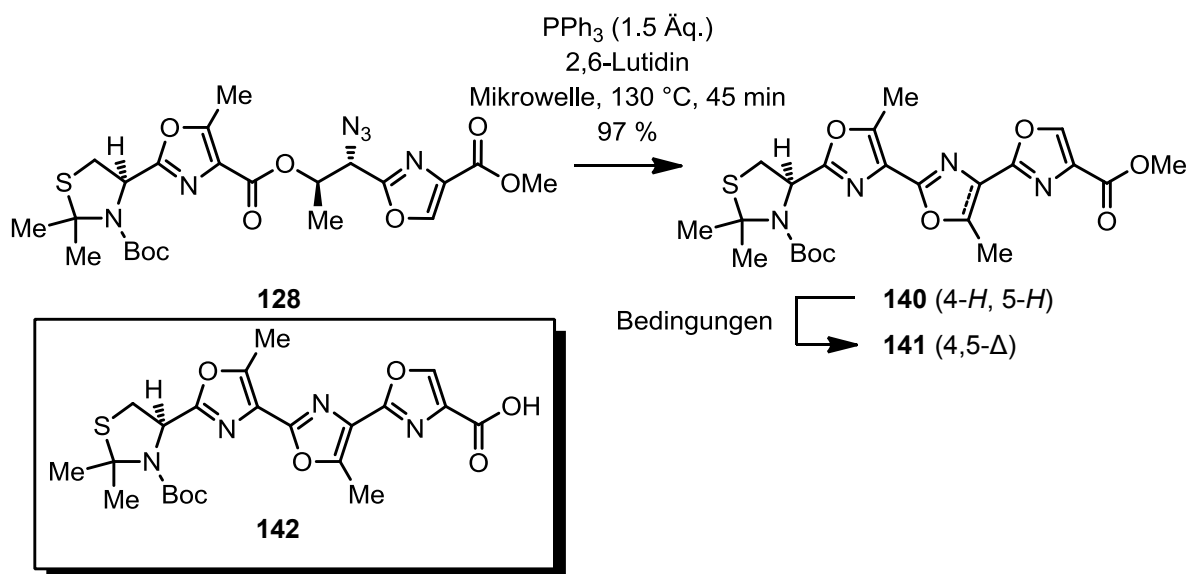
Die Verwendung von DBU und BrCCl₃ (Nr. 1), die bereits für viele Azoline ohne Methylsubstituenten zum Einsatz gekommen war, erlaubte die Isolierung von Trisoxazol **141** nach 26 Stunden Reaktionszeit und mehrfacher Zugabe von Base und Oxidationsmittel in einer Ausbeute von lediglich 21 %. Allerdings konnten 62 % des Ausgangsmaterials isoliert werden (Tabelle 14, Nr. 1). Bei der Oxidation des 5-Methyloxazolins **120** (Kap. 4.2) war eine Reihe von Nebenprodukten beobachtet worden, nicht jedoch bei der Oxidation von Methyloxazolin **140**. Die Untersuchung des rückgewonnenen Edukts **140** mit HPLC und NMR zeigte außerdem kein zweites Diastereomer neben **140**. Möglicherweise ist das Oxazolin **140** thermodynamisch bevorzugt gegenüber dem Epimer, das durch Inversion von Position 4 unter basischen Bedingungen ebenfalls entstehen könnte.

Die Oxidation von Oxazolinen mit Pd/C wurde von Ludwig et al. beschrieben.^[275] Oxazolin **137** zeigte aber beim Erhitzen in Mesitylen auf 160 °C in Anwesenheit von 5 % Pd/C auch nach mehr als zwei Tagen nur wenig Umsatz und teilweise Zersetzung (nicht gezeigt).

Selenierung mit Diphenyldiselenid und NaH, MeOH führte zu starker Zersetzung, ohne dass Oxidation zu **138** oder Phenylselenierung beobachtet werden konnten (Nr. 2).

Oxazolin **140** wurde auch mit Singulett-Sauerstoff behandelt, dabei kam es jedoch zu keinerlei Bildung des Trisoxazols **141**, sondern nur zu Zersetzung des Ausgangsmaterials (nicht gezeigt). Stärkere Basen, wie LDA oder KHMDS und BrCCl₃ führten ebenfalls zu Zersetzung des Edukts (Nr. 3, Nr. 4).

Mischungen von NaH, MeOH^[276-277] bzw. NaOMe führten zu besserer Umsetzung des Oxazolins, allerdings wurde der Trisoxazolmethylester **141** sehr leicht zu Carbonsäure **142** hydrolysiert. Wurde z. B. entwässertes THF der Firma *Sigma-Aldrich* (99.85 %, AcroSeal®) verwendet, so konnten nur 28 % des Oxidationsprodukts **139** isoliert werden.



Nr.	Bedingungen (Äq.)	Temp.	Zeit	Ausb. (%), Beob.		
				140	141	142
1	DBU (3+3), BrCCl ₃ (1.5+1.5), CH ₂ Cl ₂	0 °C – RT	26 h	62	21	-
2	(PhSe) ₂ (1.5), NaH (2), MeOH	RT	3.5 h	Zersetzung		
3	LDA (3), BrCCl ₃ (1.5)	- 40 °C	1 h	Zersetzung		
4	KHMDS (3), BrCCl ₃ (1.5)	- 40 °C	1 h	Zersetzung		
5	NaH (3), BrCCl ₃ (1.5), NaOMe (1.5), MeOH, THF (AcroSeal®)	- 40 °C → - 20 °C	1 h	28	-	56
6	wie Nr. 5 mit wasserfreiem THF	- 40 °C → - 20 °C	2.5 h	92	-	-
7	wie Nr. 6 mit H ₂ O (0.05)	- 40 °C → - 20 °C	3 h	-	87	-

Tabelle 14: Aza-Wittig Ringschluss und Oxidation von Azidoester **127**.

Ein großer Teil des Trisoxazolmethylesters **141** wurde unter diesen Bedingungen zu der Carbonsäure **142** hydrolysiert, von der 56 % als Hauptbestandteil in einem Gemisch mit mehreren anderen Nebenprodukten isoliert wurden (Nr. 5).

Wurde das THF mit Na/Benzophenon entwässert, so trat keine Umsetzung des Oxazolins ein. In diesem Fall lösten sich NaH bzw. NaOMe nicht in der Reaktionsmischung und das Ausgangsmaterial konnte fast quantitativ zurückgewonnen werden (Nr. 6). Auch in diesem Fall war in HPLC und NMR nur ein Diastereomer zu erkennen. Eine geringe Menge Was-

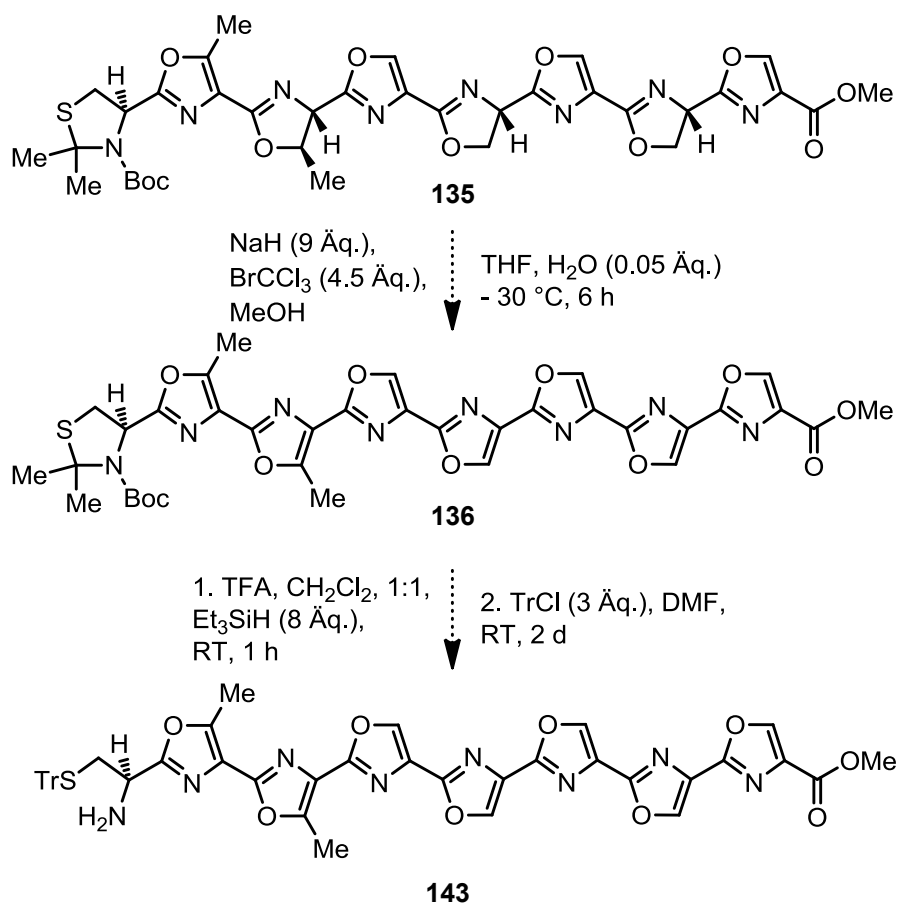
ser in der Reaktionsmischung war also nötig, um das NaH in Lösung zu bringen und eine saubere Umsetzung zu gewährleisten.

Gute und reproduzierbare Ausbeuten für die Oxidation wurden durch Verwendung von NaH, MeOH bzw. NaOMe und BrCCl₃ erzielt, wenn das entwässerte THF mit 0.05 – 0.1 Äq. H₂O versetzt wurde. Das Produkt wurde dabei in 87 % Ausbeute erhalten.

Wurden NaH und MeOH verwendet, so war leicht zu erkennen, ob ausreichend Wasser vorhanden war, um das NaH in Lösung zu bringen. Die Reaktionsmischung wurde solange mit einer Stammlösung von Wasser in THF versetzt, bis Gasentwicklung zu beobachten war.

Auch während der wässrigen Extraktion der Reaktionsmischung hydrolysierte das Produkt sehr leicht. Deshalb wurde die Mischung nach vollständigem Umsatz zunächst mit MeI versetzt und dann langsam in eiskalten Phosphatpuffer (pH 3) getropft.

Die für die Oxidation von 5-Methyloxazolin **140** optimierten Bedingungen wurden für die Oxidation von Trisoxazolin **135** verwendet (Schema 35).



Schema 35: Weitere Arbeiten zur dreifachen Oxidation von Trisoxazolin **135** und dessen weiterer Umsetzung.

Das Heptaoxazol **136** entstand dabei (LCMS, NMR) konnte aber chromatographisch nicht von den anderen Oxidationsprodukten getrennt werden. Nach Entschützen des Ketals und Einführung der Tritylschutzgruppe lag Amin **143** als Mischung mit verschiedenen Nebenprodukten vor, die durch Flash-Chromatographie auf Kieselgel und präparative HPLC (C18, MeCN, H₂O) nicht zu trennen waren. Auf diesem Wege konnte Amin **143** nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden.

Um diese Probleme zu lösen wurden zwei Strategien verfolgt. Zum Einen sollte die Oxidation der drei Oxazoline vereinfacht werden. Dazu wurde das 5-Methyloxazolin voroxidiert und Trisoxazol **141** mit Alkohol 132 zu einem Bisazid verknüpft (Kap. 4.6).

Zum anderen wurden Methoden entwickelt, um Heptaoxazol **136** und Amin **143** zu reinigen. Diese Arbeiten werden im folgenden Kapitel beschrieben.

4.5 Chromatographische Reinigung des Heptaoxazols 136

Die Reinigung von Heptaoxazol **136** und Tritylthioamin **143** sollte mit verschiedenen Methoden der Dünnschichtchromatographie optimiert werden. Dazu wurden zunächst mit Kieselgel beschichtete Aluminiumplatten verwendet. Mit CHCl_3 und MeOH war in allen Fällen starkes Schmieren und kaum Trennung zu beobachten. Auch auf Aluminiumoxid-, Amin-, Diol- oder Cyanophasen (Merck) konnten die Substanzen nicht getrennt werden. Obwohl auch hier starkes Schmieren zu beobachten war, eluierten die Verbindungen selbst mit weniger als 1 % MeOH zu schnell ($R_f > 0.9$). Bessere Ergebnisse lieferte die Verwendung von Kieselgel als feste Phase mit Mischungen von CHCl_3 und *i*PrOH / Pyridin 3:1 („polare Elutionsmischung“). Die Flecken waren etwas schärfer und schmierten weniger stark. Allerdings war die Trennung auch hier nicht vollständig. Diese Mischung konnte durch Austausch von *i*PrOH durch andere Alkohole sowie durch Austausch von Pyridin gegen andere stickstoffbasierte Basen nicht weiter verbessert werden. Wahrscheinlich interagieren die Polyazole untereinander durch starke Stapelwechselwirkungen der Aromaten. Diese Interaktionen gehen mit schlechter Löslichkeit und Schmieren während der Chromatographie einher. Pyridin könnte diese Wechselwirkungen aufbrechen, indem es sich zwischen die Polyazole schiebt und seinerseits Stapelwechselwirkungen eingeht. Mit Aluminiumoxid-, Amin-, Diol- oder Cyanophasen konnte diese Mischung aber nicht verwendet werden. Wurde wenig polare Elutionsmischung eingesetzt, war starkes Schmieren zu beobachten. Mit mehr polarer Elutionsmischung nahm dieses Schmieren zwar ab, aber die Substanzen eluierten zu schnell. Auch mit der Kombination von CHCl_3 und polarer Elutionsmischung waren Ergebnisse oft nicht einfach zu reproduzieren. Wurde zuviel Substanz aufgetragen, so kam es auch hier zu starkem Schmieren. Geringe Substanzmengen waren jedoch häufig schlecht unter UV-Licht zu sehen. Zudem konnten die Substanzen nur schlecht mit verschiedenen DC-Färbemitteln sichtbar gemacht werden (KMnO_4 , Phosphomolybdat, Ninhydrin).

HPLC-Trennung der Reaktionsgemische mit MeCN und H_2O zeigte keine gute Peaktrennung auf verschiedenen Säulenmaterialien (*C18 Gravity*, *C18 Isis*, *C4 Gravity*, *C6H5 ec*, *C18 Nautilus*). Durch die geringe Löslichkeit der Reaktionsprodukte kam es zu starkem Schmieren unabhängig vom Säulenmaterial. Deshalb wurden als Nächstes andere Laufmittel verwendet (*C18 Gravity*). Zugabe von 5 % DMF oder 5 % THF zum Laufmittel

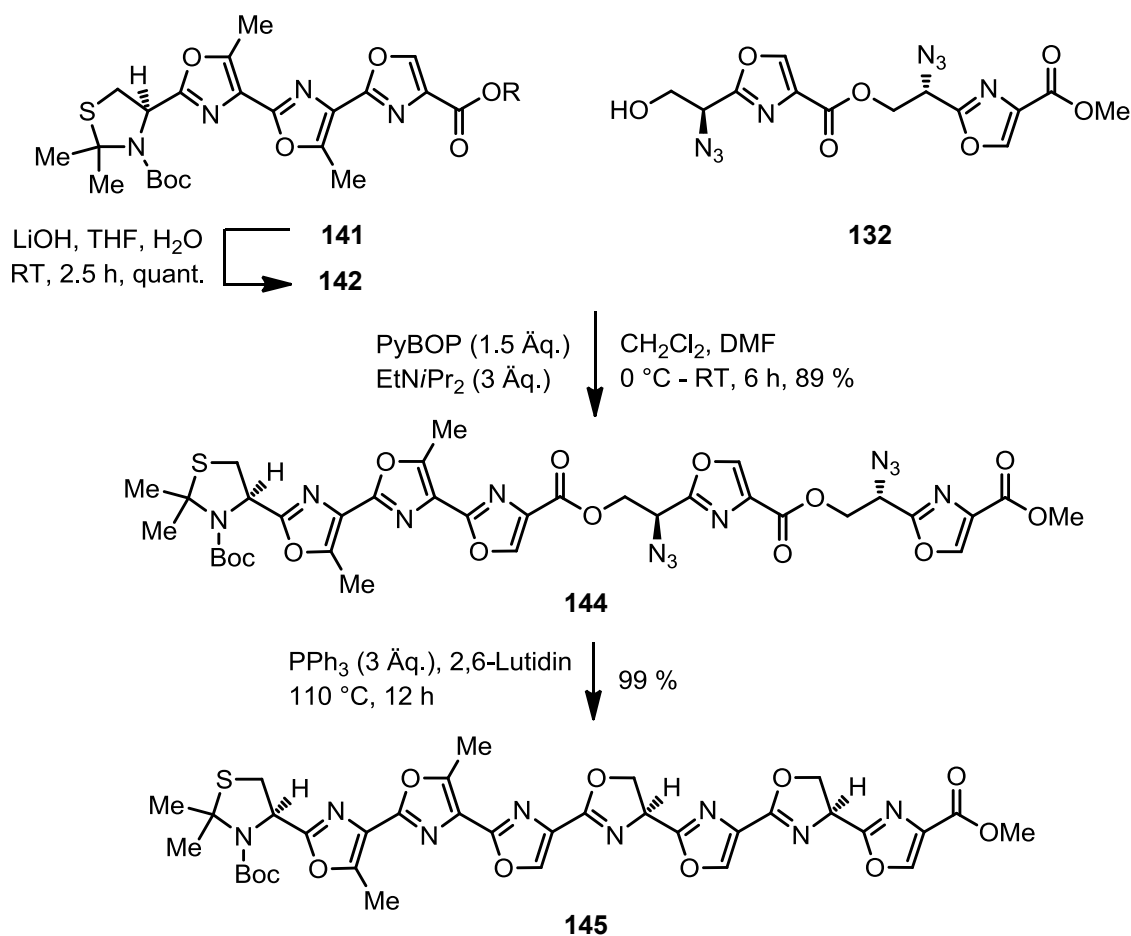
führte zu einer starken Druckerhöhung, die Signale verbesserten sich jedoch kaum. Sehr viel bessere Ergebnisse lieferte der Austausch von MeCN durch *i*PrOH. Hier waren die Signale klar zu erkennen und gut getrennt. Die hohe Viskosität des Isopropanols führte jedoch wieder zu stark erhöhten Drücken. Nur durch Verwendung eines Säulenmaterials mit kurzen Alkylketten (*C4 Gravity*) und niedrigerer Flussraten (0.5 mL/min) blieben die Drücke unter 200 bar. Diese Bedingungen konnten weder durch Zugabe von 0.1 % TFA noch durch Zugabe von 5 % THF weiter verbessert werden.

Die Polyazole waren auch in den meisten organischen Lösungsmitteln sehr schlecht löslich. Davon ausgenommen waren Mischungen von: CHCl₃, MeOH (meist wenig löslich); CHCl₃, HFIP (meist gut löslich); CHCl₃, TFE (meist gut löslich).

Diese Ergebnisse wurden mit einer neuen Strategie für die Oxidation der Oxazoline kombiniert. Das folgende Kapitel beschäftigt sich mit einer Strategie, bei der das schwierig zu oxidierende 5-Methyloxazolin als voroxidiertes Baustein in die Synthese eingebracht wurde.

4.6 Strategie II: via doppeltem Aza-Wittig Ringschluss

Der Einsatz des Trisoxazols **141** als Kupplungsbaustein hatte nicht nur den Vorteil, dass die Oxidation zum Heptaoxazol vereinfacht wurde. Auch die Entschützung zu Oxazolcarbonsäure **142** konnte unter Standardbedingungen mit LiOH, THF und Wasser durchgeführt werden (Schema 36), weil der Methylester nicht selektiv neben dem Ester eines sekundären Alkohols gespalten werden musste (selektive Entschützung des Bisesters **128**, Tabelle 11).

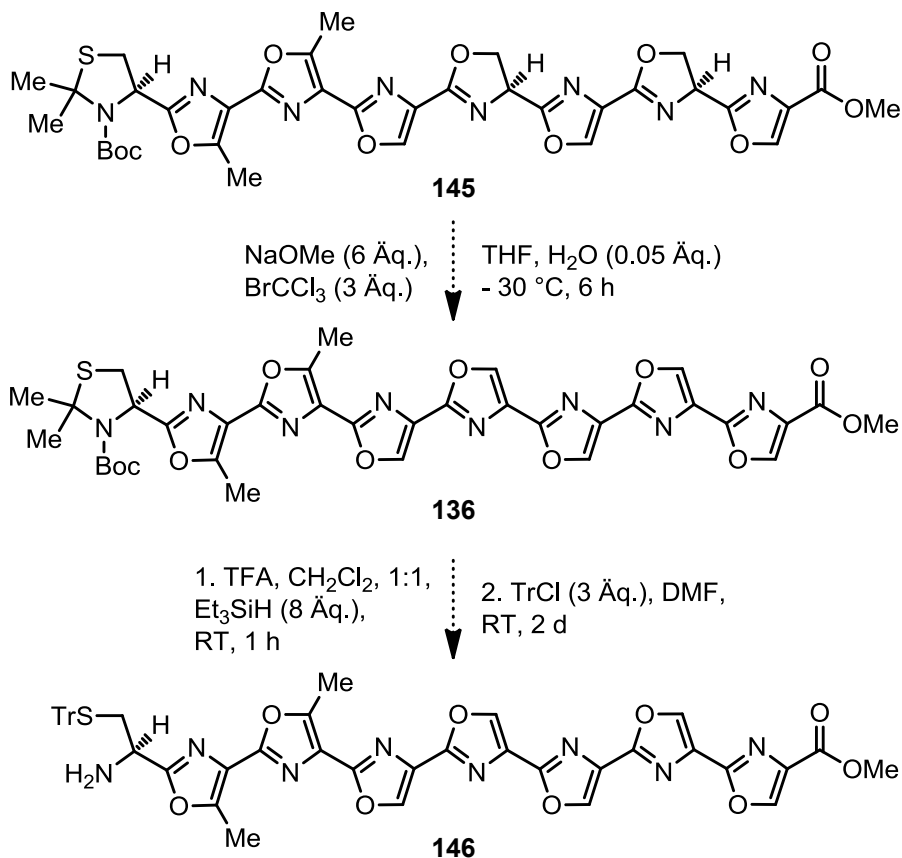


Schema 36: Synthese von Bisazid **144** und doppelter Aza-Wittig Ringschluss.

Auch die Kupplung mit Alkohol **132** gelang unter den zuvor optimierten Bedingungen mit PyBOP und Et₃NiPr₂ und lieferte Bisazid **144** mit 89 % Ausbeute. Der doppelte Aza-Wittig Ringschluss zu Bisoxazolin **145** musste modifiziert werden, weil Erhitzen in der Mikrowelle (130 °C, 45 min, in 2,6-Lutidin) in diesem Fall zu teilweiser Spaltung der Boc-Schutzgruppe und einer verminderten Ausbeute von 65 % führte. Auch niedrigere Tempe-

raturen erbrachten in der Mikrowelle keine besseren Ergebnisse, wohl aber konventionelles Erhitzen. Bei 110 °C und 12 Stunden Reaktionszeit konnte Bisoxazolin **145** in fast quantitativer Ausbeute erhalten werden.

Bisoxazolin **145** sollte nun in Heptaoxazol **136** überführt werden (Schema 37).



Schema 37: Arbeiten zur Oxidation von Bisoxazolin **145** und dessen Überführung in Tritylthiol **146**.

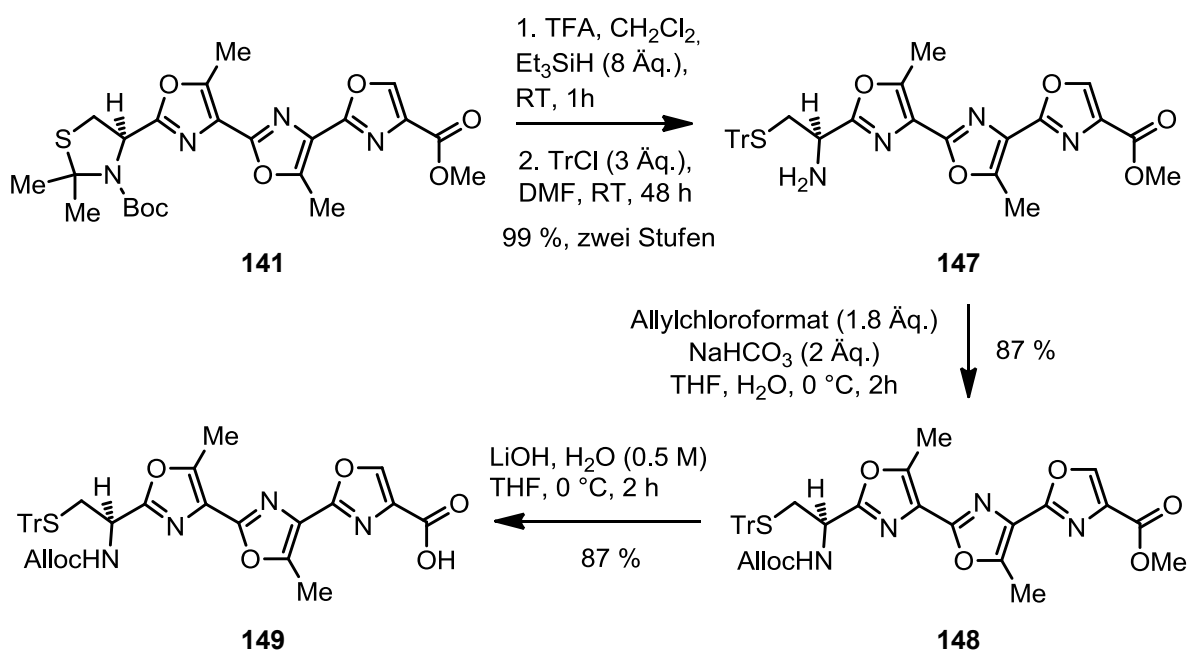
Die Verwendung von DBU und BrCCl₃ lieferte Mischungen des einfach und zweifach oxidierten Produkts. Zwar konnte mit NaOMe und BrCCl₃ die Bildung von Heptaoxazol **136** beobachtet werden (LCMS), die Oxidation war jedoch schlecht reproduzierbar und musste oft mehrfach wiederholt werden, um einen Überschuss des Heptaoxazols zu liefern. Die Nebenprodukte konnten trotz der neu entwickelten Methoden weder nach der Oxidation noch nach der Überführung in Tritylthiol **146** chromatographisch entfernt werden. Außerdem war auch die Entschützung des *S,N*-Ketals schlecht reproduzierbar, und bei Chromatographie von Tritylthiol **146** an Kieselgel bzw. an *C18*-Umkehrphase war Zersetzung zu beobachten.

Sowohl die Umsetzung als auch die chromatographische Reinigung der Heptaoxazole wurden durch ihre extrem niedrige Löslichkeit erschwert. Um die Anzahl an Umsetzungen in Gegenwart der sieben Oxazole zu vermindern und um die Löslichkeit der Heptaoxazole zu erhöhen entschieden wir uns, zuerst die Boc-Schutzgruppe und das Ketal zu entfernen und erst dann durch Aza-Wittig Reaktion und Oxidation das Heptaoxazol aufzubauen. Die globuläre Trityl-Schutzgruppe sollte helfen, die Aggregation der Oxazole zu vermindern und für eine verbesserte Löslichkeit sorgen. Um die Aminfunktion zu schützen wählten wir die, zu Tritylthiol und Methylester orthogonale Alloc-Schutzgruppe. Sowohl die Einführung dieser Schutzgruppe mit Allylchloroformat und NaHCO_3 , als auch die Spaltung mit $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ und PhSiH_3 ist unter milden Bedingungen möglich und wurde schon an ähnlichen Substraten durchgeführt.^[244]

4.7 Strategie III: mit Trityl- und Alloc-Schutzgruppe

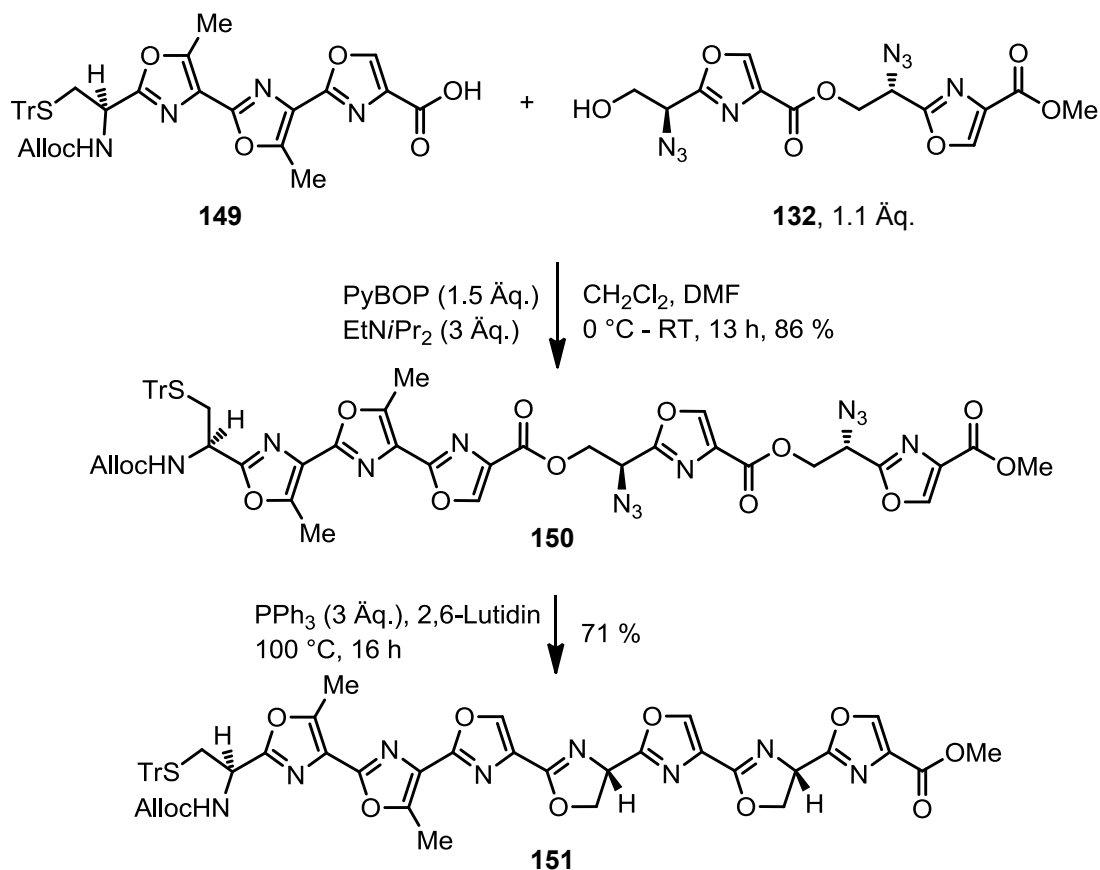
4.7.1 Bausteinsynthese, Verknüpfung und Aza-Wittig Reaktion

Das Boc-geschützte *S,N*-Ketal **141** konnte unter zuvor beschriebenen Bedingungen^[244] glatt zu Aminotritylthiol **147** umgesetzt und das freie Amin als Allylcarbamat geschützt werden (Schema 38). Der Methylester **148** wurde mit LiOH in Carbonsäure **149** überführt.



Schema 38: Synthese der *S*-Trityl, *N*-Alloc geschützten Carbonsäure **149**.

Bei der wässrigen Extraktion von Carbonsäure **149** musste allerdings sehr vorsichtig vorgegangen werden. Zu starkes Ansäuern führte zu Zersetzung des Produkts in eine Vielzahl von Nebenprodukten, was wahrscheinlich auf die Säurelabilität der Tritylschutzgruppe zurückzuführen ist.

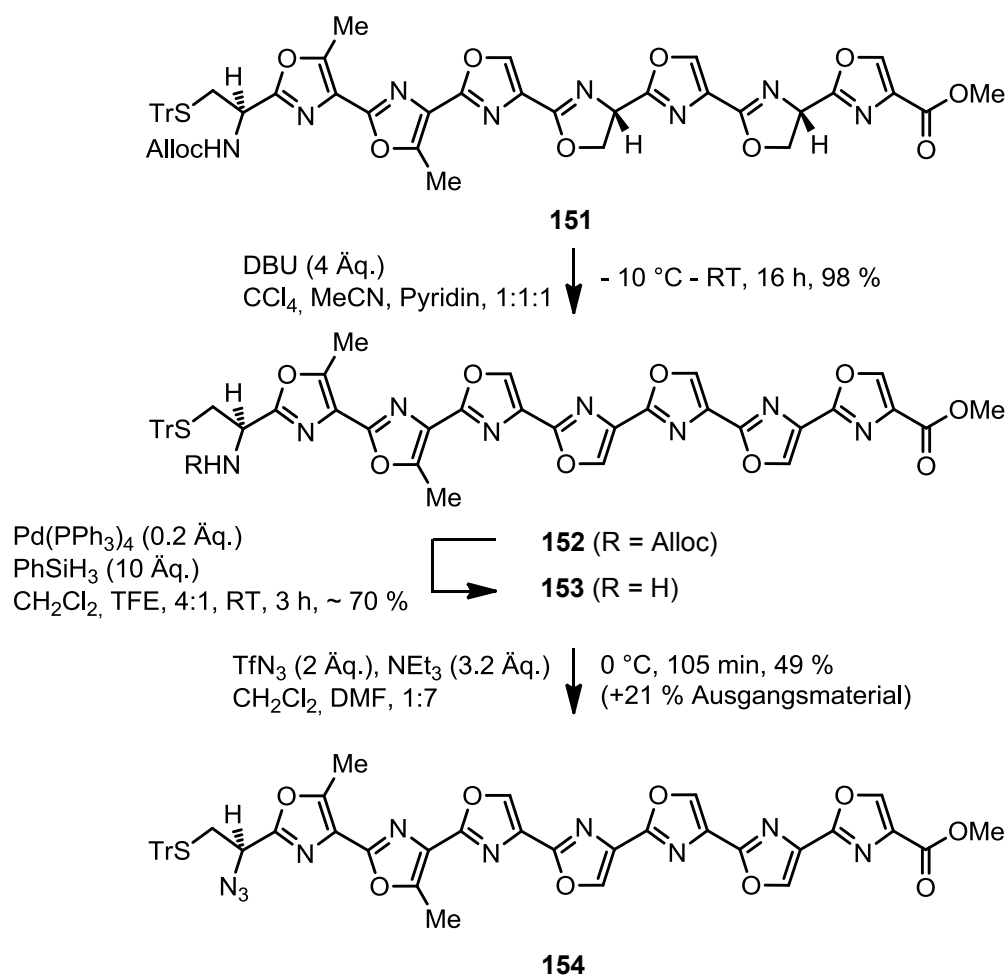


Schema 39: Synthese des Alloc-geschützten Bisazids **150** und doppelter Aza-Wittig Ringschluß.

Die Esterkupplung von Carbonsäure **149** und Alkohol **132** erforderte keine weitere Optimierung. Versetzen mit PyBOP und EtN*i*Pr₂ in CH₂Cl₂ lieferte das Alloc-geschützte Bisazid **150** mit einer Ausbeute von 86 %. Der Ringschluß der β-Azidoester musste allerdings bei etwas niedrigerer Temperatur durchgeführt werden um Zersetzung zu vermeiden. Bisoxazolin **151** zeigte im Vergleich zu Bisoxazolin **145** eine verbesserte Löslichkeit. Die voluminöse Trityl-Schutzgruppe wirkt also offenbar den starken Stapelwechselwirkungen der Heptaaxazole entgegen.

4.7.2 Oxidation zum Heptaoxazol und anschließender Azidtransfer

Alle nun folgenden Experimente wurden in Kooperation mit Dr. Cyril Ronco durchgeführt. Die doppelte Oxidation des Bisoxazolins **151** lieferte keinen vollständigen Umsatz mit BrCCl_3 und DBU in verschiedenen Lösungsmitteln. Bei dieser Oxidation war häufig zu beobachten, dass sich die Reaktionsmischung nach einigen Stunden schwarz färbt und kein weiterer Umsatz des Azolins mehr stattfindet. Es kam hier vermutlich zur Zersetzung der Reagentien. Jung und Mitarbeiter beschrieben eine Variante dieser Reaktion, bei der Tetrachlormethan anstelle des Bromtrichlormethans in einer Mischung von Acetonitril und Pyridin verwendet wurde.^[278] Salunkhe et al. verwendeten ähnliche Bedingungen, um Phosphonate zu oxidieren.^[279] Diese Methode war in abgewandelter Form auch für die doppelte Oxidation von Bisoxazolin **151** geeignet (Schema 40).



Schema 40: Synthese des Heptaoxazols **154** mittels Oxidation und anschließendem Azidtransfer

Wir beobachteten, dass Oxidationen zu Heptaoxazolen bzw. Umsetzungen von Heptaoxazolen meist stark von Lösemittelmischung und Konzentration des Substrats abhängen. Zum Beispiel konnten die von Stankova publizierten Bedingungen (CCl_4 , MeCN, Pyridin, 2:3:3) nicht für die Oxidation von Bisoxazolin **151** verwendet werden, wahrscheinlich aufgrund von mangelnder Löslichkeit. Die Umsetzung gelang jedoch bei Rühren über Nacht in einer Mischung von CCl_4 , MeCN und Pyridin (1:1:1). Heptaoxazol **152** fiel während der Reaktion als feiner Feststoff aus der Reaktionsmischung aus. Schon bei leichter Abweichung von diesem Verhältnis konnte kein vollständiger Umsatz mehr beobachtet werden, außerdem waren sowohl Acetonitril als auch Pyridin für eine glatte Umsetzung unabdingbar.

Als nächster Schritt im Synthesegang war die Entschützung der Alloc-Schutzgruppe zu bewerkstelligen. Dazu wurden $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ und Allylfänger in verschiedenen Lösungsmittelmischungen untersucht. Um Heptaoxazol **152** zu lösen waren Mischungen von Chloroform mit Trifluorethanol oder Chloroform mit Hexafluorisopropanol nötig. Obwohl Heptaoxazol **152** als mehrzähliger Ligand an Metalle koordinieren könnte, wurde die Aktivität des Palladiums dadurch nicht beeinflusst. Bei Verwendung von PhSiH_3 war zunächst guter Umsatz des Ausgangsmaterials zu beobachten, nach ca. 20 Minuten veränderte sich das Verhältnis von Allylcarbamat **152** und dem freien Amin **153** jedoch nicht mehr. Um einen vollständigen Umsatz sicherzustellen war es nötig, das PhSiH_3 langsam über mehrere Stunden zuzugeben. Ein sehr ähnliches Substrat – das Carbamat **155** (Kap. 4.7.3) – war in Dichlormethan ausreichend löslich, ohne dass Trifluorethanol oder Hexafluorisopropanol zugegeben werden mussten. Hier war keine langsame Zugabe des Silans nötig, um einen vollständigen Umsatz zu gewährleisten. Offenbar ging das Trifluorethanol eine Nebenreaktion mit dem PhSiH_3 ein, die langsamer als die gewünschte Reaktion mit dem Allylkation war.

Das freie Amin, das bei dieser Reaktion entstand, zersetzte sich, sobald die Reaktionsmischung wässrig extrahiert wurde. Auch beim längeren Kontakt mit Kieselgel war Zersetzung zu beobachten. Der Umsatz war jedoch so sauber, dass die Reaktionsmischung ohne wässrige Extraktion über eine kurze Kieselgelsäule filtriert werden konnte, um den Katalysator zu entfernen. Eine weitere Reinigung war nicht nötig, das Amin konnte in guten Ausbeuten von etwa 70 % erhalten werden, sofern die Filtration über Kieselgel so schnell wie möglich (< 10 min) durchgeführt wurde.

Das Amin **153** wurde mit Triflylazid zu Azid **154** umgesetzt. Bei dieser Reaktion konnten keine Kupfer- oder Zinksalze als Katalysatoren verwendet werden, wahrscheinlich wegen der starken Koordination an Ausgangsmaterial und Produkt. Es zeigte sich jedoch, dass kein Katalysator nötig war, um das Amin **153** in Azid **154** zu überführen. Allerdings war auch bei dieser Reaktion ein genau definiertes Lösungsmittelgemisch von CH₂Cl₂, DMF (1:7) unabdingbar, um eine ausreichende Löslichkeit zu gewährleisten. Wurden bei dieser Reaktion TFE oder HFIP zugegeben, so war kein Umsatz des Edukts zu beobachten. Das Amin konnte nicht vollständig in das Azid überführt werden, so dass eine Trennung von Amin und Azid durch Säulenchromatographie nötig waren. Auch Azid **154** war instabil bei längerem Kontakt mit Kieselgel. Deswegen musste auch diese Chromatographie sehr schnell (< 10 min) durchgeführt werden. Bei der Trennung mittels analytischer HPLC war ebenfalls Zersetzung zu beobachten. Unter dem hohen Druck während der HPLC-Analyse zersetzte sich Azid **154** offensichtlich zu großen Teilen zum Amin. Es war jedoch möglich das Produkt mittels NMR-Spektroskopie eindeutig zu charakterisieren, indem eine Mischung von CDCl₃ und Hexafluorisopropanol-d₂ (95 : 5) als Lösungsmittel verwendet wurde.

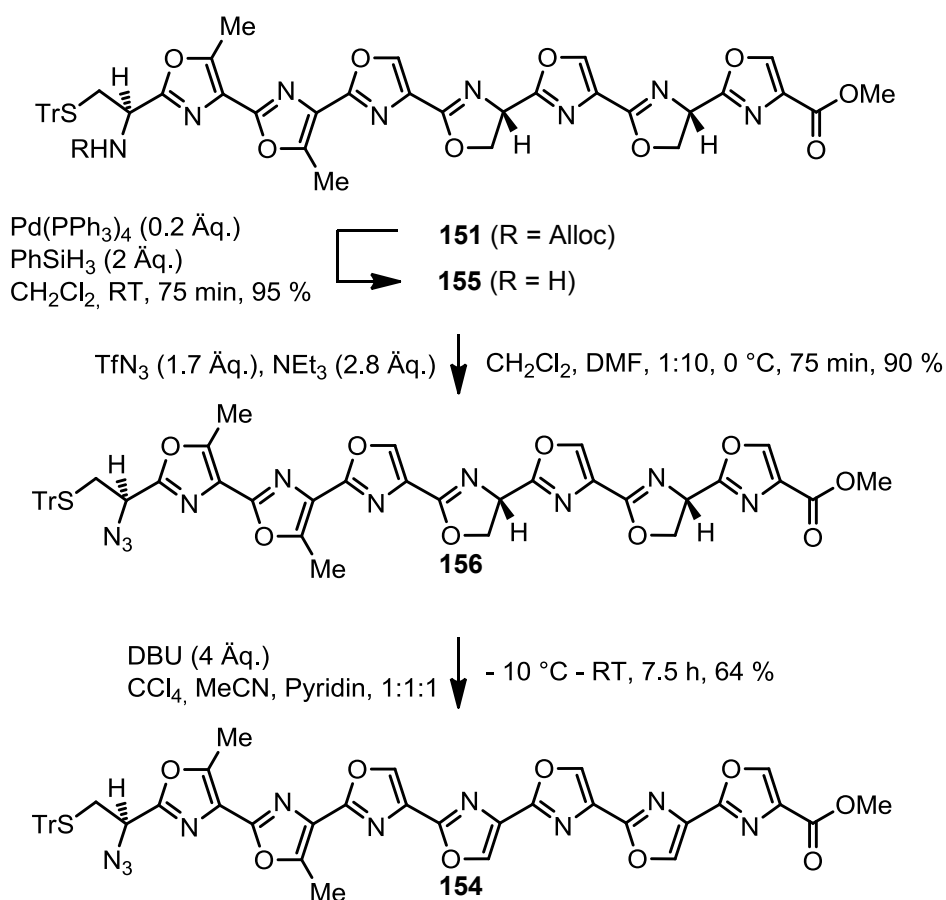
Azid **154** wurde mit einer Gesamtausbeute von 34 % (48 % bez. auf rückgewonnenes Amin) über drei Stufen erhalten. Da jedoch die Durchführung der Reaktionen und die Isolation der Produkte aufgrund mangelnder Löslichkeit sehr aufwendig waren, wurde gleichzeitig untersucht, ob Oxidation und Entschützung/Azidtransfer auch in umgekehrter Reihenfolge durchgeführt werden können, um die Schwierigkeiten zu vermeiden, die die geringe Löslichkeit der Heptaoxazolintermediate mit sich bringt.

4.7.3 Modifikation der funktionellen Gruppen und anschließende Oxidation zu Heptaoxazol 154

Wenn Substrate wie Bisoxazolin **151** zum entsprechenden Heptaoxazol oxidiert wurden, war stets eine drastische Verschlechterung der Löslichkeit zu beobachten. Dadurch wurde die Isolation der Produkte erschwert und Ausbeuten verringerten sich. Es erschien daher sinnvoll, diese Oxidation erst möglichst spät in der Synthese durchzuführen. Allerdings stellte die geringe Stabilität der Oxazoline in Gegenwart von Säuren eine Herausforderung dar. Wir hofften jedoch, dass die Entschützung von Bisoxazolin **151** zum freien Amin **151**

und der darauf folgende Diazotransfer in Anwesenheit der Oxazoline durchgeführt werden könnten.

Das Alloc-geschützte Amin **151** konnte mit $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ und PhSiH_3 in CH_2Cl_2 glatt zum Amin **155** entschützt werden (Schema 41). Da das Ausgangsmaterial in Dichlormethan ausreichend löslich war, musste bei dieser Reaktion kein TFE zugegeben werden. Auch reichten zwei Äq. Phenylsilan als Abfangreagenz aus. Das Bisoxazolinamin **155** war instabil auf Kieselgel, es konnte jedoch durch schnelle Flash-Chromatografie in fast quantitativer Ausbeute gewonnen werden.



Schema 41: Synthese des Hepta-oxazols **154** mittels Azidtransfer und anschließender Oxidation.

Der Diazotransfer gelang mit dem Bisoxazolin **155** ebenfalls sehr viel glatter. Durch die verbesserte Löslichkeit wurde das Amin vollständig umgesetzt und die Ausbeute konnte von 49 % auf 90 % gesteigert werden. Das Azid **156** war ebenfalls instabil in Anwesenheit von Kieselgel und zersetzte sich bei HPLC-Messungen. Die Analyse durch MALDI-TOF MS erforderte Optimierungsarbeit, wobei die milde Matrix 2,5-Dihydroxyacetophenon /

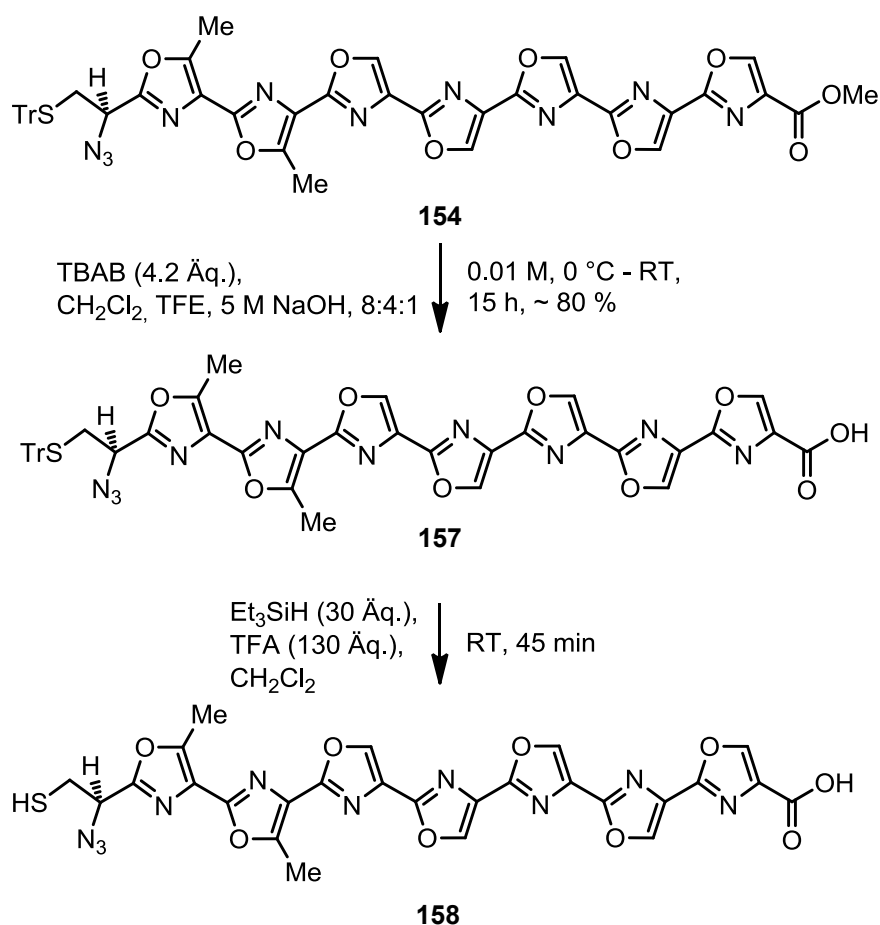
Diammoniumhydrogencitrat geeignet war, um die Hydrolyse der Oxazoline unter sauren, wässrigen Bedingungen zu verhindern.

Die Oxidation des Bisoxazolinazids **156** zu Heptaoxazol **154** konnte unter den zuvor entwickelten Bedingungen erfolgreich durchgeführt werden. Eine DC-Kontrolle zeigte vollständigen und sauberen Umsatz. Die geringe Löslichkeit von Heptaoxazol **154** sowie die hohe Instabilität in Anwesenheit von Kieselgel führten zu einer Ausbeute von 64 % gereinigtem Azid **154**.

Diese Route lieferte Heptaoxazol **154** mit einer Ausbeute von 55 % über drei Stufen. In keiner der Reaktionen musste nicht umgesetztes Ausgangsmaterial zurückgewonnen werden und die Handhabung der Intermediate war durch die verbesserte Löslichkeit sehr viel einfacher als bei der Route über Heptaoxazol **152**.

4.7.4 Entschützung von Heptaoxazol 154 und Arbeiten zur Makrothiolactonisierung

Heptaoxazolmethylester **154** musste nun in Carbonsäure **157** überführt werden. Dazu wurden ca. 40 verschiedene Lösungsmittelmischungen und Reagenzien wie LiOH, NaOH, KOH, Me₃SnOH oder HBr (48% in H₂O) bei 0 – 80 °C und Behandlung mit Ultraschall untersucht. Dabei wurde meist das Edukt nicht umgesetzt, bei Erhöhung der Temperatur und großen Überschüssen der Reagenzien war Zersetzung zu beobachten.

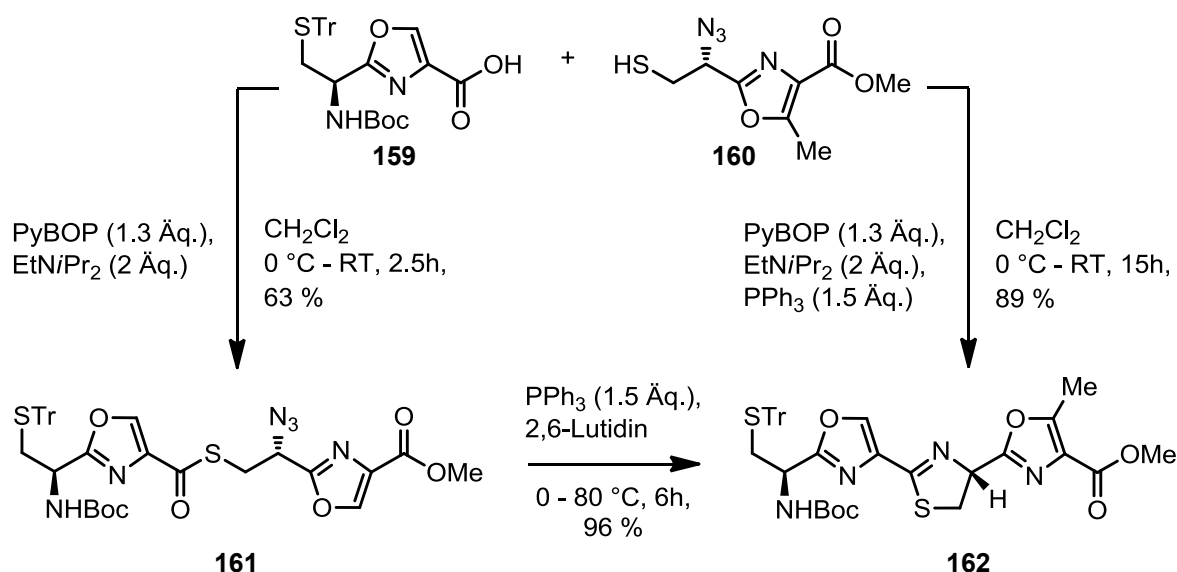


Schema 42: Entschützung von Tritylthiolmethylester **154** zum Makrozyklisierungsvorläufer **158**.

Die Hydrolyse des Methylesters wurde offensichtlich durch die niedrige Löslichkeit oder Aggregationsneigung des Heptaoxazolmethylesters **154** erschwert, während ein Grund für die Zersetzung offenbar die Eliminierung von Tritylthiol unter stark basischen Bedingungen (DC-Kontrolle) war.

Mischungen chlorierter Lösungsmittel mit TFE oder HFIP konnten zwar das Substrat teilweise lösen, jedoch nicht Reagenzien wie LiOH, NaOH oder KOH. Wurde Wasser zu den Mischungen gegeben, um das Reagenz in Lösung zu bringen, so war das Heptaoxazol nicht mehr löslich. Schließlich gelang die Hydrolyse des Esters durch Verwendung des Phasentransferkatalysators Tetrabutylammoniumbromid (TBAB) in einer Mischung von CH₂Cl₂, TFE und 5 M NaOH (8:4:1, Schema 42). Die Reaktion verlief weniger glatt, wenn kein TBAB verwendet wurde, jedoch konnte so das Entfernen des Tetrabutylammoniumbromids vermieden werden. Man beachte, dass unter diesen Bedingungen wahrscheinlich das Trifluorethanolatanion als Nucleophil wirkt. Die Entschützung des Tritylthioethers **157** zu Thiol **158** verlief zwar relativ langsam, ließ sich jedoch unter Standardbedingungen durchführen (TFA, Et₃SiH, CH₂Cl₂).

Nun sollte die Thiolcarbonsäure **158** zu einem Thiolacton umgesetzt werden. Diese Reaktion war zuvor schon für ein einfacheres Substrat ohne Makrozyklisierung untersucht worden (Schema 43).^[247]

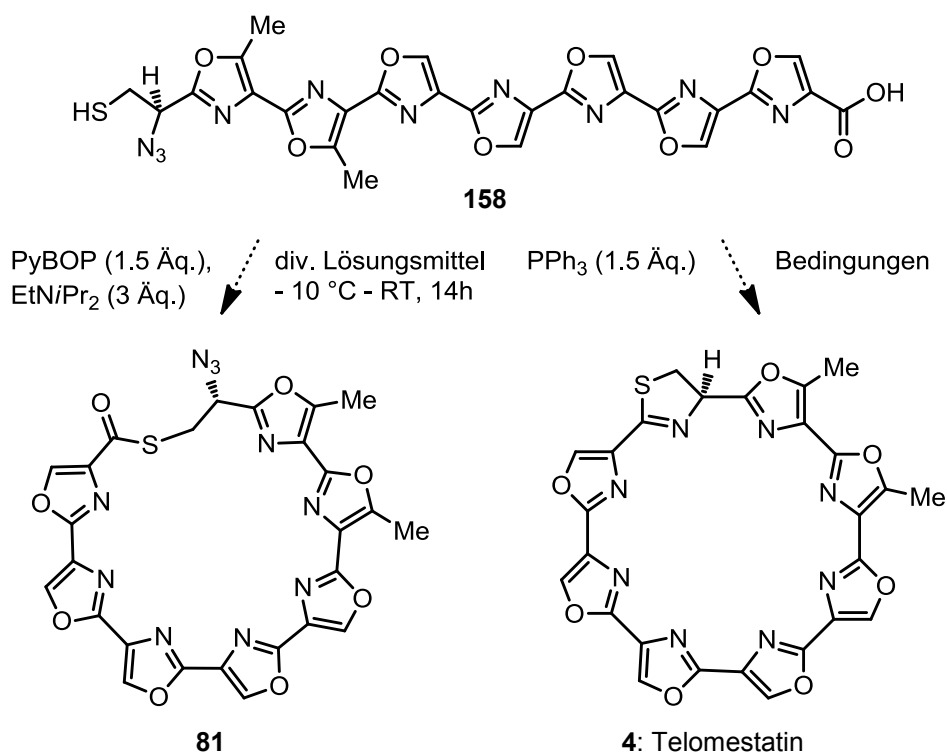


Schema 43: Verknüpfung von Carbonsäure **159** und Azidothiol **160** zu Thioester **161** und Thiazolin **162**.^[247]

S. Schwenk hatte gezeigt, dass PyBOP und EtNiPr₂ für die Synthese von Thioester **161** aus der aromatischen Carbonsäure **159** und dem β -Azidothiol **160** geeignet waren (Ausbeute 63 %). Der nachfolgende Aza-Wittig Ringschluß zu Thiazolin **162** gelang mit einer Ausbeute von 96 %. Außerdem war es möglich gewesen, durch Zugabe von PPh₃, die Kupp-

lung und den Ringschluß zum Thiazolin **162** in einem Schritt zu kombinieren (Ausbeute 89 %).

Mit PyBOP (1.5 Äq.) und Et₃NiPr₂ (3 Äq.) konnte jedoch in verschiedenen Lösungsmitteln, wie CH₂Cl₂, DMF, 2,6-Lutidin oder Pentafluoropyridin keine Zyklisierung von Thiolcarbonsäure **158** zu Thiolacton **81** beobachtet werden (MALDI, UPLC-MS, Tabelle 15).



Nr.	Reaktionsparameter	Bedingungen
1	Kupplungsreagentien	PyBOP, BOP-Cl, HATU
2	Basen	Et ₃ NiPr ₂ , Pyridin, 2,6-Lutidin und Mischungen
3	Lösungsmittel	Mischungen von CH ₂ Cl ₂ , DMF, 2,6-Lutidin, Pentafluoropyridin, 1,2-Dichlorethan, Pyridin, Tetrachloroethen
4	Temperatur	- 10 °C – RT (Addition), RT – 90 °C (Reaktion)
5	Zugabe	5 – 60 min, mit und ohne Spritzenpumpe
6	Metalle (Templateffekt)	Pb ²⁺ , Cd ²⁺ , Ni ²⁺ , Zn ²⁺ , Ba ²⁺ , Pd ²⁺ , Sn ²⁺ , In ³⁺ , Eu ³⁺ , Li ⁺ , Cs ⁺ , K ⁺ , Ce ³⁺ , Ru ³⁺ , Mg ²⁺

Tabelle 15: Variation der Reaktionsbedingungen zur Makrozyklisierung von Thiolcarbonsäure **158**.

Auch Dimere oder andere Oligomere wurden nicht gefunden. Aufgrund der geringen Mengen (0.5 – 1 mg, 0.8 – 1.6 μmol), der Löslichkeit und der Stabilität des Ausgangsmaterials war dessen Rückgewinnung nicht möglich.

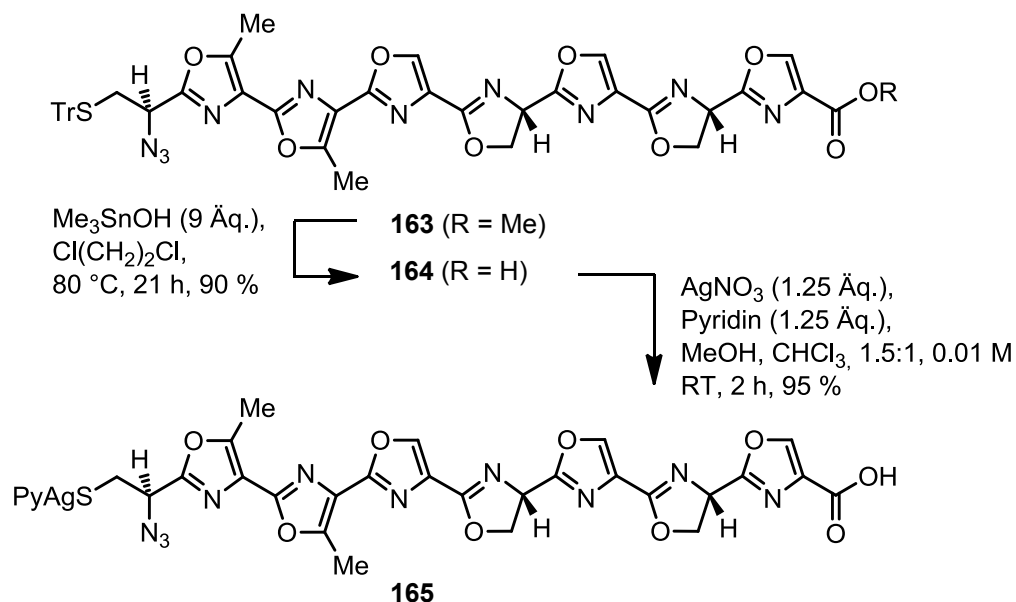
Da der u. U. gespannte Thioester **81** sehr leicht von Nucleophilen angegriffen und dadurch der Makrozyklus wieder geöffnet werden könnte, wurden Versuche durchgeführt, bei denen Makrozyklisierung und Aza-Wittig Ringschluß in einem Schritt kombiniert werden sollten (Tabelle 15), weil diese Strategie schon für die Synthese des Thiazolins **162** realisiert werden konnte (Schema 43). Dabei wurden jeweils 1.5 Äq. PPh_3 zur Reaktionsmischung gegeben. Verschiedene Kupplungsreagenzien, Basen, Lösungsmittelmischungen, und Temperaturen wurden getestet. Um einen möglichen Templateffekt für die Makrozyklisierung zu nutzen wurden auch Pb^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} , Pd^{2+} , Sn^{2+} , In^{3+} , Eu^{3+} , Li^+ , Cs^+ , K^+ , Ce^{3+} , Ru^{3+} und Mg^{2+} zur Reaktionsmischung gegeben. Die Bildung von Telomes-tatin **4** konnte jedoch in keinem Fall beobachtet werden (MALDI, UPLC-MS).

Wir vermuteten, dass neben der geringen Löslichkeit des Ausgangsmaterials möglicherweise auch eine geringe Flexibilität oder starke Aggregation von Thiolcarbonsäure **158** dafür verantwortlich sein könnte, dass unter diesen Bedingungen keine Zyklisierungsprodukte isoliert werden konnten.

Deshalb versuchten wir, die Zyklisierung auf der Stufe des sehr viel besser löslichen Bisoxazolins **156** zu realisieren. Es galt zu prüfen, ob die Anwesenheit zweier Oxazoline ausreichen würde, um die Aggregationsneigung zu verringern und die Makrozyklisierung durch zusätzliche sp^3 -hybridisierte Zentren in der Kette zu befördern.

4.8 Strategie IV: Arbeiten zur Makrothiolactonisierung von Bisoxazolin

Der Bisoxazolinmethylester **163** war gut löslich in diversen Lösungsmitteln (Dichlormethan, Chloroform, Methanol, DMF, THF) ohne dass TFE oder HFIP als Löslichkeitsvermittler zugegeben werden mussten. Die Spaltung des Methylesters **163** konnte jedoch nicht unter basischen Bedingungen (LiOH oder NaOH in THF, H₂O) durchgeführt werden. Ein möglicher Grund dafür könnte die Eliminierung von Tritylthiol sein, die auch bei Methylester **154** aufgetreten war. Bei Bisoxazolinmethylester **163** kommt jedoch v.a. die hydrolytische Öffnung der Oxazoline unter wässrigen Bedingungen in Betracht. Der Methylester konnte jedoch mit Me₃SnOH mit sehr guter Ausbeute in Carbonsäure **164** überführt werden (Schema 44).

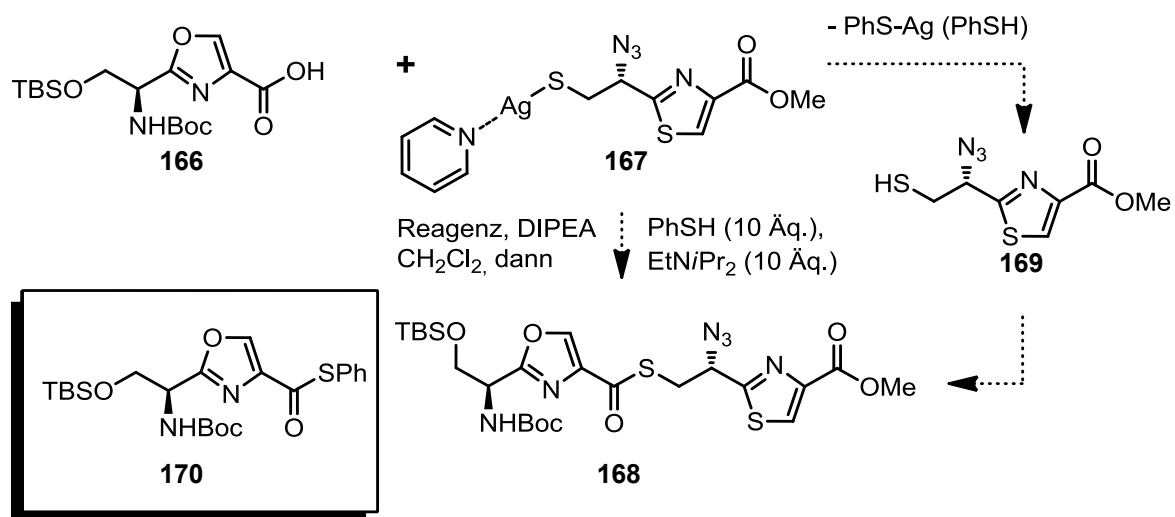


Schema 44: Entschützung von Tritylthiolmethylester **163** zu Silbersalz **165**.

Wurde Tritylthiol **164** mit TFA behandelt kam es zu starker Zersetzung. Der Thioether konnte allerdings selektiv unter Lichtausschluss mit AgNO₃, Pyridin und Methanol gespalten werden.^[280] Dabei entstand TrOMe, das durch Waschen mit Ethylacetat/Petrolether (1:9) entfernt werden konnte. Das Produkt wurde in Form von Silbersalz **165** isoliert. Wichtig war jedoch eine niedrige Konzentration von ca. 0.01 M. Bei höheren Konzentrationen kam es nicht zum vollständigen Umsatz des Edukts.

Bemerkenswert ist hier die chemoselektive Aktivierung des Thioethers mit Ag^{I} als Lewis-Säure. Unter diesen Bedingungen tritt offenbar kaum Aktivierung bzw. Ringöffnung der Oxazoline auf.

Anhand der Modellsysteme **166** und **167** wurde untersucht, ob ein solches Silberthiolat direkt zu Thioester **168** umgesetzt werden kann (Tabelle 16). Bei diesen Versuchen wurde ein Überschuß Thiophenol zugegeben um Ag^{I} zu entfernen und das freie Thiol **169** aus dem Silberthiolat **167** freizusetzen. Mit EDC als Kupplungsreagenz wurde kaum Umsatz der Carbonsäure **166** beobachtet (Nr. 1). Bei Verwendung von PyBOP kam es hauptsächlich zur Bildung von Phenylthioester **170** (Nr. 2). Mit BOP-Cl wurden der gewünschte Thioester **168** und der Phenylthioester **170** in einem Verhältnis von ca. 1:4 (UPLC-MS, Nr. 3) gebildet. Auch mit HATU wurde der Phenylthioester **170** mit einer Ausbeute von 72 % isoliert (Nr. 4).

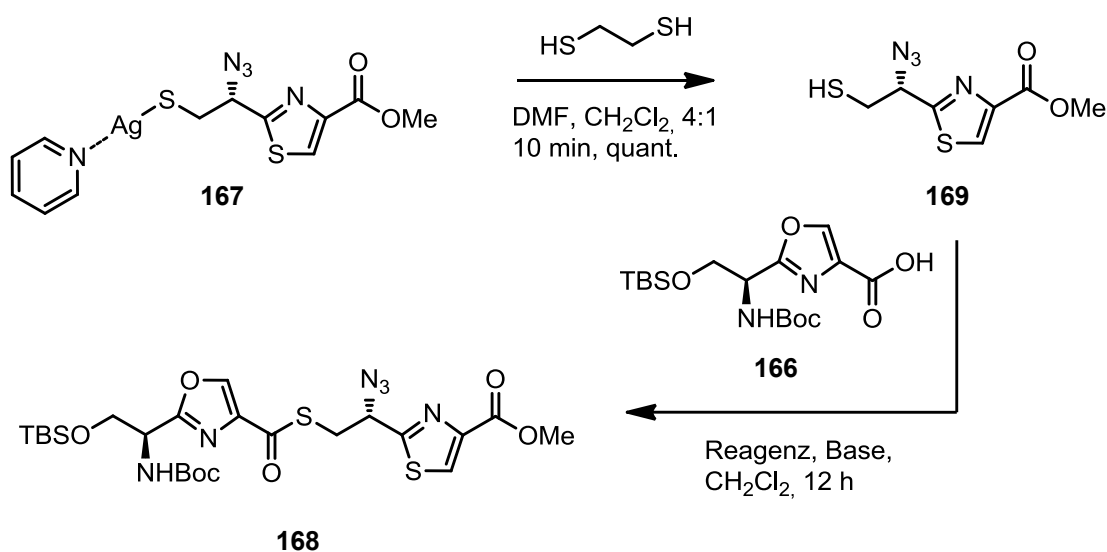


Nr.	Reagenz (Äq.)	Base (Äq.)	Beobachtung
1	EDC × HCl (1.5)	$\text{EtN}i\text{Pr}_2$ (3.5), DMAP (0.1)	kein 168 , kein 170 , haupts. Sre. 166
2	PyBOP (1.5)	$\text{EtN}i\text{Pr}_2$ (1.5)	66 % 170
3	BOP-Cl (1.5)	$\text{EtN}i\text{Pr}_2$ (1.5)	ca. 10 – 20 % 168 (UPLC-MS, Mischung mit Nebenprodukten), 78 % 170
4	HATU (1.5)	$\text{EtN}i\text{Pr}_2$ (1.5)	72 % 170

Tabelle 16: Arbeiten zur Thioestersynthese aus Thioethylsilberkomplex **167** als Modellsystem für eine Makrothiolactonisierung.

Aufgrund dieser Ergebnisse erschien es sinnvoll das Silberthiolat **167** zuerst in das freie Thiol **169** zu überführen und in einem zweiten Schritt die Bildung des Thioesters zu optimieren (Tabelle 17).

Es zeigte sich, dass eine Behandlung des Silbersalzes **167** mit Ethandithiol zu schneller und glatter Freisetzung des Thiols **169** führte. Dieses Thiol konnte mit der Carbonsäure **166** zu Thioester **168** verknüpft werden (Nr. 1-4). Das beste Ergebnis lieferte das Kupplungsreagenz PyBOP (Nr. 2). Bei diesem Versuch wurde der Thioester **168** in 63 % Ausbeute isoliert.

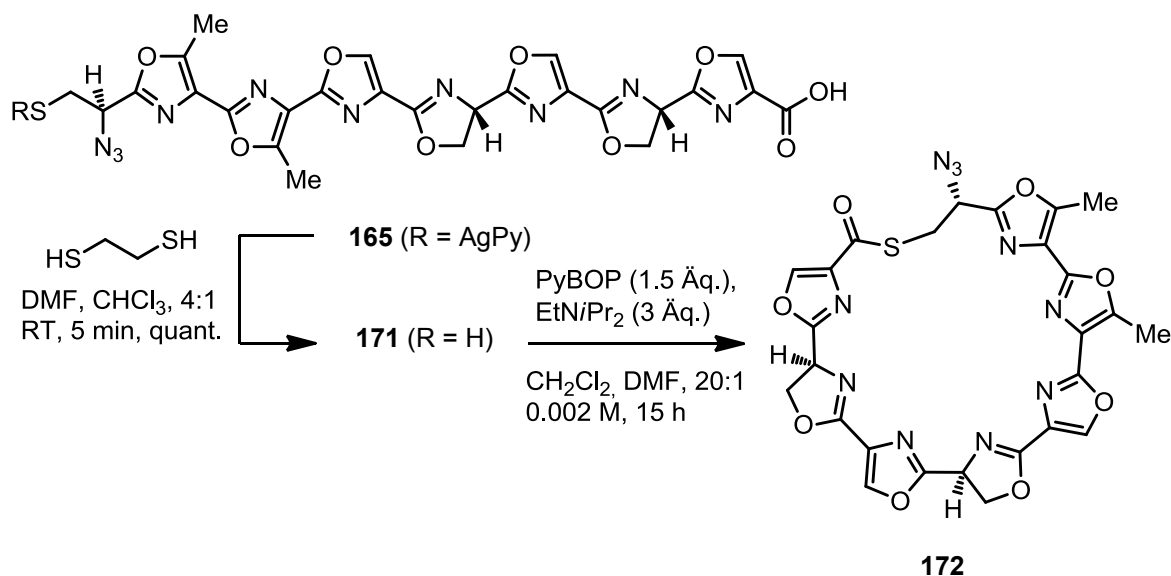


Nr.	Kupplungsreagenz (Äq.)	Base (Äq.)	Beobachtung
1	EDC × HCl (1.5)	EtN <i>i</i> Pr ₂ (3.5), DMAP (0.1)	47 % 168
2	PyBOP (1.5)	EtN <i>i</i> Pr ₂ (3)	63 % 168
3	BOP-Cl (1.5)	EtN <i>i</i> Pr ₂ (3)	41 % 168
4	HATU (1.5)	EtN <i>i</i> Pr ₂ (3)	32 % 168

Tabelle 17: Umsetzung von Thiolsilberkomplex **167** zum freien Thiol **169** und Reaktion zu Thioester **168**.

Auch Bisoxazolin **165** konnte mit Ethandithiol glatt zum freien Thiol **171** umgesetzt werden (Schema 45). Die Thiolcarbonsäure **171** musste sofort weiter umgesetzt werden. Wurde die Thiolcarbonsäure **171** nur für 20 Stunden unter Hochvakuum gelagert war bereits starke Zersetzung zu beobachten (DC-Kontrolle).

Die Makrothiolactonisierung zu **172** wurde unter den zuvor entwickelten Bedingungen mit PyBOP und Et₃NiPr₂ durchgeführt. Bei Untersuchungen mittels UPLC-MS konnte das Makrothiolacton **172** nachgewiesen werden (Signale für MH⁺, MNH₄⁺, MNa⁺, MK⁺, 2MH⁺, 2MK⁺). Wässrige Extraktion bei pH 6 oder pH 7 (Phosphatpuffer) führte zu starker Zersetzung. Das Gleiche galt für Säulenchromatographie an Kieselgel (CHCl₃/*i*PrOH bzw. CHCl₃/*i*PrOH/Et₃NiPr₂) und Reinigung mittels HPLC (C18, H₂O/MeCN). Die mangelnde Stabilität des Makrothiolactons **172** erlaubte keine Reinigung bzw. Quantifizierung.



Schema 45: Freisetzung von Carbonsäurethiol **171** und Zyklisierung zu Makrothiolacton **172**.

Die Analyse der Reaktionsmischung mittels UPLC-MS zeigte stets mehr Ausgangsmaterial als Produkt (Abb. 23). Die Anwesenheit von Wasser und die hohen Drücke während der Trennung durch die Hochdruckflüssigchromatographie, lassen jedoch vermuten, dass es hier zur Hydrolyse des Thiolactons **172** zum Ausgangsmaterial **171** bzw. zu Zersetzung kommt. Deshalb ist es wahrscheinlich, dass diese UPLC-MS Messungen das Verhältnis von Thiolcarbonsäure und Thiolacton nicht korrekt widerspiegeln. Dimere, Oligomere oder beispielsweise ein Bisthiolacton aus zwei Thiolcarbonsäurebausteinen **171** wurden bei diesen Messungen nicht beobachtet.

Eine weitere Umsetzung des Makrothiolactons **172** durch Aza-Wittig Ringschluß (PPh₃, 2,6-Lutidin) oder Oxidation (CCl₄, Pyridin, MeCN, Et₃NiPr₂) führte zu starker Zersetzung

des Thiolactons **172** (DC-Kontrolle), ohne dass die Bildung eines Thiazolins bzw. oxidierter Produkte zu beobachten war (UPLC-MS). Auch das Ausgangsmaterial konnte bei Untersuchungen mittels UPLC-MS nicht mehr nachgewiesen werden.

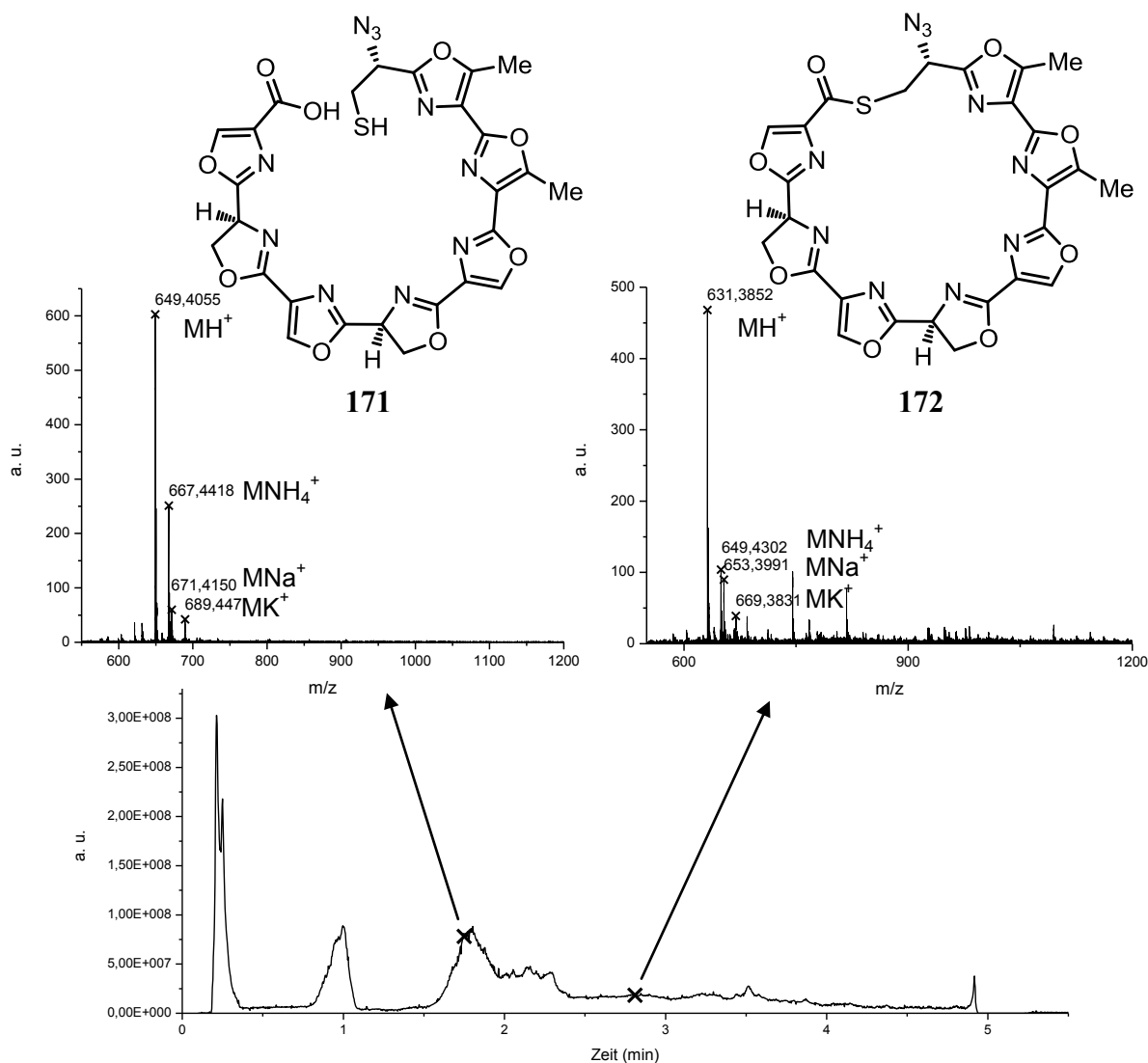


Abb. 23: UPLC-MS Untersuchung der Thiolactonisierung (Rohprodukt). Oben links: Massenspektrum der Thiolcarbonsäure **171** (Rt 1.75); oben rechts: Massenspektrum des Thiolactons **172** (Rt 2.81); unten: Chromatogramm der Trennung mittels UPLC (MeCN, H₂O).

Es ist also möglich, die Thiolcarbonsäure **171** zu Makrothiolacton **172** zu zyklisieren. Um diese Methode allerdings für eine Synthese von Telomestatin nutzbar zu machen, ist es nötig, ein besonders flexibles Substrat für die Zyklisierung zu wählen bzw. Bausteine zu verwenden, die weniger anfällig gegenüber Hydrolyse sind. Eine solche Strategie soll nach der Zusammenfassung im nächsten Kapitel vorgestellt werden.

4.9 Fazit

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden die gleichzeitige Synthese mehrerer Oxazoline in komplexen Substraten durch multiple Aza-Wittig Ringschlüsse, deren Oxidation und Makrothiolactonisierungen für eine Totalsynthese von Telomestatin untersucht.

Die Synthese der Oxazolbausteine gelang nach Optimierung der Reaktionsbedingungen im Multigrammmaßstab. Die Verknüpfung der daraus hergestellten Oxazolcarbonsäuren mit Alkoholen und Thiolen war in vielen Fällen durch Verwendung von PyBOP und EtNiPr₂ möglich. Bei einem sterisch anspruchsvollen Substrat konnte durch Verwendung von Ghosez Reagenz eine sehr gute Ausbeute erzielt werden.

Multiple Aza-Wittig Ringschlüsse waren sowohl mit zwei als auch drei Azidoestern im Molekül möglich und verliefen mit Ausbeuten von 70 – 99 %. Die Oxidation der dabei entstehenden Oxazoline gelang leicht mit DBU und BrCCl₃ bzw. CCl₄, sofern die Oxazoline keinen Substituenten in Position 5 trugen. Die Oxidation eines 5-Methyloxazolins erforderte dagegen den Einsatz von NaOMe und BrCCl₃.

Moleküle mit bis zu drei sequenziellen Oxazolen zeigen eine gute Löslichkeit. Sieben sequenzielle Oxazole in einem Molekül führten zu extrem schlechter Löslichkeit, selbst wenn eine sterisch anspruchsvolle Tritylgruppe im Molekül vorhanden war. Diese geringe Löslichkeit ging einher mit einer aufwendigen Isolation und Umsetzung der Hepta-oxazole. Deshalb wurden neue Methoden für die Umsetzung sequenzieller Hepta-oxazole, ihre chromatographische Reinigung sowie die Analyse der Substanzen mittels HPLC, MALDI-TOF, UPLC-MS und NMR entwickelt. Austausch zweier Oxazole gegen Oxazoline führte – auf Kosten der Stabilität – zu einer Verbesserung der Löslichkeit und damit der präparativen Handhabbarkeit der Substanzen. Es wurde gezeigt, dass die Synthese des Makrothiolactons **172** aus dem Carbonsäurethiol **171** prinzipiell möglich ist, allerdings war Makrothiolacton **172** zu instabil für weitere Umsetzungen bzw. wurde nur wenig effizient aus dem Bisoxazolinvorläufer **171** hergestellt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Aza-Wittig Reaktion genutzt, um eine flexible Route für die Herstellung von Telomestatin auf totalsynthetischem Weg zu erschließen. Zum ersten Mal konnten sequentiell verknüpfte Hepta-oxazole rein dargestellt und ihre Reaktivität charakterisiert werden.

Nach jetzigem Wissensstand scheint eine Totalsynthese von Telomestatin über ein Oligomer aus sieben Oxazolen und Thiolactonzwischenstufen nicht unmöglich, aber äußerst aufwendig und möglicherweise wenig effizient zu sein. Welche Schlußfolgerungen ergeben sich aus diesen Erkenntnissen für die Biosynthese des Telomestatins?

Es ist wahrscheinlich, dass Telomestatin biosynthetisch durch ribosomale Peptidsynthese und posttranslationelle Modifikationen hergestellt wird (Kap. 1.3.1 und 1.3.2). Findet die Biosynthese der sieben Heptaoxazole vor der Makrozyklisierung statt? Wenn dem so ist, dann ist das Heptaoxazol-Peptid-Intermediat möglicherweise sehr unlöslich bzw. neigt stark zur Aggregation. Es ist zu erwähnen, dass eine authentische Probe von Telomestatin eine sehr viel bessere Löslichkeit in Mischungen von Chloroform und Methanol zeigte, als die hier beschriebenen Heptaoxazolverbindungen. Möglicherweise aggregieren die sequenziellen Oxazole weniger stark, wenn sie in einen Makrozyklus eingebunden sind.

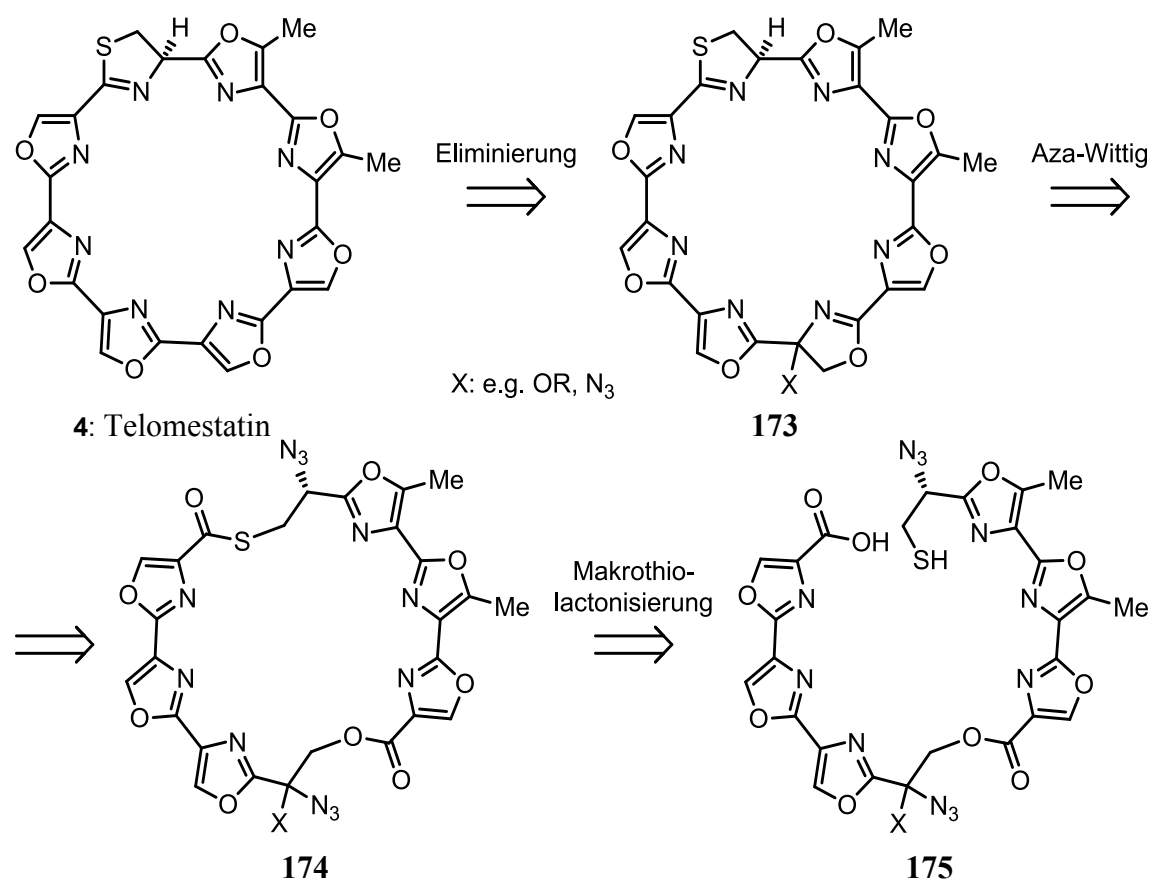
Wird das Peptid zuerst zu einem Makrolactam zyklisiert und dann die Oxazole und das Thiazolin eingeführt? In diesem Fall würden die Leitsequenzen, die für die Erkennung durch die Enzyme nötig sein sollten, abgespalten. Wie könnten die Enzyme in diesem Fall ihr Substrat erkennen?

Die Synthese von Telomestatin bzw. markierter Derivate für die chemische Biologie könnte Antworten auf diese Fragen geben. Die Erkenntnisse, die im Rahmen dieser Arbeit gewonnen werden konnten würden an eine neue Syntheseroute für ein Thiolacton die nun folgenden Anforderungen stellen.

4.10 Ausblick

Um eine effiziente Totalsynthese von Telomestatin mithilfe der Aza-Wittig Reaktion zu realisieren sollten Intermediate mit mehr als drei sequenziellen Oxazolen möglichst nach der Makrozyklisierung eingeführt werden, um einerseits gute Löslichkeit und wenig Aggregationsneigung sicherzustellen und andererseits durch mehr frei drehbare Bindungen die Makrozyklisierung zu befördern.

Soll die Synthese über eine Thiolactonzwischenstufe verlaufen, so sollte die Anzahl der Umsetzungen in Anwesenheit des Makrothiolactons möglichst gering sein. Diese Umsetzungen sollten nucleophile Reaktionspartner und stark basische Bedingungen vermeiden.



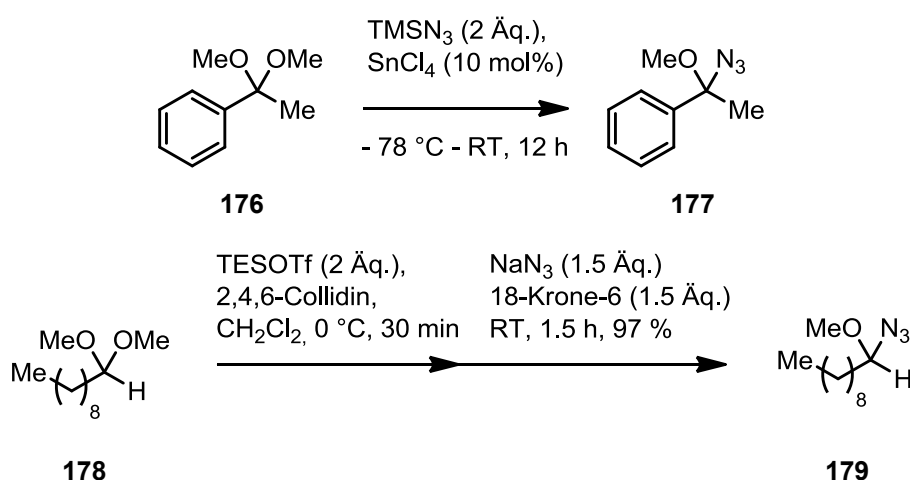
Scheme 46: Alternative Aza-Wittig-inspirierte Route für eine Synthese von Telomestatin.

Eine Syntheseroute, die diese Vorgaben erfüllen könnte ist in Schema 46 dargestellt. Thiazoline lassen sich in vielen Fällen leichter als Oxazoline oxidieren. Diese Oxidationen laufen häufig schon in Anwesenheit von Base und Luftsauerstoff ab.^[202] Wenn also ein Oxazolin und ein Thiazolin gleichzeitig in einer Telomestatinvorstufe anwesend sind, so müsste die Oxidation des Oxazolins, beispielsweise durch eine Abgangsgruppe X (**173**), so weit erleichtert werden, dass dessen Oxidation stattfinden kann, ohne dass das Thiazolin oxidiert wird.

Handelt es sich bei der Abgangsgruppe um einen Methoxysubstituenten, so könnte eine Eliminierung z.B. unter den von Doi et al. beschriebenen Bedingungen (Campher-sulfonsäure, Toluol, MS 5 Å) stattfinden.^[208] Bisazolin **173** könnte durch einen zweifachen Aza-Wittig Ringschluß beispielsweise auf Thiolacton **174** zurückgeführt werden. Dieses Substrat könnte aus einem linearen Ester **175** hergestellt werden, der die oben genannten Kriterien erfüllt. Bei Ester **175** könnte es sich z.B. um ein geminales Diazid oder einen α -

Azidoether handeln. Solche Verbindungen wurden bisher in relativ wenigen Publikationen beschrieben. Ich möchte kurz auf einige Arbeiten eingehen, die die Stabilität, Synthese und mögliche Nebenreaktionen von α -Azidoethern und geminalen Diaziden beschreiben.

Der α -Azidoether **177**, der mit TMSN_3 und SnCl_4 aus Dimethylacetal **176** hergestellt werden konnte neigt zwar zur Hydrolyse,^[281] war jedoch stabil in Gegenwart wässriger NaHCO_3 -Lösung^[282] und bei Säulenchromatographie an Kieselgel (Schema 47, oben).^[281]

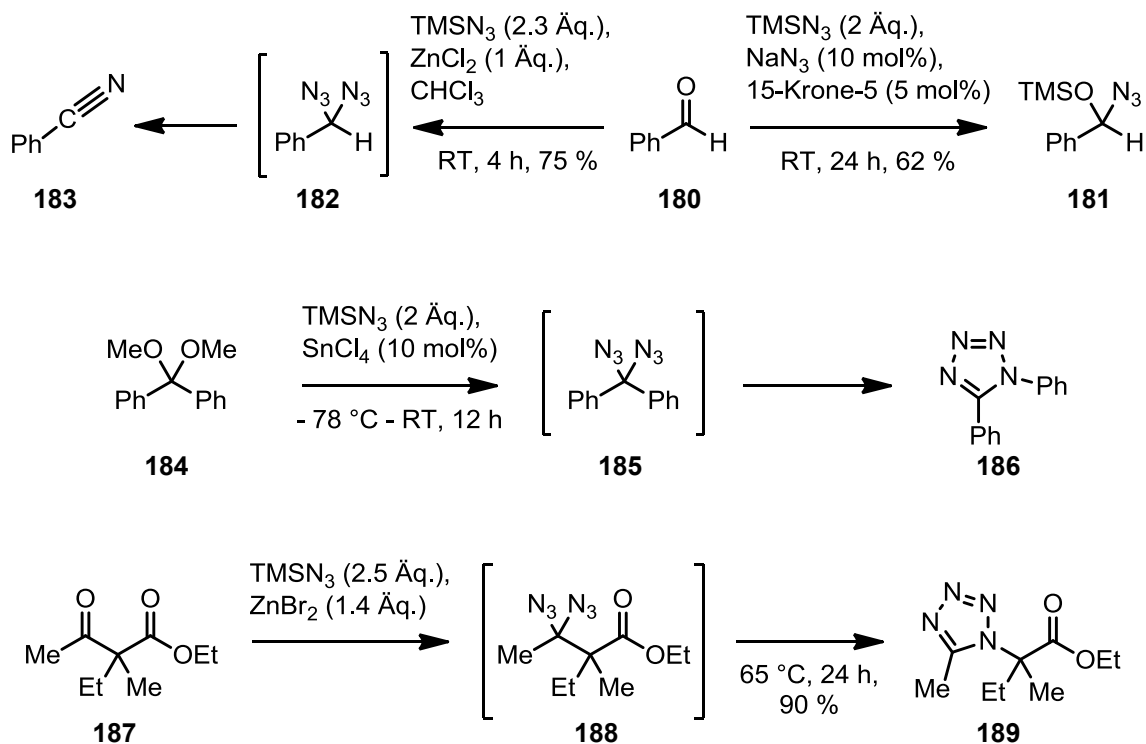


Schema 47: Synthese von α -Azidoethern aus Dimethylacetalen.^[281-283]

Eine weitere Publikation beschreibt die Aktivierung von Acetal **178** mit einer Mischung von TESOTf und 2,4,6-Collidin und anschließende Umsetzung zum α -Azidoether **179** durch Zugabe von NaN_3 und 18-Krone-6 zur Reaktionsmischung (Schema 47, unten).^[283]

Einige Nebenreaktionen, die bei der Synthese geminaler Diazide auftreten können sind in Schema 48 dargestellt. Benzaldehyd **180** konnte mit TMSN_3 in Anwesenheit von NaN_3 und 15-Krone-5 zu dem α -Azidotrimethylsilylether **181** umgesetzt werden. Wurde jedoch ZnCl_2 zur Reaktionsmischung gegeben, so kam es, wahrscheinlich durch Bildung von Diazid **182**, zur Bildung von Benzonitril **183** (Schema 48, oben).^[284]

Kirchmeyer und Mitarbeiter berichteten die Umsetzung von Benzophenondimethylacetal **184** mit TMSN_3 in Anwesenheit von SnCl_4 . In diesem Fall wurde wahrscheinlich zuerst das Diazid **185** gebildet, dass dann durch Schmidt-Umlagerung zum Tetrazol **186** weiterreagierte (Schema 48, Mitte).^[282]



Scheme 48: Reaktionen geminaler Diazide zu Cyanoverbindungen und Tetrazolen.

Die Gruppe um Cristau und Pirat berichtete von der Umsetzung von β -Ketoestern, wie beispielsweise **187** mit TMSN_3 in Anwesenheit von ZnBr_2 .^[285] Dabei wurde höchstwahrscheinlich auch ein geminales Diazid **188** gebildet, dass nach einer Schmidt-Umlagerung das Tetrazol **189** mit einer Ausbeute von 90 % lieferte. Diese Reaktionsbedingungen tolerierten die Anwesenheit eines Ethylesters.

Um einen solchen Ansatz für eine Totalsynthese von Telomestatin zur Anwendung zu bringen müsste zunächst mit Modellsubstraten geprüft werden, ob Thioester und Ester unter diesen Bedingungen stabil sind, ob α -Azidoether bzw. Diazide mit guten Ausbeuten hergestellt werden können und wie effizient Aza-Wittig Reaktionen und Eliminierungen zum Oxazol ablaufen.

5 Schlusswort

Die vorliegende Arbeit demonstriert das hohe Potential der Aza-Wittig inspirierten Synthese von Azolinen und Azolen. Durch Aza-Wittig Ringschlüsse aktivierter β -Azidoamide sind nun auch Imidazoline und Imidazole in enantiomerenreiner Form erhältlich. Die hohe Chemoselektivität dieser Reaktion konnte genutzt werden um selektiv mehrere Thiazoline, Oxazoline und Imidazoline in einem Molekül gleichzeitig herzustellen. Es wurde gezeigt, dass eine Vielzahl chiraler Substrate der Aza-Wittig Reaktion und einer nachfolgenden Oxidation zum Azol unterworfen werden können, ohne dass es zur Epimerisierung stereogener Zentren kommt. Für eine Totalsynthese von Telomestatin wurden Bausteinsynthesen optimiert und multiple Aza-Wittig Ringschlüsse mit hervorragenden Ausbeuten durchgeführt. Schutzgruppen für Thiole, Amine und Carbonsäuren, die in Gegenwart von Oxazolinen und Oxazolen eingeführt und abgespalten werden können wurden identifiziert. Ester mit z.T. hohem sterischem Anspruch wurden für multiple Oxazolinringschlüsse zugänglich gemacht und Methoden entwickelt, um diese Oxazoline effizient zu oxidieren. Zum ersten Mal wurden sequenzielle Heptaoxazole hergestellt, charakterisiert und weiter umgesetzt. Exemplarisch wurde demonstriert, unter welchen Bedingungen multiple Oxazolin-Oxazol-Oligomere in Makrothiolactone überführt werden können.

Diese Arbeit bildet damit eine Basis, um azol(in)haltige Naturstoffe besonders effizient herzustellen und eröffnet neue Möglichkeiten für die Synthese von maßgeschneiderten Derivaten und von Werkzeugverbindungen für die chemische Biologie.

6 Experimenteller Teil

6.1 Methoden

6.1.1 Geräte und Verfahren

NMR-Spektroskopie: ^1H - und ^{13}C -Spektren wurden mit einem *Varian Mercury 400*, einem *Bruker Avance DRX 500*, einem *Bruker Avance AC400* und einem *Bruker Avance 600* Spektrometer in deuterierten Lösungsmitteln aufgenommen. Dabei dienten die Restprotonen dieser Lösungsmittel als interner Standard (Benzol- d_6 : $\delta_{\text{H}} = 7.16$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 128.39$ ppm; CDCl_3 : $\delta_{\text{H}} = 7.26$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 77.23$ ppm; CD_3OD : $\delta_{\text{H}} = 3.31$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 49.00$ ppm; $\text{DMSO-}d_6$: $\delta_{\text{H}} = 2.50$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 39.51$ ppm; Pyridin- d_5 : $\delta_{\text{H}} = 7.58$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 135.91$ ppm; Hexafluorisopropanol- d_2 : $\delta_{\text{H}} = 4.41$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 68.07$ ppm). Die chemischen Verschiebungen (δ) sind in *parts per million* (ppm), und die Kopplungskonstanten in Hz angegeben. Die Zuordnung der ^1H - und ^{13}C -Signale erfolgte gegebenenfalls durch 2D Experimente (gCOSY, gHSQC, gHMBC). Signalmultiplizitäten wurden folgendermaßen bezeichnet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett), dd (Doppeldublett), m (Multipllett) und bs (breites Singulett). Sofern nicht anders angegeben wurden NMR-Spektren bei 25 °C gemessen.

Massenspektrometrie: LC-MS-Spektren wurden mit einer *LCQ Advantage ESI* Anlage (*Finnigan*) aufgenommen. Vorsäule: *VP 50/21 Nucleodur C18 Gravity* 5 μm , Hauptsäule: *125/4 Nucleodur C18 Gravity* 3 μm (*Macherey & Nagel*). Als Eluenten kamen $\text{H}_2\text{O}/0.1\%$ HCOOH (A) und $\text{MeCN}/0.1\%$ HCO_2H (B) bei einer Flussrate von 1 mL/min zum Einsatz. Folgender Lösemittelgradient wurde verwendet: 10% B für 1 min; 10% bis 100% B in 9 min; 100% B für 2 min. **HRMS (ESI)**-Spektren wurden mit einem *LTQ Orbitrap* Anlage gekoppelt an ein *Accela HPLC-System* (HPLC-Säule: *50/1 Hypersil GOLD* 1.9 μm ; beide *Thermo Scientific*) und einer *micrOTOF-Q II* Anlage (*Bruker*) gemessen.

MALDI-TOF-Spektren wurden mit einer *Voyager DETMPro Biospectrometry Workstation* der Firma *Applied Biosystems* aufgenommen. Folgende Matrices kamen zum Einsatz:

CHCA: 10 mg/mL in MeCN und 0.4% TFA in Wasser (1:1).

DHAP: 10 mg/mL und 1.5 mg/mL Diammoniumhydrogencitrat in *i*PrOH

DHB: 10mg/mL in Wasser oder MeOH mit 0.1% TFA.

Die Proben wurden häufig mit Natrium, Kalium und Cäsium dotiert, um die Bildung der entsprechenden Ionen $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$ bzw. $[M+Cs]^+$ zu forcieren. Dafür wurden **Dotierlösungen** hergestellt (10 mg NaI, KI bzw. CsI in 1 mL MeOH).

Für die Probenmessung wurden 1 μ L des Analyten in MeOH (ca. 0.1-0.5 mg/mL) mit 2 μ L der jeweiligen Dotierlösung und 2 μ L der Matrix gemischt, davon 0.5 μ L auf den Probenträger aufgebracht und gemessen, sobald alle Lösemittel verdunstet waren.

IR-Spektroskopie: IR-Spektren wurden an einem *Shimadzu IRAffinity-1* gemessen. Die Proben (Öle bzw. Feststoffe) wurden direkt auf die Messfläche (Diamant) aufgebracht. Feste Proben wurden mit einem Anpressstempel fixiert, Öle ohne Fixierung vermessen.

Mikrowellen-unterstützte Reaktionen: Um Reaktionsgemische durch Mikrowellenstrahlung zu erhitzen wurde eine *CEM Discover* Mikrowelle mit verschlossenen Glassgefäße eingesetzt. Die Temperaturmessung erfolgte dabei an der Außenseite der Gefäße mithilfe eines IR Sensors. Reaktionszeiten geben an, wie lange die Mischung bei der angegebenen Temperatur gerührt wurde, nicht, wie lange die Mischung insgesamt bestrahlt wurde.

Schmelzpunktbestimmung: Die Schmelzpunkte wurden mit einem *Büchi Heizmikroskop B-450* in offenen Kapillaren bestimmt und sind unkorrigiert.

Spezifische optische Drehung: Optische Drehungen wurden mit einem *Schmidt + Haensch Polartronic HH8* Kreispolarimeter gemessen (bezogen auf die Na-D-Linie: $\lambda = 589$ nm, Küvettenlänge: 10 cm). Die Konzentration c in g/100 mL und das verwendete Lösungsmittel (p.a.-Qualität) sind bei den entsprechenden Substanzen angegeben.

6.1.2 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie: Die Dünnschichtchromatographie wurde auf beschichteten Aluminium-Platten der Firma Merck (Kieselgel 60, F254) durchgeführt. Die Detektion erfolgte mittels UV-Licht (255 bzw. 366 nm) oder durch Anfärben mit einer der folgenden Mischungen und anschließendes Erwärmen.

Für schwerlösliche und polare Polyoxazole wurde für die Dünnschicht- sowie für die Säulenchromatographie häufig „**Polare Elutionsmischung**“ (Pyridin, Isopropanol, 1:3) eingesetzt.

KMnO₄-Lösung: 2 g KMnO₄, 13.2 g K₂CO₃, 165 mg NaOH, 200 mL NaOH

Ninhydrin-Lösung: 300 mg Ninhydrin, 100 mL EtOH, 2 mL AcOH

Ellmans Reagenz: 1 mM 5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoesäure), 50 mM Tris-HCl in H₂O

Phosphomolybdat: 2 Gew.-% Molybdatophosphorsäure in EtOH

Säulenchromatographie: Als stationäre Phase diente Kieselgel der Firma *Macherey & Nagel* (MN Kieselgel 60 M, Partikelgröße 40-73 µm). Die Trennung fand in der Regel bei 0.3-0.5 bar Überdruck statt (Geschwindigkeit der Laufmittelfront: ca. 5 cm/min).

Analytische HPLC: Die HPLC-Anlage der Firma *Varian* bestand aus folgenden Komponenten: Pumpe *ProStar 230*, Autosampler *ProStar 410*, Säulenwechsler *Reodyne LabPRO*, UV/VIS-Detektor *ProStar 335*. Als Trennsäulen wurden verwendet: *CC125/4 Nucleodur C18 Gravity* 3 µm, *EC 125/4 Nucleodur C18 Isis* 3 µm, *CC125/4 Nucleodur C4 Gravity* 3 µm, *CC250/4 NUCLEOSIL C6H5 ec* 5 µm und *CC250/4 C18 Nautilus* 3 µm. Die Lösungsmittel (HPLC gradient grade) wurden von *Fisher Scientific* oder *Acros* bezogen.

Methode A: *C18 Gravity*, A: H₂O, B: CH₃CN: 10% (1 min), 10% bis 95% (10 min), 95% (1 min) B, 1 mL/min.

Methode B: *C18 Gravity*, A: H₂O, B: CH₃CN: 10% (1 min), 10% bis 95% (10 min), 95% (3 min) B, 1 mL/min.

Methode C: *C18 Gravity*, A: H₂O + 0.1% TFA, B: CH₃CN + 0.1% TFA: 10% (1 min), 10% bis 95% (10 min), 95% (3 min) B, 1 mL/min.

Methode D: *C18 Isis*, A: H₂O, B: CH₃CN: 10% (1 min), 10% bis 95% (11 min), 95% (2 min) B, 1 mL/min.

Methode E: *C18 Isis*, A: H₂O, B: CH₃CN: 10% (1 min), 10% bis 95% (13 min), 95% (2 min) B, 1 mL/min.

Methode F: *C18 Isis*, A: H₂O + 0.1% TFA, B: CH₃CN + 0.1% TFA: 10% (1 min), 10% bis 95% (13 min), 95% (1 min) B, 1 mL/min.

Methode G: *C4 Gravity*, A: H₂O, B: *i*PrOH: 10% (1 min), 10% bis 100% (13 min), 100% (3 min) B, 0.5 mL/min.

Methode H: *C18 Isis*, A: H₂O + 0.1% TFA, B: CH₃CN + 0.1% TFA: 10% (1 min), 10% bis 95% (12 min), 95% (1 min) B, 1 mL/min.

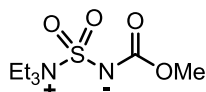
Präparative HPLC: Für präparative Trennungen kam ein Model der Firma Varian zum Einsatz: Pumpe *ProStar 215*, UV/VIS-Detektor *ProStar 340* und Fraktionssammler *ProStar 701*. Als Trennsäulen kamen zum Einsatz: *VP250/21 Nucleodur C18 Gravity 5 µm*, *VP250/16 Nucleodur C18 Gravity 5 µm*, *VP 250/21 Nucleodur C4 Gravity 5 µm* und *VP250/16 Nucleodur C4 Gravity 5 µm*. Die Lösungsmittel (HPLC gradient grade) wurden von *Fisher Scientific* oder *Acros* bezogen.

Chirale analytische HPLC: Für die Trennung von Enantiomeren wurde eine *Agilent 1100* HPLC-Anlage eingesetzt. Folgende Trennsäulen wurden verwendet: *Daicel AD*, *IC* oder *IA*.

6.1.3 Reagenzien und Lösungsmittel

Reagentien wurden von den Firmen *ABCR*, *Acros*, *Alfa-Aesar*, *Carbolution*, *Fluka*, *Fisher Scientific*, *Merck*, *Novabiochem*, *Riedel de Haen*, *Roth* oder *Sigma-Aldrich* bezogen und soweit nicht anders angegeben ohne weitere Reinigung eingesetzt. Reaktionen wurden üblicherweise unter einer Argon-Schutzgasatmosphäre durchgeführt.

Acetonitril, Dichlormethan, 2,6-Lutidin und Pyridin wurden von CaH₂ abdestilliert. Dichlormethan wurde stets frisch destilliert. Acetonitril, 2,6-Lutidin und Pyridin wurden mit aktiviertem 4Å Molsieb versetzt und so mehrere Monate gelagert. Triphenylphosphin wurde aus Ethanol umkristallisiert. Tetrahydrofuran wurde mit KOH entwässert und dann von blauem Natrium/Benzophenon abdestilliert und sofort verwendet.

Burgess Reagenz (1-Methoxy-*N*-triethylammoniosulfonylmethanimidat)^[250]

Chlorosulfonylisocyanat (6.23 mL, 10.2 g, 71.8 mmol) wurde in Benzol (21 ml) gelöst und unter Lichtausschluß tropfenweise über 30 min mit einer Lösung von MeOH (3 mL, 74.0 mmol) in Benzol (3 mL) versetzt. Die Lösemittel wurden i.V. entfernt. Methyl-*N*-(chlorosulfonyl)carbammat wurde als farbloser Feststoff erhalten und ohne weitere Reinigung umgesetzt.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.43 (s, 1H, NHCO), 3.95 (s, 3H, COOCH₃).

Eine Lösung von Triethylamin (20 mL, 144 mmol) in Benzol (80 mL) wurde auf 10 - 15 °C abgekühlt. Das zuvor hergestellte Methyl-*N*-(chlorosulfonyl)carbammat (12.4 g, 71.3 mmol) wurde in Benzol (180 mL) gelöst und über 1.5 h zugetropft. Ein farbloser Feststoff fiel dabei aus der Mischung aus (Et₃NH⁺Cl). Der Feststoff wurde unter Schutzgas abfiltriert und das Filtrat eingeeengt (Temp. < 30 °C). Dabei wurde das Burgess Reagenz (15.2 g, 63.4 mmol, 89 %) als cremefarbener Feststoff erhalten.

Der Feststoff wurde nicht umkristallisiert, da beim Erhitzen in Benzol oft starke Zersetzung beobachtet wurde.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.68 (s, 3H, COOCH₃), 3.46 (q, *J* = 7.3 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₃), 1.40 (t, *J* = 7.3 Hz, 9H, N(CH₂CH₃)₃).

Pd(PPh₃)₄ - (Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0))^[286]

PdCl₂ (10.0 g, 56.4 mmol) und PPh₃ (74.0 g, 282 mmol) wurden unter Ar-Atmosphäre in 677 mL DMSO gelöst. Die Mischung wurde erwärmt, bis eine klare Lösung entstanden war (150 – 160 °C). Die tiefrote Lösung wurde ohne weiteres Erwärmen 15 min gerührt, wobei eine orangefarbene Suspension entstand. Dann wurde Hydrazin-monohydrat (11.3 g, 226 mmol) hinzugegeben. Dabei war Gasentwicklung zu beobachten und ein gelber Feststoff fiel aus der Mischung aus. Die Mischung wurde mit einem Wasserbad auf RT abgekühlt.

Der gelbe Feststoff wurde unter Argon abfiltriert und mit Ethanol (2 x 25 mL) und Ether (4 x 25 mL) gewaschen. Schließlich wurden alle Lösemittel im h.v. entfernt und Pd(PPh₃)₄ (63.1 g, 54.6 mmol, 97%) als gelber Feststoff isoliert.

6.1.4 Pufferlösungen

Phosphatpuffer pH 2.5-3.0: 13.8 g NaH₂PO₄ × H₂O wurden in 1 L H₂O gelöst und mit H₃PO₄ auf pH 2.5-3.0 angesäuert.

Phosphatpuffer pH 7.0: 58.0 g NaH₂PO₄ × H₂O und 103 g Na₂HPO₄ × 2 H₂O wurden in 1 L H₂O gelöst.

Phosphatpuffer pH 10: 84 g NaHCO₃ und 106 g Na₂CO₃ wurden in 1 L H₂O gelöst.

6.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften

Azidtransfer nach Wong et al.^[185, 287] (AV1): Eine Lösung von NaN_3 (6 Äq. pro Aminogruppe) in H_2O (6 M) wurde mit dem gleichen Volumen CH_2Cl_2 versetzt und auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. Tf_2O (6 Äq. pro Aminogruppe) wurde tropfenweise über 5 min. zugegeben und das entstandene Zweiphasengemisch für 2 h bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ stark gerührt. Die Mischung wurde mit ges. Na_2CO_3 -Lösung neutralisiert, die Phasen getrennt und die wässr. Phase zweimal mit demselben Volumen CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Na_2CO_3 -Lösung gewaschen und die so erhaltene Lösung von TfN_3 in CH_2Cl_2 direkt verwendet. Substrat und Katalysator (1 mol% CuSO_4 oder ZnCl_2) wurden in H_2O gelöst (gleiches Volumen wie die TfN_3 -Lösung) und Base hinzugegeben (K_2CO_3 oder NEt_3 , 3 Äq.). Bei Zugabe der TfN_3 -Lösung entstand eine zweiphasige Mischung. Diese Mischung wurde mit MeOH versetzt, bis ein homogenes Gemisch entstanden war. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle) wurden die organischen Lösungsmittel i.V. entfernt, die wässr. Phase mit H_2O verdünnt, mit HCOOH neutralisiert und mit CH_2Cl_2 extrahiert (5x). Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (MgSO_4) und i.V. eingengt.

Optimierter Azidtransfer (AV2): NaN_3 (6 Äq. pro Aminogruppe) wurde in H_2O (8M) suspendiert, mit demselben Volumen CH_2Cl_2 versetzt und auf $-20\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. Tf_2O (3 Äq. pro Aminogruppe) wurde zugegeben und das entstandene Zweiphasengemisch für 30 min bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ stark gerührt. Ges. NaHCO_3 -Lösung (200 vol% der Reaktionsmischung, $0\text{ }^\circ\text{C}$) wurde langsam zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässr. Phase wurde mit CH_2Cl_2 extrahiert (2x, je 250% des CH_2Cl_2 -Volumens in der Reaktionsmischung, $0\text{ }^\circ\text{C}$). Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. NaHCO_3 -Lösung gewaschen (1x, gleiches Volumen, wie die Reaktionsmischung) und die so erhaltene Lösung von TfN_3 in CH_2Cl_2 wurde ohne weitere Reinigung verwendet. Substrat und Katalysator (0.5 mol% CuSO_4 oder ZnCl_2) wurden in DMF gelöst (gleiches Volumen wie die $\text{TfN}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Lösung) und auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. EtNiPr_2 (2.5 Äq.) und die $\text{TfN}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Lösung wurden zugegeben und bei RT gerührt, bis das Substrat vollständig umgesetzt war (DC-Kontrolle). Das CH_2Cl_2 wurde bei RT i.V. entfernt. H_2O wurde zugegeben und die wässrige Phase mit Et_2O extrahiert (4x). Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (MgSO_4) und bei RT solange mit Toluol eingengt, bis die Mischung kein Et_2O mehr enthielt. **Vorsicht:**

Obwohl ich bei der Durchführung dieser Reaktion noch nie Instabilität beobachtet habe, sollten angemessene Schutzmaßnahmen (Explosionsschild) verwendet werden, wenn die Reaktionsmischung oder das Rohprodukt erwärmt oder i.V. konzentriert wird. Das so erhaltene Rohprodukt in Toluol wurde nicht vollständig eingeeengt, sondern sofort chromatographisch gereinigt oder durch Kieselgel filtriert, bevor das Toluol vollständig entfernt wurde.

Synthese von *N*-Acylsulfonamiden mit DAST (AV3): Die Carbonsäure (2 Äq.) wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ gelöst (0.4 M) und auf 0 °C abgekühlt. Pyridin (2 Äq.) und DAST (2.4 Äq.) wurden zugegeben und die Mischung für 40 min bei 0 °C gerührt. H₂O wurde zugegeben (50 vol% der Reaktionsmischung), die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit CH₂Cl₂ extrahiert (je 100 vol% der Reaktionsmischung). Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (MgSO₄) und i.V. eingeeengt. Das so erhaltene Säurefluorid wurde ohne weitere Reinigung verwendet. 2-Azido-3-(tolyl-4'-sulfonylamino)-propionsäure-methylester **48a** (1 Äq.) wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ gelöst (0.8 M) und auf 0 °C abgekühlt. EtNiPr₂ (2 Äq.) und das zuvor hergestellte Säurefluorid (2 Äq.) wurden zugegeben und die Mischung bei RT bis zum vollständigen Umsatz (DC-Kontrolle) gerührt. H₂O (400 vol% der Reaktionsmischung) wurde zugegeben und die wässrige Phase mit Zitronensäure (5% in H₂O) auf pH 5 angesäuert. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert (1000 vol%, 4x). Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (MgSO₄) und i.V. eingeeengt.

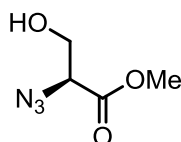
Synthese von *N*-Acylsulfonamiden mit HATU und Cs₂CO₃ (AV4): Die Carbonsäure (2 Äq.) wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ (0.2 M) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. HATU (1.1 Äq.) und Cs₂CO₃ (1 Äq.) wurden zugegeben und die Mischung 15 min bei 0 °C gerührt. Nach Zugabe von mehr Cs₂CO₃ (3 Äq.) und Sulfonamid **48a** (1 Äq.) in wasserfreiem CH₂Cl₂ (0.3 M) wurde die Mischung bei 0 °C bis zum vollständigen Umsatz gerührt (DC-Kontrolle). H₂O (400 vol% der Reaktionsmischung) wurde zugegeben und die wässrige Phase mit Zitronensäure (5 % in H₂O) auf pH 5 angesäuert. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert (700 vol%, 4x). Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (MgSO₄) und i.V. eingeeengt.

Synthese von Imidazolinen mittels Aza-Wittig-Ringschluß (AV5): Das Azid wurde in THF, Pyridin oder 2,6-Lutidin gelöst (0.01 – 0.08 M) und auf – 20 °C abgekühlt (mit 2,6-Lutidin wurde die Mischung eingefroren). Dann wurde die Mischung mit PPh₃ (1.5 Äq. pro Azid) versetzt und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach beendeter Gasentwicklung wurde die Mischung bei der angegebenen Temperatur für die angegebene Zeit gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel i.V. entfernt.

Oxidation von Azolinen zu Azolen mit BrCCl₃ und DBU (AV6): Das Azolin wurde in CH₂Cl₂ gelöst (0.05 M) und auf -10 °C abgekühlt. DBU (2.1 Äq.) wurde zugetropft und die Mischung 10 min bei 0 °C gerührt. Dann wurde tropfenweise BrCCl₃ (1.1 Äq.) zugegeben, die Mischung langsam auf RT erwärmt und bis zum vollständigen Umsatz (DC-Kontrolle) gerührt. Die Mischung wurde mit EtOAc versetzt (500 vol% der Reaktionsmischung) und mit 1M NaHSO₄-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen (jew. 200 vol% der Reaktionsmischung). Die organische Phase wurde entwässert (MgSO₄) und i.V. konzentriert.

6.3 Synthese von Imidazolinen und Imidazolen mithilfe der Aza-Wittig-Reaktion

(S)-2-Azido-3-hydroxypropionsäuremethylester 48c



Nach **AV1**:

Serinmethylester × HCl (1.15 g, 7.40 mmol) wurde nach **AV1** mit ZnCl₂ als Katalysator und NEt₃ als Base zum Azid umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (380 g, Cyclohexan/EtOAc 2:1) wurde Azid **48c** (1.05 g, 7.30 mmol, 99 %, e.e. = 57 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.20$ (Cyclohexan/EtOAc 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 4.07$ (t, $J = 4.7$ Hz, 1H, CHN₃), 3.90 (d, $J = 4.7$ Hz, 2H, CH₂OH), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 2.71 (bs, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3)^[8]: $\delta = 169.2$ (CO_2CH_3), 63.4 (CH_2OH), 62.6 (CHN_3), 52.8 (OCH_3).

HRMS (ESI)^[8]: $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 146.0560, gef.: 146.0558.

IR (KBr)^[8]: $\nu = 3442$ (bs), 2958 (m), 2112 (s), 1745 (s), 1439 (m), 1213 (s), 1057 (m), 971 (w), 859 (w), 817 (w), 665 (w), 554 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -98.4$ (CHCl_3 , $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

Chirale HPLC (Chiralpak IA, 90 % Isohexan, 10 % $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ (100/2), 70 min, 0.5 mL/min): $t_R = 24.6$ min, R-Enantiomer, 21.5%, $t_R = 27.3$ min, S-Enantiomer, 78.5 %, e.e. = 57 %.

Nach **AV2**:

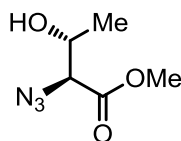
Serinmethylester \times HCl (938 mg, 6.05 mmol) wurde nach **AV2** mit ZnCl_2 (30.0 mg, 0.30 mmol) als Katalysator und EtNiPr_2 (2.5 mL, 15.14 mmol) als Base in DMF (54 mL) zum Azid umgesetzt (RT, 1.5 h). Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (350 g, Cyclohexan/EtOAc 2:1) wurde Azid **48c** (746 mg, 5.14 mmol, 85 %, e.e. = >99 %) als leicht gelbes Öl erhalten.

Chirale HPLC (Chiralpak IA, 90 % Isohexan, 10 % $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ (100/2), 70 min, 0.5 mL/min): S-Enantiomer: $t_R = 27.3$ min, >99 %, e.e. > 99 %.

Um den Enantiomerenüberschuss zu bestätigen wurde Azid **48c** (50.0 mg, 340 μmol) in CH_2Cl_2 (0.2 M) gelöst, mit DBU (6.80 mmol) versetzt und bei RT für 20 Stunden gerührt. Phosphatpuffer pH 3 (15 mL) wurde zugegeben und die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (4 \times 15 mL). Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO_4) und i.V. konzentriert. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (5 g, Cyclohexan/EtOAc 2:1) wurde racemisches Azid **48c** (746 mg, 5.14 mmol, 85 %, e.e. = 0 %) als farbloses Öl erhalten.

Chirale HPLC (Chiralpak IA, 90 % Isohexan, 10 % $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ (100/2), 70 min, 0.5 mL/min): $t_R = 23.0$ min, R-Enantiomer, 49.9 %, $t_R = 25.4$ min, S-Enantiomer, 50.1 %, e.e. = 0 %.

(2*S*,3*R*)-2-Azido-3-hydroxybutansäuremethylester 48d



Nach **AV1**:

Threoninmethylester \times HCl (1.70 g, 10.0 mmol) wurde nach **AV1** mit ZnCl₂ als Katalysator und NEt₃ als Base zum Azid umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (170 g, Petrolether/EtOAc 2:1) wurde Azid **48d** (820 mg, 5.20 mmol, 52 %, e.e. = 93 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.25$ (Petrolether/EtOAc 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 4.22$ (qd, $J = 3.9, 6.4$ Hz, 1H, CHOH), 3.81 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.80 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, CHN₃), 2.28 (s, 1H, OH), 1.28 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, CHCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)^[8]: $\delta = 169.7$ (CO₂Me), 68.3 (CHOH), 67.2 (CO₂CH₃), 52.8 (CHN₃), 19.8 (CHCH₃).

HRMS (ESI)^[8]: C₅H₁₀N₃O₃ ([M+H]⁺) ber.: 160.0717, gef.: 160.0715.

IR (KBr)^[8]: $\nu = 3479$ (bm), 2982 (m), 2958 (m), 2353 (w), 2115 (s), 1746 (s), 1438 (m), 1281 (m), 1209 (s), 1180 (m), 1128 (m), 961 (m), 897 (m), 860 (s), 795 (m), 715 (w).

Optische Drehung^[8]: $[\alpha]_D = -85.7$ (CHCl₃, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

Chirale HPLC (Chiralpak IA, 80 % Isohexan, 20 % CH₂Cl₂/EtOH (100/2), 70 min, 0.5 mL/min): $t_R = 26.7$ min, *R*-Enantiomer, 3.7 %, $t_R = 27.3$ min, *S*-Enantiomer, 96.3 %, e.e. = 93 %.

Nach **AV2**:

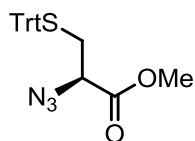
Threoninmethylester \times HCl (1.02 g, 6.10 mmol) wurde nach **AV2** mit ZnCl₂ (30.0 mg, 300 μ mol) als Katalysator und EtNiPr₂ (2.5 mL, 15.1 mmol) als Base in DMF (54 mL) zum Azid umgesetzt (RT, 1.5 h). Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (200 g, Petrolether/EtOAc 3:1) wurde Azid **48d** (652 mg, 4.10 mmol, 68 %, e.e. = > 99 %) als leicht gelbes Öl erhalten.

Chirale HPLC (Chiralpak IA, 80 % Isohexan, 20 % CH₂Cl₂/EtOH (100/2), 70 min, 0.5 mL/min): *S*-Enantiomer: $t_R = 31.3$ min, > 99 %, e.e. > 99 %.

Um den Enantiomerenüberschuss zu bestätigen wurde Azid **48d** (50.0 mg, 310 μmol) in CH₂Cl₂ (0.2 M) gelöst, mit DBU (6.20 mmol) versetzt und bei RT für 20 Stunden gerührt. Phosphatpuffer pH 3 (15 mL) wurde zugegeben und die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (4 x 15 mL). Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und i.V. konzentriert. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (5 g, Petrolether/EtOAc 2:1) wurde eine Mischung von Azid **48d** und dessen Epimer als farbloses Öl erhalten.

Chirale HPLC (Chiralpak IA, 80 % Isohexan, 20 % CH₂Cl₂/EtOH (100/2), 70 min, 0.5 mL/min): $t_R = 26.1$ min, *R*-Enantiomer, 23.3 %, $t_R = 31.4$ min, *S*-Enantiomer, 76.7 %, e.e. = 53 %.

(*R*)-2-Azido-3-(tritylthio)propionsäuremethylester 48b



Nach **AV1**:

S-Tritylcysteinmethylester × HCl (410 mg, 1.00 mmol) wurde nach **AV1** mit CuSO₄ als Katalysator und NEt₃ als Base zum Azid umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (60 g, Petrolether/EtOAc 9:1) wurde Azid **48b** (290 mg, 700 μmol, 71 %, e.e. = < 42 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.55$ (Petrolether/EtOAc 4:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)^[8]: $\delta = 7.48 - 7.40$ (m, 6H, Tr), 7.32 - 7.19 (m, 9H, Tr), 3.69 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.20 (dd, $J = 5.9, 8.1$ Hz, 1H, NHN₃), 2.69 (dd, $J = 5.9, 13.4$ Hz, 1H, CHHSTr), 2.55 (dd, $J = 8.1, 13.4$ Hz, 1H, CHHSTr); nicht gef.: CO₂H.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃)^[8]: $\delta = 169.5$ (CO₂Me), 144.4, 129.7, 128.3, 127.1 (Tr), 67.5 (CPh₃), 61.6 (CHN₃), 52.9 (CO₂CH₃), 33.4 (CH₂STr).

GC-HRMS (EI)^[8]: C₂₃H₂₁NO₂S ([M-N₂]⁺) ber.: 375.1288, gef: 375.1283

IR (KBr)^[8]: $\nu = 3478$ (sw), 3060 (s), 2953 (m), 2495 (w), 2116 (s), 1958 (m), 1904 (w), 1747 (s), 1660 (w), 1596 (w), 1556 (w), 1539 (w), 1488 (s), 1445 (s), 1381 (s), 1206 (s), 1080 (m), 1011 (s), 932 (m), 914 (m), 892 (m), 849 (w), 759 (s), 700 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -45.4$ Toluol, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

HPLC (Methode D): $t_R = 13.2$ min.

Chirale HPLC (Chiralpak IA, 97 % Isohexan, 3 % CH₂Cl₂/EtOH (100/2), 70 min, 0.5 mL/min): $t_R = 28.7$ min, *R*-Enantiomer, ca. 29 %, $t_R = 28.8$ min, *S*-Enantiomer, ca. 71 %, e.e. = < 42 %.

Nach **AV2**:

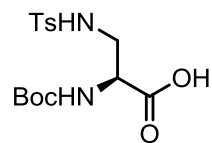
S-Tritylcysteinmethylester × HCl (314 mg, 0.760 mmol) wurde nach **AV2** mit CuSO₄ × 5 H₂O (9.0 mg, 0.040 mmol) als Katalysator und EtNiPr₂ (304 μL, 1.84 mmol) als Base in DMF (3.3 mL) zum Azid umgesetzt (RT, 2 h). Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (10 g, Petrolether/EtOAc 9:1) wurde Azid **48b** (165 mg, 0.410 mmol, 54 %, e.e. = > 95 %) als leicht gelbes Öl erhalten.

Chirale HPLC (Chiralpak IA, 97 % Isohexan, 3 % CH₂Cl₂/EtOH (100/2), 70 min, 0.5 mL/min): *S*-Enantiomer: $t_R = 33.1$ min, > 97.5 %, e.e. > 95 %.

Um den Enantiomerenüberschuss zu bestätigen wurde Azid **48b** (50.0 mg, 120 μmol) in CH₂Cl₂ (0.2 M) gelöst, mit DBU (2.40 mmol) versetzt und bei RT für 20 Stunden gerührt. Phosphatpuffer pH 3 (15 mL) wurde zugegeben und die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (4 x 15 mL). Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und i.V. konzentriert. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (5 g, Petrolether/EtOAc 2:1) wurde eine Mischung von Azid **48b** und dessen Epimer als farbloses Öl erhalten.

Chirale HPLC (Chiralpak IA, 97 % Isohexan, 3 % CH₂Cl₂/EtOH (100/2), 70 min, 0.5 mL/min): $t_R = 28.8$ min, *R*-Enantiomer, $t_R = 30.0$ min, *S*-Enantiomer.

(S)-2-tert-Butoxycarbonylamino-3-(tosylamino)-propionsäure 52



Tosylchlorid (5.60 g, 29.5 mmol) wurde in einer Mischung von 1,4-Dioxan (200 mL) und ges. NaHCO₃-Lösung (100 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dann wurde zunächst eine Lösung von (S)-3-Amino-2-tert-butoxycarbonylamino-propionsäure^[184] (5.00 g, 24.5 mmol) in ges. NaHCO₃-Lösung (100 mL) zugegeben (pH = 7) und anschließend NaOH-Lösung (10 % in H₂O, 10 mL, pH = 9). Die Mischung wurde bei RT für 2.5 h gerührt und dann i.V. eingengt. Die Mischung wurde in EtOAc (400 mL) aufgenommen, mit 1M NaHSO₄-Lösung auf pH 1 angesäuert und die wässrige Phase mit EtOAc (3 x 400 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über MgSO₄ entwässert und i.V. eingengt. 8.70 g (24.3 mmol, 99 %) von Sulfonamid **52** konnten als farbloses Öl isoliert werden.

DC: $R_f = 0.34$ (CHCl₃/MeOH 9:1 +0.5 % HCOOH).

LC-MS (ESI): $t_R = 8.1$ min, C18; C₁₅H₂₃N₂O₆S ([M+H]⁺) ber.: 359.1, gef.: 358.7.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 12.72$ (s, 1H, COOH), 7.66 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, SO₂CCH), 7.62 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, SO₂NH), 7.39 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH₃CCH), 6.87 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, OC(O)NH), 4.01 (dd, $J = 7.2$ Hz, 13.0 Hz, 1H, CH₂CH), 3.01 (dd, $J = 6.8$ Hz, 12.7 Hz, 2H, CH₂), 2.38 (s, 3H, ArCH₃), 1.37 (s, 9H, C(CH₃)₃).

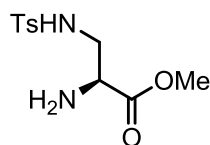
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 171.6$ (COOH), 155.1 (CO₂*t*Bu), 142.7 (CSO₂), 137.2 (CH₃CCH), 129.6 (CHCSO₂), 126.5 (CH₃CCH), 78.3 (C(CH₃)₃), 53.5 (CH₂CH), 43.6 (CH₂), 28.1 (C(CH₃)₃), 20.9 (ArCH₃).

HRMS (ESI): C₁₅H₂₃N₂O₆S ([M+H]⁺) ber.: 359.1271, gef.: 359.1274.

IR (KBr) : $\nu = 2978$ (w), 2932 (w), 1688 (s), 1325 (m), 1154 (s), 813 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -2.5$ (MeOH, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

(S)-2-Amino-3-(tolyl-4'-sulfonylamino)-propionsäuremethylester 53a



Carbonsäure **52** (17.6 g, 49.0 mmol) wurde in wasserfreiem MeOH (60 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. SOCl₂ (21.4 mL, 294 mmol) wurde langsam zugetropft und die Mischung 6 Stunden bei RT gerührt. Die Mischung wurde i.V. eingengt und das dabei entstandene gelbe Öl des Ammoniumchlorids **53a** × HCl wurde üblicherweise ohne weitere Reinigung eingesetzt.

Für analytische Zwecke wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (800 g Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 98:2 + 0.5 % NEt₃). Dabei wurde ein farbloses Öl des freien Amins **53a** quantitativ erhalten.

Analytische Daten für das Amin:

DC: $R_f = 0.29$ (CHCl₃/MeOH 9:1).

HPLC (Methode D): $t_R = 6.2$ min.

LC-MS (ESI): $t_R = 5.5$ min, C18; C₁₁H₁₇N₂O₄S ([M+H]⁺) ber.: 273.1 gef: 272.8.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 7.72$ (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, SO₂CCH), 7.28 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, CH₃CCH), 3.67 (s, 3H, COOCH₃), 3.55 (dd, $J = 4.6$ Hz, 7.1 Hz, 1H, NH₂CH), 3.25 (dd, $J = 4.6$ Hz, 12.9 Hz, 1H, NH₂CHCH_a), 3.00 (dd, $J = 7.2$ Hz, 12.9 Hz, 1H, NH₂CHCH_b), 2.39 (s, 3H, ArCH₃).

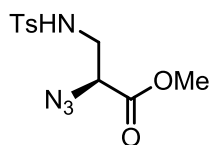
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 173.6$ (COOMe), 143.6 (CH₃CCH), 137.0 (CHCSO₂), 129.9 (CH₃CCH), 127.2 (CHCSO₂), 53.9 (NH₂CH), 52.6 (COOCH₃), 46.1 (NH₂CHCH₂), 21.7 (ArCH₃).

HRMS (ESI): C₁₁H₁₇N₂O₄S ([M+H]⁺) ber.: 273.0904, gef.: 273.0904.

IR: $\nu = 3287$ (m), 2956 (w), 1740 (s), 1441 (m), 1328 (s), 1159 (s), 817 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +26.0$ (MeOH, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

(S)-2-Azido-3-(tosyl-4'-sulfonylamino)-propionsäuremethylester 48a



Nach **AV2**:

Ammoniumsalz **53a** × **HCl** (16.0 g, 51.9 mmol), DMF (216 mL), $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ (605 mg, 2.42 mmol), EtNiPr_2 (16.7 mL, 121 mmol), 1.5 h. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (1400 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 7:3) wurde Azid **48a** als leicht gelbes Öl erhalten (9.37 g, 31.4 mmol, 71 % über zwei Stufen, 96 % e.e.).

DC: $R_f = 0.43$ (Petrolether/EtOAc 6:4).

HPLC (Methode D): $t_R = 8.6$ min.

Chirale HPLC (Chiralpak IA, 70% Isohexan, 30% $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ (100/2), 70 min, 0.5 mL/min): $t_R = 50.0$ min, *R*-Enantiomer, 2 %, $t_R = 52.8$ min, *S*-Enantiomer, 98 %, e.e. = 96 %.

LC-MS (ESI): $t_R = 5.5$ min, C18; for $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$ ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$) calc.: 316.1, found: 315.8.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.75$ (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, SO_2CCH), 7.32 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.04 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H, *NH*), 4.14 (dd, $J = 5.2$ Hz, 7.1 Hz, 1H, N_3CH), 3.78 (s, 3H, COOCH_3), 3.35 (ddd, $J = 5.2$ Hz, 7.0 Hz, 13.7 Hz, 1H, N_3CHCH_a), 3.17 (ddd, $J = 6.5$ Hz, 7.0 Hz, 13.6 Hz, 1H, N_3CHCH_b), 2.43 (s, 3H, ArCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 168.9$ (COOCH_3), 144.1 (CH_3CCH), 136.9 (CHCSO_2), 130.1 (CH_3CCH), 127.3 (CHCSO_2), 61.6 (N_3CH), 53.3 (COOCH_3), 43.8 (N_3CHCH_2), 21.8 (ArCH_3).

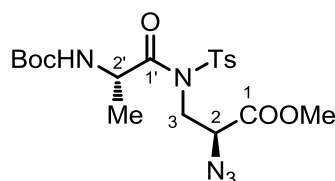
HRMS (ESI): $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 299.0809, gef.: 299.0811.

IR: $\nu = 2960$ (w), 2117 (s), 1746 (m), 1332 (m), 1160 (m), 819(w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -66.4$ (CHCl_3 , $c = 0.5$, $T = 20$ °C).

Schmelzpunkt: $T_m = 65 - 67$ °C.

N'*-tert-Butoxycarbonyl-(*S*)-alanyl-*N*-*p*-tolylsulfonyl-3-amino-(*S*)-2-azido-propionsäuremethylester **64g*



(*S*)-*N*-Boc-Alanin (4.42 g, 23.4 mmol) wurde nach **AV3** zum Säurefluorid umgesetzt und mit 2-Azido-3-(tolyl-4'-sulfonylamino)-propionsäuremethylester **48a** (3.50 g, 11.7 mmol) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (750 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 8:2) wurde *N*-Acylsulfonamid **64g** (5.30 g, 11.3 mmol, 97 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.57$ (Petrolether/EtOAc 1:1).

HPLC (Methode D): $t_R = 9.7$ min.

LC-MS (ESI): $t_R = 10.4$ min, C18; $C_{19}H_{28}N_5O_7S$ ($[M+H]^+$) ber.: 470.2 gef.: 469.6.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7.92$ (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, SO_2CCH), 7.34 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.23 – 5.09 (m, 1H, H-2'), 4.98 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, NH), 4.36 (dd, $J = 5.6$ Hz, 14.8 Hz, 1H, H-2), 4.21 (dd, $J = 5.6$ Hz, 14.8 Hz, 1H, H-3_a), 3.95 (dd, $J = 8.6$ Hz, 14.8 Hz, 1H, H-3_b), 3.79 (s, 3H, $COOCH_3$), 2.42 (s, 3H, $ArCH_3$), 1.40 – 1.35 (m, 12H, $CHCH_3$, $C(CH_3)_3$).

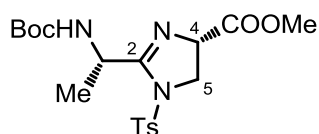
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 175.6$ (C-1'), 168.8 (C-1), 155.2 ($COC(CH_3)_3$), 145.6 (CH_3CCH), 135.6 ($CHCSO_2$), 130.2 (CH_3CCH), 128.2 ($CHCSO_2$), 80.2 ($C(CH_3)_3$), 60.7 (C-2), 53.2 ($COOCH_3$), 49.9 (C-2'), 46.4 (C-3), 28.4 ($C(CH_3)_3$), 21.8 ($ArCH_3$), 19.6 (CH_3CH).

HRMS (ESI): $C_{19}H_{28}N_5O_7S$ ($[M+H]^+$) ber.: 470.1704, gef.: 470.1699.

IR: $\nu = 2981$ (m), 2118 (s), 1749 (m), 1703 (s), 1505 (m), 1363 (m), 1166 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -56.5$ ($CHCl_3$, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

2-((S)-1'-tert-Butoxycarbonylamino-eth-1'-yl)-1-(p-tolylsulfonyl)-4,5-dihydroimidazol-(S)-4-carbonsäuremethylester **65g**



Azid **64g** (567 mg, 1.21 mmol) wurde nach **AV5** zu Imidazolin **65g** umgesetzt (THF, 0.03 M, Rückfluss, 2.5 h). Das Rohprodukt wurde typischerweise ohne weitere Reinigung zum Imidazol umgesetzt. Für analytische Zwecke konnte das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie an Kieselgel (110 g Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc 3:2 + 0.5 % NEt₃) gereinigt werden. Dabei wurde Imidazolin **65g** (460 mg, 1.08 mmol, 89 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.49$ (Petrolether/EtOAc 2:3).

HPLC (Methode D): $t_R = 14.3$ min.

LC-MS (ESI): $t_R = 10.0$ min, C18; C₁₉H₂₈N₃O₆S ([M+H]⁺) ber.: 426.2 gef.: 425.8.

¹H-NMR (400 MHz, Benzol-*d*₆): $\delta = 8.00$ (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CHCSO₂), 6.87 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH₃CCH), 5.80 – 5.63 (m, 1H, CH₃CH), 5.35 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, NH), 4.12 - 3.94 (m, 2H, 4-H, H-5_a), 3.36 – 3.29 (m, 1H, H-5_b), 3.24 (s, 3H, COOCH₃), 1.86 (s, 3H, ArCH₃), 1.45 – 1.38 (m, 12H, CH₃CH, C(CH₃)₃).

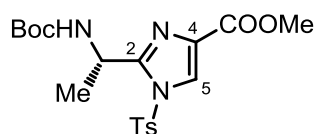
¹³C-NMR (100 MHz, Benzol-*d*₆): $\delta = 170.9$ (COOCH₃), 165.3 (C-2), 155.8 (COC(CH₃)₃), 144.9 (CH₃CCH), 135.4 (CHCSO₂), 130.6 (CH₃CCH), 128.7 (CHCSO₂), 79.5 (C(CH₃)₃), 66.1 (C-4), 52.3 (COOCH₃), 51.6 (C-5), 46.7 (CH₃CH), 28.8 (C(CH₃)₃), 21.6 (CH₃CH), 21.5 (ArCH₃).

HRMS (ESI): C₁₉H₂₈N₃O₆S ([M+H]⁺) ber.: 426.1693, gef.: 426.1690.

IR: $\nu = 2981$ (m), 1753 (m), 1702 (s), 1643 (m), 1364 (s), 1165 (s), 816 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +176.7$ (Toluol, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

2-((S)-1-tert-Butoxycarbonylamino-eth-1'-yl)-1-(tolyl-4'-sulfonyl)-imidazol-4-carbonsäuremethylester 66g



Das Rohprodukt des Imidazolins **65g** (386 mg, 0.91 mmol) wurde nach **AV6** zu Imidazol **66g** oxidiert (4 h). Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (90 g Kieselgel, Petrol-ether/EtOAc 17:8) wurde Imidazol **66g** (266 mg, 0.63 mmol, 76 %, 69 % über zwei Stufen) als farbloser Feststoff erhalten.

DC: $R_f = 0.58$ (Petrolether/EtOAc 2:3).

HPLC (Methode D): $t_R = 10.5$ min.

LC-MS (ESI): $t_R = 10.2$ min, C18; $C_{19}H_{26}N_3O_6S$ ($[M+H]^+$) ber.: 424.2 gef.: 423.8.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7.91 - 7.97$ (m, 3H, $CHCSO_2$, 5-H), 7.35 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.44 – 5.54 (m, 1H, CH_3CH), 5.40 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, NH), 3.86 (s, 3H, $COOCH_3$), 2.42 (s, 3H, $ArCH_3$), 1.45 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3CH), 1.38 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 162.3$ ($COOCH_3$), 154.8 (C-2), 152.1 ($COC(CH_3)_3$), 147.0 (CH_3CCH), 134.3 (C-4), 132.7 ($CHCSO_2$), 130.7 (CH_3CCH), 128.2 ($CHCSO_2$), 124.8 (C-5), 79.8 ($C(CH_3)_3$), 52.3 ($COOCH_3$), 44.2 (CH_3CH), 28.5 ($C(CH_3)_3$), 22.8 (CH_3CH), 21.9 ($ArCH_3$).

HRMS (ESI): $C_{19}H_{26}N_3O_6S$ ($[M+H]^+$) ber.: 424.1534, gef.: 424.1537.

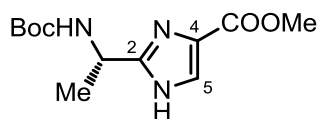
IR: $\nu = 3337$ (m), 2984 (m), 1713 (s), 1558 (m), 1386 (m), 1163 (s), 813 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -44.8$ ($CHCl_3$, $c = 4.0$, $T = 20$ °C).

Schmelzpunkt: 141 – 142 °C ($CHCl_3$)

Elementaranalyse: $C_{19}H_{25}N_3O_6S$ ber.: C 53.9, H 6.0, N 9.9, gef.: C 53.6, H 6.0, N 10.0.

2-((*S*)-1-*tert*-Butoxycarbonylamino-eth-1'-yl)-imidazol-4-carbonsäure-methylester **70**



Oxazolin **65g** (192 mg, 0.45 mmol) wurde in wasserfreiem DMF (5.4 mL) gelöst und bei 0 °C mit DBU (1.00 mL, 6.76 mmol) versetzt. Die Mischung wurde drei Stunden bei RT gerührt. Dann wurden EtOAc (20 mL) und Wasser (30 mL) zugegeben und die wässr. Phase mit 1M NaHSO₄-Lsg. auf pH 3-4 angesäuert. Die Phasen wurden getrennt und die wässr. Phase mit EtOAc extrahiert (2 x 20 mL). Die wässr. Phase wurde mit ges. NaHCO₃-Lsg. bis pH 9 versetzt und mit EtOAc extrahiert (2 x 20 mL). Die organischen Extrakte wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (35 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 3:7) wurde Imidazol **70** (74.0 mg, 270 µmol, 60 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.25$ (Petrolether/EtOAc 3:7).

HPLC (Methode D): $t_R = 5.9$ min.

LC-MS (ESI): $t_R = 4.9$ min, C₁₈; C₁₂H₂₀N₃O₄ ([M+H]⁺) ber.: 270.1, gef.: 269.7.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.61$ (s, 1H, 5-H), 5.80 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, NH), 4.97 – 4.83 (m, 1H, CHCH₃), 3.81 (s, 3H, COOCH₃), 1.55 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, CHCH₃), 1.36 (s, 9H, C(CH₃)₃).

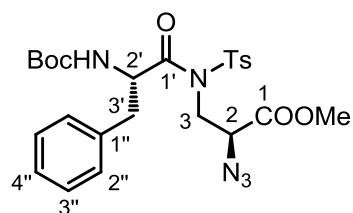
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 163.0$ (COOCH₃), 156.2 (COC(CH₃)₃), 152.1 (C-2), 129.7 (C-4), 125.9 (C-5), 80.3 (C(CH₃)₃), 51.8 (COOCH₃), 44.9 (CH₃CH), 28.4 (C(CH₃)₃), 19.9 (CH₃CH).

HRMS (ESI): C₁₂H₂₀N₃O₄ ([M+H]⁺) ber.: 270.1448, gef.: 270.1483.

IR: $\nu = 2981$ (m), 1714 (s), 1525 (m), 1250 (m), 1165 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -69.8$ (CHCl₃, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

N'*-tert-Butoxycarbonyl-(*S*)-phenylalanyl-*N*-*p*-tolylsulfonyl-3-amino-(*S*)-2-azido-propionsäuremethylester **64f*



Nach **AV3**:

(*S*)-*N*-Boc-phenylalanin (534 mg, 2.01 mmol) wurde nach **AV3** zum Säurefluorid umgesetzt und an Azid **48a** (200 mg, 0.67 mmol) gekuppelt (2 h). Nach wässriger Aufarbeitung wurde das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel (60 g Kieselgel, *n*-Hexan/EtOAc 41:8) gereinigt. *N*-Acylsulfonamid **64f** (293 mg, 0.54 mmol, 80 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.62$ (Petrolether/EtOAc 3:2).

HPLC: $t_R = 10.7$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 11.1$ min, C18; $C_{25}H_{32}N_5O_7S$ ($[M+H]^+$) ber.: 546.2, gef.: 545.5.

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.93$ (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, SO_2CCH), 7.33 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, CH_3CCH), 7.31 – 7.19 (m, 5H, H-3'', H-4'', H-2''), 5.44 – 5.30 (m, 1H, H-2'), 4.97 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, NH), 4.38 (dd, $J = 5.3$ Hz, 8.2 Hz, H-2), 4.11 (dd, $J = 5.2$ Hz, 15.0 Hz, 1H, H-3_a), 3.95 (dd, $J = 8.8$ Hz, 14.9 Hz, 1H, H-3_b), 3.81 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.28 (dd, $J = 4.8$ Hz, 13.9 Hz, 1H, H-3'_a), 2.74 (dd, 3H, $J = 8.8$ Hz, 13.6 Hz, 1H, H-3'_b), 2.42 (s, 3H, ArCH₃), 1.30 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

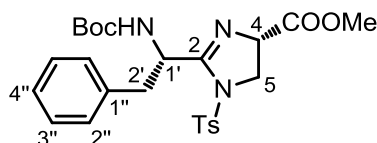
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 174.1$ (C-1'), 168.8 (C-1), 155.1 ($COC(CH_3)_3$), 145.5 (CH_3CCH), 136.0 (C-1''), 135.6 ($CHCSO_2$), 130.1 (CH_3CCH), 129.5 (C-2''), 128.7 (C-3''), 128.3 ($CHCSO_2$), 127.2 (C-4''), 80.1 ($C(CH_3)_3$), 60.5 (C-3), 55.1 (C-2'), 53.2 ($COOCH_3$), 46.3 (C-2), 39.6 (C-3'), 28.3 ($C(CH_3)_3$), 21.2 (ArCH₃).

HRMS (ESI): $C_{25}H_{32}N_5O_7S$ ($[M+H]^+$) ber.: 546.2017, gef.: 546.2012.

IR: $\nu = 2981$ (m), 2119 (s), 1749 (m), 1703 (s), 1499 (m), 1365 (s), 1167 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -64.1$ ($CHCl_3$, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

2-((*S*)-1'-*tert*-Butoxycarbonylamino-2'-phenyl-eth-1'-yl)-1-(*p*-tolylsulfonyl)-4,5-dihydro-imidazol-(*S*)-4-carbonsäuremethylester **65f**



N-Acyl-Sulfonamid **64f** (32.0 mg, 59.0 μmol) wurde nach **AV5** (THF, 0.02 M, RT, 1 h) zyklisiert. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (6 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 14:11) wurde Imidazolin **65f** (22.0 mg, 44.0 μmol , 75 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.42$ (Petrolether/EtOAc 2:3).

HPLC: $t_R = 11.7$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.9$ min, C18; $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 502.2, gef.: 501.9.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.90$ (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CHCSO_2), 7.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_3CCH), 7.30 – 7.17 (m, 5H, H-3'', H-4'', H-2''), 5.62 (dd, $J = 8.5$ Hz, 12.2 Hz, 1H, H-1'), 5.20 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, NH), 4.44 (dd, $J = 7.6$ Hz, 10.4 Hz, 1H, H-4), 4.19 (dd, $J = 7.3$ Hz, 10.3 Hz, 1H, H-5_a), 3.80 – 3.64 (m, 4H, H-5_b, COOCH_3), 3.36 (dd, $J = 4.4$ Hz, 13.8 Hz, 1H, H-2'_a), 2.94 (dd, $J = 7.7$ Hz, 13.7 Hz, 1H, H-2'_b), 2.43 (s, 3H, ArCH_3), 1.36 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

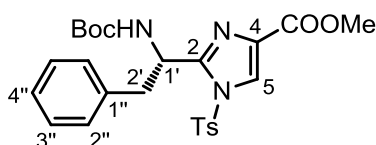
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.3$ (COOCH_3), 162.7 (C-2), 155.0 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 145.3 (CH_3CCH), 136.3 (C-1''), 134.3 (CHCSO_2), 130.4 (CH_3CCH), 130.0 (C-2''), 128.4 (C-3''), 127.9 (CHCSO_2), 126.9 (C-4''), 79.7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 65.7 (C-4), 53.0 (COOCH_3), 50.7 (C-5), 50.4 (C-1'), 40.8 (C-2'), 28.4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.8 (ArCH_3).

HRMS (ESI): $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 502.2000, gef.: 502.2006.

IR: $\nu = 2977$ (m), 1746 (m), 1712 (s), 1638 (m), 1499 (m), 1364 (s), 1167 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +109.8$ (CHCl_3 , $c = 3.0$, $T = 20$ °C).

2-((S)-1'-tert-Butoxycarbonylamino-2'-phenyl-eth-1'-yl)-1-(p-tolylsulfonyl)-imidazol-4-carbonsäuremethylester 66f



Imidazolin **65f** (117 mg, 230 μmol) wurde nach **AV6** zum Imidazol oxidiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (40 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 18:7) gereinigt. Imidazol **66f** (86.0 mg, 170 μmol , 74 %) wurde als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.64$ (Petrolether/EtOAc 1:1).

HPLC: $t_R = 11.9$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 11.0$ min, C18; $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 500.2, gef.: 499.7.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.94$ (s, 1H, H-5), 7.92 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CHCSO_2), 7.29 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, CH_3CCH), 7.25 – 7.13 (m, 5H, H-3'', H-4'', H-2''), 5.78 – 5.68 (m, 1H, H-1'), 5.33 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H, NH), 3.88 (s, 3H, COOCH_3), 3.27 (dd, $J = 5.6$ Hz, 13.5 Hz, 1H, H-2'_a), 2.97 (dd, $J = 8.9$ Hz, 13.4 Hz, 1H, H-2'_b), 2.39 (s, 3H, ArCH_3), 1.28 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

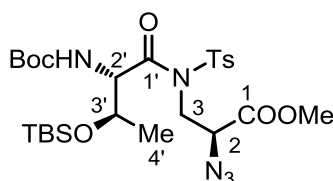
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 162.3$ (COOCH_3), 154.7 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 150.8 (C-2), 147.0 (CH_3CCH), 136.7 (C-1''), 134.3 (CHCSO_2), 132.8 (C-4), 130.7 (CH_3CCH), 129.7 (C-2''), 128.5 (C-3''), 128.2 (CHCSO_2), 126.9 (C-4''), 124.7 (C-5), 79.7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 52.4 (COOCH_3), 49.4 (C-1'), 43.0 (C-2'), 28.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.9 (ArCH_3).

HRMS (ESI): $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 500.1844, gef.: 500.1850.

IR: $\nu = 1711$ (s), 1497 (m), 1384 (m), 1162 (s), 813 (w), 760 (w), 701 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -71.3$ (CHCl_3 , $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

N*'-tert-Butoxycarbonyl-*O*'-tert-butyl-dimethyl-silyl-(2'*S*,3'*R*)-threonyl-*N*-*p*-tolylsulfonyl-3-amino-(*S*)-2-azido-propionsäuremethylester **64a*



(2*S*,3*R*)-*N*-Boc-*O*-TBS-Threonin (246 mg, 740 μmol) wurde nach **AV4** an Sulfonamid **48a** (200 mg, 670 μmol) gekuppelt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (100 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 4:1) gereinigt. *N*-Acyl-Sulfonamid **64a** (352 mg, 570 μmol , 86 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.73$ (Petrolether/EtOAc 3:2).

HPLC: $t_R = 12.8$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 12.5$ min, C18; $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_8\text{SSi}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 614.3, gef.: 613.7.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.96$ (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, CHCSO_2), 7.35 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.32 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, *NH*), 5.15 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, H-2'), 4.38 – 4.28 (m, 1H, H-3'), 4.25 (dd, $J = 4.0$ Hz, 9.7 Hz, 1H, H-2), 4.08 (dd, $J = 3.9$ Hz, 14.7 Hz, 1H, H-3_a), 3.91 (dd, $J = 9.8$ Hz, 14.7 Hz, 1H, H-3_b), 3.79 (s, 3H, COOCH_3), 2.43 (s, 3H, ArCH_3), 1.42 (s, 9H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.23 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, H-4'), 0.87 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.07 (s, 3H, SiCH_{3a}), 0.03 (s, 3H, SiCH_{3b}).

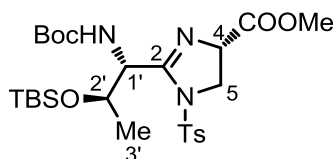
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 173.0$ (C-1'), 168.9 (COOCH_3), 156.3 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 145.5 (CHCSO_2), 135.8 (CH_3CCH), 130.2 (CH_3CCH), 128.2 (CHCSO_2), 80.1 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 69.5 (C-3'), 60.0 (C-2), 59.4 (C-2'), 53.2 (COOCH_3), 46.9 (C-3), 28.5 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 26.0 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 21.9 (ArCH_3), 21.4 (C-4'), 18.2 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -4.0 (SiCH_{3a}), -4.8 (SiCH_{3b}).

HRMS (ESI): $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_8\text{SSi}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 614.2674, gef.: 614.2672.

IR: $\nu = 2954$ (m), 2862 (w), 2121 (s), 1750 (m), 1708 (s), 1489 (m), 1367 (s), 1167 (s), 833 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -28.1$ (CHCl_3 , $c = 5.0$, $T = 20$ °C).

2-[(1'R,2'R)-1'-tert-Butoxycarbonylamino-2'-(tert-butyl-dimethyl-silyloxy)-prop-1'-yl]-1-(p-tolylsulfonyl)-4,5-dihydro-imidazol-(S)-4-carbonsäuremethyl-ester 65a



N-Acyl-Sulfonamid **64a** (54.0 mg, 0.09 mmol) wurde nach **AV5** (THF, 0.015 M, Rückfluss, 2 h) zyklisiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (10 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 39:11) gereinigt. Imidazolin **65a** (45.0 mg, 0.08 mmol, 91 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.11$ (Petrolether/EtOAc 3:2).

HPLC: $t_R = 12.5$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 12.3$ min, C18; $C_{26}H_{44}N_3O_7SSi$ ($[M+H]^+$) ber.: 570.3, gef.: 569.9.

¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7.93$ (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, $CHCSO_2$), 7.34 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.39 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH), 5.29 – 5.23 (m, 1H, H-1'), 4.45 – 4.37 (m, 1H, H-2'), 4.37 – 4.28 (m, 1H, H-5_a), 4.13 (dd, $J = 9.6$ Hz, 10.9 Hz, 1H, H-5_b), 3.77 – 3.70 (m, 4H, H-4, $COOCH_3$), 2.43 (s, 3H, $ArCH_3$), 1.47 (s, 9H, $OC(CH_3)_3$), 1.29 (d, $J = 5.3$ Hz, 3H, H-3'), 0.85 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$), 0.04 (s, 3H, $SiCH_{3a}$), -0.02 (s, 3H, $SiCH_{3b}$).

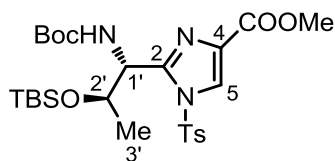
¹³C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 170.2$ ($COOCH_3$), 161.6 (C-2), 156.2 ($COC(CH_3)_3$), 145.2 (CH_3CCH), 134.4 ($CHCSO_2$), 130.4 (CH_3CCH), 128.0 ($CHCSO_2$), 79.8 ($OC(CH_3)_3$), 69.2 (C-2'), 66.5 (C-4), 55.4 (C-1'), 52.9 ($COOCH_3$), 50.4 (C-5), 28.6 ($OC(CH_3)_3$), 26.0 ($SiC(CH_3)_3$), 21.8 ($ArCH_3$), 21.3 (C-3'), 18.1 ($SiC(CH_3)_3$), -4.3 ($SiCH_{3a}$), -4.9 ($SiCH_{3b}$).

HRMS (ESI): $C_{26}H_{44}N_3O_7SSi$ ($[M+H]^+$) ber.: 570.2664, gef.: 570.2656.

IR: $\nu = 2932$ (m), 2862 (w), 1748 (m), 1715 (s), 1495 (m), 1365 (m), 1166 (s), 833 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +100.8$ ($CHCl_3$, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

2-[(1'*R*,2'*R*)-1'-*tert*-Butoxycarbonylamino-2'-(*tert*-butyl-dimethyl-silyloxy)-prop-1'-yl]-1-(*p*-tolylsulfonyl)-imidazol-4-carbonsäuremethylester **66a**



Imidazolin **65a** (255 mg, 430 μmol) wurde nach **AV6** oxidiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (55 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 21:4) gereinigt. Imidazol **66a** (213 mg, 380 μmol , 88 %) wurde als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.56$ (Petrolether/EtOAc 3:2).

HPLC: $t_R = 14.6$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 12.5$ min, C18; $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_7\text{SSi}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 568.3, gef.: 567.9.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.97$ (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, CHCSO_2), 7.93 (s, 1H, H-5), 7.33 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.58 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH), 5.42 (dd, $J = 3.6$ Hz, 10.1 Hz, 1H, H-1'), 4.21 – 4.07 (m, 1H, H-2'), 3.83 (s, 3H, COOCH_3), 2.40 (s, 3H, ArCH_3), 1.39 (s, 9H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 1.20 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H, H-3'), 0.80 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -0.12 (s, 3H, SiCH_{3a}), -0.21 (s, 3H, SiCH_{3b}).

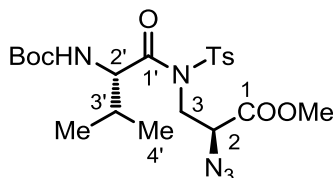
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 162.3$ (COOCH_3), 155.7 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 149.9 (C-2), 147.0 (CH_3CCH), 134.6 (CHCSO_2), 133.1 (C-4), 130.7 (CH_3CCH), 128.2 (CHCSO_2), 125.1 (C-5), 79.6 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 71.3 (C-2'), 53.8 (C-1'), 52.2 (COOCH_3), 28.5 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 25.9 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 21.9 (ArCH_3), 21.0 (C-3'), 18.1 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -4.8 (SiCH_{3a}), -5.1 (SiCH_{3b}).

HRMS (ESI): $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_7\text{SSi}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 568.2507, gef.: 568.2508.

IR: $\nu = 2954$ (m), 2858 (m), 1745 (m), 1714 (s), 1500 (m), 1383 (m), 1160 (s), 838 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -34.5$ (CHCl_3 , $c = 4.0$, $T = 20$ °C).

N'*-*tert*-Butoxycarbonyl-(2'*S*)-valinyl-*N*-*p*-tolylsulfonyl-3-amino-(*S*)-2-azidopropionsäuremethylester **64c*



(*S*)-*N*-Boc-Valin (120 mg, 550 μ mol) wurde nach **AV4** an Sulfonamid **48a** gekuppelt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (50 g Kieselgel, Cyclohexan/EtOAc 4:1) gereinigt. *N*-Acylsulfonamid **64c** (213 mg, 430 μ mol, 86 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.57$ (light petroleum/EtOAc 3:2).

HPLC: $t_R = 10.6$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.8$ min, C18; $C_{21}H_{32}N_5O_7S$ ($[M+H]^+$) ber.: 498.2, gef.: 497.5.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7.90$ (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, SO_2CCH), 7.31 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.15 (bs, 1H, H-2'), 4.96 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, NH), 4.34 (dd, $J = 4.8$ Hz, 7.9 Hz, 1H, H-2), 4.14 (dd, $J = 5.0$ Hz, 14.7 Hz, 1H, H-3_a), 3.94 (dd, $J = 8.2$ Hz, 13.9 Hz, 1H, H-3_b), 3.79 (s, 3H, $COOCH_3$), 2.40 (s, 3H, $ArCH_3$), 2.15 (dd, $J = 6.4$ Hz, 11.8 Hz, 1H, H-3'), 1.38 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 0.99 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-4'_a), 0.81 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-4'_b).

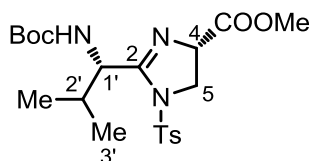
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 174.4$ (C-1'), 168.7 (C-1), 155.7 ($COC(CH_3)_3$), 145.5 (CH_3CCH), 135.8 ($CHCSO_2$), 130.1 (CH_3CCH), 128.2 ($CHCSO_2$), 80.0 ($C(CH_3)_3$), 60.5 (C-2), 58.34 (C-2'), 53.1 ($COOCH_3$), 46.4 (C-3), 32.0 (C-3'), 28.3 ($C(CH_3)_3$), 21.7 ($ArCH_3$), 19.8 (C-4'_a), 16.4 (C-4'_b).

HRMS (ESI): $C_{21}H_{32}N_5O_7S$ ($[M+H]^+$) ber.: 498.2017, gef.: 498.2006.

IR: $\nu = 2973$ (m), 2120 (s), 1750 (m), 1701 (s), 1502 (m), 1366 (s), 1167 (s), 815 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -96.7$ ($CHCl_3$, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

2-((*S*)-1'-*tert*-Butoxycarbonylamino-2'-methyl-prop-1'-yl)-1-(*p*-tolylsulfonyl)-4,5-dihydro-imidazol-(*S*)-4-carbonsäuremethylester **65c**



N-Acylsulfonamid **64c** (25.0 mg, 50 μ mol) wurde nach **AV5** (THF, 0.02 M, Rückfluss, 6 h) zyklisiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (5 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 18:7) gereinigt. Imidazolin **65c** (21 mg, 46 μ mol, 92 %) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

DC: $R_f = 0.62$ (Petrolether/EtOAc 2:3).

HPLC: $t_R = 11.5$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.8$ min, C18; $C_{21}H_{32}N_3O_6S$ ($[M+H]^+$) ber.: 454.2, gef.: 453.9.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7.92$ (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, SO_2CCH), 7.33 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.34 (dd, $J = 3.4$ Hz, 10.2 Hz, 1H, H-1'), 5.21 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH), 4.46 (ddd, $J = 1.3$ Hz, 6.7 Hz, 10.9 Hz, 1H, H-4), 4.10 (dd, $J = 6.8$ Hz, 10.3 Hz, 1H, H-5_a), 3.74 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.71 – 3.63 (m, 1H, H-5_b), 2.42 (s, 3H, $ArCH_3$), 2.34 – 2.21 (m, 1H, H-2'), 1.44 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 1.06 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-3'_a), 0.87 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-3'_b).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 170.9$ ($COOCH_3$), 163.6 (C-2), 155.8 ($COC(CH_3)_3$), 145.2 (CH_3CCH), 134.0 ($CHCSO_2$), 130.4 (CH_3CCH), 128.1 ($CHCSO_2$), 79.7 ($OC(CH_3)_3$), 65.5 (C-4), 53.6 (C-1'), 52.9 ($COOCH_3$), 51.0 (C-5), 32.8 (C-2'), 28.5 ($OC(CH_3)_3$), 21.8 ($ArCH_3$), 19.9 (C-3'_a), 16.0 (C-3'_b).

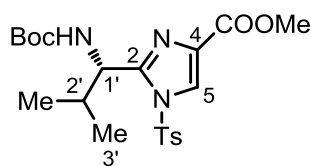
HRMS (ESI): $C_{21}H_{32}N_3O_6S$ ($[M+H]^+$) ber.: 454.2006, gef.: 454.2000.

IR: $\nu = 2973$ (m), 1753 (m), 1698 (s), 1644 (m), 1534 (m), 1367 (m), 1167 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +161.3$ ($CHCl_3$, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

Schmelzpunkt: $T_m = 168 - 171$ °C.

2-((S)-1'-tert-Butoxycarbonylamino-2'-methyl-prop-1'-yl)-1-(p-tolylsulfonyl)-imidazol-4-carbonsäuremethylester 66c



Imidazolin **65c** (260 mg, 520 μmol) wurde nach **AV6** oxidiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (45 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 19:6) gereinigt. Imidazol **66c** (217 mg, 48 μmol , 92 %) wurde als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.53$ (Petrolether/EtOAc 16:9).

HPLC: $t_R = 11.77$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 11.0$ min, C18; $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 452.2, gef.: 451.8.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.94$ (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, SO_2CCH), 7.91 (s, 1H, H-5), 7.30 – 7.25 (m, 2H, CH_3CCH), 5.36 – 5.19 (m, 2H, NH, H-1'), 3.80 (s, 3H, COOCH_3), 2.34 (s, 3H, ArCH_3), 2.16 – 1.98 (m, 1H, H-2'), 1.33 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.92 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-3' $_a$), 0.82 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-3' $_b$).

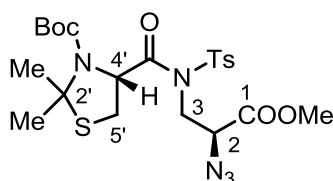
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 162.2$ (COOCH_3), 155.2 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 151.1 (C-2), 146.8 (CH_3CCH), 134.4 (CHCSO_2), 132.7 (C-4), 130.6 (CH_3CCH), 128.2 (CHCSO_2), 124.5 (C-5), 79.4 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 52.6 (C-1'), 52.2 (COOCH_3), 35.2 (C-2'), 28.3 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 21.8 (ArCH_3), 19.4 (C-3' $_a$), 17.7 (C-3' $_b$).

HRMS (ESI): $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 452.1850, gef.: 452.1842.

IR: $\nu = 2968$ (m), 1713 (s), 1501 (m), 1382 (m), 1165 (s), 815 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -54.9$ (CHCl_3 , $c = 6.0$, $T = 20$ °C).

N*-(2',2'-Dimethyl-*N*'-tert-Butoxycarbonyl-Thiazolidin-(4'*R*)-oyl)-*N*-*p*-tolylsulfonyl-3-amino-(*S*)-2-azido-propionsäuremethylester **64b*



Boc-Dmt-OH **111**^[244] (194 mg, 740 μ mol) wurde nach **AV4** an Sulfonamid **48a** (200 mg, 67 μ mol) gekuppelt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (70 g Kieselgel, Cyclohexan/EtOAc 21:4) gereinigt. *N*-Acylsulfonamid **64b** (326 mg, 600 μ mol, 90 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: R_f = 0.34 (Petrolether/EtOAc 4:1).

HPLC: t_R = 11.3 min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): t_R = 11.5 min, C18; C₂₂H₃₂N₅O₇S₂ ([M+H]⁺) ber.: 542.2, gef.: 541.6.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.92 (d, J = 6.2 Hz, 2H, SO₂CCH)*, 7.80 (bs, 2H, SO₂CCH)*, 7.32 (d, J = 7.7 Hz, 2H, CH₃CCH), 5.71 (bs, 1H, H-4')*, 5.56 (bs, 1H, H-4')*, 4.30 (dd, J = 5.8 Hz, 8.3 Hz, 1H, H-2), 4.13 (dd, J = 4.5 Hz, 13.9 Hz, 1H, H-3_a), 3.76 (s, 3H, COOCH₃), 3.66 (dd, J = 8.2 Hz, 13.4 Hz, 1H, H-3_b), 3.43 (dd, J = 7.1 Hz, 11.3 Hz, 1H, H-5'_a), 3.14 (d, J = 11.5 Hz, 1H, H-5'_b), 2.40, 2.31 (2 s, 3H, ArCH₃)*, 1.80 (s, 3H, C(CH₃)_{2a}), 1.73 (s, 3H, C(CH₃)_{2b}), 1.39, 1.26 (2 s, 9H, C(CH₃)₃)*. *Rotamere.

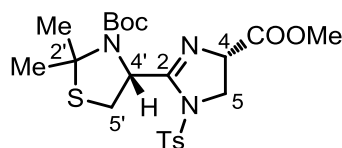
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 171.7 (OCNSO₂), 168.8 (C-1), 152.8 (COC(CH₃)₃), 145.3 (CH₃CCH), 135.3 (CHCSO₂), 130.1 (CH₃CCH), 128.0 (CHCSO₂), 81.0 (C(CH₃)₃), 70.5 (C-2'), 67.9 (C-4'), 60.2 (C-2), 53.2 (COOCH₃), 46.6 (C-3), 31.2 (C-5'), 30.8 (C(CH₃)_{2a}), 28.6 (C(CH₃)_{2b}), 28.4 (C(CH₃)₃), 21.7 (ArCH₃).

HRMS (ESI): C₂₂H₃₂N₅O₇S₂ ([M+H]⁺) ber.: 542.1731, gef.: 542.1738.

IR: ν = 2979 (m), 2117 (s), 1749 (m), 1682 (s), 1361 (s), 1170 (s), 820 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D$ = - 63.5 (CHCl₃, c = 4.0, T = 20 °C).

2-(2',2'-Dimethyl-N'-tert-Butoxycarbonyl-Thiazolidin-(4'R)-yl)-1-(p-tolylsulfonyl)-4,5-dihydro-imidazol-(S)-4-carbonsäuremethylester **65b**



N-Acylsulfonamid **64b** (22.0 mg, 41 μ mol) wurde nach **AV5** (2,6-Lutidin, 0.02 M, 80 °C, 6 h) zyklisiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (5 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 19:6) gereinigt. Imidazolin **65b** (16.0 mg, 33 μ mol, 80 %) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

DC: $R_f = 0.30$ (Petrolether/EtOAc 7:3).

HPLC: $t_R = 12.4$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 11.2$ min, C18; $C_{22}H_{32}N_3O_6S_2$ ($[M+H]^+$) ber.: 498.2, gef.: 497.9.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7.96$ (d, $J = 5.6$ Hz, 2H, SO_2CCH)*, 7.77 (bs, 2H, SO_2CCH)*, 7.35 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.87, 5.57 (2 bs, 1H, H-4')*, 4.61 – 4.38 (m, 1H, H-4)*, 4.11 – 3.95, 3.89 – 3.77 (2 m, 2H, H-5)*, 3.71 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.63 – 3.51 (m, 2H, H-5)*, 3.51 – 3.35 (m, 1H, H-5' $_a$)*, 3.24 – 3.02 (m, 1H, H-5' $_b$)*, 2.43 (s, 3H, $ArCH_3$), 1.91 – 1.81 (m, 3H, $C(CH_3)_{2a}$)*, 1.78 (s, 3H, $C(CH_3)_{2b}$), 1.47, 1.35 (2 s, 9H, $C(CH_3)_3$)*. *Rotamere.

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 170.8$ ($COOCH_3$), 160.0 (C-2), 152.9 ($COC(CH_3)_3$), 144.9 (CH_3CCH), 134.1 ($CHCSO_2$), 130.3 (CH_3CCH), 128.2 ($CHCSO_2$), 80.7 ($OC(CH_3)_3$), 72.0 (C-2')*, 70.5 (C-2')*, 66.2 (C-4), 63.7, 62.6 (C-4')*, 52.7 ($COOCH_3$), 50.9 (C-5), 31.9 (C-5'), 31.6 ($C(CH_3)_{2b}$), 28.7 ($C(CH_3)_3$), 28.3 ($C(CH_3)_{2a}$), 21.8 ($ArCH_3$). *Rotamere.

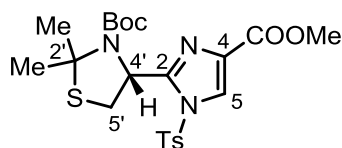
HRMS (ESI): $C_{22}H_{32}N_3O_6S_2$ ($[M+H]^+$) ber.: 498.1727, gef.: 498.1720.

IR: $\nu = 2977$ (w), 1745 (m), 1692 (m), 1641 (w), 1358 (s), 1098 (s), 811 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +59.1$ ($CHCl_3$, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

Schmelzpunkt: $T_m = 115 - 116$ °C.

2-(2',2'-Dimethyl-N'-tert-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4'R)-yl)-1-(p-tolylsulfonyl)-imidazol-4-carbonsäuremethylester **66b**



Imidazolin **65b** (166 mg, 330 μmol) wurde nach **AV6** oxidiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (35 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 39:11) gereinigt. Imidazol **66b** (149 mg, 300 μmol , 91 %) wurde als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.49$ (Petrolether/EtOAc 7:3).

HPLC: $t_R = 12.3$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 11.3$ min, C18; $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}_2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 496.2, gef.: 495.9.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.06 - 7.81$ (m, 3H, 5-H, SO_2CCH), 7.37 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.83 (bs, 1H, H-4'), 3.81 (s, 3H, COOCH_3), 3.38 (bs, 1H, H-5' $_a$), 2.86 (bs, 1H, H-5' $_b$), 2.44 (s, 3H, ArCH_3), 2.02 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_{2a}$), 1.81 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_{2b}$), 1.57 – 0.87 (m, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$)*. *Rotamere.

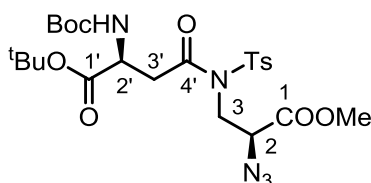
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 162.5$ (COOCH_3), 150.0 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$, C-2), 147.0 (CHCCH_3), 134.6 (CHCSO_2), 132.7 (C-4), 130.7 (CH_3CCH), 128.1 (CHCSO_2), 125.1 (C-5), 80.6 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 71.8 (C-2'), 61.2 (C-4), 52.0 (COOCH_3), 33.3 (C-5), 29.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_{2b}$), 28.4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_{2a}$, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.9 (ArCH_3).

HRMS (ESI): $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}_2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 496.1571, gef.: 496.1563.

IR: $\nu = 2978$ (m), 1743 (m), 1702 (m), 1354 (s), 1161 (s), 1088 (m), 816 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -60.4$ (CHCl_3 , $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

(*N'*-*tert*-Butoxycarbonyl-*O'*-*tert*-Butyl)- γ -aspartyl-*N*-*p*-tolylsulfonyl-3-amino-(*S*)-2-azido-propionsäuremethylester **64d**



BocNH-Asp-*O*tBu (216 mg, 740 μ mol) wurde nach **AV4** an Sulfonamid **48a** gekuppelt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (60 g Kieselgel, Petrol-ether/EtOAc 7:3) gereinigt. *N*-Acylsulfonamid **64d** (384 mg, 670 μ mol, 100 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: R_f = 0.56 (Petrolether/EtOAc 3:2).

HPLC: t_R = 10.8 min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): t_R = 11.1 min, C18; $C_{24}H_{36}N_5O_9S$ ($[M+H]^+$) ber.: 570.2, gef.: 569.5.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.80 (d, J = 8.4 Hz, 2H, SO_2CCH), 7.35 (d, J = 8.1 Hz, 2H, CH_3CCH), 5.41 (d, J = 8.3 Hz, 1H, *NH*), 4.37 (m, 2H, H-2, H-2'), 4.15 (dd, J = 5.7 Hz, 14.7 Hz, 2H, H-3_a), 4.08 (dd, J = 8.7 Hz, 14.7 Hz, 1H, H-3_b), 3.82 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.35 (dd, J = 4.1 Hz, 18.0 Hz, 1H, H-3'_a), 3.19 (dd, J = 4.0 Hz, 18.0 Hz, 1H, H-3'_b), 2.43 (s, 3H, $ArCH_3$), 1.39 (s, 9H, $C(CH_3)_{3a}$), 1.33 (s, 9H, $C(CH_3)_{3b}$).

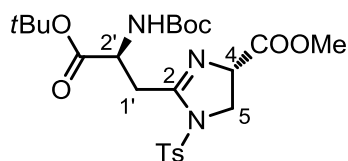
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 171.6 ($OCNSO_2$), 169.8 (C-1'), 168.9 ($COOCH_3$), 155.7 ($OC(O)NH$), 145.7 (CH_3CCH), 136.1 ($CHCSO_2$), 130.3 (CH_3CCH), 128.0 ($CHCSO_2$), 82.3 ($C_a(CH_3)_3$), 80.0 ($C_b(CH_3)_3$), 60.7 (C-2), 53.2 ($COOCH_3$), 50.5 (C-2'), 46.5 (C-3), 39.6 (C-3'), 28.5 ($C(C_aH_3)_3$), 27.9 ($C(C_bH_3)_3$), 21.8 ($ArCH_3$).

HRMS (ESI): $C_{24}H_{36}N_5O_9S$ ($[M+H]^+$) ber.: 570.2222, gef.: 570.2228.

IR: ν = 2971 (m), 2119 (s), 1744 (s), 1707 (s), 1498 (m), 1364 (s), 1163 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -5.0$ ($CHCl_3$, c = 1.0, T = 20 °C).

2-((S)-2'-tert-Butoxycarbonylamino-2'-tert-Butoxycarbonyl-eth-1'-yl)-1-(p-tolylsulfonyl)-4,5-dihydro-imidazol-(S)-4-carbonsäuremethylester 65d



N-Acylsulfonamid **64d** (335 mg, 590 μmol) wurde nach **AV5** (THF, 0.03 M, Rückfluss, 5 h) zyklisiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (50 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 31:19) gereinigt. Imidazolin **65d** (282 mg, 540 μmol , 91 %) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

DC: $R_f = 0.49$ (Petrolether/EtOAc 1:1).

HPLC: $t_R = 10.2$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.8$ min, C18; $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 526.2, gef.: 525.9.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.74$ (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, SO_2CCH), 7.35 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.77 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, NH), 4.63 – 4.54 (m, 1H, H-2'), 4.54 – 4.46 (m, 1H, H-4), 4.00 – 3.85 (m, 2H, H-5), 3.70 (s, 3H, COOCH_3), 3.39 (dd, $J = 4.1$ Hz, 17.6 Hz, 1H, H-1' $_a$), 2.99 (dd, $J = 3.8$ Hz, 17.1 Hz, 1H, H-1' $_b$), 2.44 (s, 3H, Ar CH_3), 1.43 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_{3a}$), 1.39 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_{3b}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.0$ (COOCH_3), 170.1 ($\text{OC}(\text{O})\text{CH}$), 159.3 (C-2), 155.9 ($\text{OC}(\text{O})\text{NH}$), 145.3 (CH_3CCH), 135.1 (CHCSO_2), 130.4 (CH_3CCH), 127.5 (CHCSO_2), 81.9 ($\text{C}_a(\text{CH}_3)_3$), 79.7 ($\text{C}_b(\text{CH}_3)_3$), 65.3 (C-4), 52.9 (COOCH_3), 51.3 (C-2'), 50.6 (C-5), 32.4 (C-1'), 28.6 ($\text{C}(\text{C}_a\text{H}_3)_3$), 28.1 ($\text{C}(\text{C}_b\text{H}_3)_3$), 21.8 (Ar CH_3).

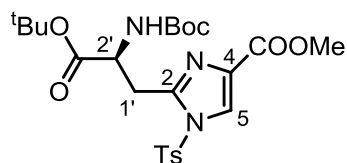
HRMS (ESI): $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 526.2218, gef.: 526.2210.

IR: $\nu = 2980$ (m), 1743 (s), 1717 (s), 1499 (m), 1364 (m), 1163 (s), 814 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +42.8$ (CHCl_3 , $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

Elementaranalyse: $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ ber.: C 54.8, H 6.7, N 8.0, gef.: C 54.6, H 6.5, N 7.9.

2-((S)-2'-tert-Butoxycarbonylamino-2'-tert-Butoxycarbonyl-eth-1'-yl)-1-(p-tolylsulfonyl)-imidazol-4-carbonsäuremethylester 66d



Imidazolin **65d** (189 mg, 360 μmol) wurde nach **AV6** oxidiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (45 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 33:17) gereinigt. Imidazol **66d** (146 mg, 280 μmol , 77 %) wurde als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.67$ (Petrolether/EtOAc 3:2).

HPLC: $t_R = 11.7$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.8$ min, C18; $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 524.2, gef.: 523.9.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.98$ (s, 1H, H-5), 7.80 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, SO_2CCH), 7.35 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.55 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, NH), 4.68 – 4.53 (m, 1H, H-1'), 3.80 (s, 3H, COOCH_3), 3.34 (dd, $J = 6.6$ Hz, 16.1 Hz, 1H, H-2' $_a$), 3.26 (dd, $J = 4.8$ Hz, 16.0 Hz, 1H, H-2' $_b$), 2.40 (s, 3H, ArCH_3), 1.35 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_{3a}$, $\text{C}(\text{CH}_3)_{3b}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 169.8$ ($\text{OC}(\text{O})\text{CH}$), 162.1 (COOCH_3), 155.4 ($\text{OC}(\text{O})\text{NH}$), 147.1 (CH_3CCH), 146.4 (C-2), 134.2 (CHCSO_2), 132.3 (C-4), 130.7 (CH_3CCH), 127.9 (CHCSO_2), 125.2 (C-5), 82.2 ($\text{C}_a(\text{CH}_3)_3$), 79.7 ($\text{C}_b(\text{CH}_3)_3$), 52.2 (C-1'), 52.0 (COOCH_3), 31.5 (C-2'), 28.4 ($\text{C}(\text{C}_a\text{H}_3)_3$), 27.9 ($\text{C}(\text{C}_b\text{H}_3)_3$), 21.9 (ArCH_3).

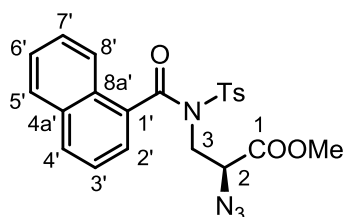
HRMS (ESI): for $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) calc.: 524.2061, found: 524.2055.

IR: $\nu = 2980$ (m), 1739 (s), 1713 (s), 1499 (m), 1370 (m), 1158 (s), 813 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +16.0$ (CHCl_3 , $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

Elementaranalyse: $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ ber.: C 55.1, H 6.4, N 8.0, gef.: C 55.1, H 6.9, N 7.7.

N*-(Naphth-1'-yl-carbonyl)-*N*-*p*-tolylsulfonyl-3-amino-(*S*)-2-azido-propionsäuremethyl-ester **64e*



1-Naphthtalincarbonsäure (16.0 mg, 90.0 μmol) wurde nach **AV4** an Sulfonamid **48a** gekuppelt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (8 g Kieselgel, Cyclohexan/EtOAc 17:8) gereinigt. *N*-Acylsulfonamid **64e** (32.0 mg 70.0 μmol , 85 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.64$ (Petrolether/EtOAc 6:4).

HPLC: $t_R = 11.6$ min (**Methode D**).

chirale HPLC: $t_R = 24.9$ min (Chiralpak IA, A: Isohexan, B: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ 100:4: 10 % (50 min) B, 0.5 mL/min).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.65$ min, C18; $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 453.1, gef.: 452.6.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.90$ (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-8'), 7.79 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-2'), 7.57 – 7.41 (m, 6H, H-5', H-6', CHCSO_2 , H-7', H-3'), 7.36 (ddd, $J = 1.3$ Hz, 6.9 Hz, 8.3 Hz, 1H, H-4'), 7.05 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, CH_3CCH), 4.52 (dd, $J = 5.1$ Hz, 8.9 Hz, 1H, H-2), 4.42 (dd, $J = 5.1$ Hz, 14.6 Hz, 1H, H-3_a), 4.26 (dd, $J = 8.9$ Hz, 14.6 Hz, 1H, H-3_b), 3.81 (s, 3H, COOCH_3), 2.29 (s, 3H, ArCH_3).

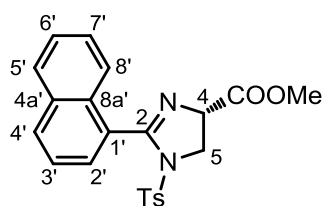
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.5$ (OCNSO_2), 168.7 (COOCH_3), 145.2 (CHCSO_2), 135.3 (CH_3CCH), 133.2 (C-1'), 131.7 (C-4a'), 131.2 (C-8'), 129.9 (C-8a'), 129.5 (CH_3CCH), 128.4 (CHCSO_2 , C-2'), 127.4 (C-6'), 126.7 (C-5'), 126.4 (C-7'), 124.5 (C-4'), 124.4 (C-3'), 60.9 (C-2), 53.2 (COOCH_3), 46.7 (C-3), 21.6 (ArCH_3).

HRMS (ESI): $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 453.1223, gef.: 453.1227.

IR: $\nu = 2120$ (s), 1747 (m), 1689 (m), 1358 (m), 1288 (w), 1171 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -18.0$ (CHCl_3 , $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

2-(Naphth-1'-yl)-1-(*p*-tolylsulfonyl)-4,5-dihydro-imidazol-(*S*)-4-carbonsäuremethylester **65e**



N-Acylsulfonamid **64e** (177 mg, 390 μ mol) wurde nach **AV5** (2,6-Lutidin, 0.017 M, 80 °C, 6.5 h) zyklisiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (30 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 13:12) gereinigt. Imidazolin **65e** (136 mg, 330 μ mol, 85 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.34$ (Petrolether/EtOAc 1:1).

HPLC: $t_R = 9.1$ min (**Methode D**).

chirale HPLC: $t_R = 38.3$ min (Chiralpak IA, A: Isohexan, B: CH₂Cl₂/EtOH 100:4: 20 % (70 min) B, 0.5 mL/min).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.0$ min, C18; C₂₂H₂₁N₂O₄S ([M+H]⁺) ber.: 409.1, gef.: 409.0.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.92$ (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-4'), 7.79 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H-5', H-8'), 7.62 (dd, $J = 1.0$ Hz, 7.1 Hz, 1H, H-3'), 7.47 (dd, $J = 7.2$ Hz, 8.2 Hz, 1H, H-2'), 7.43 (ddd, $J = 1.1$ Hz, 6.9 Hz, 8.1 Hz, 1H, H-7'), 7.34 (ddd, $J = 1.2$ Hz, 6.9 Hz, 8.3 Hz, 1H, H-6'), 7.19 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, CHCSO₂), 6.95 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH₃CCH), 4.88 (dd, $J = 7.6$ Hz, 10.6 Hz, 1H, H-4), 4.49 – 4.27 (m, 2H, H-5), 3.75 (s, 3H, COOCH₃), 2.26 (s, 3H, ArCH₃).

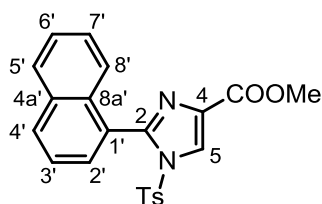
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 171.0$ (COOCH₃), 159.6 (C-2), 144.7 (CH₃CCH), 134.6 (CHCSO₂), 133.2 (C-1'), 131.4 (C-4a'), 131.1 (C-4'), 129.5 (CH₃CCH), 128.9 (C-3'), 128.2 (C-5'), 127.7 (CHCSO₂), 126.9 (C-6'), 126.5 (C-8a'), 126.0 (C-7'), 125.1 (C-8'), 124.4 (C-2'), 66.7 (C-4), 52.9 (COOCH₃), 50.9 (C-5), 21.5 (ArCH₃).

HRMS (ESI): C₂₂H₂₁N₂O₄S ([M+H]⁺) ber.: 409.1217, gef.: 409.1210.

IR: $\nu = 2962$ (m), 1743 (s), 1631 (m), 1360 (m), 1171 (s), 806 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +43.2$ (CHCl₃, $c = 4.0$, $T = 20$ °C).

2-(Naphth-1'-yl)-1-(*p*-tolylsulfonyl)-imidazol-4-carbonsäuremethylester 66e



Imidazolin **65e** (92.0 mg, 230 μ mol) wurde nach **AV6** oxidiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (30 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 33:17) gereinigt. Imidazol **66e** (76.0 mg, 190 μ mol, 82 %) wurde als farbloser Feststoff isoliert.

DC: $R_f = 0.62$ (Petrolether/EtOAc 1:1).

HPLC: $t_R = 10.9$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.4$ min, C18; $C_{22}H_{19}N_2O_4S$ ($[M+H]^+$) ber.: 407.1, gef.: 407.0.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8.43$ (s, 1H, H-5), 8.00 – 7.88 (m, 1H, H-4'), 7.76 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-8'), 7.54 – 7.42 (m, 2H, H-3', H-2'), 7.34 (ddd, $J = 1.1$ Hz, 6.8 Hz, 8.1 Hz, 1H, H-7'), 7.07 (ddd, $J = 1.3$ Hz, 6.8 Hz, 8.3 Hz, 1H, H-6'), 6.89 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, $CHCSO_2$), 6.85 (dd, $J = 0.8$ Hz, 8.5 Hz, 1H, H-5'), 6.74 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_3CCH), 3.92 (s, 3H, $COOCH_3$), 2.13 (s, 3H, $ArCH_3$).

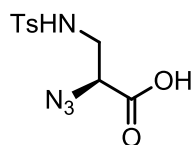
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 162.6$ ($COOCH_3$), 146.5 (CH_3CCH), 146.4 (C-2), 132.9 (C-4a'), 132.7 ($CHCSO_2$), 132.7 (C-1'), 132.4 (C-4), 130.9 (C-4'), 130.4 (C-3'), 129.6 (CH_3CCH), 128.1 ($CHCSO_2$), 128.0 (C-8'), 126.7 (C-6'), 125.9 (C-7'), 125.7 (C-8a'), 125.4 (C-5), 125.0 (C-5'), 124.4 (C-2'), 52.3 ($COOCH_3$), 21.6 ($ArCH_3$).

HRMS (ESI): $C_{22}H_{19}N_2O_4S$ ($[M+H]^+$) ber.: 407.1060, gef.: 407.1055.

IR: $\nu = 2949$ (w), 1740 (s), 1595 (w), 1530 (w), 1381 (m), 1176 (s), 803 (m), 777 (m).

Schmelzpunkt: $T_m = 157 - 159$ °C.

(S)-2-Azido-3-(*p*-tolylsulfonylamino)-propionsäure 73



(S)-2-*tert*-Butoxycarbonylamino-3-(tolyl-4'-sulfonylamino)-propionsäure **52** (4.86 g, 13.6 mmol) wurde in einer Mischung von HCl in Dioxan (4M, 30 mL) gelöst und 4 h bei RT gerührt. Die Mischung wurde i.V. eingengt und (S)-2-Amino-3-(*p*-tolylsulfonylamino)-propionsäure hydrochlorid (3.96 g, 13.4 mmol, 99 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

Das Ammoniumsalz wurde nach **AV2** mit CuSO₄ als Katalysator zum Azid umgesetzt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (400 g Kieselgel, CH₂Cl₂/EtOAc 99:1 + 0.5 % HCOOH) gereinigt. (S)-2-Azido-3-(*p*-tolylsulfonylamino)-propionsäure **73** (2.72 g, 9.57 mmol, 71 %) wurde als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.21$ (CHCl₃/MeOH 23:2 +0.5% HCOOH).

HPLC: $t_R = 8.0$ min (**Methode H**).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.87$ (bs, 1H, COOH), 7.74 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, SO₂CCH), 7.31 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH₃CCH), 5.62 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H, SO₂NH), 4.20 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, CH₂CH), 3.41 – 3.18 (m, 2H, CH₂), 2.42 (s, 3H, ArCH₃).

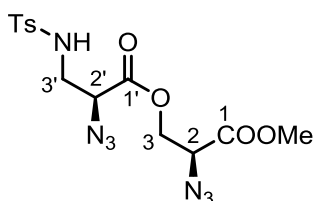
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 172.5$ (COOH), 144.4 (CSO₂), 136.4 (CH₃CCH), 130.2 (CHCSO₂), 127.2 (CH₃CCH), 61.3 (CH₂CH), 43.8 (CH₂), 21.7 (ArCH₃).

HRMS (ESI): C₁₀H₁₃N₄O₄S ([M+H]⁺) ber.: 285.0652, gef.: 285.0654.

IR: $\nu = 2118$ (s), 1742 (m), 1327 (m), 1159 (s), 814 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -54.0$ (MeOH, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

3-[(*S*)-2'-Azido-3'-(*p*-tolylsulfonylamino)-propionyloxy]-(*S*)-2-Azido-propionsäuremethylester **75a**



Azidocarbonsäure **73** (1.21 g, 4.26 mmol) und HOBT (1.15 g, 8.50 mmol) wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂ (15 mL) und DMF (4 mL) gelöst und bei 0 °C mit EDC×HCl (1.64 g, 8.50 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 15 min bei 0 °C gerührt und dann mit Alkohol **74a** (560 mg, 3.86 mmol) in wasserfreiem CH₂Cl₂ (5 mL) versetzt. Die Mischung wurde 2 h bei RT gerührt und danach i.V. eingengt. Das Rohprodukt wurde in EtOAc (100 mL) und 1M NaHSO₄-Lösung (200 mL) aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (dreimal je 100 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (MgSO₄) und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (400 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 33:17) wurde Diester **75a** (956 mg, 2.35 mmol, 61 %) als gelbes Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.41$ (Petrolether/EtOAc 31:19).

HPLC: $t_R = 10.4$ min (**Methode E**).

LC-MS (ESI): $t_R = 9.2$ min, C18; C₁₄H₁₈N₇O₆S ([M+H]⁺) ber.: 412.1 gef.: 411.9.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.75$ (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, SO₂CCH), 7.32 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH₃CCH), 5.11 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H, NH), 4.56 (dd, $J = 4.0$ Hz, 11.5 Hz, 1H, H-3_a), 4.47 (dd, $J = 5.8$ Hz, 11.5 Hz, 1H, H-3_b), 4.23 (dd, $J = 4.0$ Hz, 5.7 Hz, 1H, H-2), 4.18 (dd, $J = 5.6$ Hz, 6.3 Hz, 1H, H-2'), 3.85 (s, 3H, COOCH₃), 3.31 (ddd, $J = 5.5$ Hz, 6.7 Hz, 13.7 Hz, 1H, H-3'_a), 3.27 – 3.19 (m, 1H, H-3'_b), 2.43 (s, 3H, ArCH₃).

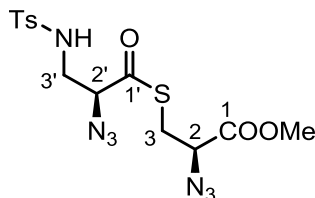
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 168.1$ (COOMe), 167.9 (C-1'), 144.2 (CH₃CCH), 136.8 (CHCSO₂), 130.1 (CH₃CCH), 127.2 (CHCSO₂), 64.9 (C-3), 61.5 (C-2'), 60.3 (C-2), 53.6 (COOCH₃), 43.9 (C-3'), 21.7 (ArCH₃).

HRMS (ESI): C₁₄H₁₈N₇O₆S ([M+H]⁺) ber.: 412.1032, gef.: 412.1034.

IR: $\nu = 2958$ (w), 2110 (s), 1745 (s), 1157 (s), 814 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -57.9$ (CHCl₃, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

3-[(*S*)-2'-Azido-3'-(*p*-tolylsulfonylamino)-propionylthio]-(*S*)-2-Azido-propionsäuremethylester **75b**



(*R*)-2-Azido-3-tritylthio-propionsäuremethylester (585 mg, 1.45 mmol) **48b** wurde in CH₂Cl₂ (14.5 mL) gelöst und mit TFA (0.73 mL) und Et₃SiH (255 µL, 1.60 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt und das dabei entstandene Thiol **74b** i.V. eingengt.

Azidocarbonsäure **73** (457 mg, 1.61 mmol) und HOBt (435 mg, 3.22 mmol) wurden in wasserfreiem CH₂Cl₂ (5 mL) und DMF (1.5 mL) gelöst und bei 0 °C mit EDC×HCl (614 mg, 3.22 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 15 min bei 0 °C gerührt und dann mit unmittelbar zuvor entschütztem Thiol **74b** (233 mg, 1.45 mmol) in wasserfreiem CH₂Cl₂ (2.5 mL) versetzt. Die Mischung wurde 2 h bei RT gerührt und danach i.V. eingengt. Das Rohprodukt wurde in EtOAc (25 mL) und Phosphatpuffer (pH 7, 50 mL) aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (dreimal je 25 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (MgSO₄) und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (150 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 33:17) wurde Thioester **75b** (435 mg, 1.02 mmol, 70 %) als gelbes Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.09$ (Petrolether/EtOAc 4:1).

HPLC: $t_R = 11.0$ min (**Methode E**).

LC-MS (ESI): $t_R = 9.7$ min, C18; C₁₄H₁₈N₇O₅S₂ ([M+H]⁺) ber.: 428.1, gef.: 427.9.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.75$ (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, SO₂CCH), 7.32 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH₃CCH), 5.13 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H, NH), 4.20 (dd, $J = 5.1$ Hz, 7.1 Hz, 1H, H-2'), 4.16 – 4.05 (m, 1H, H-2), 3.82 (m, 3H, COOCH₃), 3.45 – 3.34 (m, 2H, H-3'_a, H-3_a), 3.23 – 3.15 (m, 2H, H-3_b, H-3'_b), 2.43 (s, 3H, ArCH₃).

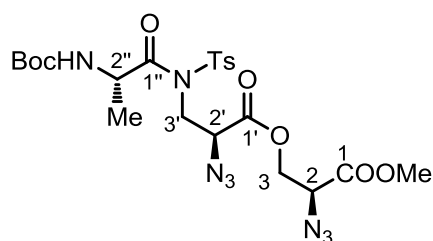
$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ = 196.1 (COS), 169.0 (COOMe), 144.2 (CH_3CCH), 136.7 (CHCSO_2), 130.1 (CH_3CCH), 127.3 (CHCSO_2), 68.6 (C-2'), 61.0 (C-2), 53.4 (COOCH₃), 44.7 (C-3'), 30.4 (C-3), 21.7 (ArCH₃).

HRMS (ESI): $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_7\text{O}_5\text{S}_2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 428.0805, gef.: 428.0805.

IR: ν = 2956 (w), 2926 (w), 2110 (s), 1743 (m), 1685 (m), 1328 (m), 1157 (s), 814 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -61.0$ (CHCl_3 , $c = 3.0$, $T = 20^\circ\text{C}$).

3-[3'-(N'-(N''-*tert*-Butoxycarbonyl-(*S*)-alanyl)-N'-(*p*-tolylsulfonyl)-amino)-(S)-2'-Azido-propionyloxy]-(S)-2-Azido-propionsäuremethylester **76a**



Sulfonamid **75a** (451 mg, 1.10 mmol) wurde in wasserfreiem CH_2Cl_2 (2.4 mL) gelöst und auf 0°C abgekühlt. (*S*)-*N*-Boc-alanylfluorid (419 mg, 2.19 mmol, hergestellt nach **AV3**) in wasserfreiem CH_2Cl_2 (2.4 mL) und EtNiPr_2 (199 μL , 1.21 mmol) wurden zugegeben und die Mischung wurde bei 0°C gerührt. Nach 45 min wurde Toluol (2 mL) und Ameisensäure (122 μL , 3.23 mmol) zugegeben und die Mischung i.V. eingengt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (135 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 37:13) wurde *N*-Acylsulfonamid **76a** in einer Mischung mit einem zweiten Diastereomer (560 mg, 0.96 mmol, 87 %, d.r. 92:8) als gelbes Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.26$ (Petrolether/EtOAc 37:13).

HPLC: *N*-Acylsulfonamid **76a**: $t_R = 12.7$ min (**Methode E**), 92 %; 2. Diastereomer: 13.0 min, 8 %.

LC-MS (ESI): $t_R = 10.4$ min, C18; $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_8\text{O}_9\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 583.2, gef.: 582.6.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 7.92 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, SO_2CCH), 7.34 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH_3CCH), 5.21 – 5.11 (m, 1H, H-2''), 4.98 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, NH), 4.56 (dd, $J = 4.0$ Hz, 11.5 Hz, 1H, H-3_a), 4.50 (dd, $J = 5.9$ Hz, 11.5 Hz, 1H, H-3_b), 4.39 (dd, $J = 5.5$ Hz, 7.8

Hz, 1H, H-2'), 4.27 – 4.17 (m, 2H, H-2, H-3'_a), 4.01 (dd, $J = 8.4$ Hz, 14.9 Hz, 1H, H-3'_b), 3.84 (s, 3H, COOCH₃), 2.43 (s, 3H, ArCH₃), 1.37 (m, 12H, C(CH₃)₃, CHCH₃).

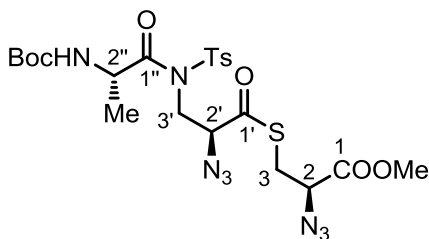
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 175.7$ (C-1''), 168.0 (COOMe), 167.8 (C-1'), 155.2 (COC(CH₃)₃), 145.6 (CH₃CCH), 135.7 (CHCSO₂), 130.2 (CH₃CCH), 128.2 (CHCSO₂), 80.2 (C(CH₃)₃), 65.0 (C-3), 60.7 (C-2'), 60.3 (C-2), 53.4 (COOCH₃), 50.0 (C-2''), 46.3 (C-3'), 28.4 (C(CH₃)₃), 21.8 (ArCH₃), 19.6 (CH₃CH).

HRMS (ESI): C₂₂H₃₁N₈O₉S ([M+H]⁺) bert.: 583.1929, gef.: 583.1927.

IR: $\nu = 2979$ (w), 2112 (m), 1749 (m), 1699 (m), 1363 (m), 1160 (s), 814 (w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -61.4$ (CHCl₃, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

3-[3'-(N'-(N''-*tert*-Butoxycarbonyl-(*S*)-alanyl)-N'-(*p*-tolylsulfonyl)-amino)-(S)-2'-Azido-propionylthio]-(S)-2-Azido-propionsäuremethylester **76b**



Sulfonamid **75b** (218 mg, 510 μ mol) wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ (1 mL) gelöst und bei 0 °C mit *N*-Boc-*L*-Alaninylfluorid (102 mg, 540 μ mol, hergestellt nach **AV3**) in CH₂Cl₂ (1.2 mL) und EtNiPr₂ (88 μ L, 540 μ mol) versetzt. Nach 45 min Rühren bei 0 °C wurden Toluol (1 mL) und Ameisensäure (40 μ L, 1.02 mmol) zugegeben und die Mischung i.V. eingengt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (35 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 19:6) wurde *N*-Acylsulfonamid **76b** in einer Mischung mit einem zweiten Diastereomer (155 mg, 260 μ mol, 51 %, d.r. 56:44) als gelbes Öl erhalten.

DC: *N*-Acylsulfonamid **76b**: $R_f = 0.21$; 2. Diastereomer: $R_f = 0.19$; (Petrolether/EtOAc 19:6).

HPLC: *N*-Acylsulfonamid **76b**: $t_R = 12.0$ min, 56 %; 2. Diastereomer: $t_R = 12.2$ min; (**Method E**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.6$ min, C18; C₂₂H₃₁N₈O₈S₂ ([M+H]⁺) ber.: 599.2, gef.: 598.7.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.94 (d, J = 8.1 Hz, 2H, SO₂CCH), 7.35 (d, J = 8.2 Hz, 2H, CH₃CCH), 5.27 – 5.13 (m, 1H, H-2''), 4.97 (d, J = 7.8 Hz, 1H, NH), 4.51 (dd, J = 5.2 Hz, 8.8 Hz, 1H, H-2'), 4.20 (dd, J = 5.3 Hz, 14.8 Hz, 1H, H-3'_a), 4.13 (dd, J = 5.6 Hz, 7.7 Hz, 1H, H-2), 3.91 (dd, J = 8.6 Hz, 14.7 Hz, 1H, H-3'_b), 3.84 (s, 3H, COOCH₃), 3.40 (dd, J = 5.6 Hz, 13.9 Hz, 1H, H-3_a), 3.18 (dd, J = 7.7 Hz, 13.9 Hz, 1H, H-3_b), 2.43 (s, 3H, ArCH₃), 1.46 – 1.32 (m, 12H, C(CH₃)₃, CHCH₃).

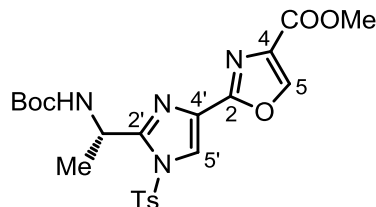
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 195.7 (C-1'), 175.6 (C-1''), 169.1 (COOMe), 155.3 (COC(CH₃)₃), 145.7 (CH₃CCH), 135.5 (CHCSO₂), 130.3 (CH₃CCH), 128.3 (CHCSO₂), 80.3 (C(CH₃)₃), 67.7 (C-2'), 61.1 (C-2), 53.3 (COOCH₃), 50.2 (C-2''), 47.1 (C-3'), 30.4 (C-3), 28.4 (C(CH₃)₃), 21.9 (ArCH₃), 19.6 (CH₃CH).

HRMS (ESI): C₂₂H₃₁N₈O₈S₂ ([M+H]⁺) ber.: 599.1701, gef.: 599.1698.

IR: ν = 2961 (w), 2927 (w), 2115 (s), 1746 (m), 1693 (s), 1364 (m), 1161 (s), 814 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -69.4$ (CHCl₃, c = 1.0, T = 20 °C).

2-[2'-((S)-1-tert-Butoxycarbonylamino-eth-1''-yl)-1'-(p-tolylsulfonyl)-imidazol-4'-yl]-oxazol-4-carbonsäuremethylester 78a



Diazid **76a** (195 mg, 330 μ mol) wurde mit PPh₃ (263 mg, 1.00 mmol) nach **AV5** (THF, 0.019 M, Rückfluss, 6 h) zyklisiert und das Rohprodukt von Bisazolin **77a** mit DBU (500 μ L, 3.34 mmol) und BrCCl₃ (164 μ L, 1.67 mmol) nach **AV6** oxidiert. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (70 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 27:23) wurde Bisazolin **78a** (121 mg, 250 μ mol, 76 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: R_f = 0.41 (Petrolether/EtOAc 3:7).

HPLC: t_R = 11.7 min (**Methode E**).

LC-MS (ESI): t_R = 10.2 min, C18; C₂₂H₂₇N₄O₇S ([M+H]⁺) ber.: 491.2, gef.: 490.8.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.23 (s, 1H, H-5), 8.04 (s, 1H, H-5'), 7.96 (d, J = 7.7 Hz, 2H, SO₂CCH), 7.35 (d, J = 8.5, 2H, CH₃CCH), 5.60 – 5.49 (m, 1H, CHCH₃), 5.41 (d, J =

9.5 Hz, 1H, NH), 3.92 (s, 3H, COOCH₃), 2.42 (s, 3H, ArCH₃), 1.50 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CHCH₃), 1.40 (s, 9H, C(CH₃)₃).

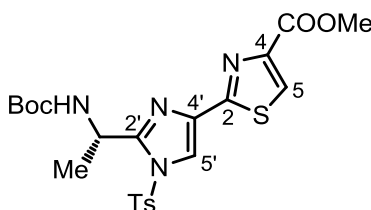
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 161.6 (COOMe), 157.1 (C-2), 154.8 (COC(CH₃)₃), 152.6 (C-2'), 147.1 (CH₃CCH), 143.7 (C-5), 134.5 (C-4), 134.4 (CHCSO₂), 130.8 (CH₃CCH), 129.5 (C-4'), 128.2 (CHCSO₂), 120.4 (C-5'), 79.9 (C(CH₃)₃), 52.5 (COOCH₃), 44.3 (CHCH₃), 28.5 (C(CH₃)₃), 22.9 (CHCH₃), 22.0 (ArCH₃).

HRMS (ESI): C₂₂H₂₇N₄O₇S ([M+H]⁺) ber.: 491.1595, gef.: 491.1590.

IR: ν = 2979 (w), 1747 (m), 1706 (s), 1498 (m), 1170 (s), 815 (w).

Optische Drehung: [α]_D = + 3.3 (CHCl₃, *c* = 1.0, *T* = 20 °C).

2-[2'-((*S*)-1-*tert*-Butoxycarbonylamino-eth-1''-yl)-1'-(*p*-tolylsulfonyl)-imidazol-4'-yl]-thiazol-4-carbonsäuremethylester **78b**



N-Acylsulfonamid **76b** (100 mg, 0.17 mmol) wurde mit PPh₃ (131 mg, 500 μmol) nach **AV5** (THF, 0.015 M, 80 °C, 6 h) zyklisiert und das Rohprodukt von Bisazolin **77b** mit DBU (250 μL, 1.67 mmol) und BrCCl₃ (82.0 μL, 840 μmol) nach **AV6** oxidiert. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (55 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 3:2) wurde Bisazol **78b** (69.0 mg, 140 μmol, 82 %, zwei Stufen) als farbloses Öl erhalten.

DC: *R_f* = 0.56 (Petrolether/EtOAc 2:3).

HPLC: *t_R* = 12.7 min (**Methode E**).

LC-MS (ESI): *t_R* = 10.6 min, C18; C₂₂H₂₇N₄O₆S₂ ([M+H]⁺) ber.: 507.1, gef.: 506.8.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.12 (s, 1H, H-5), 8.05 (s, 1H, H-5'), 7.94 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, SO₂CCH), 7.33 (d, *J* = 8.3 Hz, 3H, CH₃CCH), 5.58 – 5.45 (m, 1H, CHCH₃), 5.32 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, NH), 3.95 (s, 3H, COOCH₃), 2.40 (s, 3H, ArCH₃), 1.51 (d, *J* = 6.7 Hz, 4H, CHCH₃), 1.41 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 162.6 (C-2), 162.0 (COOMe), 154.8 (COC(CH₃)₃), 151.6 (C-2'), 147.7 (C-4), 146.8 (CH₃CCH), 135.2 (C-2'), 134.6 (CHCSO₂), 130.7

(CH₃CCH), 128.1 (CHCSO₂), 127.6 (C-5), 117.0 (C-5'), 79.9 (C(CH₃)₃), 52.7 (COOCH₃), 44.4 (CHCH₃), 28.5 (C(CH₃)₃), 22.9 (CHCH₃), 21.9 (ArCH₃).

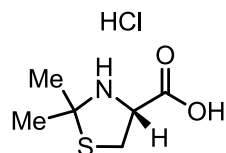
HRMS (ESI): C₂₂H₂₇N₄O₆S₂ ([M+H]⁺) ber.: 507.1367, gef.: 507.1361.

IR: ν = 2977 (w), 1708 (s), 1496 (m), 1171 (s), 1084 (s), 814(w).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = + 6.9$ (CHCl₃, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

6.4 Arbeiten zur Totalsynthese von Telomestatin

(*R*)-2,2-Dimethylthiazolidin-4-carbonsäure hydrochlorid



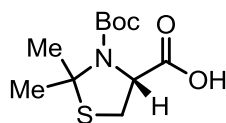
L-Cysteinhydrochlorid Monohydrat (50.0 g, 285 mmol) wurde in wasserfreiem Aceton (1 L) suspendiert und zum Rückfluß erhitzt. Nach 5 h wurde die Mischung auf ca. 150 mL eingengt und auf 0 °C abgekühlt, wobei ein Feststoff ausfiel. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit eiskaltem Aceton gewaschen (3 x 100 mL) und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Das (*R*)-2,2-Dimethylthiazolidin-4-carbonsäure hydrochlorid (48.9 g, 247 mmol, 87 %) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Die analytischen Daten des Cysteinderivats stimmten mit bisherigen Publikationen überein.^[244]

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.41 – 7.37 (m, 1H, NH), 6.08 (dd, J = 14.0 Hz, 8.2 Hz, 1H, SCH_{2a}), 5.94 (dd, J = 14.4 Hz, 8.6 Hz, 1H, SCH_{2b}), 5.71 – 5.69 (m, 1H, SCH₂CH), 4.22, 4.21 (2 s, 6H, C(CH₃)_{2a}, C(CH₃)_{2b}).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -80.7$ (MeOH, $c = 2.0$, $T = 21$ °C).

(*R*)-3-(*tert*-Butoxycarbonyl)-2,2-dimethylthiazolidin-4-carbonsäure 111^[244]



(*R*)-2,2-Dimethylthiazolidin-4-carbonsäure hydrochlorid (25.0 g, 127 mmol) wurde in wasserfreiem Acetonitril (400 mL) suspendiert und bei 0 °C mit Boc₂O (36.0 g, 165 mmol) sowie EtNiPr₂ (19.7 g, 152 mmol, 25.9 mL) versetzt. Die Mischung wurde drei Tage bei RT gerührt, das Lösungsmittel i.V. entfernt und der Rückstand in 55 mL EtOAc gelöst. Die organische Phase wurde mit KHSO₄-Lsg. versetzt (1 M) bis die wässrige Phase einen pH von 1 hatte. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase mit weiteren 200 mL

KHSO₄-Lsg. und ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Es wurde entwässert (MgSO₄) und die Lösemittel i.V. entfernt. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan umkristallisiert, die Mutterlauge wieder eingeeengt und nochmal aus *n*-Hexan umkristallisiert. Dabei wurden 8.42 g (32.2 mmol, 25 %) Boc-Dmt-OH **111** erhalten. Die Mutterlauge, die noch Boc-Dmt-OH **111** und Boc₂O enthielt, wurde eingeeengt und chromatographisch an Kieselgel (400 g, Petrolether/EtOAc 92:8, 1:1, 0:100) gereinigt. Dabei wurden 4.59 g (17.6 mmol, 14 %, insges. 39 %) Boc-Dmt-OH **111** erhalten.

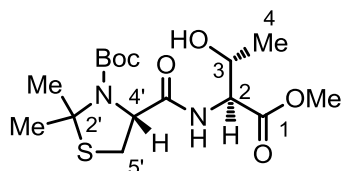
Die analytischen Daten des Cysteinderivats stimmten mit bisherigen Publikationen überein.^[244]

DC: $R_f = 0.55$ (CH₂Cl₂/MeOH 10:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 4.96, 4.83$ (2 bs, 1H, SCH₂CH)*, 3.26 – 3.18 (bm, 2H, SCH₂)*, 1.85, 1.78 (2 bs, 6H, C(CH₃)_{2a}, C(CH₃)_{2b})*, 1.50 – 1.43 (m, 9H, C(CH₃)₃)*. * Rotamere.

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -73.4$ (MeOH, $c = 1.0$, $T = 21$ °C).

N*-(2',2'-Dimethyl-*N'*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4'*R*)-oyl)-*N*-*p*-tolylsulfonyl-(2*S*,3*R*)-threoninmethylester **87*



Boc-Dmt-OH **111** (16.5 g, 63.2 mmol) und Thr-OMe × HCl (12.9 g, 96.8 mmol) wurden in einer Mischung von CH₂Cl₂ (700 mL) und DMF (40 mL) gelöst. Bei 0 °C wurden HOBT (9.38 g, 69.4 mmol), EDC × HCl (13.3 g, 69.3 mmol) und TEA (23.1 mL, 16.9 g, 167 mmol) zugegeben. Nach 14 h Rühren bei RT wurde die Mischung mit Phosphatpuffer pH 3 (300 mL) und wässriger Salzsäure (1 M, 100 mL) versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (4 x 350 mL). Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (750 g, Petrolether/Aceton 8:2) wurde Dipeptid **87** (19.9 g, 52.9 mmol, 84 %) als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.24$ (*n*-Pentan/Aceton 4:1).

HPLC: $t_R = 8.3$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 9.2$ min, C18; für $C_{16}H_{29}N_2O_6S$ ($[M+H]^+$) ber.: 377.2, gef.: 376.8.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 6.97$ (bs, 1H, NH), 4.80 (s, 1H, H-4'), 4.56 (dd, $J = 9.0$ Hz, 2.3 Hz, 1H, H-2), 4.32 (bs, 1H, H-3), 3.73 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.34 – 3.12 (m, 2H, H-5'), 2.41 (bs, 1H, OH), 1.88 (s, 3H, $C(CH_3)_2_a$), 1.78 (s, 3H, $C(CH_3)_2_b$), 1.46 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 1.22 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, H-4).

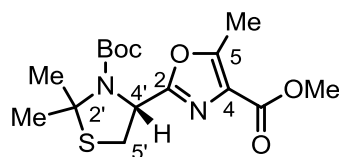
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 171.6$ (NHCO), 171.2 ($COOCH_3$), 81.9 ($C(CH_3)_3$), 72.3 (C-2'), 68.4 (C-3), 67.6 (C-4'), 57.4 (C-2), 52.7 ($COOCH_3$), 31.1 (C-5'), 28.4 ($C(CH_3)_2$, $C(CH_3)_3$), 20.2 (C-4); nicht detektierbar: NCOO, $C(CH_3)_3$.

HRMS (ESI): $C_{16}H_{29}N_2O_6S$ ($[M+H]^+$) ber.: 377.1741, gef.: 377.1740.

IR: $\nu = 3431$ (w), 2977 (w), 2934 (w), 1749 (m), 1661 (s), 1341 (s), 1164 (s), 1068 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -80.3$ ($CHCl_3$, $c = 3.0$, $T = 21$ °C).

2-(2',2'-Dimethyl-N'-tert-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4'R)-yl)-5-methyl-oxazol-4-carbonsäuremethylester **84**



Dipeptid **87** (5.89 g, 15.6 mmol) wurde in wasserfreiem THF (60 mL) gelöst. Bei RT wurde eine Suspension von Burgess Reagenz (4.48 g, 18.8 mmol) in wasserfreiem THF (150 mL) zugegeben. Die Mischung wurde 10 min bei RT gerührt und dann in einem vorgeheizten Ölbad schnell auf 85 °C erwärmt. Die Mischung wurde bei dieser Temperatur 12 h gerührt. Nachdem die Mischung auf RT abgekühlt war wurde sie in eiskaltes Wasser (1.5 L) gegeben, mit Phosphatpuffer pH 7 (200 mL) versetzt (pH 7) und mit EtOAc (4 x 400 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, mit sat. NaCl-Lösung (80 mL) gewaschen, entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt.

Das Rohprodukt von Oxazolin **120** wurde in wasserfreiem CH₂Cl₂ (90 mL, 0.17 M) gelöst und bei 0 °C mit DBU (7.02 mL, 47.1 mmol) und BrCCl₃ (2.31 mL, 23.6 mmol) versetzt. Die Mischung wurde bei RT 2 h gerührt und bei 0 °C in Phosphatpuffer pH 3 (1.8 L) getropft. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (4 x 600 mL). Die organischen Phasen wurden vereinigt, mit 0.2 M KHSO₄ (200 mL) und ges. NaCl-Lösung (200 mL) gewaschen, entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (350 g, Petrolether/EtOAc 75:25, 7:3, 6:4) wurde Oxazol **84** (2.36 g, 6.63 mmol, 42 %) als braunes Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.14$ (Petrolether/Ethylacetat 6:4).

HPLC: $t_R = 10.5$ min (**Methode B**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.1$ min, C18; für C₁₆H₂₅N₂O₅S ([M+H]⁺) ber.: 357.1, gef.: 356.8.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 5.50$ (2 bs, 1H, H-4')*, 3.89 (s, 3H, COOCH₃), 3.40 (dd, $J = 12.1$ Hz, 6.1 Hz, 1H, H-5'_a), 3.23 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, H-5'_b), 2.60 (s, 3H, ArCH₃), 1.87 (s, 3H, C(CH₃)_{2a})*, 1.81 (s, 3H, C(CH₃)_{2b})*, 1.39 (2 bs, 9H, C(CH₃)₃)*. *Rotamere.

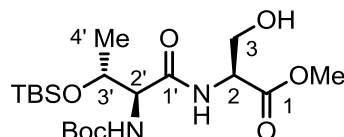
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 162.9$ (COOCH₃), 162.1 (C-2), 156.3 (C-5), 127.9 (C-4), 71.8 (C(CH₃)₂), 61.9 (C-4'), 52.1 (COOCH₃), 32.9 (C-5'), 29.8 (C(CH₃)_{2a}), 28.5 (C(CH₃)_{2b}, C(CH₃)₃), 12.2 (ArCH₃); nicht detektierbar: NCO, C(CH₃)₃.

HRMS (ESI): C₁₆H₂₅N₂O₅S ([M+H]⁺) ber.: 357.1479, gef.: 357.1478.

IR: ν = 2976 (w), 2932 (w), 1698 (s), 1620 (w), 1347 (s), 1168 (s), 1095 (s), 1067 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -169.8$ (CHCl₃, $c = 0.5$, $T = 20$ °C).

***N'*-*tert*-Butoxycarbonyl-*O*-*tert*-butyl-dimethyl-silyl-(2'*S*,3'*R*)-
threonylserinmethylester **88****



Boc-Thr(TBS)-OH (50.0 g, 150 mmol) und Ser-OMe×HCl (23.3 g, 150 mmol) wurden in einer Mischung von CH₂Cl₂ (1000 mL) und DMF (20 mL) gelöst. Bei 0 °C wurden HOBt (24.3 g, 180 mmol), EDC × HCl (34.5 g, 180 mmol) und TEA (41.6 mL, 300 mmol) zugegeben. Nach 18 h Rühren bei RT wurde die Mischung mit Phosphatpuffer pH 3 auf pH 4-5 angesäuert. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase viermal mit je 500 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (400 g, *n*-Pentan/Aceton 9:1) wurde Dipeptid **88** (60.0 g, 138 mmol, 92 %) als farbloses Harz isoliert.

DC: $R_f = 0.60$ (*n*-Pentan/Aceton 4:1).

HPLC: $t_R = 11.4$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.8$ min, C18; für C₁₉H₃₉N₂O₇Si ([M+H]⁺) ber.: 435.3, gef.: 434.8.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.50$ (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, CHCONH), 5.41 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H, OCONH), 4.63 (dt, $J = 7.5$ Hz, 3.7 Hz, 1H, H-2), 4.37 – 4.27 (m, 1H, H-3'), 4.12 (m, 1H, H-2'), 4.00 – 3.90 (m, 1H, H-3_a), 3.88 – 3.79 (m, 1H, H-3_b), 3.74 (s, 3H, COOCH₃), 2.82 (s, 1H, OH), 1.43 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 1.13 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, H-4), 0.87 (s, 12H, SiC(CH₃)₃), 0.09 (s, 6H, Si(CH₃)₂).

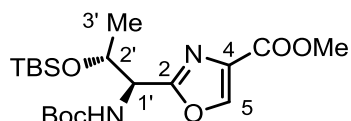
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 170.8$, 170.7 (C-1', C-1), 156.0 (OCONH), 80.2 (OC(CH₃)₃), 68.6 (C-3'), 63.4 (C-3), 59.6 (C-2'), 54.9 (C-2), 52.8 (COOCH₃), 28.5 (OC(CH₃)₃), 25.9 (SiC(CH₃)₃), 19.0 (C-4'), 18.0 (SiC(CH₃)₃), -4.5 (SiCH_{3a}), -4.9 (SiCH_{3b}).

HRMS (ESI): C₁₉H₃₉N₂O₇Si ([M+H]⁺) ber.: 435.2521, gef.: 435.2519.

IR: $\nu = 3358$ (w), 3306 (w), 2956 (w), 2928 (m), 2855 (w), 1740 (m), 1692 (m), 1646 (s), 1240 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +17.8$ (CHCl_3 , $c = 0.5$, $T = 20$ °C).

2-[(1'S,2'R)-1'-tert-Butoxycarbonylamino-2'-(tert-butyl-dimethyl-silyloxy)-prop-1'-yl]-oxazol-4-carbonsäuremethylester **121**



Das geschützte Dipeptid **88** (59.6 g, 137 mmol) wurde in wasserfreiem THF (200 mL) gelöst und bei RT mit Burgess-Reagenz (39.2 g, 164 mmol) in 400 mL wasserfreiem THF versetzt. Nach 10 min bei RT wurde die Reaktionsmischung unter Rückfluss für 12 h gerührt. Nach Abkühlen auf 5 °C wurden 500 mL Wasser zugegeben und die wässrige Phase viermal mit je 100 mL EtOAc extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO_4) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Das so erhaltene gelbe Öl des Oxazolins (57.1 g, 137 mmol, 100 %) wurde direkt zum Oxazol oxidiert.

Das Oxazolin (57.1 g, 137 mmol) wurde in 500 mL CH_2Cl_2 gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dann wurden DBU (61.5 mL, 412 mmol) sowie BrCCl_3 (20.4 mL, 206 mmol) zugetropft. Nach 3 h Rühren bei RT wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C mit Phosphatpuffer pH 3 auf pH 3-4 angesäuert. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 200 mL CH_2Cl_2 extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO_4) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (2 kg Kieselgel, Petrolether/EtOAc 44:6) wurde Oxazol **121** (33.6 g, 80.8 mmol, 59 %) als gelbes Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.35$ (Petrolether/EtOAc 4:1).

HPLC: $t_R = 12.9$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 11.1$ min, C18; für $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{NaO}_6\text{Si}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) ber.: 437.2, gef.: 437.0.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.14$ (s, 1H, H-5), 5.41 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, NH), 4.85 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-1'), 4.37 (m, 1H, H-2'), 3.88 (s, 3H, COOCH_3), 1.44 (s, 9H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$),

1.21 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, H-3'), 0.75 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), -0.05 (s, 3H, SiCH_{3a}), -0.24 (s, 3H, SiCH_{3b}).

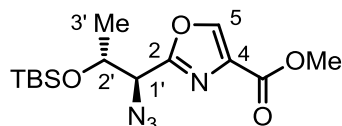
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 164.6$ (C-2), 161.7 (COOCH₃), 155.9 (CONH), 143.9 (C-5), 133.7 (C-4), 80.3 (OC(CH₃)₃), 70.1 (C-2'), 55.3 (C-1'), 52.3 (COOCH₃), 28.5 (OC(CH₃)₃), 25.7 (SiC(CH₃)₃), 20.5 (C-3'), 17.9 (SiC(CH₃)₃), -4.5 (SiCH_{3a}), -5.2 (SiCH_{3b}).

HRMS (ESI): C₁₀H₁₃N₄O₄S ([M+H]⁺) ber.: 285.0652, gef.: 285.0654.

IR: $\nu = 2955$ (w), 2931 (w), 2896 (w), 2858 (w), 1750 (s), 1497 (m), 1104 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -25.4$ (CHCl₃, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

2-[(1'S,2'R)-1'-azido-2'-(*tert*-butyl-dimethyl-silyloxy)-prop-1'-yl]-oxazol-4-carbonsäuremethylester **85**



Das Boc-geschützte Amin **121** (33.0 g, 79.6 mmol) wurde in CH₂Cl₂ (300 mL) gelöst und bei 0 °C mit Zink(II)bromid (35.9 g, 159 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 3 h bei RT und dann 1 h bei 40 °C gerührt. Dann wurde Wasser (300 mL) zugegeben, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase viermal mit je 100 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Das so erhaltene gelbe Öl von Amin **123** (24.5 g, 78.0 mmol, 98 %) wurde ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt.

Analytische Daten von Amin **123**:

DC: $R_f = 0.40$ (CHCl₃/MeOH 94:6 +0.5 % NEt₃).

HPLC: $t_R = 10.0$ min (**Methode B**).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 8.79$ (s, 1H, H-5), 4.16 – 4.10 (m, 1H, H-2'), 3.88 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 3.80 (s, 3H, COOCH₃), 2.00 (bs, 2H, NH₂), 1.16 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, H-3'), 0.77 (s, 9H, C(CH₃)₃), -0.02 (s, 3H, SiCH_{3a}), -0.17 (s, 3H, SiCH_{3b}).

IR: $\nu = 2954$ (m), 2930 (m), 2857 (m), 1741 (s), 1581 (m), 1107 (s), 833 (s), 774 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -32.8$ (CHCl₃, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

TfN₃ in CH₂Cl₂ (260 mL) wurde nach **AV2** hergestellt. Amin **123** (24.1 g, 77.9 mmol) wurde in 260 mL DMF gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dann wurden CuSO₄ × 5 H₂O (1.20 g, 4.70 mmol), 260 mL der TfN₃-CH₂Cl₂ Mischung sowie EtNiPr₂ (32.2 mL, 194.8 mmol) zugetropft. Nach 2 h Rühren bei RT wurde das CH₂Cl₂ bei RT i.V. entfernt (**Vorsicht**: Sicherheitshinweis in **AV2**). Die übrige Reaktionsmischung in DMF wurde in 1500 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 500 mL Et₂O extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (1500 g, Petrolether/EtOAc 43:7) wurde Azid **85** (22.8 g, 67.0 mmol, 86 %) als gelbes Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.29$ (Petrolether/EtOAc 43:7).

HPLC: $t_R = 12.5$ min (**Methode B**).

LC-MS (ESI): $t_R = 11.1$ min, C18; für C₁₄H₂₅N₄O₄Si ([M+H]⁺) ber.: 341.2, gef.: 340.9.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.23$ (s, 1H, H-5), 4.35 (m, 1H, H-2'), 4.25 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, H-1'), 3.91 (s, 3H, COOCH₃), 1.21 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, H-3'), 0.84 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.06 (s, 3H, SiCH_{3a}), -0.03 (s, 3H, SiCH_{3b}).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 161.8$ (C-2), 161.4 (COOCH₃), 144.5 (C-5), 133.8 (C-4), 71.0 (C-2'), 64.3 (C-1'), 52.5 (COOCH₃), 25.7 (C(CH₃)₃), 20.9 (C-3'), 18.0 (C(CH₃)₃), -4.5 (SiCH_{3a}), -5.0 (SiCH_{3b}).

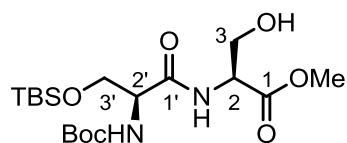
HRMS (ESI): C₁₄H₂₅N₄O₄Si ([M+H]⁺) ber.: 341.1640, gef.: 341.1638.

IR: $\nu = 2955$ (w), 2931 (w), 2888 (w), 2858 (w), 2106 (s), 1747 (m), 1727 (m), 1582 (w), 1139 (s), 1106 (s), 835 (s), 805 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -8.1$ (CHCl₃, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

chirale HPLC: $t_R = 25.60$ min (Chiralpak IA, 93 % Isohexan, 7 % CH₂Cl₂/EtOH(100/2), 50 min).

N'*-tert-Butoxycarbonyl-*O'*-tert-butyl-dimethyl-silyl-serinyl-serinmethylester **89*^[247]



Boc-Ser(TBS)-OH (63.3 g, 198 mmol) und Ser-OMe×HCl (37.0 g, 238 mmol) wurden in einer Mischung von CH₂Cl₂ (1300 mL) und DMF (26 mL) gelöst. Bei 0 °C wurden HOBt (29.4 g, 218 mmol), EDC × HCl (41.8 g, 218 mmol) und TEA (55.0 mL, 396 mmol) zugegeben. Nach 19 h Rühren bei RT wurde die Mischung mit 600 mL Phosphatpuffer pH 3 versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase viermal mit je 500 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (850 g, Petrol-ether/Aceton 4:1) wurde Dipeptid **89** (61.5 g, 146 mmol, 74 %) als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.12$ (*n*-Pentan/Aceton 41:9).

HPLC: $t_R = 10.6$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.6$ min, C18; für C₁₈H₃₇N₂O₇Si ([M+H]⁺) ber.: 421.2, gef.: 420.8.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.32$ (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, CHCONH), 5.35 (bs, 1H, OCONH), 4.64 (dt, $J = 7.2, 3.6$ Hz, 1H, H-2), 4.17 (bs, 1H, H-2'), 4.01 (dd, $J = 9.9$ Hz, 4.2 Hz, 1H, H-3'_a), 3.97 – 3.86 (m, 2H, H-3), 3.77 (s, 3H, COOCH₃), 3.71 (dd, $J = 9.9, 6.1$ Hz, 1H, H-3_b), 2.79 (bs, 1H, OH), 1.45 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 0.88 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.07 (s, 6H, SiCH₃).

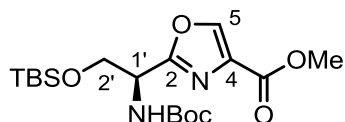
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 171.2$ (C-1'), 170.7 (C-1), 155.8 (OCONH), 80.6 (OC(CH₃)₃), 63.4 (C-3', C-3), 56.2 (C-2'), 55.2 (C-2), 52.9 (COOCH₃), 28.5 (OC(CH₃)₃), 26.0 (SiC(CH₃)₃), 18.4 (SiC(CH₃)₃), -5.32 (SiCH_{3a}), -5.35 (SiCH_{3b}).

HRMS (ESI): C₁₈H₃₇N₂O₇Si ([M+H]⁺) ber.: 421.2365, gef.: 421.2363.

IR: $\nu = 3348$ (w), 3297 (w), 2954 (w), 2930 (w), 2858 (w), 1740 (s), 1691 (m), 1647 (s), 1119 (s), 938 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +24.2$ (CHCl₃, $c = 3.0$, $T = 20$ °C).

2-[(1'S)-tert-Butoxycarbonylamino-2'-(tert-butyl-dimethyl-silyloxy)-eth-1'-yl]-oxazol-4-carbonsäuremethylester **122^[247]**



Das geschützte Dipeptid **89** (49.6 g, 118 mmol) wurde in wasserfreiem THF (550 mL) gelöst und bei RT mit Burgess-Reagenz (33.7 g, 142 mmol) versetzt. Nach 10 min bei RT wurde die Reaktionsmischung unter Rückfluss für 16 h gerührt. Nach Abkühlen auf 0 °C wurden 400 mL Wasser zugegeben und die wässrige Phase dreimal mit je 400 mL EtOAc extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Das so erhaltene gelbe Öl des Oxazolins (43.8 g, 109 mmol, 92 %) wurde ohne weitere Reinigung oxidiert.

Das Oxazolin (43.8 g, 109 mmol) wurde in 390 mL CH₂Cl₂ gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dann wurden DBU (48.8 mL, 326 mmol) sowie BrCCl₃ (16.2 mL, 163 mmol) zugetropft. Nach 3 h Rühren bei RT wurde die Reaktionsmischung bei 0 °C mit Phosphatpuffer pH 3 (400 mL) versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 350 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (1.5 kg, Petrolether/EtOAc 8:2) wurde Oxazol **122** (26.5 g, 66.0 mmol, 61 %) als gelbes Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.18$ (*n*-Pentan/Aceton 9:1).

HPLC: $t_R = 12.1$ min (**Methode B**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.9$ min, C18; für C₁₈H₃₂N₂NaO₆Si ([M+H]⁺) ber.: 423.2, gef.: 423.0.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.17$ (s, 1H, H-5), 5.49 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, NH), 5.07 – 4.91 (m, 1H, C-1'), 4.03 (dd, $J = 10.0$ Hz, 3.6 Hz, 1H, C-2'_a), 3.94 – 3.86 (m, 4H, C-2'_b, COOCH₃), 1.42 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 0.78 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), -0.04 (s, 3H, SiCH_{3a}), -0.07 (s, 3H, SiCH_{3b}).

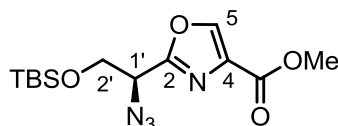
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 164.1$ (C-2), 161.7 (COOCH₃), 155.3 (OCONH), 144.2 (C-5), 133.6 (C-4), 80.4 (OC(CH₃)₃), 64.7 (C-2'), 52.4 (COOCH₃), 51.4 (C-1'), 28.5 (OC(CH₃)₃), 25.8 (SiC(CH₃)₃), 18.3 (SiC(CH₃)₃), -5.41 (SiCH_{3a}), -5.45 (SiCH_{3b}).

HRMS (ESI): C₁₈H₃₃N₂O₆Si ([M+H]⁺) ber.: 401.2102, gef.: 401.2099.

IR: $\nu = 2954$ (w), 2931 (w), 2858 (w), 1716 (m), 1500 (w), 1108 (s), 837 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -13.4$ (CHCl_3 , $c = 1.0$, $T = 20^\circ\text{C}$).

2-[(1'*S*)-Azido-2'-(*tert*-butyl-dimethyl-silyloxy)-eth-1'-yl]-oxazol-4-carbonsäuremethylester **86**



Oxazol **122** (24.4 g, 61.0 mmol) wurde in CH_2Cl_2 (500 mL) gelöst und bei 0°C mit Zink(II)bromid (27.5 g, 122 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 4 h bei RT gerührt. Dann wurde Wasser (400 mL) zugegeben, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit je 300 mL CH_2Cl_2 extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO_4) und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Das so erhaltene gelbe Öl von Amin **124** (18.3 g, 61.0 mmol, 100 %) wurde ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt.

Analytische Daten von Amin **124**:

DC: $R_f = 0.49$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 96:4 + 0.5 % NEt_3).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) $\delta = 8.81$ (s, 1H, H-5), 4.06 (dd, $J = 6.6$ Hz, 5.0 Hz, 1H, H-1'), 3.87 (dd, $J = 9.9$ Hz, 5.0 Hz, 1H, H-2'_a), 3.83 – 3.79 (m, 4H, H-2'_b, COOCH_3), 2.59 (bs, 2H, NH_2), 0.77 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -0.04 (s, 3H, SiCH_3 _a), -0.05 (s, 3H, SiCH_3 _b).

TfN_3 in CH_2Cl_2 (260 mL) wurde nach **AV2** hergestellt. Amin **124** (18.3 g, 61 mmol) wurde in 275 mL DMF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Dann wurden 274 mL der $\text{TfN}_3\text{-CH}_2\text{Cl}_2$ Mischung, $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ (785 mg, 3.10 mmol) sowie EtNiPr_2 (25.0 mL, 153 mmol) zutropft. Nach 4 h Rühren bei RT wurde das CH_2Cl_2 bei RT i.V. entfernt (**Vorsicht:** Sicherheitshinweis in **AV2**). Die übrige Reaktionsmischung in DMF wurde in 600 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 250 mL Et_2O extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO_4) und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (1.2 kg, *n*-Pentan/Aceton 47:3) wurde Azid **86** (13.1 g, 40.2 mmol, 66 %) als gelbes Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.19$ (*n*-Pentan/Aceton 15:5).

HPLC: $t_R = 12.9$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.6$ min, C18; für $C_{13}H_{23}N_4O_4Si$ ($[M+H]^+$) ber.: 327.1, gef.: 326.8.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8.22$ (s, 1H, H-5), 4.65 (dd, $J = 7.3$ Hz, 4.7 Hz, 1H, H-1'), 4.13 (dd, $J = 10.5$ Hz, 4.7 Hz, 1H, H-2'_a), 4.05 (dd, $J = 10.5$, 7.4 Hz, 1H, H-2'_b), 3.88 (s, 3H, $COOCH_3$), 0.84 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$), 0.04 (s, 6H, $Si(CH_3)_2$).

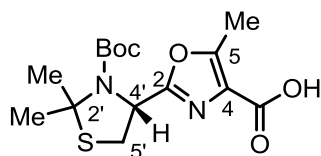
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 161.3$ ($COOCH_3$), 160.7 (C-2), 144.7 (C-5), 133.6 (C-4), 64.6 (C-2'), 59.6 (C-1'), 52.4 ($COOCH_3$), 25.7 ($SiC(CH_3)_3$), 18.2 ($SiC(CH_3)_3$), -5.47 ($SiCH_{3a}$), -5.48 ($SiCH_{3b}$).

HRMS (ESI): $C_{13}H_{23}N_4O_4Si$ ($[M+H]^+$) ber.: 327.1483, gef.: 327.1484.

IR: $\nu = 2955$ (w), 2931 (w), 2896 (w), 2858 (w), 1751 (m), 1718 (s), 1497 (m), 1104 (s), 775 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -23.2$ ($CHCl_3$, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

2-(2',2'-Dimethyl-*N'*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4'*R*)-yl)-5-methyl-oxazol-4-carbonsäure **127**



Oxazol **84** (2.60 g, 7.40 mmol) wurde in THF (74 mL) gelöst und bei 0 °C mit LiOH in H_2O (15.0 mL, 0.5 M) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 13 h bei RT gerührt. Dann wurde mit verdünnter Salzsäure (0.5 M) bis pH 1 angesäuert. Die wässrige Phase wurde viermal mit je 200 mL EtOAc extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert ($MgSO_4$) und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (90 g, $CH_2Cl_2/MeOH$ 49:1, 0.5 % $HCOOH$) wurde Carbonsäure **127** (2.42 g, 7.10 mmol, 96 %) als gelbes Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.42$ ($CHCl_3/MeOH$ 9:1 +0.5 % $HCOOH$).

HPLC: $t_R = 9.0$ min (**Methode C**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.8$ min, C18; für $C_{15}H_{21}N_2O_5S$ ($[M-H]^-$) ber.: 341.1, gef.: 341.0.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 5.41 (bs, 1H, H-4'), 3.50 (dd, J = 12.2 Hz, 6.3 Hz, 1H, H-5'_a), 3.11 (d, J = 12.1 Hz, 1H, H-5'_b), 2.53 (s, 3H, ArCH₃), 1.80 (s, 3H, SiCH_{3a}), 1.75 (s, 3H, SiCH_{3b}), 1.29 (bs, 9H, OC(CH₃)₃); nicht detektierbar: COOH.

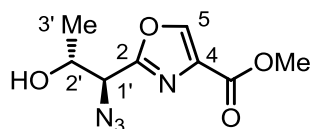
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 181.9 (NCOO), 163.0 (COOH), 161.0 (C-2), 155.2 (C-5), 127.7 (C-4), 80.0 (C(CH₃)₂), 61.0 (C-4'), 31.6 (C-5'), 27.8 (C(CH₃)₂), 27.5 (C(CH₃)₃), 11.7 (ArCH₃); nicht detektierbar: C(CH₃)₃.

HRMS (ESI): C₁₅H₂₁N₂O₅S ([M-H]⁻) ber.: 341.1177, gef.: 341.1176.

IR: ν = 2976 (w), 2932 (w), 1696 (s), 1351 (s), 1167 (s), 769 (m).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -102.6$ (CHCl₃, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

2-[(1'*S*)-azido-(2'*R*)-hydroxy-prop-1'-yl]-oxazol-4-carbonsäuremethylester **125**



Oxazol **85** (2.10 g, 6.10 mmol) wurde in einem Glasgefäß mit MeOH (96 mL) und HF in H₂O (17.4 mL, 48 Vol%) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 14 h bei RT gerührt. Ges. NaHCO₃ Lösung wurde zugegeben bis die Mischung pH 8-9 erreicht hatte. Dann wurde viermal mit je 200 mL EtOAc extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO₄) und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Das so erhaltene farblose Öl des sekundären Alkohols **125** (1.40 g, 6.1 mmol, 100 %) wurde ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt.

DC: $R_f = 0.28$ (*n*-Pentan/Aceton 75:25).

HPLC: $t_R = 4.9$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 4.7$ min, C18; für C₈H₁₁N₄O₄ ([M+H]⁺) ber.: 227.1, gef.: 226.9.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.27 (s, 1H, H-5), 4.43 (d, J = 5.7 Hz, 1H, H-1'), 4.33 (m, 1H, H-2'), 3.91 (s, 3H, COOCH₃), 2.91 (bs, 1H, OH), 1.26 (d, J = 6.3 Hz, 3H, H-3').

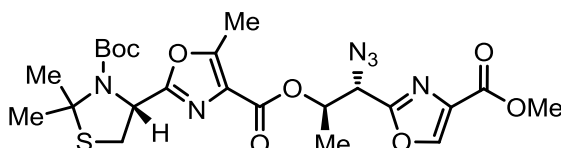
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 161.3 (COOCH₃), 161.1 (C-2), 145.0 (C-5), 133.6 (C-4), 68.7 (C-2'), 63.7 (C-1'), 52.5 (COOCH₃), 19.5 (C-3').

HRMS (ESI): C₈H₁₁N₄O₄ ([M+H]⁺) ber.: 227.0775, gef.: 227.0774.

IR: $\nu = 3435$ (w), 2980 (w), 2956 (w), 2104 (s), 1729 (s), 1320 (m), 1236 (m), 1200 (m), 1107 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -136.6$ (CHCl_3 , $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

2-(2,2-Dimethyl-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4*R*)-yl)-5-methyloxazol-4-yl-(carboxy-(2*R*)-[[(1*S*)-Azido]prop-1-yl]-2-oxazol-4-carbonsäuremethylester **128**



Carbonsäure **127** (541 mg, 1.58 mmol) wurde in CH_2Cl_2 (8 mL) gelöst und bei 0 °C mit 1-Chloro-*N,N*,2-trimethyl-1-propenylamin (Ghosez Reagenz, 349 μL , 2.64 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt, dann wurden Lösemittel und der Überschuss von Ghosez's Reagenz i.V. entfernt. Alkohol **125** (298 mg, 1.32 mmol) wurde in CH_2Cl_2 (5 mL) gelöst und bei 0 °C mit Pyridin (1.06 mL, 13.1 mmol) versetzt. Dann wurde das zuvor hergestellte Säurechlorid in CH_2Cl_2 (8 mL) zugegeben und die Mischung 13 h bei RT gerührt. Die Mischung wurde bei 0 °C in Phosphatpuffer (100 mL, pH 7) getropft. Die wässrige Phase wurde viermal mit je 70 mL CH_2Cl_2 extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, entwässert (MgSO_4) und das Lösemittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (120 g, Toluol/EtOAc 75:25, 0.5 % NEt_3) wurde Dioxazol **128** (665 mg, 1.21 mmol, 92 %) als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.23$ (Toluol/EtOAc 1:1).

HPLC: $t_R = 11.4$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.4$ min, C18; für $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 551.2, gef.: 550.8.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.25$ (s, 1H, CHCCOOCH_3), 5.68 – 5.53 (m, 1H, CH_3CH), 5.43 (s, 1H, SCH_2CH), 4.82 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, CH_3CHCH), 3.90 (s, 3H, COOCH_3), 3.38 (dd, $J = 12.1, 6.1$ Hz, 1H, SCH_{2a}), 3.19 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, SCH_{2b}), 2.57 (s, 3H, CH_3CCCOO), 1.86 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_{2a}$), 1.80 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_{2b}$), 1.46 (bs, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3^*$), 1.36 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3CH), 1.31 (bs, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3^*$). *Rotamere.

$^{13}\text{C-NMR}$ (133 MHz, CDCl_3): $\delta = 161.2$ (CH_2CHC , CH_3CCCOO), 161.1 (COOCH_3), 159.8 (CH_3CHCHC), 156.8 (CH_3CCCOO), 145.2 (CHCCOOCH_3), 133.9 (CHCCOOCH_3),

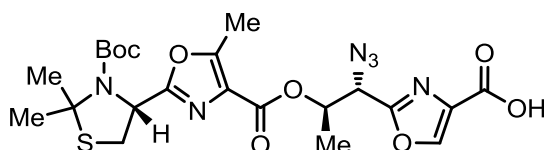
127.5 (CH₃CCCOO), 71.9 (C(CH₃)₂), 70.3 (CH₃CHCH), 61.7 (SCH₂CH), 61.6 (CH₃CHCH), 52.5 (COOCH₃), 32.8 (SCH₂), 28.9 (C(CH₃)_{2a}), 28.4 (C(CH₃)_{2b}, C(CH₃)₃), 17.2 (CH₃CH), 12.4 (CH₃CCCOO); nicht detektierbar: NCOO, C(CH₃)₃.

HRMS (ESI): C₂₃H₃₁N₆O₈S ([M+H]⁺) ber.: 551.1919, gef.: 551.1911.

IR: ν = 2978 (w), 2934 (w), 2107 (m), 1698 (s), 1351 (s), 1087 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -134.7$ (CHCl₃, $c = 2.0$, $T = 21$ °C).

2-(2,2-Dimethyl-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4*R*)-yl)-5-methyloxazol-4-yl-(carboxy-(2*R*)-[(1*S*)-Azido]prop-1-yl)-2-oxazol-4-carbonsäure **129**



Oxazolmethylester **128** (615 mg, 1.12 mmol) wurde in 1,2-Dichlorethan (10 mL) gelöst und mit Me₃SnOH (509 mg, 2.81 mmol) in 1,2-Dichlorethan (50 mL) versetzt. Die Suspension wurde 6 h auf 85 °C erwärmt. Bei RT wurde die Reaktionsmischung mit EtOAc (100 mL) versetzt, mit 0.05 M KHSO₄-Lösung (3 x 40 mL) und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (40 g, CH₂Cl₂/MeOH 96:4, 0.5 % HCOOH) wurden Carbonsäure **129** (493 mg, 0.92 mmol, 82 %) als farbloses Öl isoliert und Methyl-ester **128** (55 mg, 0.10 mmol, 9 %) als farbloses Öl zurückgewonnen.

DC: $R_f = 0.32$ (CHCl₃/MeOH 9:1 + 0.5 % HCOOH).

HPLC: $t_R = 10.1$ min (**Methode C**); $t_R = 11.3$ min (**Methode F**).

LC-MS (ESI): $t_R = 9.2$ min, C18; für C₂₂H₂₉N₆O₈S ([M+H]⁺) ber.: 537.2, gef.: 536.8.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.34$ (s, 1H, CHCCOOCH₃), 5.98 (bs, 1H, SCH₂CH), 5.77 (bs, 1H, CH₃CHCH), 5.51 (m, 1H, CH₃CH), 3.54 (dd, $J = 12.5$ Hz, 6.4 Hz, 1H, SCH_{2a}), 3.22 (m, 1H, SCH_{2b}), 2.67 (s, 3H, CH₃CCCOO), 1.93 (bs, 3H, C(CH₃)_{2a}), 1.83 (s, 3H, C(CH₃)_{2b}), 1.51 – 1.25 (m, 12 H, C(CH₃)₃, CH₃CH)*. *Rotamere.

¹³C-NMR (133 MHz, CDCl₃): $\delta = 163.0$ (CH₂CHC), 160.5 (CH₃CHCHC), 159.9 (COOH), 157.1 (CH₃CCCOO), 145.4 (CHCCOOH), 134.5 (CHCCOOH), 122.1 (CH₃CCCOO), 82.3 (C(CH₃)₃), 71.0 (CH₃CHCH), 61.8 (SCH₂CH), 61.1 (CH₃CHCH), 33.2 (SCH₂), 29.9

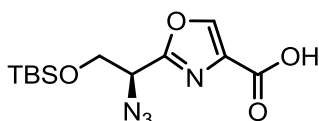
(C(CH₃)_{2a}), 28.33 (C(CH₃)₃), 28.32 (C(CH₃)_{2b}), 17.2 (CH₃CH), 12.1 (CH₃CCCOO); nicht detektierbar: NCOO, CH₃CCCOO, CH₃CCCOO.

HRMS (ESI): for C₂₂H₂₉N₆O₈S ([M+H]⁺) ber.: 537.1762, gef.: 537.1755.

IR: ν = 2978 (w), 2933 (w), 2107 (s), 1702 (s), 1581 (m), 1352 (s), 1092 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -92.7$ (CHCl₃, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

2-[(1'S)-Azido-2'-(*tert*-butyl-dimethyl-silyloxy)-eth-1'-yl]-oxazol-4-carbonsäure **130**



Oxazolmethylester **86** (3.91 g, 12.0 mmol) wurde in THF (60 mL) gelöst und bei 0 °C mit LiOH × H₂O (24 mL, 1.5 M in H₂O) versetzt. Die Mischung wurde 1.5 h bei RT gerührt und dann bei 0 °C zu Phosphatpuffer pH 7 gegeben. Die wässrige Phase wurde mit *tert*-Butylmethylether (dreimal je 150 mL) extrahiert, mit Phosphatpuffer pH 3 angesäuert (bis pH 5) und wieder wie oben extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit Phosphorsäure auf pH 3 angesäuert und wieder wie oben extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit Phosphorsäure auf pH 1.5-2 angesäuert und wieder wie oben extrahiert. Es war kein Produkt mehr in der wässrigen Phase enthalten (DC-Kontrolle). Die organischen Phasen wurden entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (100 g, CH₂Cl₂/MeOH 96:4, 0.5 % HCOOH) wurde Carbonsäure **130** (3.18 g, 10.2 mmol, 85 %) als farbloses Öl erhalten. Das Produkt enthielt etwa 3-8 % eines Eliminierungsprodukts.

Analytische Daten des TBS-Ethers **130**:

DC: $R_f = 0.19$ (CHCl₃/MeOH 9:1 +0.5 % HCOOH).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.8$ min, C18; für C₁₂H₁₉N₄O₄Si ([M-H]⁻) ber.: 311.1, gef.: 310.9.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.13$ (s, 1H, H-5), 4.64 (dd, $J = 7.4, 4.2$ Hz, 1H, CH₂CH), 4.09 (dd, $J = 10.6, 4.1$ Hz, 1H, CH_{2a}), 4.01 (dd, $J = 10.5, 7.6$ Hz, 1H, CH_{2b}), 0.86 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.04 (s, 6H, Si(CH₃)₂).

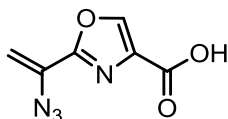
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 165.5$ (COOH), 160.1 (C-2), 144.0 (C-5), 136.1 (CCOOH), 64.8 (OCH₂), 59.8 (CH₂CH), 25.9 (C(CH₃)₃), 18.3 (C(CH₃)₃), -5.4 (Si(CH₃)₂).

HRMS (ESI): C₁₂H₂₁N₄O₄Si ([M+H]⁺) ber.: 313.1327, gef.: 313.1326.

IR: ν = 2954 (w), 2930 (w), 2885 (w), 2858 (w), 2105 (s), 1715 (m), 1582 (m), 1255 (s), 1106 (s), 835 (s), 777 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -7.7$ (MeOH, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

Analytische Daten des Eliminierungsprodukts:

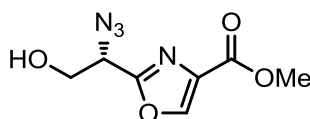


DC: $R_f = 0.31$ (CHCl₃/MeOH 9:1 +0.5 % HCOOH).

HPLC: $t_R = 5.9$ min (**Methode C**).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.18$ (s, 1H, H-5), 5.90 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, N₃CCH_{2a}), 5.26 (d, $J = 2.6$ Hz, N₃CCH_{2b}).

2-[(1'S)-Azido-2'-hydroxy-eth-1'-yl]-oxazol-4-carbonsäuremethylester **126**



TBS-Ether **86** (6.23 g, 19.1 mmol) wurde in MeOH (143 mL) gelöst und bei 0 °C in einem Glasgefäß mit HF (50 % in H₂O, 18 mL) versetzt. Die Mischung wurde 3.5 h bei RT gerührt. Bei 0 °C wurde ges. NaHCO₃-Lsg. zugegeben, bis pH 7 erreicht war. Die Mischung wurde viermal mit je 200 mL EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (MgSO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Das Rohprodukt von Azidoalkohol **126** (4.04 g, 19.0 mmol, 100 %) wurde ohne weitere Reinigung eingesetzt.

DC: $R_f = 0.54$ (*n*-Pentan/Aceton 6:4).

HPLC: $t_R = 4.2$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 5.8$ min, C18; für C₇H₉N₄O₄ ([M+H]⁺) ber.: 213.1, gef.: 212.9.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.27$ (s, 1H, 5-H), 4.71 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, HOCH₂CH), 4.11 (dd, $J = 5.7, 2.1$ Hz, 2H, HOCH₂), 3.92 (s, 3H, COOCH₃), 2.85 (bs, 1H, OH).

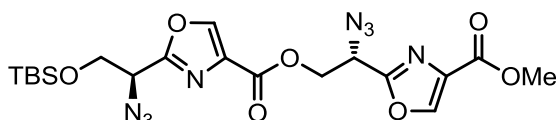
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 161.3$ (COOCH_3), 160.9 (C-2), 145.1 (C-5), 133.6 (C-4), 63.1 (HOCH_2), 59.2 (HOCH_2CH), 52.6 (COOCH_3).

HRMS (ESI): $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_4$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 213.0618, gef.: 213.0618.

IR: $\nu = 3432$ (w), 2956 (w), 2103 (s), 1728 (s), 1109 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -55.8$ (CHCl_3 , $c = 3.0$, $T = 20$ °C).

1-(*Tert*-butyl-dimethyl-silyloxy)-[*(2S)*-Azido]eth-2-yl]-2-oxazol-4-yl]-carbonsäure-methylester **131**



Oxazolcarbonsäure **130** (3.63 g, 11.6 mmol) wurde in CH_2Cl_2 (5 mL) und DMF (5 mL) gelöst und bei 0 °C mit PyBOP (9.24 g, 17.8 mmol) in CH_2Cl_2 (25 mL) und Et_3N (5.50 mL, 33.3 mmol) versetzt. Nach 15 min Rühren bei 0 °C wurde Azidoalkohol **126** (2.35 mg, 11.1 mmol) in CH_2Cl_2 (30 ml) zugegeben, auf RT erwärmt und 17 h gerührt. Die Mischung wurde zu Phosphatpuffer pH 7 (200 mL) gegeben, die Phasen getrennt und die organische Phase i.V. eingengt. Der Rückstand wurde in *tert*-Butylmethylether (250 mL) aufgenommen und wieder zur wässrigen Phase gegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit *tert*-Butylmethylether (je 250 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (Na_2SO_4) und die Lösemittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (500 g, Petrolether/EtOAc 64:36, 0.5 % NEt_3) wurde Ester **131** (4.64 g, 9.20 mmol, 83 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.57$ (*n*-Pentan/Aceton 6:4).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.5$ min, C18; für $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_8\text{O}_7\text{Si}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 507.2, gef.: 507.1.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.20$ (s, 1H, CHCCOOCH_3), 8.17 (s, 1H, $\text{CHCCOOCH}_2\text{CH}$), 4.94 (dd, $J = 7.7, 5.0$ Hz, 1H, COOCH_2CH), 4.66 (dd, $J = 11.7, 4.9$ Hz, 1H, COOCH_{2a}), 4.64 – 4.60 (m, 1H, COOCH_{2b}), 4.52 (dd, $J = 7.2, 4.7$ Hz, 1H, SiOCH_2CH), 4.03 – 3.91 (m, 2H, SiOCH_2), 3.74 (s, 3H, COOCH_3), 0.70 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0.09 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

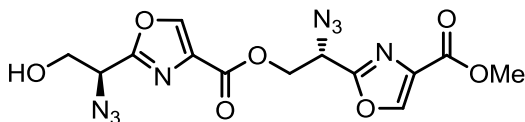
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 160.7$ (COOCH_3), 160.6 (SiOCH_2CHC), 159.6 (COOCH_2CH), 158.9 (COOCH_2CHC), 145.2 ($\text{CHCCOOCH}_2\text{CH}$), 145.0 (CHCCOOCH_3), 135.5 (CCOOCH_3), 132.3 (CCOOCH_2CH), 64.2 (SiOCH_2), 63.7 (COOCH_2CH), 59.1 (SiOCH_2CH), 56.1 (COOCH_2CH), 52.0 (COOCH_3), 25.4 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 17.8 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 5.9 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$).

HRMS (ESI): for $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_8\text{O}_7\text{Si}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 507.1767, gef.: 507.1759.

IR: $\nu = 2955$ (w), 2931 (w), 2858 (w), 2106 (s), 1744 (s), 1580 (m), 1140 (s), 1106 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -22.2$ (CHCl_3 , $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

1-Hydroxy-[[((2S)-Azido)eth-2-yl]-2-oxazol-4-yl]-carbonsäuremethylester **132**



TBS-Ether **131** (490 mg, 967 μmol) wurde in wasserfreiem THF (2 mL) gelöst und mit HF (754 μL , 70 % in Pyridin) versetzt. Nach 3 h Rühren bei RT wurden 80 mL Diethylether zugegeben, auf 0 °C abgekühlt und langsam mit ges. NaHCO_3 -Lösung versetzt, bis die wässrige Phase pH 9 erreicht hatte. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert (jeweils 80 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl -Lösung (20 mL) gewaschen, entwässert (MgSO_4) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Das Rohprodukt von Azidoalkohol **132** (366 mg, 0.933 mmol, 96 %) wurde ohne weitere Reinigung eingesetzt.

DC: $R_f = 0.21$ (Toluol/EtOAc 1:1).

HPLC: $t_R = 6.9$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 4.6$ min, C18; für $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_8\text{O}_7$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 393.1, gef.: 393.0.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.29$ (s, 2H, H-5), 5.02 (dd, $J = 7.6, 4.8$ Hz, 1H, COOCH_2CH), 4.82 (dd, $J = 11.6, 4.8$ Hz, 1H, COOCH_{2a}), 4.75 (dd, $J = 11.6, 7.6$ Hz, 1H, COOCH_{2b}), 4.70 (m, 1H, HOCH_2CH), 4.12 (dd, $J = 10.0, 3.6$ Hz, 1H, HOCH_{2a}), 4.08 (dd, $J = 10.0, 4.2$ Hz, 1H, HOCH_{2b}), 3.91 (s, 3H, COOCH_3), 2.74 (bs, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 161.3$ (HOCH_2CHC), 161.1 (COOCH_3), 159.9 (COOCH_2CH), 159.3 (COOCH_2CHC), 145.7 ($\text{CHCCOOCH}_2\text{CH}$), 145.3 (CHCCOOCH_3),

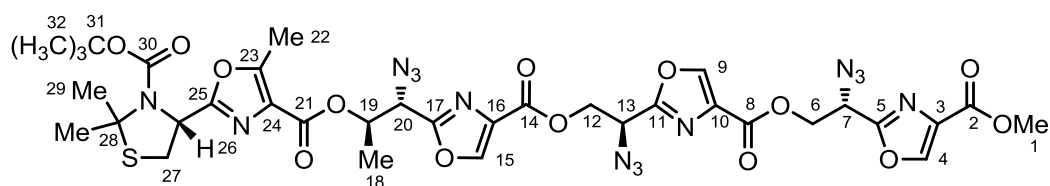
133.9 (CCOOCH₃), 132.6 (CCOOCH₂CH), 64.2 (COOCH₂CH), 63.0 (HOCH₂), 59.1 (HOCH₂CH), 56.5 (COOCH₂CH), 52.6 (COOCH₃).

HRMS (ESI): C₁₃H₁₃N₈O₇ ([M+H]⁺) ber.: 393.0902, gef.: 393.0890.

IR: ν = 3161 (w), 2956 (w), 2890 (w), 2104 (s), 1735 (s), 1142 (s), 1107 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -46.6$ (CHCl₃, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

2-(2,2-Dimethyl-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4*R*)-yl)-5-methyloxazol-4-yl-(carboxy-(2*R*)-[[(1*S*)-Azido]prop-1-yl]-2-oxazol-4-yl)-bis-[carboxy-[(2*S*)-Azido]eth-2-yl]-2-oxazol-4-yl]-carbonsäuremethylester **134**



Oxazolcarbonsäure **129** (493 mg, 919 μ mol), wurde in CH₂Cl₂ (2 mL) und DMF (0.6 mL) gelöst und bei 0 °C mit PyBOP (598 mg, 1.15 mmol) und EtN*i*Pr₂ (391 μ L, 2.30 mmol) versetzt. Nach 15 min Rühren bei 0 °C wurde die Mischung mit Azidoalkohol **132** (300 mg, 766 μ mol) in CH₂Cl₂ (2 mL) versetzt und auf RT erwärmt. Nach 2 h wurde die Mischung mit Ameisensäure (116 μ L) und Toluol (5 mL) versetzt und die Lösemittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (100 g, Petrolether/EtOAc 34:66) wurde Trisester **134** (527 mg, 579 μ mol, 86 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.49$ (Petrolether/EtOAc).

HPLC: $t_R = 11.9$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 10.8$ min, C18; für C₃₅H₃₉N₁₄O₁₄S ([M+H]⁺) ber.: 911.2, gef.: 910.8.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.27, 8.26, 8.24$ (3 s, 3H, H-4, H-9, H-15), 5.58 – 5.51 (m, 1H, H-19), 5.38 (bs, 1H, H-26), 5.00 – 4.97 (m, 2H, H-7, H-13), 4.79 – 4.75, 4.72 – 4.68 (2 m, 5H, H-6, H-12, H-19), 3.84 (s, 3H, H-1), 3.35 – 3.31 (dd, $J = 12.1$ Hz, 6.1 Hz, 1H, H-27_a), 3.15 – 3.11 (dd, $J = 12.1$ Hz, 2.2 Hz, 1H, H-27_b), 2.52 (s, 3H, H-22), 1.80 (bs, 3H, H-29_a), 1.74 (s, 3H, H-29_b), 1.40 – 1.17 (m, 12H, H-18, H-32)*; *Rotamere.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 161.9$ (C-25), 161.0 (C-2), 160.9 (C-21), 160.0, 159.61, 159.57, 159.4, 159.1 (H-5, H-8, H-11, H-14, H-17), 156.7 (C-23), 145.83 (C-4), 145.75 (C-

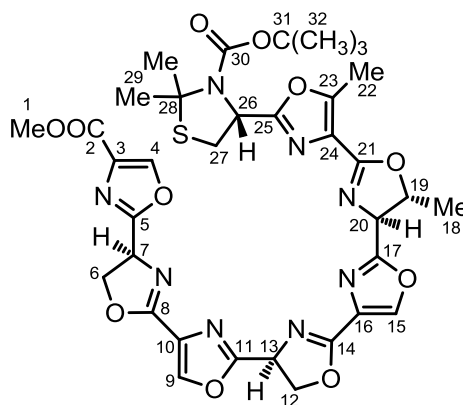
9), 145.2 (C-15), 133.8 (C-3), 132.8 (C-10), 132.7 (C-16), 127.3 (C-24), 80.8 (C-31), 70.1 (C-19), 64.1, 64.0 (C-6, C-12), 61.5 (C-26), 61.2 (C-20), 56.4, 56.3 (C-7, C-13), 52.4 (C-1), 32.6 (C-27), 29.7 (C-32_a)*, 28.2 (C-29, C-32_b)*, 17.0 (C-18), 12.3 (C-22); *Rotamere; nicht detektierbar: C-28, C-30.

HRMS (ESI): C₃₅H₃₉N₁₄O₁₄S ([M+H]⁺) ber.: 911.2485, gef.: 911.2490.

IR: ν = 2107 (s), 1738 (s), 1698 (s), 1107 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -96.0$ (CHCl₃, $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

2.1-(2,2-Dimethyl-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4*R*)-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-(4.2*S*,5.2*R*,4.4*S*,5.4,4.6*S*,5.6)-hexahydro-[4.1-2.2;4.2-2.3;4.3-2.4;4.4-2.5;4.5-2.6;4.6-2.7-heptaioxazol]-4.7-carbonsäuremethylester **135**



Trisazid **134** (80.0 mg, 87.0 μ mol) wurde in 2,6-Lutidin (5 mL) gelöst und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. PPh₃ (103 mg, 393 μ mol) wurde in 2,6-Lutidin (1 mL) gelöst und zugegeben. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis das 2,6-Lutidin wieder vollständig aufgetaut und die Gasentwicklung beendet war. Die Mischung wurde in der Mikrowelle erhitzt (200 W, 130 °C, 45 min). Das Lösemittel wurde i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (18 g, CH₂Cl₂/EtOAc 4:6, 0.5 % NEt₃ dann CH₂Cl₂/EtOAc/MeOH 39:60:1, 0.5 % NEt₃) wurde Trisoxazolin **135** (58.0 mg, 74.0 μ mol, 85 %) wurde als 1:1-Mischung zweier Isomere, vermutlich Diastereomere in Form eines farblosen Öls erhalten.

DC: $R_f = 0.59$ (CHCl₃/MeOH 9:1 +0.5 % NEt₃).

HPLC: $t_R = 11.1$ min (Methode E).

LC-MS (ESI): $t_R = 9.9$ min, C18; für $C_{35}H_{42}N_9O_{11}S$ ($[M+NH_4]^+$) ber.: 796.3, gef.: 795.8.

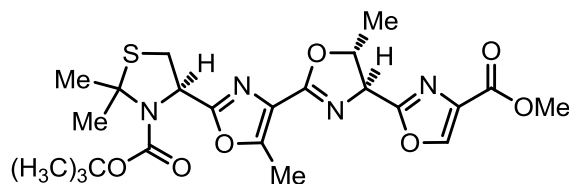
1H -NMR (400 MHz, Pyridin- d_5 , 70 °C): $\delta = 8.54 - 8.53$ (m, 1H, H-15), 8.49 – 8.47 (m, 2H, H-4, H-9), 5.72 – 5.67 (m, 3H, H-7, H-13, H-26), 5.32 – 5.24 (m, 1H, H-19), 5.20 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz, H-20), 4.98 – 4.92, 4.75 – 4.70 (2 m, 4H, H-6_{ab}, H-12_{ab}), 3.814 – 3.812 (m, 3H, H-1), 3.49 (dd, $J = 6.2$ Hz, 12.0 Hz, 1H, H-27_a), 3.37 – 3.34 (m, 1H, H-27_b), 2.57 (s, 3H, H-22), 2.05 (s, 3H, H-29_a), 1.94 (s, 3H, H-29_b), 1.48 – 1.47 (m, 12H, H-18, H-32).

^{13}C -NMR (100 MHz, Pyridin- d_5 , 70 °C): $\delta = 164.8, 164.5$ (C-8, C-14), 163.1 (C-25), 162.1 (C-2), 161.4 (C-30), 160.78, 160.77 (C-5, C-11), 154.2 (C-23), 153.1 (C17, C-21), 146.2 (C-15), 143.98, 143.95 (C-4, C-9), 135.4, 134.7, 131.7 (C-3, C-10, C-16), 126.6 (C-24), 81.3 (C-31), 80.5 (C-19), 72.1 (C-28), 71.5 (C-20), 71.4 (C-6, C-12), 65.1 (C-13, C-26), 62.8 (C-7), 52.2 (C-1), 33.2 (C-27), 30.9 (C-29_b), 29.4 (C-29_a), 28.9 (C-32), 20.8 (C-18), 12.3 (C-22).

HRMS (ESI): $C_{35}H_{38}N_8NaO_{11}S$ ($[M+Na]^+$) ber.: 801.2273, gef.: 801.2283.

IR: $\nu = 2360$ (w), 2341 (w), 1674 (m), 1353 (m), 1107 (s).

2.1-(2,2-Dimethyl-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4*R*)-yl)-(5.1,5.2*R*)-dimethyl--(4.2*S*,5.2)-tetrahydro-[4.1-2.2;4.2-2.3-trisoxazolyl]-4.3-carbonsäuremethylester **140**



Azidoester **128** (2.25 g, 4.09 mmol) wurde in 2,6-Lutidin (40 mL) gelöst und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. PPh_3 (1.60 g, 6.13 mmol) wurde in 2,6-Lutidin (16 mL) gelöst und zugegeben. Bei RT wurde solange gerührt, bis die Mischung wieder vollständig aufgetaut und die Gasentwicklung beendet war. Die Mischung wurde auf vier Mikrowellengefäße (10-20 mL-Gefäße, jew. 14 mL) verteilt und die Gefäße in der Mikrowelle erhitzt (jew. 200 W, 130 °C, 45 min). Die Mischungen wurden vereinigt und das Lösemittel i.V. entfernt. Nach Chromatographie an Kieselgel (380 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 55:45, 0.5 % NEt_3) wurde Oxazolin **140** (2.01 g, 3.97 mmol, 97 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.18$ (Petrolether/EtOAc 1:1).

HPLC: $t_R = 11.6$ min (**Methode E**).

LC-MS (ESI): $t_R = 9.4$ min, C18; für $C_{23}H_{31}N_4O_7S$ ($[M+H]^+$) ber.: 507.2, gef.: 506.8.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8.21$ (s, 1H, $CHCCOOCH_3$), 5.43 (2 bs, 1H, SCH_2CH), 5.15 (m, 1H, CH_3CH), 5.02 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, CH_3CHCH), 3.89 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.37 (dd, $J = 12.0, 5.9$ Hz, 1H, SCH_{2a}), 3.28 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, SCH_{2b})*, 2.57 (s, 3H, $CCCH_3$), 1.85 (s, 3H, $SC(CH_3)_{2a}$)*, 1.80 (s, 3H, $SC(CH_3)_{2b}$)*, 1.55 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3CH), 1.40 (2 bs, 9H, $C(CH_3)_3$)*. *Rotamere

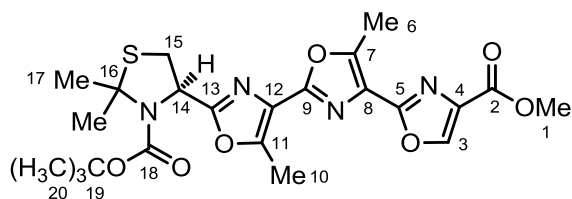
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 163.5$ (CH_3CHCHC), 162.7 (CH_2CHC), 161.6 ($COOCH_3$), 160.9 (CH_3CC), 153.3 (CH_3CC), 145.0 ($CHCCOOCH_3$), 133.5 ($CCOOCH_3$), 125.3 (CH_3CCC), 80.2 (CH_3CH), 71.8 ($C(CH_3)_2$), 70.4 (CH_3CHCH), 61.7 (CH_2CH), 52.4 ($COOCH_3$), 33.0 (CH_2CH), 29.8 ($C(CH_3)_{2a}$), 28.5 ($C(CH_3)_{2b}$, $C(CH_3)_3$), 20.7 (CH_3CH), 12.2 ($CCCH_3$).

HRMS (ESI): $C_{23}H_{31}N_4O_7S$ ($[M+H]^+$) ber.: 507.1908, gef.: 507.1899.

IR: $\nu = 2977$ (w), 2932 (w), 1697 (s), 1620 (m), 1582 (m), 1351 (s), 1066 (s), 751 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -27.1$ ($CDCl_3$, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

2.1-(2,2-Dimethyl-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4*R*)-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-[4.1-2.2;4.2-2.3-trisoxazolyl]-4.3-carbonsäuremethylester **141**



Oxazolin **140** (729 mg, 1.44 mmol) wurde in wasserfreiem THF (48 mL) gelöst und mit H₂O (1.30 μ L, 72.0 μ mol) versetzt. Die Mischung wurde auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt und mit NaH (167 mg einer Suspension von 60 % NaH in Mineralöl, entspricht 4.18 mmol NaH), BrCCl₃ (212 μ L, 2.16 mmol) und MeOH (175 μ L, 4.32 mmol) versetzt. Nach 1 h wurde die Mischung mit NaOMe (117 mg, 2.17 mmol) versetzt. Nach 3 h (DC: vollständiger Umsatz) wurde die Mischung auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt und mit MeI versetzt (404 μ L, 6.49 mmol). Dann wurde die Mischung langsam zu eiskaltem Phosphatpuffer (pH 3, 300 mL) getropft. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert (4 x 200 mL), entwässert (Na₂SO₄) und die Lösemittel i. V. entfernt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (100 g, Petrolether/EtOAc 62:38) wurde Trisoxazol **141** (629 mg, 1.25 mmol, 87 %) als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.27$ (Petrolether/EtOAc 6:4).

HPLC: $t_R = 11.4$ min (**Methode D**).

LC-MS (ESI): $t_R = 9.9$ min, C18; für C₂₃H₂₈N₄NaO₇S ([M+Na]⁺) ber.: 527.2, gef.: 527.0.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.28$ (s, 1H, H-3), 5.60, 5.48 (2 bs, 1H, H-14)*, 3.93 (s, 3H, H-1), 3.42 (dd, $J = 12.1, 6.1$ Hz, 1H, H-15_a), 3.26 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, H-15_b), 2.78 (s, 3H, H-6), 2.71 (s, 3H, H-10), 1.90 (s, 3H, H-17_a), 1.83 (s, 3H, H-17_b), 1.46, 1.32 (2 bs, 9H, H-20)*. *Rotamere.

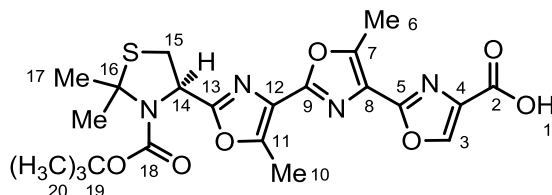
¹³C-NMR (133 MHz, CDCl₃): $\delta = 163.1$ (C-13), 161.8 (C-2), 157.0 (C-5), 155.1 (C-9), 151.2 (C-7), 150.5 (C-11), 143.6 (C-3), 134.5 (C-4), 125.7 (C-8), 125.2 (C-12), 71.8 (C-16), 61.8 (C-14), 52.4 (C-1), 32.9 (C-15), 29.9 (C-17_a), 28.5 (C-17_b, C-20), 12.07 (C-6), 12.03 (C-10).

HRMS (ESI): for C₂₃H₂₉N₄O₇S ([M+H]⁺) ber.: 505.1752, gef.: 505.1749.

IR: $\nu = 2977$ (w), 2932 (w), 1697 (s), 1580 (m), 1350 (s), 1115 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -91.4$ (CDCl_3 , $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

2.1-(2,2-Dimethyl-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4*R*)-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-[4.1-2.2;4.2-2.3-trisoxazoly]-4.3-carbonsäure **142**



Trisoxazolmethylester **141** (494 mg, 0.98 mmol) wurde in THF (10 mL) gelöst und bei 0 °C mit LiOH in H₂O (0.5 M, 2.00 mL) versetzt. Nach 2.5 h wurde die Mischung zu KHSO₄-Lsg. (pH 1.5, 100 mL) getropft und die wässrige Phase mit *tert*-Butylmethylether (viermal jew. 150 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (Na₂SO₄) und die Lösemittel i. V. entfernt. Trisoxazolcarbonsäure **142** (481 mg, 980 μmol, 100 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.13$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 92:4 + 0.5 % HCOOH).

HPLC: $t_R = 6.4$ min (**Methode B**).

LC-MS (ESI): $t_R = 9.3$ min, C18; für C₂₂H₃₀N₅O₇S ([M+NH₄]⁺) ber.: 508.2, gef.: 507.8.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 11.22$ (bs, 1H, H-1), 8.32 (s, 1H, H-3), 5.47 – 5.59 (m, 1H, H-14), 3.40 (dd, $J = 12.0$ Hz, 6.0 Hz, 1H, H-15_a), 3.20 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H, H-15_b), 2.72 (s, 3H, H-6), 2.66 (s, 3H, H-10), 1.85 (s, 3H, H-17_a), 1.77 (s, 3H, H-17_b), 1.44, 1.26 (2bs, 9H, H-20)*. *Rotamere

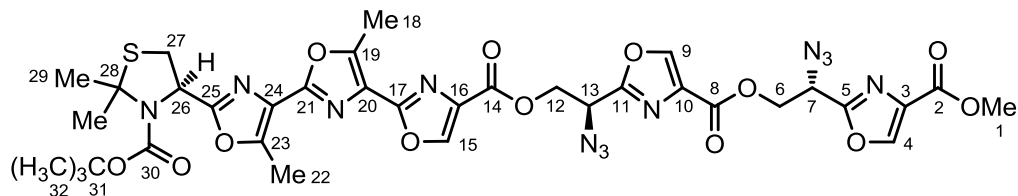
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 164.3$ (C-2), 163.1 (C-13), 156.9 (C-5), 154.8 (C-9), 151.2 (C-7), 150.4 (C-11), 144.3 (C-3), 134.0 (C-4), 125.4 (C-8), 124.8 (C-12), 81.0 (C-19), 62.1 (C-16), 61.7 (C-14), 32.8 (C-15), 29.5 (C-17_b), 28.3 (C-17_a, C-20), 11.91 (C-6), 11.85 (C-10).

HRMS (ESI): C₂₂H₂₆N₄NaO₇S ([M+Na]⁺) ber.: 513.1414, gef.: 513.1407.

IR: $\nu = 2977$ (w), 2932 (w), 1697 (s), 1581 (m), 1352 (s), 1165 (s), 749 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -107.8$ (CHCl_3 , $c = 2.0$, $T = 20$ °C).

2.1-(2,2-Dimethyl-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4*R*)-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-[4.1-2.2;4.2-2.3-trisoxazolyl]-4.3-bis-[carboxy-(((2*S*)-Azido)eth-2-yl)-2-oxazol-4-yl]-carbonsäuremethylester **144**



Trisoxazolcarbonsäure **142** (481 mg, 980 μmol) wurde in CH_2Cl_2 (2 mL) und DMF (0.9 mL) gelöst und bei 0 °C mit PyBOP (729 mg, 1.40 mmol) in CH_2Cl_2 (3 mL) und EtNiPr_2 (463 μL , 2.72 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 15 min bei 0 °C gerührt und dann mit Bisazidoalkohol **132** (366 mg, 0.93 mmol) in CH_2Cl_2 (4 mL) versetzt. Die Mischung wurde auf RT erwärmt und nach 6 h Rühren mit Ameisensäure (141 μL , 3.73 μmol) versetzt. Die Lösemittel wurden i.V. entfernt und das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel (160 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 34:66) gereinigt. Pentaoxazol **144** (720 mg, 830 μmol , 89 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.25$ (Petrolether/EtOAc 44:56).

HPLC: $t_R = 12.0$ min (**Methode B**), 13.5 min (**Methode E**).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.31$ (s, 2H, H-9, H-15), 5.62, 5.48 (2 bs, 1H, H-26)*, 5.06 – 5.01 (m, 2H, H-7, H-13), 4.89 – 4.76 (m, 4H, H-6, H-12), 3.93 (s, 3H, H-1), 3.43 (dd, $J = 6.1$ Hz, 12.0 Hz, 1H, H-27_a), 3.26 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H, H-27_b), 2.78 (s, 3H, H-18), 2.71 (s, 3H, H-22), 1.91 (s, 3H, H-29_a), 1.83 (s, 3H, H-29_b), 1.49, 1.32 (2 bs, 9H, H-32)*.

*Rotamere

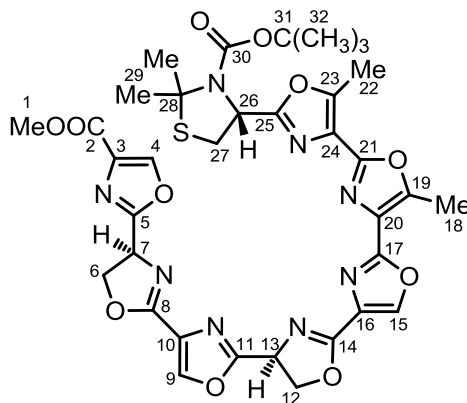
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 161.1$ (C-2), 160.4, 159.8, 159.7, 159.3 (C-5, C-8, C-11, C-14), 157.3 (C-17), 155.2 (C-30), 151.5 (C-19), 150.5 (C-23), 145.9 (C-4), 145.3, 144.3 (C-9, C-15), 134.1, 133.5, 133.1 (C-3, C-10, C-16), 125.6 (C-20), 125.2 (C-24), 81.0 (C-32), 64.3, 64.2 (C-6, C-12), 61.8 (C-26), 56.62, 56.59 (C-7, C-13), 52.6 (C-1), 32.9 (C-27), 29.7 (C-29_a), 29.5 (C-29_b), 12.05 (C-18), 12.03 (C-22).

HRMS (ESI): $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{N}_{12}\text{NaO}_{13}\text{S}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) ber.: 887.2138, gef.: 887.2137.

IR: $\nu = 2106$ (m), 1736 (s), 1697 (s), 1142 (s), 1111 (s), 1065 (s), 1042 (s), 980 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -84.0$ (CDCl_3 , $c = 1.0$, $T = 22$ °C).

2.1-(2,2-Dimethyl-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-thiazolidin-(4*R*)-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-(4.4*S*,5.4,4.6*S*,5.6)-tetrahydro-[4.1-2.2;4.2-2.3;4.3-2.4;4.4-2.5;4.5-2.6;4.6-2.7-heptaoxazol]-4.7-carbonsäuremethylester **145**



Bisazid **144** (126 mg, 146 μmol) wurde in 2,6-Lutidin (4.5 mL) gelöst und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. PPh_3 (114 mg, 435 μmol) wurde in 2,6-Lutidin (4.5 mL) gelöst und zugegeben. Bei RT wurde solange gerührt, bis die Mischung wieder vollständig aufgetaut und die Gasentwicklung beendet war. Die Mischung wurde auf 110 °C erhitzt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel i.V. entfernt und das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel (24 g Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{EtOAc}$ 4:6, 0.5 % NEt_3 dann $\text{CHCl}_3/\text{EtOAc}$ 4:6, 4 % MeOH , 0.5 % NEt_3) gereinigt. Bisoxazolin **145** (113 mg, 145 μmol , 99 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.36$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 94:6).

HPLC: $t_R = 10.4$ min (**Methode B**), 11.6 min (**Methode E**).

LC-MS (ESI): $t_R = 9.4$ min, C18; für $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{O}_{11}\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ber.: 777.2, gef.: 776.8.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Pyridin- d_5): $\delta = 8.78$ (s, 1H, 4H), 8.75 (2 s, 1H, 9H)*, 8.69 (2 s, 1H, 15H)*, 5.87 – 5.74 (m, 2H, 7H, 13H)*, 5.71 (dd, $J = 10.2, 8.0$ Hz, 1H, 26H), 5.11 – 5.04 (m, 1H, 6H_a)*, 5.04 – 4.97 (m, 1H, 6H_b)*, 4.84 – 4.71 (m, 2H, 12H)*, 3.78, 3.77 (2 s, 3H, 1H)*, 3.55 (dd, $J = 12.0$ Hz, 6.2 Hz, 1H, 27H_a), 3.41 (bs, 1H, 27H_b)*, 2.77 – 2.55 (2 s, 6H, 29H)*, 2.11, 1.94 (2 s, 6H, 18H, 22H), 1.46 (s, 9H, 32H). *Rotamere.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, Pyridin- d_5): $\delta = 164.7$ (C-11), 164.4 (C-5), 163.4 (C-25), 162.0 (C-2), 160.6 (C-14), 160.5 (C-8), 157.7, 155.6 (C-17, C-21), 151.4, 151.2 (C-19, C-21), 146.4 (C-4), 144.2 (C-9), 142.9 (C-15), 134.2 (C-3), 132.2 (C-16), 131.4 (C-10), 126.4, 125.9 (C-

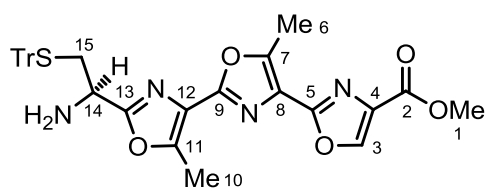
20, C-24), 72.3 (C-28), 71.3 (C-6, C-12), 64.80, 64.77 (C-7, C-13), 62.4 (C-26), 52.2 (C-1), 33.0 (C-27), 30.1, 29.1 (C-29_a, C-29_b), 28.7 (C-32), 12.0, 11.9 (C-18, C-22).

HRMS (ESI): C₃₅H₃₇N₈O₁₁S ([M+H]⁺) ber.: 777.2297, gef.: 777.2303.

IR: ν = 1734 (s), 1676 (s), 1580 (m), 1347 (s), 1106 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -43.2$ (MeOH, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

2.1-((1*R*)-Amino-2-Trithylthio-eth-1-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-[4.1-2.2;4.2-2.3-trisoxazolyl]-4.3-carbonsäuremethylester **147**



N-Boc-Dimethylthiazolidin **141** (405 mg, 800 μ mol) wurde mit CH₂Cl₂ (6 mL), Et₃SiH (1.03 mL, 6.45 mmol) und TFA (6 mL) versetzt und bei RT gerührt. Nach 1 h wurde Toluol (20 mL) zugegeben und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Der Rückstand wurde in Toluol (5 mL) aufgenommen und nochmal i.V. eingengt.

Das Rohprodukt wurde in DMF (4 mL) gelöst und mit TrCl (672 mg, 2.41 mmol) in DMF (1.5 mL) versetzt. Die Mischung wurde 48 h bei RT gerührt und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (150 g Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 100:0, 98:2 + 0.5 % NEt₃) wurde Amin **147** (477 mg, 790 μ mol, 99 %) als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.58$ (CHCl₃/MeOH 92:8 +0.5% NEt₃).

HPLC: $t_R = 11.8$ min (**Methode B**).

¹H-NMR (600 MHz, Benzol-d₆): $\delta = 7.72$ (s, 1H, H-3), 7.54 (d, 6H, $J = 7.5$ Hz, *o*-Ph), 7.07 – 7.05 (m, 6H, *m*-Ph), 6.98 – 6.96 (m, 3H, *p*-Ph), 3.60 – 3.58 (m, 1H, H-14), 3.44 (s, 3H, H-1), 2.92 (dd, $J = 12.5$ Hz, 6.2 Hz, 1H, H-15_a), 2.69 (dd, $J = 12.5$ Hz, 6.8 Hz, 1H, H-15_b), 2.386 (s, 1H, H-6), 2.383 (s, 1H, H-10).

¹³C-NMR (150 MHz, Benzol-d₆): $\delta = 165.1$ (C-13), 161.7 (C-2), 157.5 (C-5), 155.7 (C-9), 151.3 (C-8), 150.9 (C-12), 145.7 (*i*-Ph), 143.7 (C-3), 135.3 (C-4), 130.4 (*o*-Ph), 128.7 (*m*-

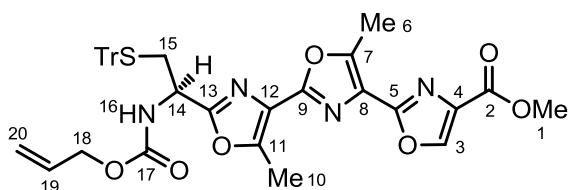
Ph), 127.3 (*p*-Ph), 126.5 (C-7), 125.6 (C-11), 67.7 (SCPh₃), 51.7 (C-1), 50.3 (C-14), 39.0 (C-15), 11.8 (C-6), 11.7 (C-10).

HRMS (ESI): C₃₄H₃₀N₄NaO₅S ([M+Na]⁺) ber.: 629.1829, gef.: 629.1867.

IR: ν = 1736 (m), 1574 (m), 1435 (m), 1142 (m), 1111 (m), 1041 (m), 995 (m), 741 (s), 702 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +25.0$ (MeOH, $c = 2.0$, $T = 24$ °C).

2.1-((1*R*)-Allyloxycarbonylamino-2-Trithylthio-eth-1-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-[4.1-2.2;4.2-2.3-trisoxazolyl]-4.3-carbonsäuremethylester **148**



Amin **147** (433 mg, 710 μ mol) wurde in THF (33 mL) gelöst und bei 0 °C mit NaHCO₃ (120 mg, 1.43 mmol) in H₂O (6.4 mL) und Allylchloroformat (99 μ L, 0.93 mmol) versetzt. Nach 1 h Rühren bei 0 °C wurde nochmal Allylchloroformat (35 μ L, 0.33 mmol) zugegeben. Nach 2 h wurde die Mischung bei 0 °C in Phosphatpuffer (pH3, 150 mL) gegeben und die wässrige Phase mit EtOAc extrahiert (viermal je 100 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden entwässert (Na₂SO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (50 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc 62:38, 58:42) wurde Allylcarbamat **148** (410 mg, 590 μ mol, 83 %) als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.23$ (Petrolether/EtOAc 6:4).

HPLC: $t_R = 12.6$ min (**Methode B**), $t_R = 14.3$ min (**Methode E**).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.29$ (s, 1H, H-3), 7.37 – 7.39 (m, 6H, *o*-Ph), 7.26 – 7.29 (m, 6H, *m*-Ph), 7.19 – 7.23 (m, 3H, *p*-Ph), 5.87 – 5.93 (m, 1H, H-19), 5.29 – 5.37 (m, 2H, H-16, H-20_a), 5.22 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H, H-20_b), 4.85 – 4.86 (m, 1H, H-14), 4.55 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H, H-18_{ab}), 3.94 (s, 3H, H-1), 2.79 – 2.80 (m, 5H, H-6, H-15_{ab}), 2.68 (s, 3H, H-10).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 161.8$ (C-2), 161.5 (C-13), 157.0 (C-5), 155.4 (C-17), 154.9 (C-9), 151.2 (C-7), 151.1 (C-11), 144.5 (*i*-Ph), 143.6 (C-3), 134.5 (C-4), 132.7 (C-

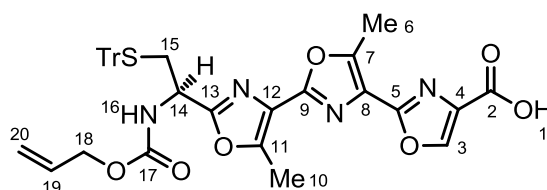
19), 129.7 (*o*-Ph), 128.2 (*m*-Ph), 127.1 (*p*-Ph), 125.7 (C-8), 125.0 (C-12), 118.1 (C-20), 67.4 (SCPh₃), 66.2 (C-18), 52.4 (C-1), 48.7 (C-14), 35.9 (C-15), 12.12 (C-6), 12.07 (C-10).

HRMS (ESI): C₃₈H₃₄N₄NaO₇S ([M+Na]⁺) ber.: 713.2040, gef.: 713.2031.

IR: ν = 1728 (s), 1489 (w), 791 (s), 702 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -9.0$ (CHCl₃, *c* = 1.0, *T* = 22 °C).

2.1-((1*R*)-Allyloxycarbonylamino-2-Trithylthio-eth-1-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-[4.1-2.2;4.2-2.3-trisoxazoly]-4.3-carbonsäure **149**



Methylester **148** (363 mg, 530 μ mol) wurde in THF (11 mL) gelöst und bei 0 °C mit LiOH in H₂O (0.5 M, 1.1 mL) versetzt. Nach 1 h Rühren bei 0 °C wurden weitere 1.1 mL LiOH-Lösung zugegeben. Nach 2 h wurde die Mischung in Phosphatpuffer (pH 3, 80 mL) gegeben und mit wässr. KHSO₄-Lösung (0.05 M) auf pH 2 angesäuert. Die wässr. Phase wurde mit EtOAc extrahiert (viermal je 80 mL), die vereinigten organischen Phasen entwässert (Na₂SO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (35 g Kieselgel, CHCl₃/MeOH, 100:0, 99:1, 99:1 + 0.5 % HCOOH, 98:2 + 0.5 % HCOOH, 96:4 + 0.5 % HCOOH) wurde Carbonsäure **149** (309 mg, 460 μ mol, 87 %) als farbloses Öl isoliert.

DC: $R_f = 0.33$ (CHCl₃/MeOH 9:1 + 0.5% HCOOH).

HPLC: $t_R = 11.5$ min (**Methode B**).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 10.45 (bs, 1H, H-1), 8.38 (s, 1H, H-3), 7.39 (d, *J* = 7.6 Hz, 6H, *o*-Ph), 7.26 – 7.30 (m, 6H, *m*-Ph), 7.19 – 7.23 (m, 3H, *p*-Ph), 5.86 – 5.93 (m, 1H, H-19), 5.55 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-16), 5.31 (d, *J* = 17.0 Hz, H-20_a), 5.21 (d, *J* = 10.4 Hz, H-20_b), 4.85 – 4.87 (m, 1H, H-14), 4.55 (d, *J* = 5.3 Hz, H-18), 2.80 – 2.82 (m, 5H, H-15_{ab}, H-6), 2.68 (s, 3H, H-10).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 164.7 (C-2), 161.7 (C-13), 157.1 (C-5), 155.5 (C-17), 154.9 (C-9), 151.4 (C-7), 151.2 (C-11), 144.6 (C-3), 144.5 (*i*-Ph), 134.0 (C-4), 132.6 (C-

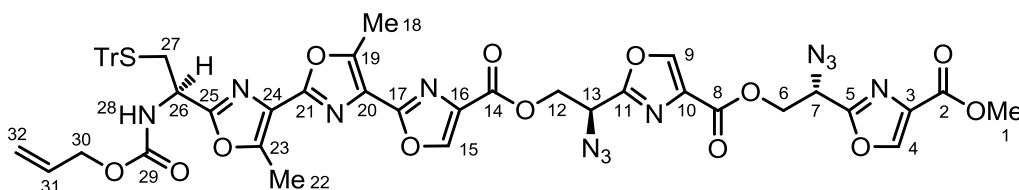
19), 129.7 (*o*-Ph), 128.2 (*m*-Ph), 127.1 (*p*-Ph), 125.6 (C-8), 124.8 (C-12), 118.0 (C-20), 67.4 (SCPh₃), 66.2 (C-18), 48.8 (C-14), 35.8 (C-15), 12.1 (C-6), 12.0 (C-10).

HRMS (ESI): C₃₇H₃₂N₄NaO₇S ([M+Na]⁺) ber.: 699.188, gef.: 699.191.

IR: ν = 1721 (m), 1042 (s), 741 (s), 702 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -8.0$ (CDCl₃, *c* = 2.0, *T* = 20 °C).

2.1-((1*R*)-Allyloxycarbonylamino-2-Trithylthio-eth-1-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-[4.1-2.2;4.2-2.3-trisoxazolyl]-4.3-bis-[carboxy-((2*S*)-Azido)eth-2-yl]-2-oxazol-4-yl]-carbonsäuremethylester **150**



Oxazolcarbonsäure **149** (302 mg, 0.45 mmol) wurde in DMF (0.4 mL) und CH₂Cl₂ (1.6 mL) gelöst und bei 0 °C mit PyBOP (349 mg, 670 μmol), CH₂Cl₂ (1 mL), und EtNiPr₂ (222 mL, 1.34 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 15 min bei 0 °C gerührt und dann mit Alkohol **132** (193 mg, 490 μmol) in CH₂Cl₂ (2 mL) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde auf RT erwärmt und 13 h gerührt. Die Mischung wurde in Phosphatpuffer (pH 7, 200 mL) getropft und mit Phosphatpuffer (pH 3, 50 mL) versetzt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (viermal je 120 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen entwässert (Na₂SO₄) und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (85 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc, 23:27) wurde Bisazid **150** (409 mg, 390 μmol, 86 %) als farbloses Öl isoliert

DC: *R_f* = 0.33 (Petrolether/EtOAc 4:6).

HPLC: *t_R* = 12.8 min (**Methode B**).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.32 (s, 2H, H-9, H-15), 8.30 (s, 1H, H-4), 7.37 – 7.39 (m, 6H, *o*-Ph), 7.26 – 7.30 (m, 6H, *m*-Ph), 7.20 – 7.23 (m, 3H, *p*-Ph), 5.84 – 5.93 (m, 1H, H-31), 5.44 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H, H-28), 5.30 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H, H-32_A), 5.20 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H, H-32_B), 5.03 – 5.08 (m, 2H, H-7, H-13), 4.76 – 4.88 (m, 5H, H-26, H-6_{ab}, H-12_{ab}),

4.53 – 4.55 (m, 2H, H-30_{ab}), 3.92 (s, 3H, H-1), 2.78 – 2.81 (m, 5H, H-27, H-18), 2.67 (s, 3H, H-22).

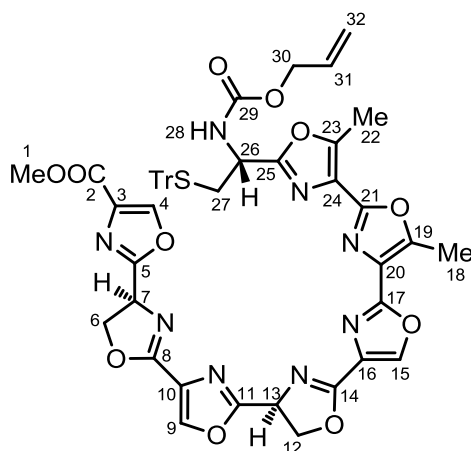
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 161.7 (C-25), 161.2 (C-2), 160.3, 159.9 (C-8, C-14), 159.7, 159.3 (C-5, C-11), 157.1 (C-17), 155.4 (C-29), 154.9 (C-21), 151.6 (C-19), 151.3 (C-23), 145.9 (C-9 oder C-15), 145.3 (C-4), 144.4 (C-9 oder C-15, *ipso*-Ph), 133.9, 133.3, 132.9 (C-3, C-10, C-16), 132.6 (C-31), 129.7 (*o*-Ph), 128.2 (*m*-Ph), 127.1 (*p*-Ph), 125.3 (C-20), 124.6 (C-24), 118.0 (C-32), 67.4 (SCPh₃), 66.2 (C-30), 64.2, 64.1 (C-6, C-12), 56.5 (C-7, C-13), 52.6 (C-1), 48.7 (C-26), 35.6 (C-27), 11.99 (C-18), 11.97 (C-22).

HRMS (ESI): für C₅₀H₄₂N₁₂NaO₁₃S ([M+Na]⁺) ber.: 1073.2607, gef.: 1073.2565.

IR: ν = 2106 (m), 1721 (s), 1142 (s), 1111 (s), 748 (s), 702 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -14.0$ (CDCl₃, $c = 1.0$, $T = 22$ °C).

2.1-((1'*R*)-Allyloxycarbonylamino-2'-Trithylthio-eth-1'-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-(4.4*S*,5.4,4.6*S*,5.6)-tetrahydro-[4.1-2.2;4.2-2.3;4.3-2.4;4.4-2.5;4.5-2.6;4.6-2.7-heptaoxazol]-4.7-carbonsäuremethylester **151**



Bisazid **150** (179 mg, 170 μ mol) wurde in 2,6-Lutidin (5 mL) gelöst und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. PPh₃ (134 mg, 510 μ mol) wurde in 2,6-Lutidin (6.40 mL) gelöst und zugegeben. Bei RT wurde solange gerührt, bis die Mischung wieder vollständig aufgetaut und die Gasentwicklung beendet war. Die Mischung wurde auf 100 °C erhitzt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel i.V. entfernt und das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel (31 g Kieselgel, CHCl₃/EtOAc 32:68, 0.5 % NEt₃ dann CHCl₃/EtOAc 32:68, 1% MeOH, 0.5 % NEt₃) gereinigt. Bisoxazolin **151** (111 mg, 120 μ mol, 71 %) wur-

de als 1:1-Mischung zweier Isomere, vermutlich Diastereomere in Form eines farblosen Öls erhalten.

DC: $R_f = 0.22$ (CHCl₃/Polare Eluentenmischung, 96:4).

HPLC: $t_R = 11.8$ min (**Methode B**), $t_R = 13.3$ min (**Methode E**).

¹H-NMR (400 MHz, Pyridin-d₅): $\delta = 9.53$ (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-28), 8.68 – 8.76 (m, 3H, H-15, Pyridin, H-9, H-4), 7.54 – 7.60 (m, 6H, Pyridin, *o*-Ph), 7.26 – 7.30 (m, 6H, *m*-Ph), 7.18 – 7.23 (m, 3H, *p*-Ph, Pyridin), 5.90 – 6.00 (m, 1H, H-31), 5.74 – 5.82 (m, 2H, H-7, H-13), 5.38 (dd, $J = 7.3$ Hz, 15.2 Hz, 1H, H-26), 5.29 (d, $J = 17.1$ Hz, H-32_a), 4.98 – 5.10 (m, 3H, H-32_b, H-6_{ab} oder H-12_{ab}), 4.71 – 4.80 (m, 4H, H-6_{ab} oder H-12_{ab}, H-30), 3.75, 3.77 (2 s, 3H, H-1), 3.24 – 3.26 (m, 2H, H-27), 2.604, 2.598, 2.53 (3 s, 6H, H-18, H-22).

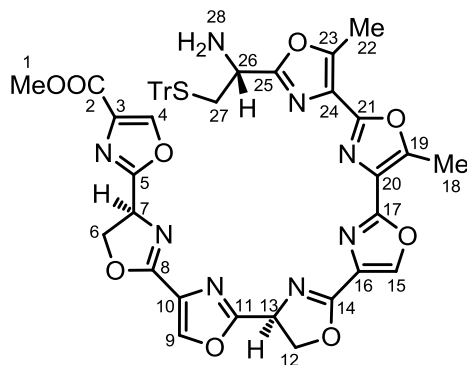
¹³C-NMR (100 MHz, Pyridin-d₅): $\delta = 164.6, 164.4$ (C-11, C-5), 162.7 (C-25), 162.0 (C-2), 160.6, 160.5 (C-8, C-14), 157.7 (C-17), 157.0 (C-29), 155.4 (C-21), 151.5 (C-23), 151.3 (C-19), 146.4 (C-4 oder C-9 oder C-15), 145.5 (*i*-Ph), 144.2 (C-4 oder C-9 oder C-15), 142.9 (C-4 oder C-9 oder C-15), 134.2 (C-3 oder C-10), 134.1 (C-31), 132.2 (C-16), 131.4 (C-3 oder C-10), 130.4 (*o*-Ph), 128.9 (*m*-Ph), 127.6 (*p*-Ph), 126.4 (C-20), 125.6 (C-24), 117.6 (C-32), 71.2 (C-6, C-12), 67.9 (SCPh₃), 66.1 (C-30), 64.79, 64.75 (C-7, C-13), 52.2 (C-1), 50.1 (C-26), 36.2 (C-27), 12.0 (C-22), 11.9 (C-18).

HRMS (ESI): C₅₀H₄₂N₈NaO₁₁S ([M+Na]⁺) ber.: 985.2586, gef.: 985.2613.

IR: $\nu = 1721$ (m), 1674 (m), 1111 (s), 988 (s), 748 (s), 702 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = + 8.0$ (CHCl₃, $c = 1.0$, $T = 22$ °C).

2.1-((1'*R*)-Amino-2'-Trithylthio-eth-1'-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-(4.4*S*,5.4,4.6*S*,5.6)-tetrahydro-[4.1-2.2;4.2-2.3;4.3-2.4;4.4-2.5;4.5-2.6;4.6-2.7-heptaoxazol]-4.7-carbonsäuremethylester **155**



Die Reaktion wurde mit wasserfreiem und entgastem CH₂Cl₂ als Lösungsmittel durchgeführt. Allylcarbamat **151** (103 mg, 107 μmol) wurde in CH₂Cl₂ (5.4 mL) gelöst und mit Pd(PPh₃)₄ (25.0 mg, 22.0 μmol) in CH₂Cl₂ (1.2 mL) und PhSiH₃ (26.0 μL, 211 μmol) versetzt. Nach 1.5 h wurde die Mischung direkt und so schnell wie möglich durch Säulenchromatographie an Kieselgel (9 g Kieselgel, CHCl₃/Polare Elutionsmischung 100:0, 98:2, 96:4, 9:1, jew. mit 0.5 % NEt₃, durchgeführt in < 10 min) gereinigt. Die Laufmittel wurden bei 25 °C i.V. entfernt. Amin **155** (89 mg, 101 μmol, 94 %) wurde als Mischung zweier Diastereomere (d.r. 1:1) in Form eines farblosen Öls isoliert.

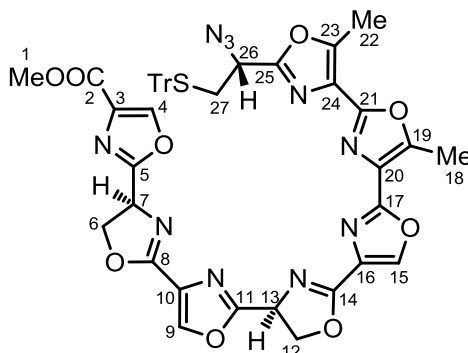
DC: $R_f = 0.32$ (CHCl₃/polare Elutionsmischung, 96:4).

HPLC: $t_R = 10.9$ min (**Methode B**).

MALDI (CHCA-Matrix): mit NaI: C₄₆H₃₈N₈NaO₉S ([M+Na]⁺) ber.: 901.2, gef.: 900.6; mit KI: C₄₆H₃₈N₈KO₉S ([M+K]⁺) ber.: 917.2, gef.: 918.7; mit CsI: C₄₆H₃₈N₈CsO₉S ([M+Cs]⁺) ber.: 1011.2, gef.: 1010.6.

¹H-NMR (400 MHz, Pyridin-d₅): δ = 8.77 (s, 1H, H-15), 8.740 – 8.736, 8.683 – 8.678 (2 m, 2H, H-4, H-9), 7.60 – 7.55 (m, 6H, Pyridin, *o*-Ph), 7.30 – 7.27 (m, 6H, *m*-Ph), 7.22 – 7.17 (m, 3H, *p*-Ph, Pyridin), 5.82 – 5.73 (m, 2H, H-7, H-13), 5.07 – 4.97, 4.79 – 4.71 (2 m, 4H, H-6_{ab}, H-12_{ab}), 4.10 – 4.06 (m, 1H, H-26), 3.76, 3.74 (2 s, 3H, H-1), 3.13 (dd, $J = 6.8$ Hz, 12.3 Hz, H-6_{ab} oder H-12_{ab}), 2.95 (dd, $J = 6.7$ Hz, 12.4 Hz, H-6_{ab} oder H-12_{ab}), 2.619, 2.612 (2 s, 3H, H-18), 2.58 (s, 3H, H-22).

2.1-((1'R)-Azido-2'-Trithylthio-eth-1'-yl)-(5.1,5.2)-dimethyl-(4.4S,5.4,4.6S,5.6)-tetrahydro-[4.1-2.2;4.2-2.3;4.3-2.4;4.4-2.5;4.5-2.6;4.6-2.7-heptaoxazol]-4-carbonsäuremethylester **156**



TfN₃ in CH₂Cl₂ (5 mL) wurde nach **AV2** hergestellt. Amin **155** (89.0 mg, 101 μmol) wurde in DMF (20 mL) gelöst und bei 0 °C mit NEt₃ (41.0 μL, 304 μmol) und der TfN₃-CH₂Cl₂-Mischung (0.9 mL) versetzt. Die Mischung wurde 2 h bei 0 °C gerührt und dann in eiskalten Phosphatpuffer (150 mL, pH 3) getropft. Die wässrige Phase wurde mit CHCl₃ (viermal jew. 50 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen entwässert (Na₂SO₄) und die Lösungsmittel bei 25 °C i.V. entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (12 g Kieselgel, CHCl₃/Polare Elutionsmischung 100:0, 99:1, 98:2, 97:3, 9:1, jew. mit 0.5 % NEt₃) gereinigt. Die Elution wurde so schnell wie möglich durchgeführt. Die insgesamt Verweilzeit des Produkts auf Kieselgel betrug weniger als 10 min. Azid **156** (82.0 mg, 91.0 μmol, 90 %) wurde als farbloses Öl erhalten.

DC: $R_f = 0.23$ (CHCl₃/Polare Elutionsmischung, 96:4).

HPLC: $t_R = 11.1$ min (**Methode B**).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃:Pyridin-d₅ 1:1): $\delta = 7.74 - 7.73$ (m, 2H, H-15, H-9), 7.68 (s, 1H, H-4), 6.86 - 6.84 (m, 6H, *m*-Ph), 6.65 - 6.61 (m, 6H, *o*-Ph), 6.57 - 6.53 (m, 3H, *p*-Ph, Pyridin), 4.99 - 4.90 (m, 2H, H-7, H-13), 4.33 - 4.28, 4.25 - 4.21, 4.10 - 4.03 (3 m, 4H, H-6, H-12), 3.23 - 3.19 (m, 1H, H-26), 3.15, 3.14 (2 s, 3H, H-1), 2.49 (dd, $J = 7.6$ Hz, 13.5 Hz, 1H, H-27_a), 2.25 (dd, $J = 7.4$ Hz, 13.4 Hz, 1H, H-27_b), 2.03 (s, 3H, H-18), 1.98 (s, 3H, H-22).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃:Pyridin-d₅ 1:1): $\delta = 162.5, 162.1$ (C-5, C-11), 160.1 (C-2), 158.9, 158.8 (C-8, C-14), 157.9 (C-25), 155.8 (C-17), 153.2 (C-21), 150.4 (C-23), 149.8

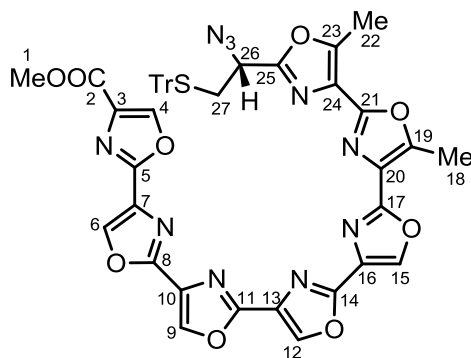
(C-19), 144.1 (C-4 oder C-9 oder C-15), 143.3 (*i*-Ph), 141.8, 140.5 (C-4 oder C-9 oder C-15), 132.2 (C-17), 130.1(C-11), 129.1 (C-5), 128.5 (*o*-Ph), 127.1 (*m*-Ph), 125.9 (*p*-Ph), 124.5 (C-20), 124.0 (C-24), 69.53, 69.46 (C-6, C-12), 66.5 (SCPh₃), 62.7, 62.6 (C-7, C-13), 56.3 (C-26), 50.7 (C-1), 32.8(C-27), 10.55, 10.50 (C-18, C-22).

HRMS (ESI): C₄₆H₃₆N₁₀NaO₉S ([M+Na]⁺) ber.: 927.2280, gef.: 927.2306.

IR: ν = 2106 (m), 1735 (m), 1674 (s), 1111 (s), 748 (s), 702 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -50.0$ (CHCl₃, $c = 2.0$, $T = 23$ °C).

2.1-((1'*R*)-Azido-2'-Trithylthio-eth-1'-yl)-5.1,5.2-dimethyl-[4.1-2.2;4.2-2.3;4.3-2.4;4.4-2.5;4.5-2.6;4.6-2.7-heptaoxazol]-4-carbonsäuremethylester **154**



Bisoxazolin **156** (58.0 mg, 66.0 μ mol) wurde mit jew. 2 mL CCl₄, MeCN und Pyridin versetzt. Bei -20 °C wurde tropfenweise DBU (25.0 μ L, 167 μ mol) in CCl₄ (1 mL) zugegeben. Die trübe Reaktionsmischung wurde 45 min bei RT gerührt. Jew. 0.5 mL CCl₄, MeCN und Pyridin wurden zugegeben. Nach 13 h bei RT (DC: teilweiser Umsatz) wurden nochmal jew. 0.5 mL CCl₄, MeCN und Pyridin zugegeben. Nach 24 h (DC: vollst. Umsatz) wurden CHCl₃ (8 mL) und Hexafluoro-2-propanol (0.5 mL) zugegeben und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (9 g Kieselgel, CHCl₃/Polare Elutionsmischung 99.5:0.5, 99:1, 98.5:0.5, 98:2, 9:1) gereinigt. Die Elution des Produkts wurde so schnell wie möglich durchgeführt, die insgesamt Verweilzeit des Produkts auf Kieselgel betrug weniger als 10 min. Heptaoxazol **154** (37.0 mg, 41.0 μ mol, 62 %) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

DC: $R_f = 0.35$ (CHCl₃/Polare Elutionsmischung, 96:4).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃/Hexafluoro-2-propanol-d₂, 95:5): δ = 8.463, 8.460, 8.454, 8.447 (4 s, 4H, H-6, H-9, H-12, H-15), 8.33 (s, 1H, H-4), 7.46 (d, 2H, J = 7.6 Hz, 6H, *o*-Ph), 7.34 – 7.23 (m, 12H, *m*-Ph, CHCl₃, *p*-Ph), 3.96 (s, 3H, COOCH₃), 3.67 (t, J = 7.6 Hz, 1H, H-26), 3.01 (dd, J = 7.6 Hz, 13.6 Hz, 1H, H-27_a), 2.82 – 2.77 (m, 4H, H-18, H-27_b), 2.70 (s, 3H, H-22).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃/Hexafluoro-2-propanol-d₂, 95:5): δ = 161.3 (C-2), 156.8 (C-8, C-11, C-14, C-17), 155.3 (C-5), 152.3 (C-19), 152.4 (C-23), 144.4 (*i*-Ph, C-4), 140.2 (C-6, C-9, C-12, C-15), 129.8 (*o*-Ph), 128.4 (*m*-Ph), 127.6 (*p*-Ph), 125.2 (C-20), 124.6 (C-24), 67.9 (SCPh₃), 57.5 (C-26), 52.8 (C-1), 33.8 (C-27), 11.92, 11.90 (C-18, C-22). Nicht gefunden: C-3, C-7, C-10, C-13, C-16, C-21, C-25.

HRMS (ESI): C₄₆H₃₂N₁₀NaO₉S ([M+Na]⁺) ber.: 923.1967, gef.: 923.1971.

IR: ν = 2114 (m), 1721 (s), 1258 (s), 1120 (s), 1103 (s), 748 (m), 725 (s), 702 (s).

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -10.0$ (CHCl₃/Hexafluoro-2-propanol 1:1, $c = 1.0$, $T = 20$ °C).

7 Abkürzungsverzeichnis

a.u.	<i>arbitrary units</i>
AcOH	Essigsäure
AIBN	Azo-bis-(isobutyronitril)
ALT	<i>alternative lengthening of telomeres</i>
ATM	<i>Ataxia telangiectasia mutated</i>
ber.	berechnet
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-
D-loop	<i>displacement loop</i>
DMS	Dimethylsulfat
Dmt	Dimethylthiazolidin
CAN	Cer(IV)-ammoniumnitrat
CD	Zirkulardichroismus
CHCA	α -Cyano-4-hydroxy-zimtsäure
d.r.	Diastereomerenverhältnis
DAAD	Deutscher Akademischer Austauschdienst
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
DAST	Diethylaminoschwefeltrifluorid
DBN	1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-en
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DDQ	2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzochinon
DDR	<i>DNA damage response</i>
DHAP	2,5-Dihydroxyacetophenon
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DKC1	Dyskerin
DMAP	4-Dimethylamino-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMP	Dess-Martin-Periodinan, 1,1,1-Triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1 <i>H</i>)-on
DMSO	Dimethylsulfoxid

EDC×HCl	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid
e.e.	Enantiomerenüberschuss
EtOAc	Essigsäureethylester
EtOH	Ethanol
Äq.	stöchiometrisches Äquivalent
FDPP	Pentafluorphenyl-diphenylphosphinat
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
Gew.-%	Gewichtsprozent
HATU	N,N,N',N'-Tetramethyl-O-(7-azabenzotriazol-1-yl)uroniumhexafluorophosphat
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	Hochdruckflüssigchromatographie
HRMS	hochauflösende Massenspektrometrie
IBX	2-Iodoxybenzoesäure
IC₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
iPrOH	2-Propanol
i.V.	im Vakuum
LDA	Lithiumdiisopropylamid
MALDI	<i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionization</i>
Me	Methyl-
MeOH	Methanol
min	Minute
n.b.	nicht bestimmt
NHEJ	<i>non-homologous end joining</i>
NBS	N-Bromsuccinimid
NMR	<i>Nuclear magnetic resonance</i> (magnetische Kernresonanz)
PCR	Polymerasekettenreaktion
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
Ph	Phenyl-
PIDA	Phenylidosodiacetat
POT1	<i>protection of telomeres 1</i>

PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxypyrrolidinophosphonium Hexafluorophosphat
RISE	<i>Research Internships in Science and Engineering (DAAD)</i>
t-loop	<i>telomeric loop</i>
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBHP	<i>Tert</i> -butylhydroperoxid
TEA	Triethylamin
TERRA	<i>telomeric repeat-containing RNA</i>
TERC	<i>Telomerase RNA component</i>
TERT	<i>Telomerase reverse transcriptase</i>
Tf	Trifluormethylsulfonyl
TFA	Trifluoressigsäure
TFFH	Tetramethylfluoroformamidinium Hexafluorophosphat
Thr	Threonin
TIN2	<i>TRF1-interacting protein 2</i>
TOF	<i>Time of flight</i> (Flugzeit)
TosMIC	Tosylmethylisocyanid
TPP1	<i>POT1 and TIN2 organizing protein</i>
Tr	Trityl-
TRAP	<i>Telomeric repeat amplification protocol</i>
TRF1	<i>telomeric-repeat-binding factor 1</i>
TRF2	<i>telomeric-repeat-binding factor 2</i>
Tris-HCl	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan Hydrochlorid
Ts	Tosyl-
RAP1	<i>transcriptional repressor/activator protein 1</i>
RT	Raumtemperatur
Vol	Volumen
Wässr.	wässrig
WRN	Werner´s Syndrom

8 Literaturverzeichnis

- [1] F. Wöhler, *Ann. Phys.* **1825**, 79, 177 – 182.
- [2] F. Wöhler, *Ann. Phys.* **1828**, 88, 253 – 256.
- [3] G. Höfle, N. Bedorf, H. Steinmetz, D. Schomburg, K. Gerth und H. Reichenbach, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 1671 – 1673.
- [4] G. Höfle, N. Bedorf, H. Steinmetz, D. Schomburg, K. Gerth und H. Reichenbach, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, 35, 1567 – 1569.
- [5] S. Danishefsky, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, 27, 1114 – 1116.
- [6] H. Chen, S. O Connor, D. E. Cane und C. T. Walsh, *Chemistry & Biology* **2001**, 8, 899 – 912.
- [7] J. A. McIntosh, M. S. Donia und E. W. Schmidt, *Nat. Prod. Rep.* **2009**, 26, 537 – 559.
- [8] M. Riedrich, *Dissertation, Technische Universität Dortmund*, **2009**.
- [9] K. Shin-ya, K. Wierzba, K. Matsuo, T. Ohtani, Y. Yamada, K. Furihata, Y. Hayakawa und H. Seto, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 1262 – 1263.
- [10] M. A. Shamma, R. J. S. Reis, C. Li, H. Koley, L. H. Hurley, K. C. Anderson und N. C. Munshi, *Clin. Canc. Res.* **2004**, 10, 770 – 776.
- [11] N. Binz, T. Shalaby, P. Rivera, K. Shin-ya und M. A. Grotzer, *Eur. J. Cancer* **2005**, 41, 2873 – 2881.
- [12] T. Tauchi, K. Shin-ya, G. Sashida, M. Sumi, S. Okabe, J. H. Ohyashiki und K. Ohyashiki, *Oncogene* **2006**, 25, 5719 – 5725.
- [13] H. Seto, K. Shinya und K. Wierzba, **2000**, WO2000024747A1.
- [14] R. Jansen, D. Schomburg und G. Hoefle, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 701 – 704.
- [15] C. J. Hawkins, M. F. Lavin, K. A. Marshall, A. L. Van den Brenk und D. J. Watters, *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 1634 – 1638.
- [16] P. Wipf und P. C. Fritch, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 12358 – 12367.
- [17] Y. Yu, L. Duan, Q. Zhang, R. Liao, Y. Ding, H. Pan, E. Wendt-Pienkowski, G. Tang, B. Shen und W. Liu, *ACS Chem. Biol.* **2009**, 4, 855 – 864.
- [18] W. L. Kelly, L. Pan und C. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 4327 – 4334.
- [19] Z. Jin, *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23, 464 – 496.
- [20] Z. Jin, *Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 1143 – 1191.
- [21] R. A. Hughes und C. J. Moody, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 8076 – 8101.

- [22] R. A. Hughes und C. J. Moody, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7930 – 7954.
- [23] H.-D. Arndt, S. Schoof und J.-Y. Lu, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 6900 – 6904.
- [24] H.-D. Arndt, S. Schoof und J.-Y. Lu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6770 – 6773.
- [25] E. M. Nolan und C. T. Walsh, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 34 – 53.
- [26] C. Li und W. L. Kelly, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 153 – 164.
- [27] P. Yorgey, J. Lee, J. Kördel, E. Vivas, P. Warner, D. Jebaratnam und R. Kolter, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1994**, *91*, 4519 – 4523.
- [28] C. Asensio, J. C. Pérez-Díaz, M. C. Martínez und F. Baquero, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1976**, *69*, 7 – 14.
- [29] A. Bayer, S. Freund und G. Jung, *Eur. J. Biochem.* **1995**, *234*, 414 – 426.
- [30] J. C. Milne, R. S. Roy, A. C. Eliot, N. L. Kelleher, A. Wokhlu, B. Nickels und C. T. Walsh, *Biochemistry* **1999**, *38*, 4768 – 4781.
- [31] Y.-M. Li, J. C. Milne, L. L. Madison, R. Kolter und C. T. Walsh, *Science* **1996**, *274*, 1188 – 1193.
- [32] D. B. Zamble, C. P. McClure, J. E. Penner-Hahn und C. T. Walsh, *Biochemistry* **2000**, *39*, 16190 – 16199.
- [33] K. L. Dunbar, J. O. Melby und D. A. Mitchell, *Nat. Chem. Biol.* **2012**, *8*, 569 – 575.
- [34] C. M. Ireland, A. R. Durso, R. A. Newman und M. P. Hacker, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 1807 – 1811.
- [35] Y. Hamada, M. Shibata und T. Shioiri, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 6501 – 6504.
- [36] E. W. Schmidt, J. T. Nelson, D. A. Rasko, S. Sudek, J. A. Eisen, M. G. Haygood und J. Ravel, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 7315 – 7320.
- [37] M. S. Donia, B. J. Hathaway, S. Sudek, M. G. Haygood, M. J. Rosovitz, J. Ravel und E. W. Schmidt, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 729 – 735.
- [38] M. S. Donia, J. Ravel und E. W. Schmidt, *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 341 – 343.
- [39] J. Koehnke, A. Bent, W. E. Houssen, D. Zollman, F. Morawitz, S. Shirran, J. Vendome, A. F. Nneoyiegbe, L. Trembleau, C. H. Botting, M. C. M. Smith, M. Jaspars und J. H. Naismith, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2012**, *19*, 767 – 772.
- [40] S. Tsujii, K. L. Rinehart, S. P. Gunasekera, Y. Kashman, S. S. Cross, M. S. Lui, S. A. Pomponi und M. C. Diaz, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5446 – 5453.
- [41] S. A. Morris und R. J. Andersen, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 715 – 720.

- [42] L. T. Vassilev, B. T. Vu, B. Graves, D. Carvajal, F. Podlaski, Z. Filipovic, N. Kong, U. Kammlott, C. Lukacs, C. Klein, N. Fotouhi und E. A. Liu, *Science* **2004**, *303*, 844 – 848.
- [43] B. Cui, B. L. Zheng, K. He und Q. Y. Zheng, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1101 – 1103.
- [44] Y. Xu, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2719 – 2740.
- [45] C. Nicholls, H. Li, J.-Q. Wang und J.-P. Liu, *Protein & Cell* **2011**, *2*, 726 – 738.
- [46] P. Martínez und M. A. Blasco, *Nat. Rev. Cancer* **2011**, *11*, 161 – 176.
- [47] J. Dai, M. Carver und D. Yang, *Biochimie* **2008**, *90*, 1172 – 1183.
- [48] T. A. Brooks, S. Kendrick und L. Hurley, *FEBS J.* **2010**, *277*, 3459 – 3469.
- [49] Y. Wang und D. J. Patel, *Structure* **1993**, *1*, 263 – 282.
- [50] G. N. Parkinson, M. P. H. Lee und S. Neidle, *Nature* **2002**, *417*, 876 – 880.
- [51] K. N. Luu, A. T. Phan, V. Kuryavyi, L. Lacroix und D. J. Patel, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9963 – 9970.
- [52] J. Dai, M. Carver, C. Punchihewa, R. A. Jones und D. Yang, *Nucl. Acids Res.* **2007**, *35*, 4927 – 4940.
- [53] A. T. Phan, K. N. Luu und D. J. Patel, *Nucl. Acids Res.* **2006**, *34*, 5715 – 5719.
- [54] A. T. Phan, V. Kuryavyi, K. N. Luu und D. J. Patel, *Nucl. Acids Res.* **2007**, *35*, 6517 – 6525.
- [55] K. W. Lim, S. Amrane, S. Bouaziz, W. Xu, Y. Mu, D. J. Patel, K. N. Luu und A. T. n. Phan, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4301 – 4309.
- [56] J. Dai, C. Punchihewa, A. Ambrus, D. Chen, R. A. Jones und D. Yang, *Nucl. Acids Res.* **2007**, *35*, 2440 – 2450.
- [57] D. J. E. Yue, K. W. Lim und A. T. Phan, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 11462 – 11465.
- [58] B. Heddi und A. T. Phan, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 9824 – 9833.
- [59] M. Vorlíčková, J. Chládková, I. Kejnovská, M. Fialová und J. Kypr, *Nucl. Acids Res.* **33**, 5851 – 5860.
- [60] H.-Q. Yu, D. Miyoshi und N. Sugimoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15461 – 15468.
- [61] I. M. Pedroso, L. F. Duarte, G. Yanez, K. Burkewitz und T. M. Fletcher, *Biopolymers* **2007**, *87*, 74 – 84.

- [62] J. Tang, Z.-y. Kan, Y. Yao, Q. Wang, Y.-h. Hao und Z. Tan, *Nucl. Acids Res.* **2008**, *36*, 1200 – 1208.
- [63] L. Petraccone, J. O. Trent und J. B. Chaires, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16530 – 16532.
- [64] H. Wang, G. J. Nora, H. Ghodke und P. L. Opresko, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 7479 – 7489.
- [65] D. Renciuik, I. Kejnovska, P. Skolakova, K. Bednarova, J. Motlova und M. Vorlickova, *Nucl. Acids Res.* **2009**, *37*, 6625 – 6634.
- [66] L. Petraccone, C. Spink, J. O. Trent, N. C. Garbett, C. S. Mekmaysy, C. Giancola und J. B. Chaires, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 20951 – 20961.
- [67] Y. Xu, T. Ishizuka, K. Kurabayashi und M. Komiyama, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7973 – 7976.
- [68] Y. Xu, T. Ishizuka, K. Kurabayashi und M. Komiyama, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7833 – 7836.
- [69] R. D. Gray, J. Li und J. B. Chaires, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 2676 – 2683.
- [70] A. T. Phan, *FEBS J.* **2010**, *277*, 1107 – 1117.
- [71] T. Simonsson, M. Kubista und P. Pecinka, *Nucl. Acids Res.* **1998**, *26*, 1167 – 1172.
- [72] A. Siddiqui-Jain, C. L. Grand, D. J. Bearss und L. H. Hurley, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 11593 – 11598.
- [73] T. A. Brooks und L. H. Hurley, *Nat. Rev. Cancer* **2009**, *9*, 849 – 861.
- [74] L. Hayflick und P. S. Moorhead, *Exp. Cell Res.* **1961**, *25*, 585 – 621.
- [75] C. B. Harley, A. B. Futcher und C. W. Greider, *Nature* **1990**, *345*, 458 – 460.
- [76] V. Lundblad und J. W. Szostak, *Cell* **1989**, *57*, 633 – 643.
- [77] J. Karlseder, A. Smogorzewska und T. de Lange, *Science* **2002**, *295*, 2446 – 2449.
- [78] R. E. Verdun und J. Karlseder, *Nature* **2007**, *447*, 924 – 931.
- [79] A. G. Bodnar, M. Ouellette, M. Frolkis, S. E. Holt, C.-P. Chiu, G. B. Morin, C. B. Harley, J. W. Shay, S. Lichtsteiner und W. E. Wright, *Science* **1998**, *279*, 349 – 352.
- [80] J. W. Shay und S. Bacchetti, *Eur. J. Cancer* **1997**, *33*, 787 – 791.
- [81] W. C. Hahn, S. A. Stewart, M. W. Brooks, S. G. York, E. Eaton, A. Kurachi, R. L. Beijersbergen, J. H. M. Knoll, M. Meyerson und R. A. Weinberg, *Nat. Med.* **1999**, *5*, 1164 – 1170.

- [82] B.-S. Herbert, A. E. Pitts, S. I. Baker, S. E. Hamilton, W. E. Wright, J. W. Shay und D. R. Corey, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1999**, *96*, 14276 – 14281.
- [83] D. Yang und K. Okamoto, *Future Med. Chem.* **2010**, *2*, 619 – 646.
- [84] C. B. Harley, *Nat. Rev. Cancer* **2008**, *8*, 167 – 179.
- [85] I. Joseph, R. Tressler, E. Bassett, C. Harley, C. M. Buseman, P. Pattamatta, W. E. Wright, J. W. Shay und N. F. Go, *Cancer Res.* **2010**, *70*, 9494 – 9504.
- [86] C. O. Marian, S. K. Cho, B. M. McEllin, E. A. Maher, K. J. Hatanpaa, C. J. Madden, B. E. Mickey, W. E. Wright, J. W. Shay und R. M. Bachoo, *Clin. Canc. Res.* **2010**, *16*, 154 – 163.
- [87] S. M. Gryaznov, *Chem. Biodivers.* **2010**, *7*, 477 – 493.
- [88] A. M. Zahler, J. R. Williamson, T. R. Cech und D. M. Prescott, *Nature* **1991**, *350*, 718 – 720.
- [89] K. M. Miller, O. Rog und J. P. Cooper, *Nature* **2006**, *440*, 824 – 828.
- [90] T. de Lange, *Gen. Dev.* **2005**, *19*, 2100 – 2110.
- [91] L. Crabbe, R. E. Verdun, C. I. Hagglblom und J. Karlseder, *Science* **2004**, *306*, 1951 – 1953.
- [92] P. Baumann und T. R. Cech, *Science* **2001**, *292*, 1171 – 1175.
- [93] D. Loayza und T. de Lange, *Nature* **2003**, *423*, 1013 – 1018.
- [94] L. M. Colgin, K. Baran, P. Baumann, T. R. Cech und R. R. Reddel, *Curr. Biol.* **2003**, *13*, 942 – 946.
- [95] D. Hockemeyer, A. J. Sfeir, J. W. Shay, W. E. Wright und T. de Lange, *EMBO J.* **2005**, *24*, 2667 – 2678.
- [96] A. J. Sfeir, W. Chai, J. W. Shay und W. E. Wright, *Mol. Cell* **2005**, *18*, 131 – 138.
- [97] T. De Lange, *Oncogene* **2002**, *21*, 532 – 540.
- [98] B. van Steensel, A. Smogorzewska und T. de Lange, *Cell* **1998**, *92*, 401 – 413.
- [99] G. B. Celli und T. de Lange, *Nat. Cell. Biol.* **2005**, *7*, 712 – 718.
- [100] A. Smogorzewska, J. Karlseder, H. Holtgreve-Grez, A. Jauch und T. de Lange, *Curr. Biol.* **2002**, *12*, 1635 – 1644.
- [101] J. Karlseder, K. Hoke, O. K. Mirzoeva, C. Bakkenist, M. B. Kastan, J. H. J. Petrini und T. de Lange, *PLoS Biol.* **2004**, *2*, 1150 – 1156.
- [102] Y. Xu, H. Sato, Y. Sannohe, K.-i. Shinohara und H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16470 – 16471.

- [103] J. D. Griffith, L. Comeau, S. Rosenfield, R. M. Stansel, A. Bianchi, H. Moss und T. de Lange, *Cell* **1999**, *97*, 503 – 514.
- [104] R. M. Stansel, L. T. De und J. D. Griffith, *EMBO J.* **2001**, *20*, 5532 – 5540.
- [105] A. Bianchi, S. Smith, L. Chong, P. Elias und T. de Lange, *EMBO J.* **1997**, *16*, 1785 – 1794.
- [106] A. Bianchi, R. M. Stansel, L. Fairall, J. D. Griffith, D. Rhodes und T. de Lange, *EMBO J.* **1999**, *18*, 5735 – 5744.
- [107] J. Griffith, A. Bianchi und T. de Lange, *J. Mol. Biol.* **1998**, *278*, 79 – 88.
- [108] R. E. Verdun, L. Crabbe, C. Haggbloom und J. Karlseder, *Mol. Cell* **2005**, *20*, 551 – 561.
- [109] R. E. Verdun und J. Karlseder, *Cell* **2006**, *127*, 709 – 720.
- [110] D. J. Patel, A. T. Phan und V. Kuryavyi, *Nucl. Acids Res.* **2007**, *35*, 7429 – 7455.
- [111] C. M. Azzalin, P. Reichenbach, L. Khoriauli, E. Giulotto und J. Lingner, *Science* **2007**, *318*, 798 – 801.
- [112] S. Schoeftner und M. A. Blasco, *Nat. Cell. Biol.* **2008**, *10*, 228 – 236.
- [113] S. Redon, P. Reichenbach und J. Lingner, *Nucl. Acids Res.* **2010**, *38*, 5797 – 5806.
- [114] Z. Deng, J. Norseen, A. Wiedmer, H. Riethman und P. M. Lieberman, *Mol. Cell* **2009**, *35*, 403 – 413.
- [115] M.-Y. Kim, H. Vankayalapati, K. Shin-ya, K. Wierzba und L. H. Hurley, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2098 – 2099.
- [116] H. Han, L. H. Hurley und M. Salazar, *Nucl. Acids Res.* **1999**, *27*, 537 – 542.
- [117] M.-Y. Kim, M. Gleason-Guzman, E. Izbicka, D. Nishioka und L. H. Hurley, *Cancer Res.* **2003**, *63*, 3247 – 3256.
- [118] E. M. Rezler, J. Seenisamy, S. Bashyam, M.-Y. Kim, E. White, W. D. Wilson und L. H. Hurley, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9439 – 9447.
- [119] T. I. Gaynutdinov, R. D. Neumann und I. G. Panyutin, *Nucl. Acids Res.* **2008**, *36*, 4079 – 4087.
- [120] S. Agrawal, R. P. Ojha und S. Maiti, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 6828 – 6836.
- [121] A. De Cian, G. Cristofari, P. Reichenbach, E. De Lemos, D. Monchaud, M.-P. Teulade-Fichou, K. Shin-ya, L. Lacroix, J. Lingner und J.-L. Mergny, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, *104*, 17347 – 17352.

- [122] J. Reed, M. Gunaratnam, M. Beltran, A. P. Reszka, R. Vilar und S. Neidle, *Anal. Biochem.* **2008**, *380*, 99 – 105.
- [123] D. Gomez, R. Paterski, T. Lemarteleur, K. Shin-ya, J.-L. Mergny und J.-F. Riou, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 41487 – 41494.
- [124] D. Gomez, M.-F. O'Donohue, T. Wenner, C. Douarre, J. Macadré, P. Koebel, M.-J. Giraud-Panis, H. Kaplan, A. Kolkes, K. Shin-ya und J.-F. Riou, *Cancer Res.* **2006**, *66*, 6908 – 6912.
- [125] H. Tahara, K. Shin-ya, H. Seimiya, H. Yamada, T. Tsuruo und T. Ide, *Oncogene* **2006**, *25*, 1955 – 1966.
- [126] K. Nakanishi, T. Kawai, F. Kumaki, S. Hiroi, M. Mukai, E. Ikeda, C. E. Koering und E. Gilson, *Clin. Canc. Res.* **2003**, *9*, 1105 – 1111.
- [127] J. Gu, M. R. Spitz, H. Zhao, J. Lin, H. B. Grossman, C. P. Dinney und X. Wu, *Carcinogenesis* **2005**, *26*, 1741 – 1747.
- [128] T. Nijjar, E. Bassett, J. Garbe, Y. Takenaka, M. R. Stampfer, D. Gilley und P. Yaswen, *Oncogene* **2005**, *24*, 3369 – 3376.
- [129] D. Gomez, T. Wenner, B. Brassart, C. Douarre, M.-F. O'Donohue, V. El Khoury, K. Shin-ya, H. Morjani, C. Trentesaux und J.-F. Riou, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 38721 – 38729.
- [130] J.-L. Li, R. J. Harrison, A. P. Reszka, R. M. Brosh, V. A. Bohr, S. Neidle und I. D. Hickson, *Biochemistry* **2001**, *40*, 15194 – 15202.
- [131] K. Guo, A. Pourpak, K. Beetz-Rogers, V. Gokhale, D. Sun und L. H. Hurley, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10220 – 10228.
- [132] Y. Qin, J. S. Fortin, D. Tye, M. Gleason-Guzman, T. A. Brooks und L. H. Hurley, *Biochemistry* **2010**, *49*, 4208 – 4219.
- [133] T. Lemarteleur, D. Gomez, R. Paterski, E. Mandine, P. Mailliet und J.-F. Riou, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *323*, 802 – 808.
- [134] R. De Armond, S. Wood, D. Sun, L. H. Hurley und S. W. Ebbinghaus, *Biochemistry* **2005**, *44*, 16341 – 16350.
- [135] N. Temime-Smaali, L. Guittat, A. Sidibe, K. Shin-ya, C. Trentesaux und J.-F. Riou, *PLoS ONE* **2009**, *4*, e6919.
- [136] S. M. L. Palumbo, R. M. Memmott, D. J. Uribe, Y. Krotova-Khan, L. H. Hurley und S. W. Ebbinghaus, *Nucl. Acids Res.* **2008**, *36*, 1755 – 1769.

- [137] T. Miyazaki, Y. Pan, K. Joshi, D. Purohit, B. Hu, H. Demir, S. Mazumder, S. Okabe, T. Yamori, M. Viapiano, K. Shin-ya, H. Seimiya und I. Nakano, *Clin. Canc. Res.* **2012**, *18*, 1268 – 1280.
- [138] R. L. Flynn, R. C. Centore, R. J. O' Sullivan, R. Rai, A. Tse, Z. Songyang, S. Chang, J. Karlseder und L. Zou, *Nature* **2011**, *471*, 532 – 536.
- [139] J. L.-Y. Chen, J. Sperry, N. Y. Ip und M. A. Brimble, *Med. Chem. Comm.* **2011**, *2*, 229 – 245.
- [140] T. M. Ou, Y. J. Lu, J. H. Tan, Z. S. Huang, K. Y. Wong und L. Q. Gu, *Chem. Med. Chem.* **2008**, *3*, 690 – 713.
- [141] M. Franceschin, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 2225 – 2238.
- [142] J. Linder, T. P. Garner, H. E. L. Williams, M. S. Searle und C. J. Moody, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1044 – 1051.
- [143] T. Doi, K. Shibata, M. Yoshida, M. Takagi, M. Tera, K. Nagasawa, K. Shin-ya und T. Takahashi, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 387 – 393.
- [144] M. Tera, K. Iida, H. Ishizuka, M. Takagi, M. Suganuma, T. Doi, K. Shin-ya und K. Nagasawa, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 431 – 435.
- [145] M. Tera, H. Ishizuka, M. Takagi, M. Suganuma, K. Shin-ya und K. Nagasawa, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 5639 – 5642.
- [146] M. Tera, H. Ishizuka, M. Takagi, M. Suganuma, K. Shin-ya und K. Nagasawa, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5557 – 5560.
- [147] K. Iida, M. Tera, K. Shin-ya und K. Nagasawa, *Nucleic Acids Symp. Ser. (Oxf)* **2009**, *53*, 233 – 234.
- [148] K. Iida, M. Tera, T. Hirokawa, K. Shin-ya und K. Nagasawa, *Chem. Commun.* **2009**, 6481 – 6483.
- [149] D. S. Pilch, C. M. Barbieri, S. G. Rzuczek, E. J. LaVoie und J. E. Rice, *Biochimie* **2008**, *90*, 1233 – 1249.
- [150] S. G. Rzuczek, D. S. Pilch, A. Liu, L. Liu, E. J. LaVoie und J. E. Rice, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3632 – 3644.
- [151] L. Yet, *Prog. Heterocycl. Chem.* **2011**, *22*, 217 – 257.
- [152] H. Brederick, R. Gompper, R. Bangert und H. Herlinger, *Angew. Chem.* **1958**, *70*, 269.
- [153] T. L. Little und S. E. Webber, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7299 – 7305.

- [154] A. M. Van Leusen, J. Wildeman und O. H. Oldenziel, *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1153 – 1159.
- [155] S. E. Wolkenberg, D. D. Wisnoski, W. H. Leister, Y. Wang, Z. Zhao und C. W. Lindsley, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1453 – 1456.
- [156] D. S. Ermolat'ev, E. P. Svidritsky, E. V. Babaev und E. Van der Eycken, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 5218 – 5220.
- [157] B. C. Raju, N. D. Theja und J. A. Kumar, *Synth. Commun.* **2009**, *39*, 175 – 188.
- [158] R. G. Jacob, L. G. Dutra, C. S. Radatz, S. R. Mendes, G. Perin und E. J. Lenardão, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1495 – 1497.
- [159] A. T. Khan, T. Parvin und L. H. Choudhury, *Synth. Commun.* **2009**, *39*, 2339 – 2346.
- [160] T. Yamashita, S. Yamada, Y. Yamazaki und H. Tanaka, *Synth. Commun.* **2009**, *39*, 2982 – 2988.
- [161] H. Zali Boeini und K. Hajibabaei Najafabadi, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 4926 – 4929.
- [162] S. Rostamizadeh, R. Aryan, H. R. Ghaieni und A. M. Amani, *J. Het. Chem.* **2009**, *46*, 74 – 78.
- [163] A. A. Mohammadi, J. Azizian und N. Karimi, *Heterocycles* **2009**, *78*, 2337 – 2342.
- [164] B. A. Trofimov, A. V. Ivanov, E. V. Skital'tseva, A. M. Vasil'tsov, I. A. Ushakov, K. B. Petrushenko und A. b. I. Mikhaleva, *Synthesis* **2009**, 3603 – 3610.
- [165] S. S. Das und D. Konwar, *Synth. Commun.* **2009**, *39*, 980 – 991.
- [166] K. Bahrami, M. M. Khodaei und F. Naali, *Synlett* **2009**, 569 – 572.
- [167] Y.-A. Chang und H. Chang, *J. Het. Chem.* **2009**, *46*, 1235 – 1238.
- [168] J. Y. Lu, M. Riedrich, M. Mikyna und H.-D. Arndt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8137 – 8140.
- [169] M. Riedrich, S. Harkal und H.-D. Arndt, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2755 – 2758.
- [170] M. Riedrich, S. Harkal und H. D. Arndt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2701 – 2703.
- [171] J.-Y. Lu, M. Riedrich, M. Mikyna und H.-D. Arndt, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 9375 – 9375.
- [172] L. Wu und K. Burgess, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4089 – 4096.
- [173] S. Eguchi und H. Takeuchi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 602 – 603.
- [174] H. Takeuchi, S. Hagiwara und S. Eguchi, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 6375 – 6386.

- [175] Y. A. Ortiz Barbosa, D. J. Hart und N. A. Magomedov, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 8748 – 8754.
- [176] P. Molina, M. Alajarín, C. López-Leonardo, I. Madrid, C. Foces-Foces und F. H. Cano, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 1823 – 1832.
- [177] P. Molina, P. M. Fresneda und M. A. Sanz, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2540 – 2544.
- [178] P. Molina, I. Díaz und A. Tárraga, *Synlett* **1995**, 1031 – 1032.
- [179] Y. G. Gololobov, N. I. Gusar und M. P. Chaus, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 793 – 799.
- [180] N. Almirante, A. Cerri, G. Fedrizzi, G. Marazzi und M. Santagostino, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3287 – 3290.
- [181] N. Almirante, A. Benicchio, A. Cerri, G. Fedrizzi, G. Marazzi und M. Santagostino, *Synlett* **1999**, 299 – 302.
- [182] H. Dorn, A. Zubek und G. Hilgetag, *Angew. Chem.* **1966**, *78*, 676 – 676.
- [183] H. Dorn, A. Zubek und G. Hilgetag, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1966**, *5*, 665 – 666.
- [184] L. H. Zhang, G. S. Kauffman, J. A. Pesti und J. G. Yin, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6918 – 6920.
- [185] P. T. Nyffeler, C. H. Liang, K. M. Koeller und C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10773 – 10778.
- [186] E. D. Goddard-Borger und R. V. Stick, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3797 – 3800.
- [187] E. D. Goddard-Borger und R. V. Stick, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2514 – 2514.
- [188] C. A. G. N. Montalbetti und V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827 – 10852.
- [189] E. Valeur und M. Bradley, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 606 – 631.
- [190] B. J. Backes und J. A. Ellman, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2322 – 2330.
- [191] R. Ingenito, D. Dreznjak, S. Guffler und H. Wenschuh, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1187 – 1188.
- [192] C. Raji Reddy, B. Mahipal und S. R. Yaragorla, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 7528 – 7532.
- [193] T. Röhrich, B. A. Thaher und H.-H. Otto, *Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly* **2004**, *135*, 55 – 68.
- [194] N. Shangguan, S. Katukojvala, R. Greenberg und L. J. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7754 – 7755.
- [195] G. Höfle, W. Steglich und H. Vorbrüggen, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 602 – 615.

- [196] G. Höfle, W. Steglich und H. Vorbrüggen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, *17*, 569 – 583.
- [197] L. A. Carpino, H. Imazumi, A. El-Faham, F. J. Ferrer, C. Zhang, Y. Lee, B. M. Foxman, P. Henklein, C. Hanay, C. Mügge, H. Wenschuh, J. Klose, M. Beyermann und M. Bienert, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 457 – 461.
- [198] L. A. Carpino, H. Imazumi, A. El-Faham, F. J. Ferrer, C. Zhang, Y. Lee, B. M. Foxman, P. Henklein, C. Hanay, C. Mügge, H. Wenschuh, J. Klose, M. Beyermann und M. Bienert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 441 – 445.
- [199] D. R. Williams, P. D. Lowder, Y.-G. Gu und D. A. Brooks, *Tetrahedon Lett.* **1997**, *38*, 331 – 334.
- [200] C. O. Kappe, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6408 – 6443.
- [201] C. O. Kappe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250 – 6284.
- [202] A. C. Dawsey, V. Li, K. C. Hamilton, J. Wang und T. J. Williams, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 7994 – 8002.
- [203] P. Loos, M. Riedrich und H. D. Arndt, *Chem. Commun.* **2009**, 1900 – 1902.
- [204] S. K. Chattopadhyay und S. Biswas, *Tetrahedon Lett.* **2006**, *47*, 7897 – 7900.
- [205] S. K. Chattopadhyay, S. Biswas und S. K. Ghosh, *Synthesis* **2008**, 1029 – 1032.
- [206] C. M. Marson und M. Saadi, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3892 – 3893.
- [207] J. Deeley, A. Bertram und G. Pattenden, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1994 – 2010.
- [208] T. Doi, M. Yoshida, K. Shin-ya und T. Takahashi, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4165 – 4167.
- [209] N. A. McDonald und W. L. Jorgensen, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 8049 – 8059.
- [210] W. L. Jorgensen und J. Gao, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4212 – 4216.
- [211] D. W. Deerfield II und L. G. Pedersen, *J. Mol. Struct. - THEOCHEM* **1995**, *358*, 99 – 106.
- [212] J. P. Terhorst und W. L. Jorgensen, *J. Chem. Theory Comput.* **2010**, *6*, 2762 – 2769.
- [213] T. Drakenberg und S. Forsen, *J. Chem. Soc. D, Chem. Commun.* **1971**, 1404 – 1405.
- [214] Y. A. Mantz, D. Branduardi, G. Bussi und M. Parrinello, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 12521 – 12529.
- [215] P. I. Nagy, F. R. Tejada, J. G. Sarver und W. S. Messer, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 10173 – 10185.
- [216] K. C. Nicolaou, B. S. Safina, M. Zak, S. H. Lee, M. Nevalainen, M. Bella, A. A. Estrada, C. Funke, F. J. Zecri und S. Bulat, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11159 – 11175.

- [217] K. C. Nicolaou, D. H. Dethe, G. Y. C. Leung, B. Zou und D. Y. K. Chen, *Chem. Asian J.* **2008**, *3*, 413 – 429.
- [218] S.-L. You, H. Razavi und J. W. Kelly, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 83 – 85.
- [219] S.-L. You, H. Razavi und J. W. Kelly, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 87 – 89.
- [220] C. M. Waters und B. L. Bassler, *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **2005**, *21*, 319 – 346.
- [221] E. A. George, R. P. Novick und T. W. Muir, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4914 – 4924.
- [222] S. A. Khan und B. W. Erickson, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4283 – 4285.
- [223] F. D. Deroose und P. J. De Clercq, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 321 – 330.
- [224] R. J. Scott, L.-Y. Lian, S. H. Muharram, A. Cockayne, S. J. Wood, B. W. Bycroft, P. Williams und W. C. Chan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2449 – 2453.
- [225] F. S. Han, I. H. Osajima, M. Cheung, H. Tokuyama und T. Fukuyama, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 3026 – 3038.
- [226] M. C. Kimber und C. J. Moody, *Chem. Commun.* **2008**, 591 – 593.
- [227] C. S. Poss und S. L. Schreiber, *Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 9 – 17.
- [228] S. R. Magnuson, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 2167 – 2213.
- [229] R. W. Hoffmann, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1128 – 1142.
- [230] R. W. Hoffmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1096 – 1109.
- [231] L. F. Tietze, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 115 – 136.
- [232] P. Wipf und S. Venkatraman, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7224 – 7229.
- [233] P. Wipf und C. P. Miller, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 907 – 910.
- [234] K.-y. Sohda, K. Nagai, T. Yamori, K.-i. Suzuki und A. Tanaka, *J. Antibiot.* **2005**, *58*, 27 – 31.
- [235] K.-y. Sohda, M. Hiramoto, K.-i. Suzumura, Y. Takebayashi, K.-i. Suzuki und A. Tanaka, *J. Antibiot.* **2005**, *58*, 32 – 36.
- [236] X.-H. Jian, H.-X. Pan, T.-T. Ning, Y.-Y. Shi, Y.-S. Chen, Y. Li, X.-W. Zeng, J. Xu und G.-L. Tang, *ACS Chem. Biol.* **2012**, *7*, 646 – 651.
- [237] P. Romero, L. Malet, L. M. Canedo, C. Cuevas und J. Fernando Reyes, **2005**, WO 2005/000880 A2.
- [238] D. Hernández, G. Vilar, E. Riego, L. M. Cañedo, C. Cuevas, F. Albericio und M. Álvarez, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 809 – 811.

- [239] K. Kanoh, Y. Matsuo, K. Adachi, H. Imagawa, M. Nishizawa und Y. Shizuri, *J. Antibiot.* **2005**, *58*, 289 – 292.
- [240] Y. Matsuo, K. Kanoh, T. Yamori, H. Kasai, A. Katsuta, K. Adachi, K. Shin-ya und Y. Shizuri, *J. Antibiot.* **2007**, *60*, 251 – 255.
- [241] Y. Matsuo, K. Kanoh, H. Imagawa, K. Adachi, M. Nishizawa und Y. Shizuri, *J. Antibiot.* **2007**, *60*, 256 – 260.
- [242] C.-M. Pan, C.-C. Lin, S. J. Kim, R. P. Sellers und S. R. McAlpine, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 4065 – 4069.
- [243] D. S. Kemp und R. I. Carey, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3640 – 3646.
- [244] J.-Y. Lu, *Dissertation, Technische Universität Dortmund*, **2009**.
- [245] R. Shan, S. E. Howlett und E. E. Knaus, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 955 – 961.
- [246] P. Li, C. D. Evans, Y. Wu, B. Cao, E. Hamel und M. M. Joullié, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2351 – 2364.
- [247] S. Schwenk, *Masterarbeit, Technische Universität Dortmund*, **2010**.
- [248] M. Toumi, F. Couty und G. Evano, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 578 – 581.
- [249] M. Toumi, F. Couty und G. Evano, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 572 – 575.
- [250] E. M. Burgess, H. R. Penton und E. A. Taylor, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 26 – 31.
- [251] K. C. Nicolaou, S. A. Snyder, A. Z. Nalbandian und D. A. Longbottom, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6234 – 6235.
- [252] A. J. Phillips, Y. Uto, P. Wipf, M. J. Reno und D. R. Williams, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1165 – 1168.
- [253] P. Wipf und C. P. Miller, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3604 – 3606.
- [254] J. R. Parikh und W. v. E. Doering, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5505 – 5507.
- [255] R. Robinson, *J. Chem. Soc. Trans.* **1909**, *95*, 2167 – 2174.
- [256] S. Gabriel, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1910**, *43*, 134 – 138.
- [257] S. Gabriel, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1910**, *43*, 1283 – 1287.
- [258] S. C. Nigam, A. Mann, M. Taddei und C.-G. Wermuth, *Synth. Commun.* **1989**, *19*, 3139 – 3142.
- [259] B. Haveaux, A. Dekoker, M. Rens, A. R. Sidani, J. Toye und L. Ghosez, *Org. Synth.* **1980**, *59*, 26.
- [260] A. Devos, J. Remion, A. M. Frisque-Hesbain, A. Colens und L. Ghosez, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 1180 – 1181.

- [261] A. Fürstner und I. Konetzki, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3072 – 3080.
- [262] K. C. Nicolaou, A. A. Estrada, M. Zak, S. H. Lee und B. S. Safina, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1402 – 1406.
- [263] K. C. Nicolaou, A. A. Estrada, M. Zak, S. H. Lee und B. S. Safina, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1378 – 1382.
- [264] H. H. Wasserman, G. D. Berger und K. R. Cho, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 465 – 468.
- [265] V. H. Rawal, R. J. Jones und M. P. Cava, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 19 – 28.
- [266] G. J. McGarvey, K. J. Wilson und C. E. Shanholtz, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2641 – 2644.
- [267] F. Tavares und A. I. Meyers, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 6803 – 6806.
- [268] A. I. Meyers und F. X. Tavares, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8207 – 8215.
- [269] C. Wan, J. Zhang, S. Wang, J. Fan und Z. Wang, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2338 – 2341.
- [270] P. S. Baran und Y.-L. Zhong, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3183 – 3185.
- [271] K. Murai, Y. Takahara, T. Matsushita, H. Komatsu und H. Fujioka, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3456 – 3459.
- [272] D. L. Evans, D. K. Minster, U. Jordis, S. M. Hecht, A. L. Mazzu und A. I. Meyers, *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 497 – 501.
- [273] D. Garey, M.-I. Ramirez, S. Gonzales, A. Wertsching, S. Tith, K. Keefe und M. R. Pena, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4853 – 4856.
- [274] D. A. Evans, J. R. Gage und J. L. Leighton, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9434 – 9453.
- [275] P. Parik, S. Senauerova, V. Liskova, K. Handlir und M. Ludwig, *J. Het. Chem.* **2006**, *43*, 835 – 841.
- [276] E. Chorell, J. S. Pinkner, G. Phan, S. Edvinsson, F. Buelens, H. Remaut, G. Waksman, S. J. Hultgren und F. Almqvist, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5690 – 5695.
- [277] E. Chorell, P. Das und F. Almqvist, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4917 – 4924.
- [278] I. G. Stankova, G. I. Videnov, E. V. Golovinsky und G. Jung, *J. Pept. Sc.* **1999**, *5*, 392 – 398.
- [279] N. U. Mohe, K. J. Padiya und M. M. Salunkhe, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 1419 – 1431.
- [280] R. G. Hiskey, T. Mizoguchi und H. Igeta, *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 1188 – 1192.

- [281] T. L. Amyes und W. P. Jencks, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7888 – 7900.
- [282] S. Kirchmeyer, A. Mertens und G. A. Olah, *Synthesis* **1983**, 500 – 502.
- [283] H. Fujioka, T. Okitsu, T. Ohnaka, R. Li, O. Kubo, K. Okamoto, Y. Sawama und Y. Kita, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7898 – 7902.
- [284] K. Nishiyama, M. Oba und A. Watanabe, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 693 – 700.
- [285] H.-J. Cristau, X. Marat, J.-P. Vors und J.-L. Pirat, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 3179 – 3181.
- [286] D. R. Coulson, L. C. Satek und S. O. Grim, Tetrakis (Triphenylphosphine) Palladium (0) in *Inorganic Syntheses 13* (Ed.: John Wiley & Sons, Inc., **2007**, 121 – 124.
- [287] P. B. Alper, S. C. Hung und C. H. Wong, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6029 – 6032.

9 Analytische Daten zur zur Imidazol(in)synthese

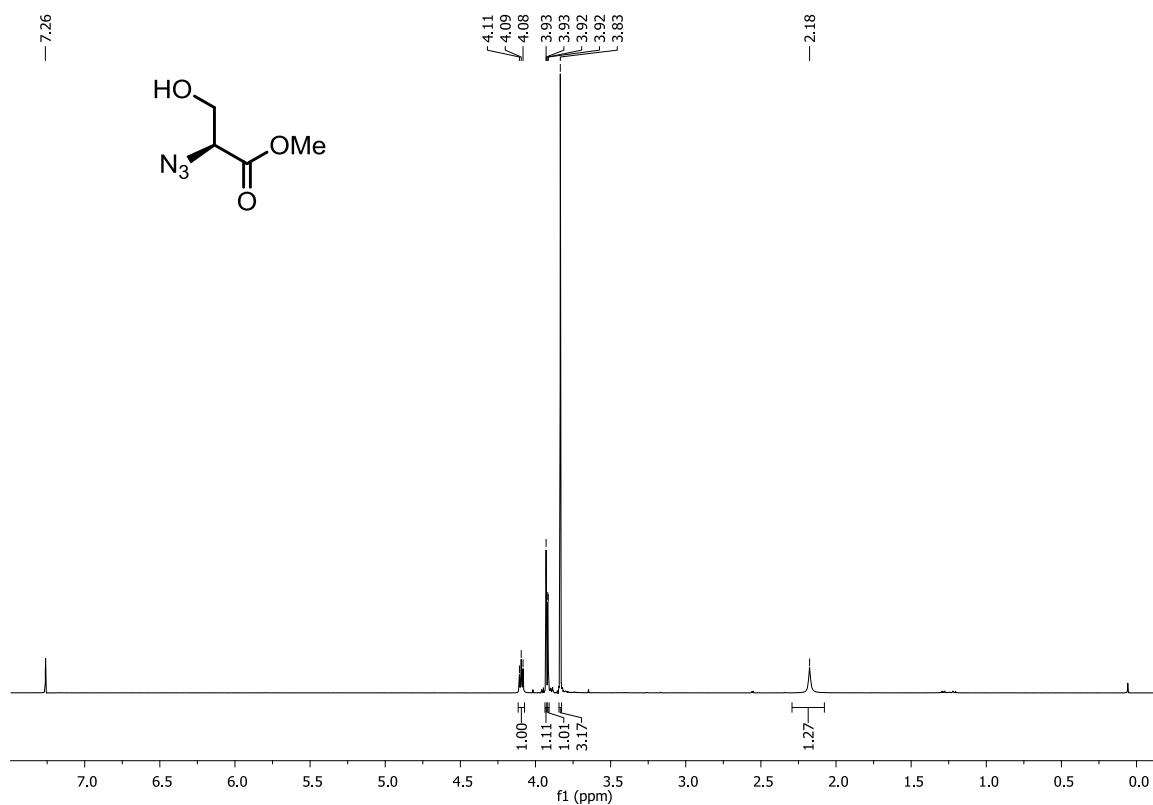


Abb. 24: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Azidoalkohol **48c** (400 MHz, CDCl_3).



Abb. 25: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Azidoalkohol **48d** (400 MHz, CDCl_3).

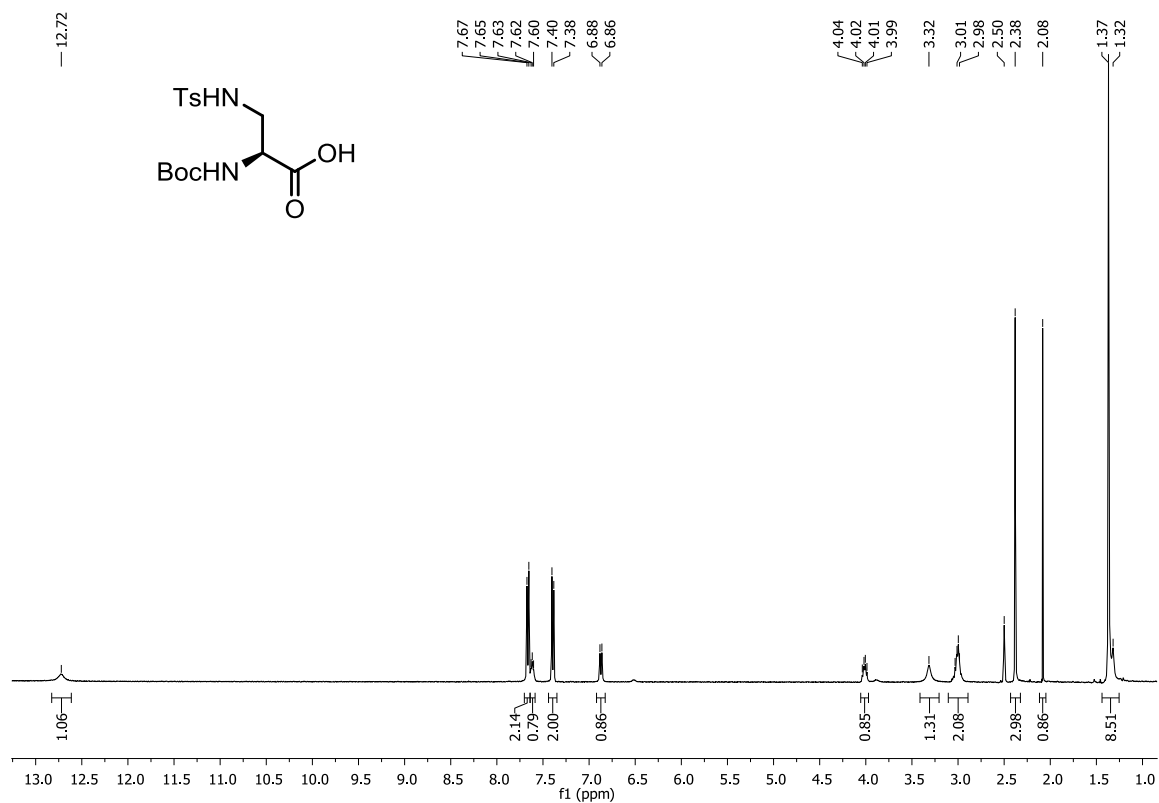


Abb. 26: ¹H-NMR Spektrum von Carbonsäure 52 (400 MHz, DMSO-d₆).

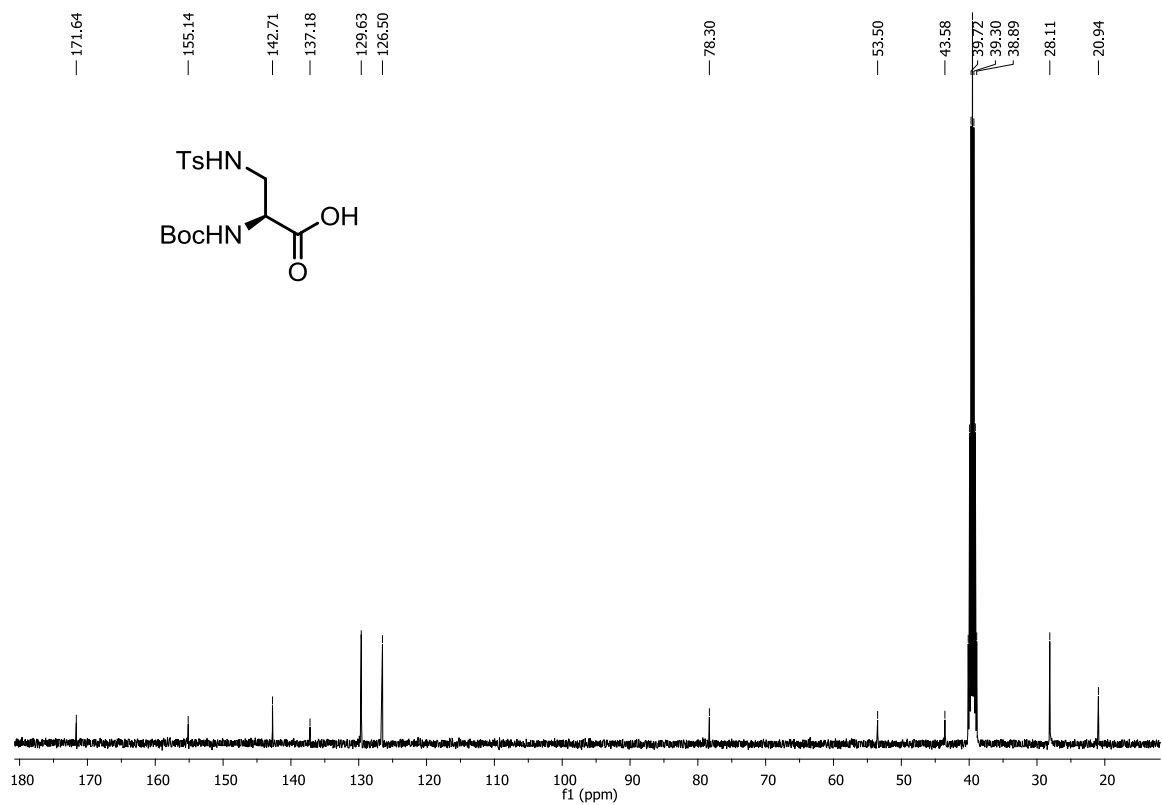


Abb. 27: ¹³C-NMR Spektrum von Carbonsäure 52 (100 MHz, DMSO-d₆).

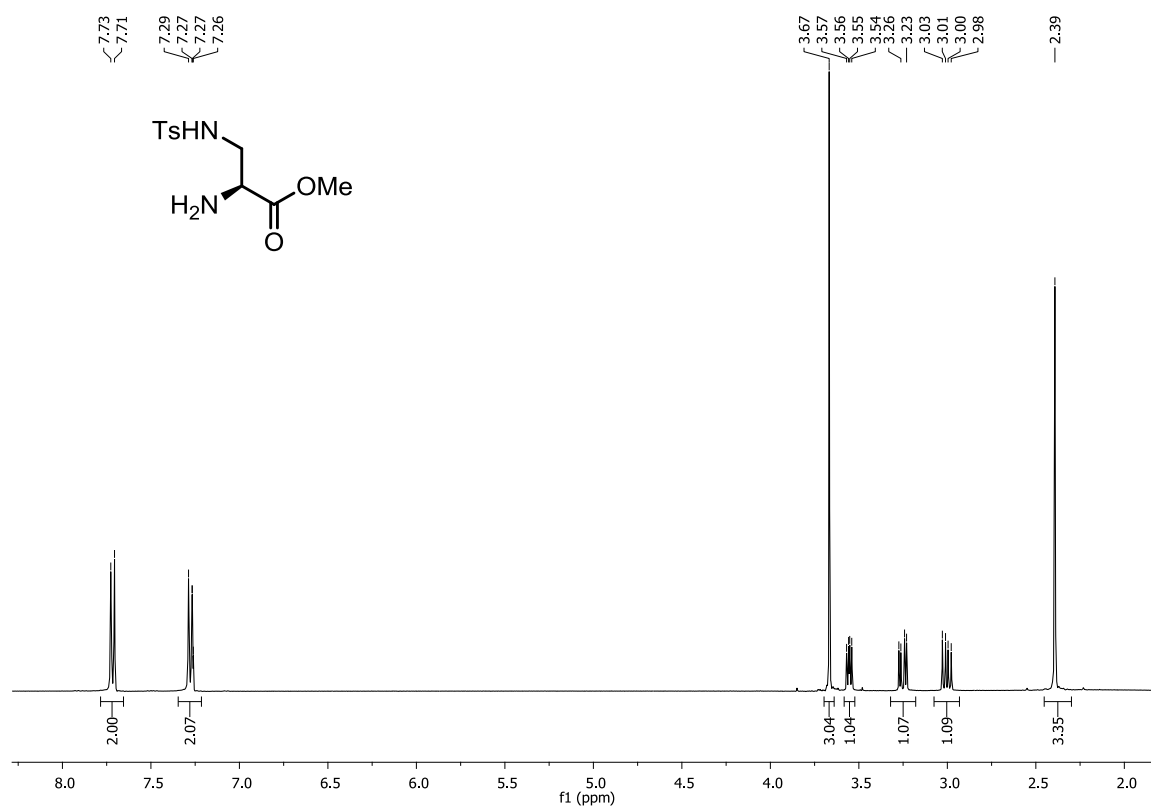


Abb. 28: ¹H-NMR Spektrum von Amin **53a** (400 MHz, CDCl₃).

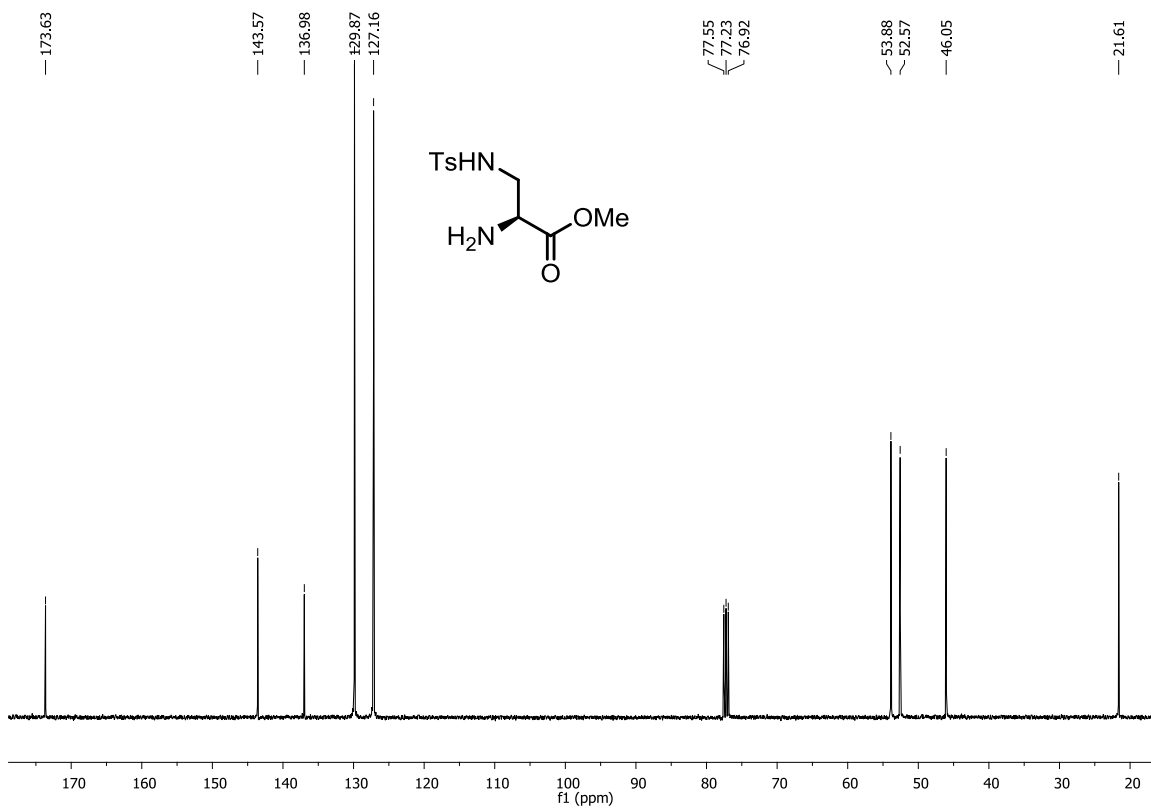


Abb. 29: ¹³C-NMR Spektrum von Amin **53a** (100 MHz, CDCl₃).

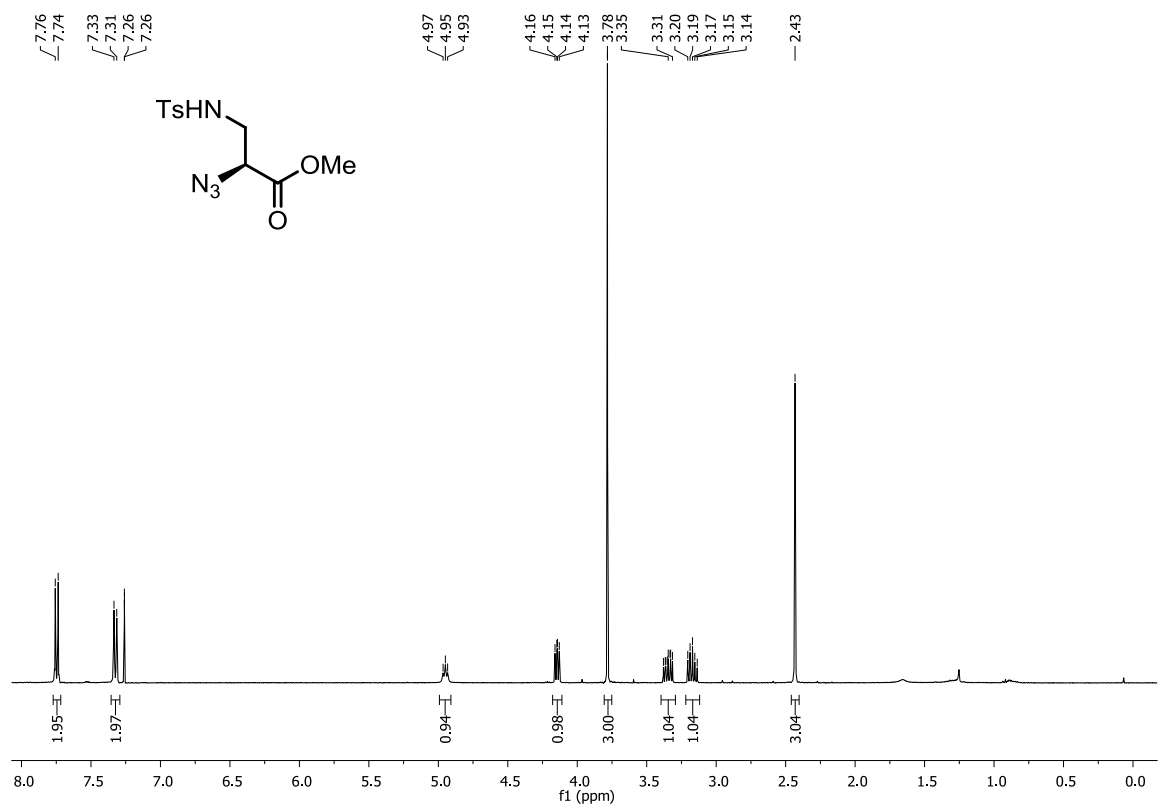


Abb. 30: ¹H-NMR Spektrum von Azidocarbonylsäure **48a** (400 MHz, CDCl₃).

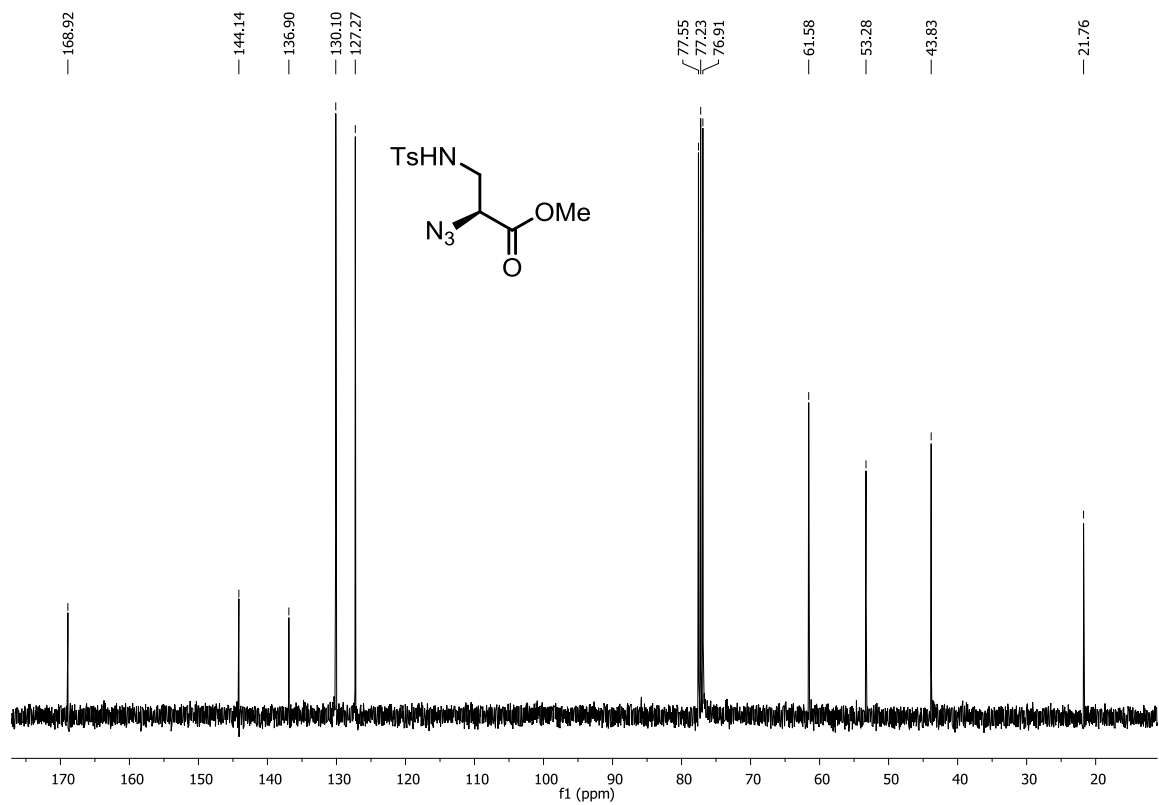


Abb. 31: ¹³C-NMR Spektrum von Azidocarbonylsäure **48a** (100 MHz, CDCl₃).

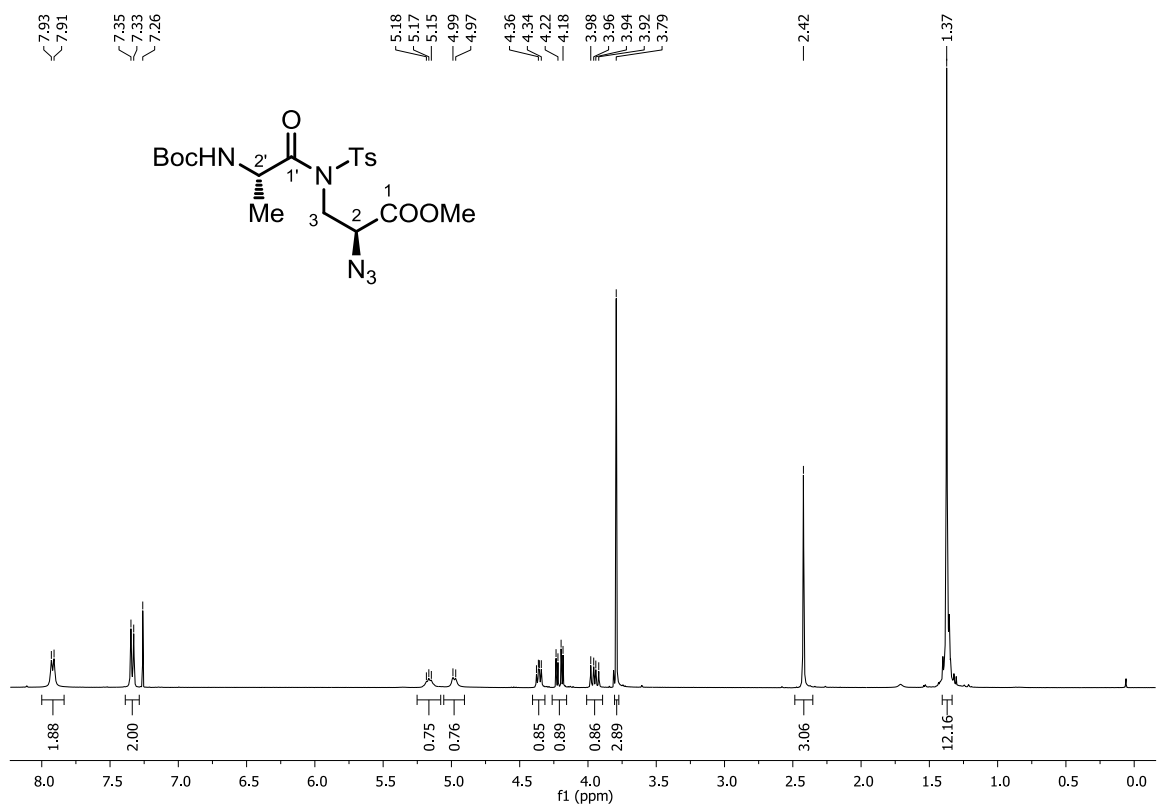


Abb. 32: ¹H-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64g** (400 MHz, CDCl₃).

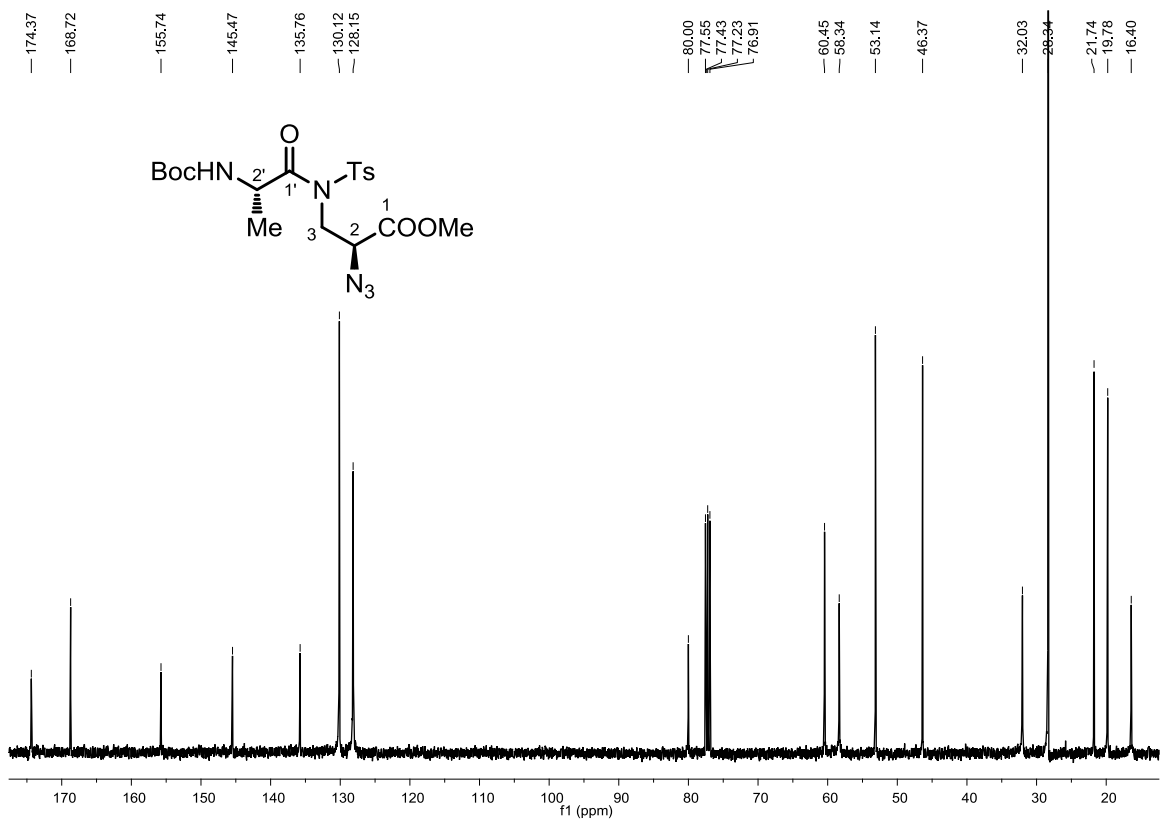


Abb. 33: ¹³C-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64g** (100 MHz, CDCl₃).

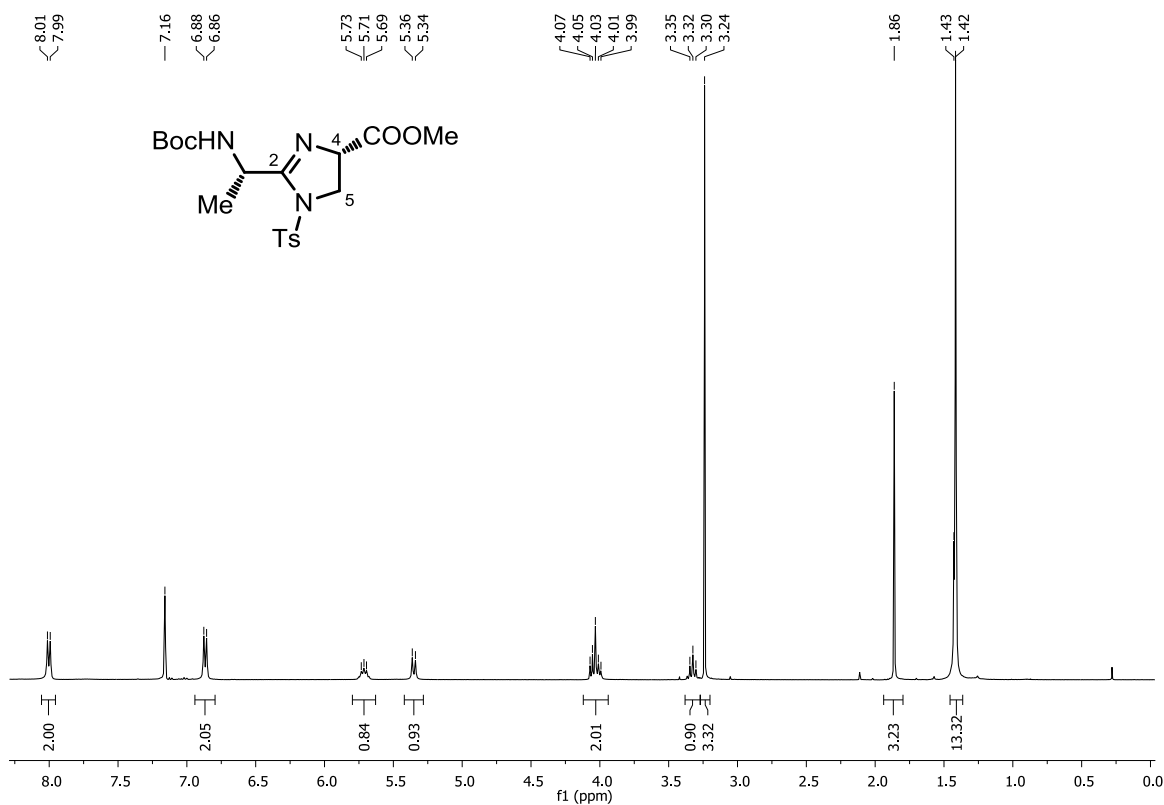


Abb. 34: ¹H-NMR Spektrum von Imidazolin **65g** (400 MHz, Benzol-d₆).

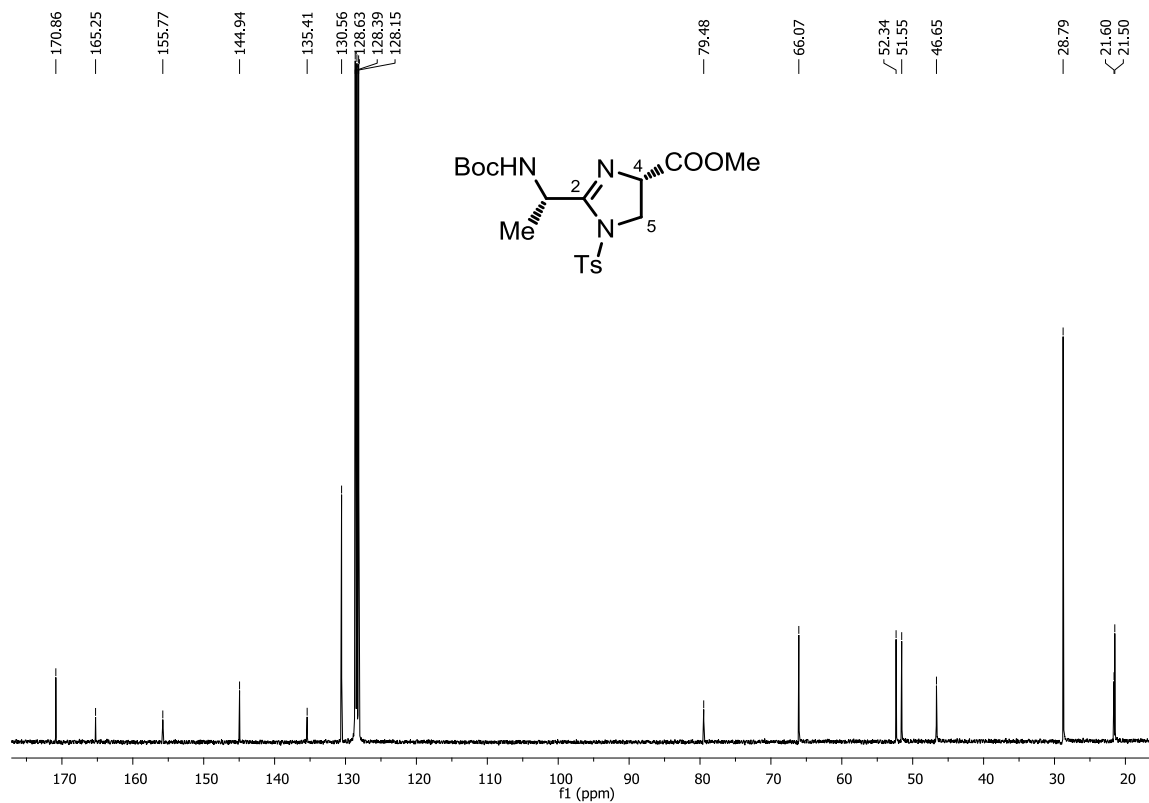


Abb. 35: ¹³C-NMR Spektrum von Imidazolin **65g** (100 MHz, Benzol-d₆).

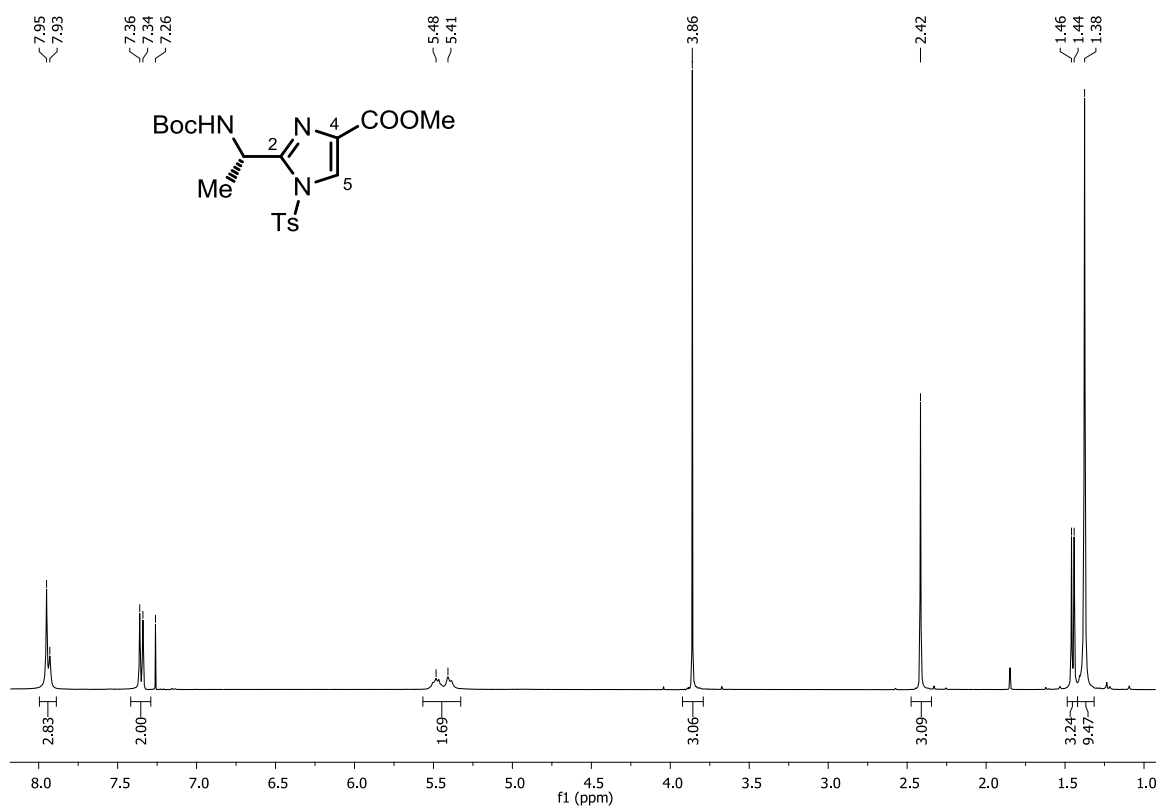


Abb. 36: ¹H-NMR Spektrum von Tosylimidazol **66g** (400 MHz, CDCl₃).

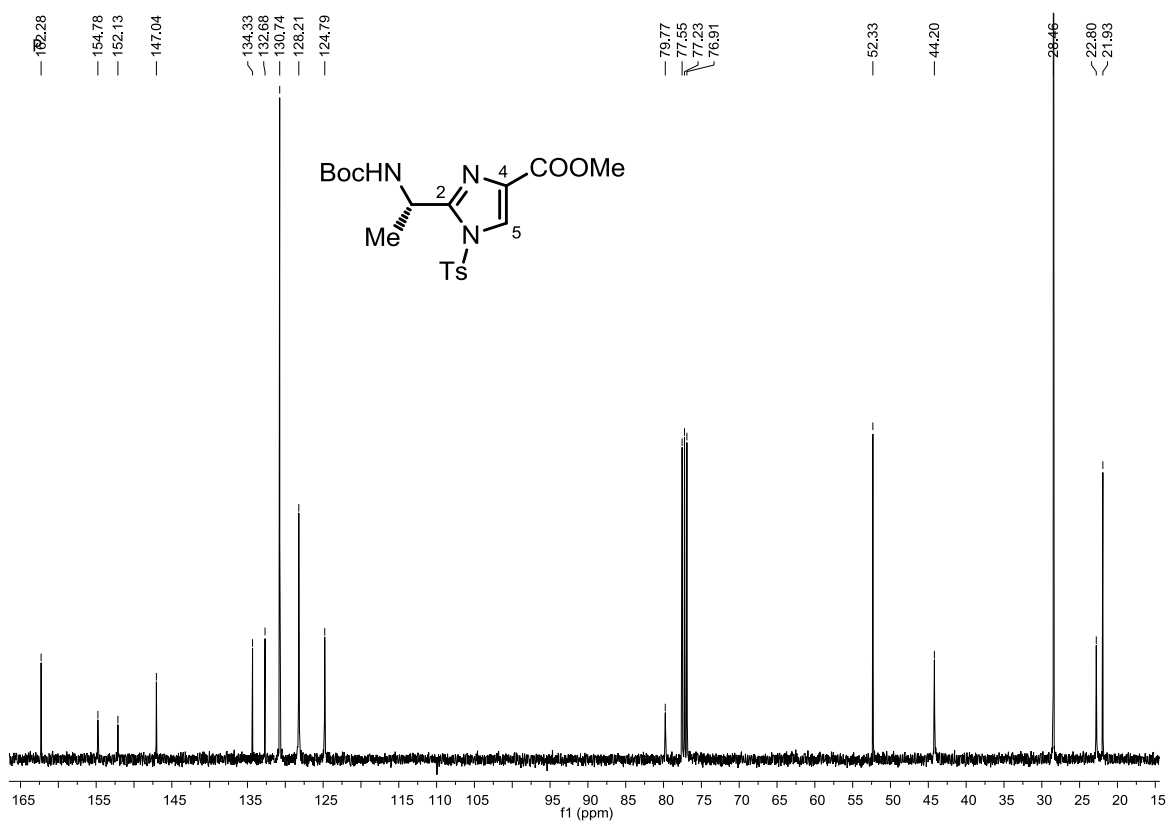


Abb. 37: ¹³C-NMR Spektrum von Tosylimidazol **66g** (100 MHz, CDCl₃).

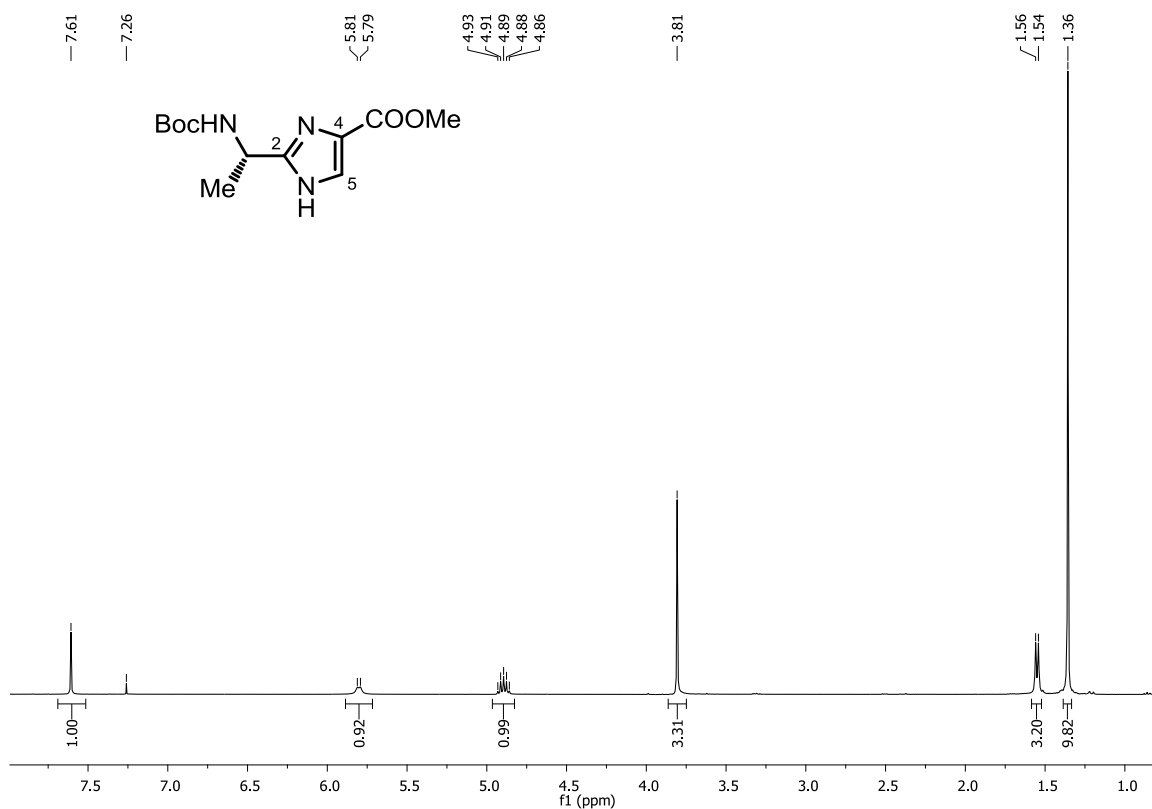


Abb. 38: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Imidazol **70** (400 MHz, CDCl_3).

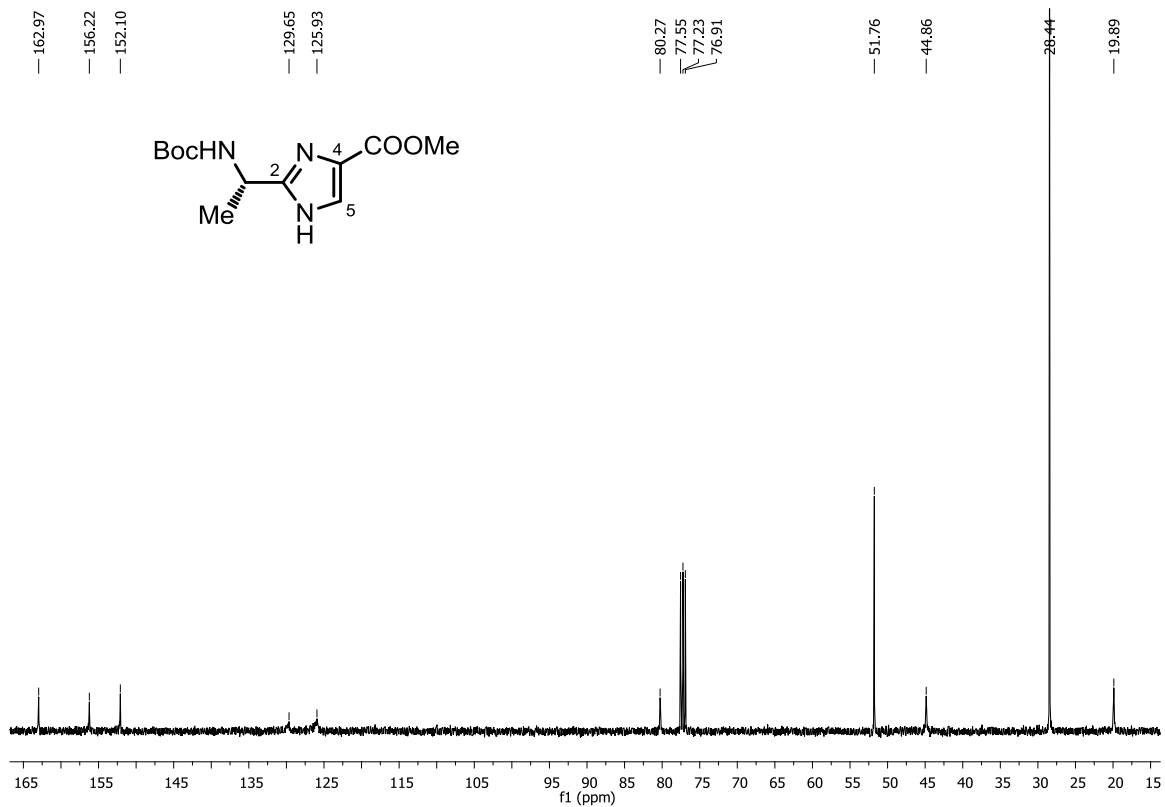


Abb. 39: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von Imidazol **70** (100 MHz, CDCl_3).

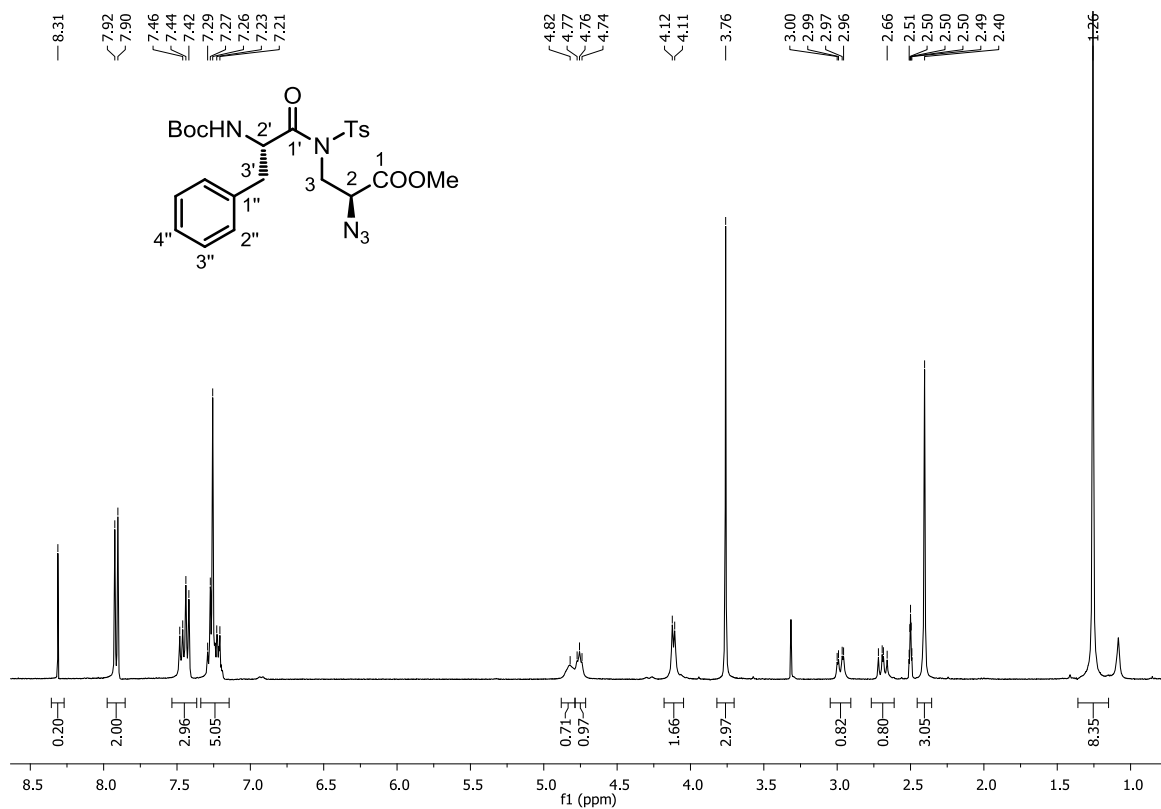


Abb. 40: ¹H-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64f** (400 MHz, DMSO-d₆).

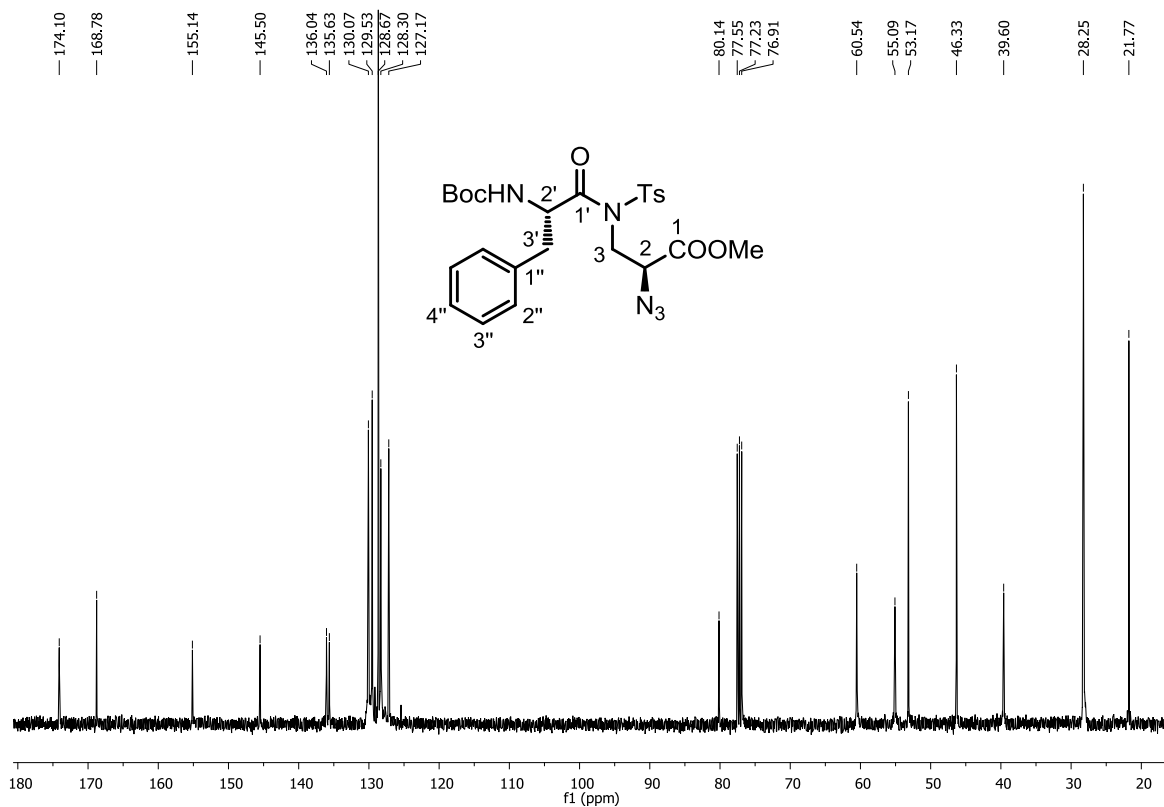


Abb. 41: ¹³C-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64f** (100 MHz, CDCl₃).

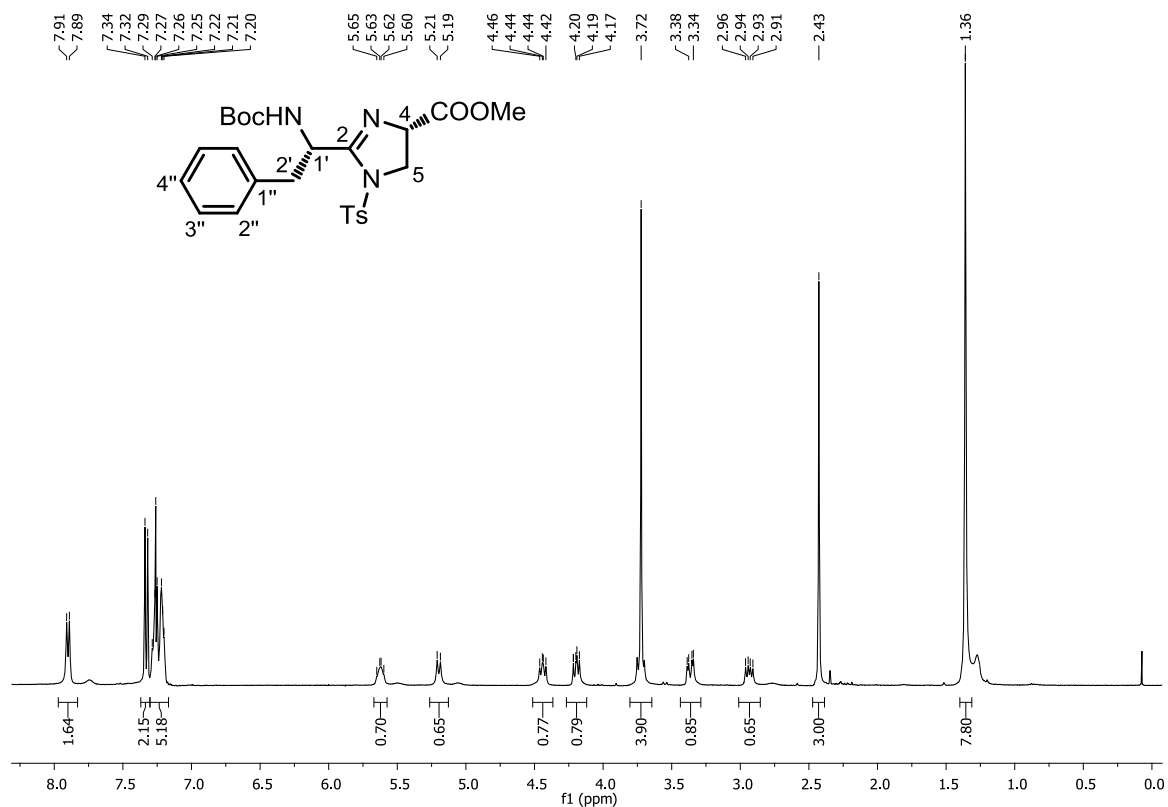


Abb. 42: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Imidazolin **65f** (400 MHz, CDCl_3).

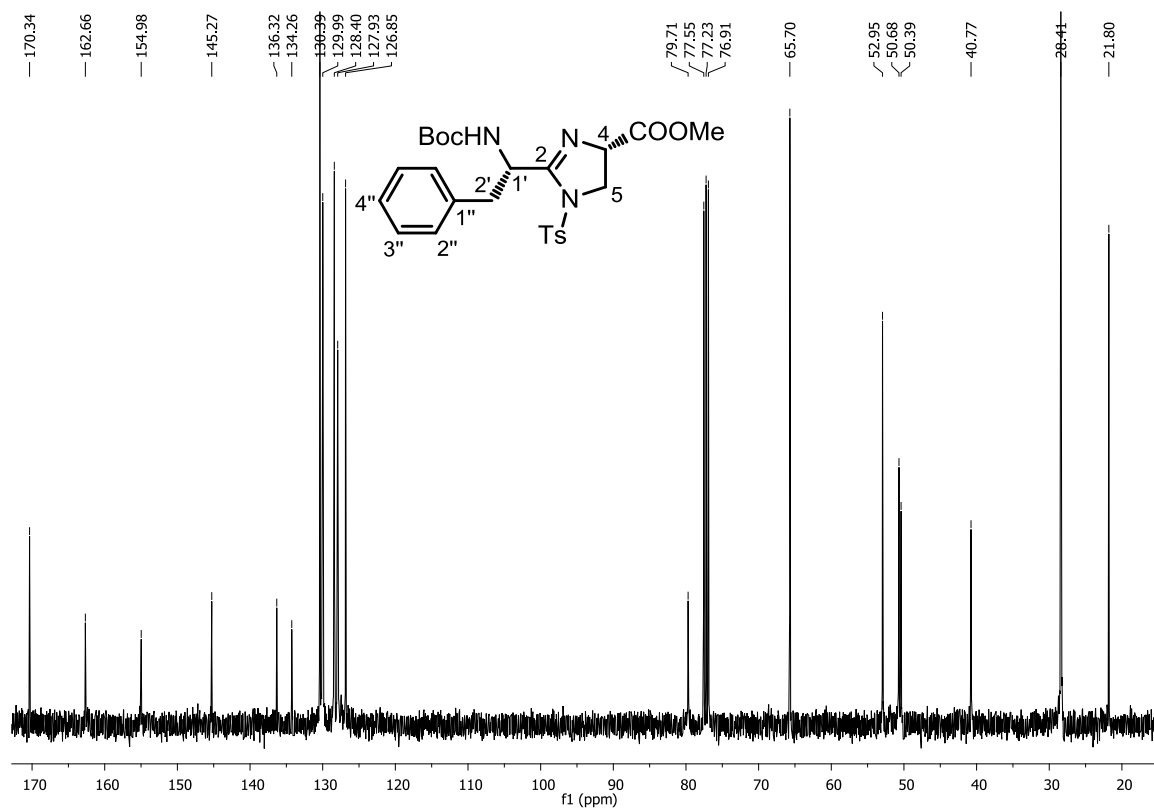


Abb. 43: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von Imidazolin **65f** (100 MHz, CDCl_3).

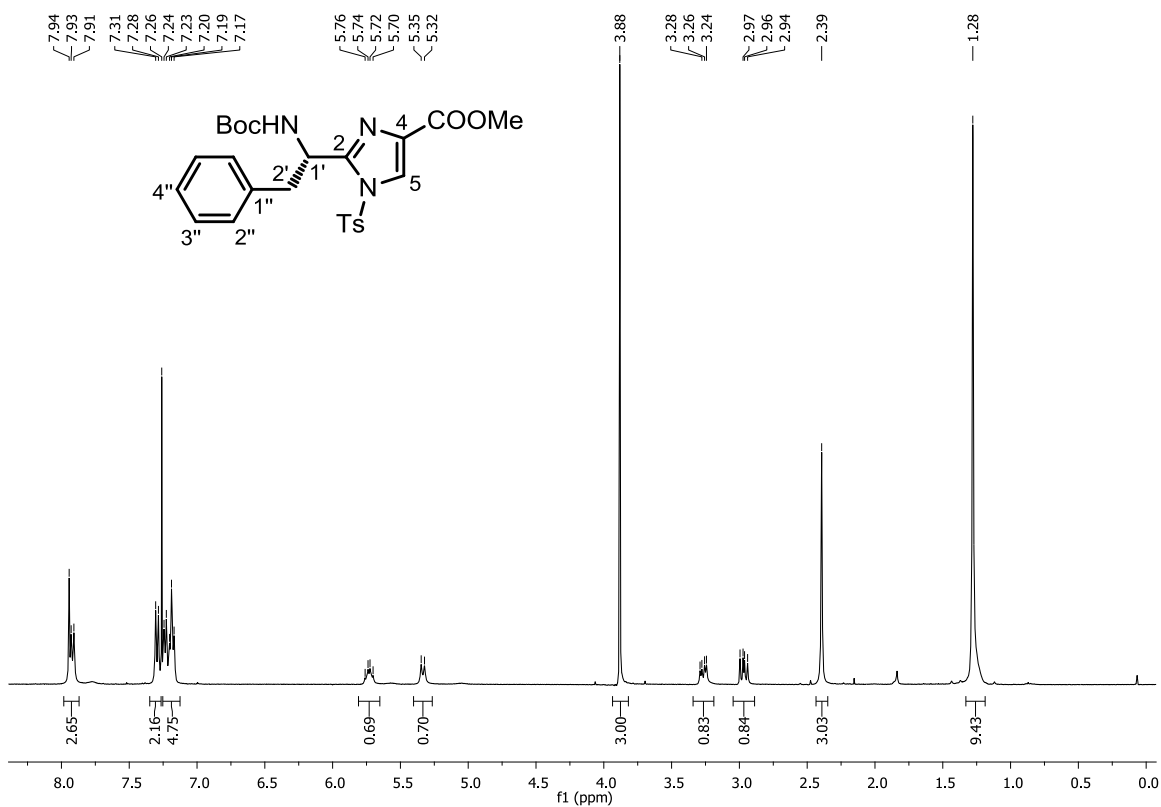


Abb. 44: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Imidazol **66f** (400 MHz, CDCl_3).

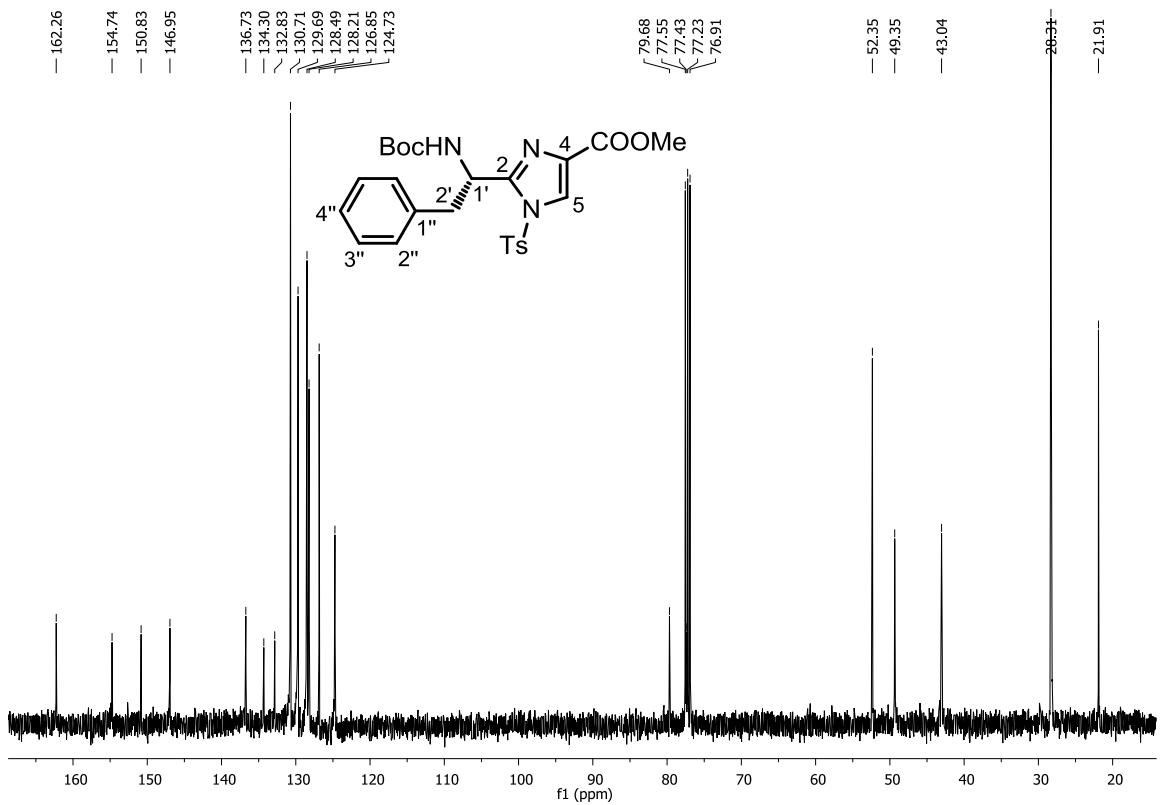


Abb. 45: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von Imidazol **66f** (100 MHz, CDCl_3).

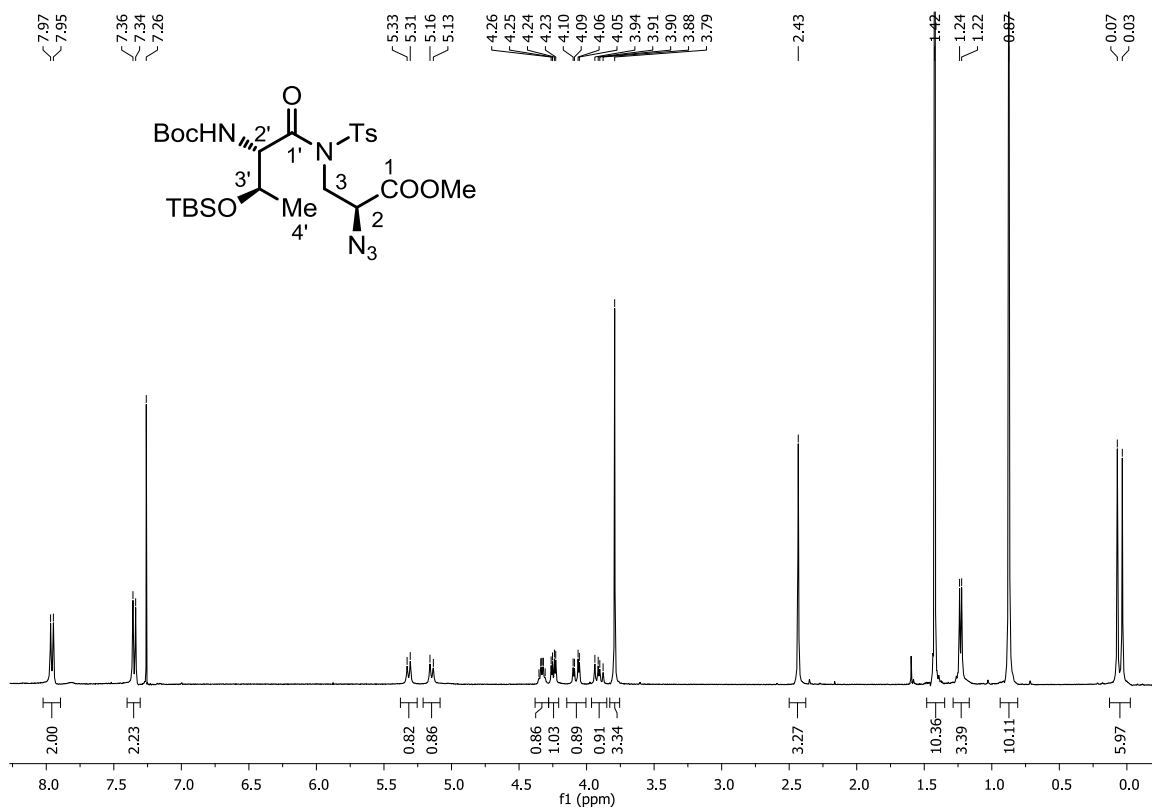


Abb. 46: ¹H-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64a** (400 MHz, CDCl₃).

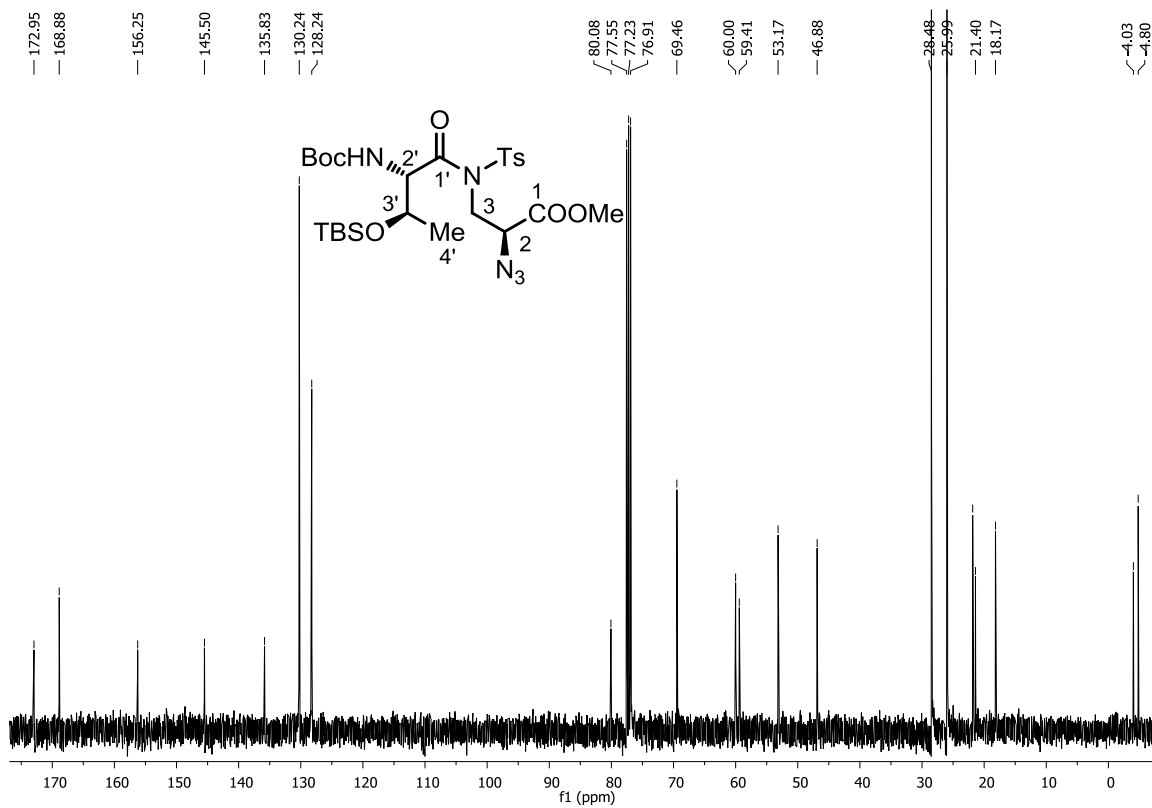


Abb. 47: ¹³C-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64a** (100 MHz, CDCl₃).

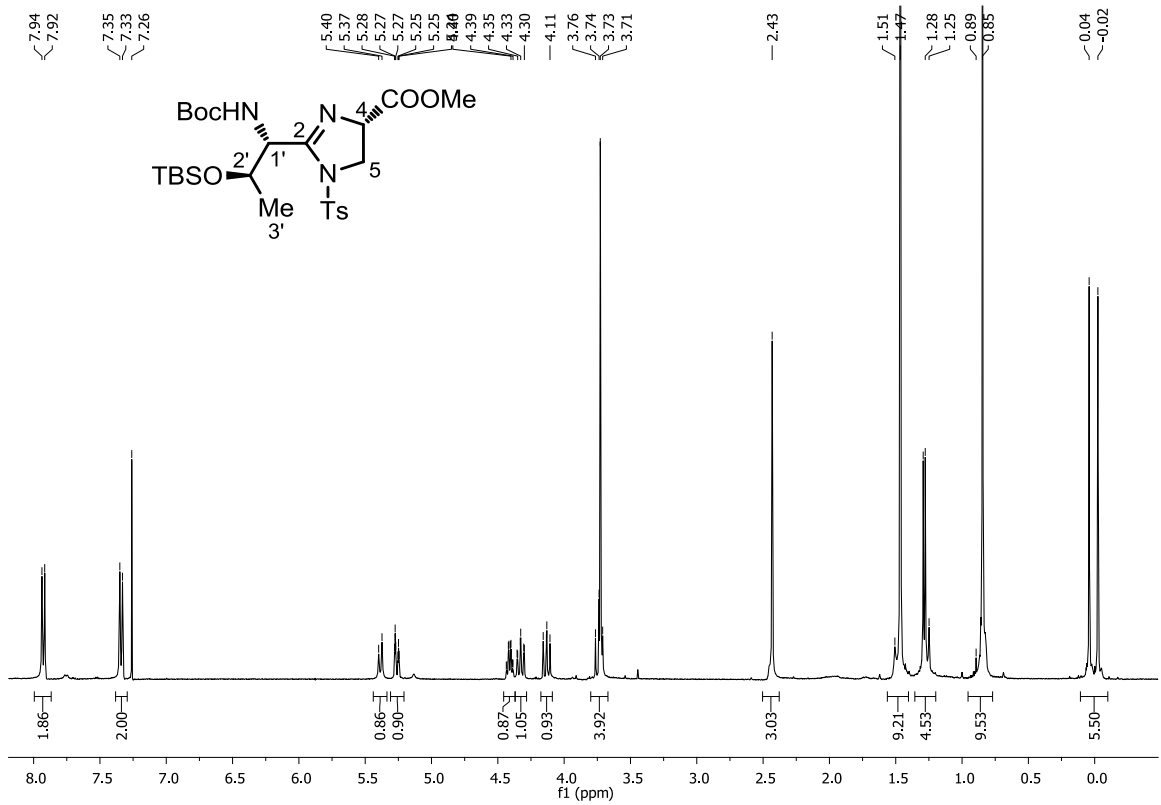


Abb. 48: ^1H -NMR Spektrum von Imidazolin **65a** (400 MHz, CDCl_3).

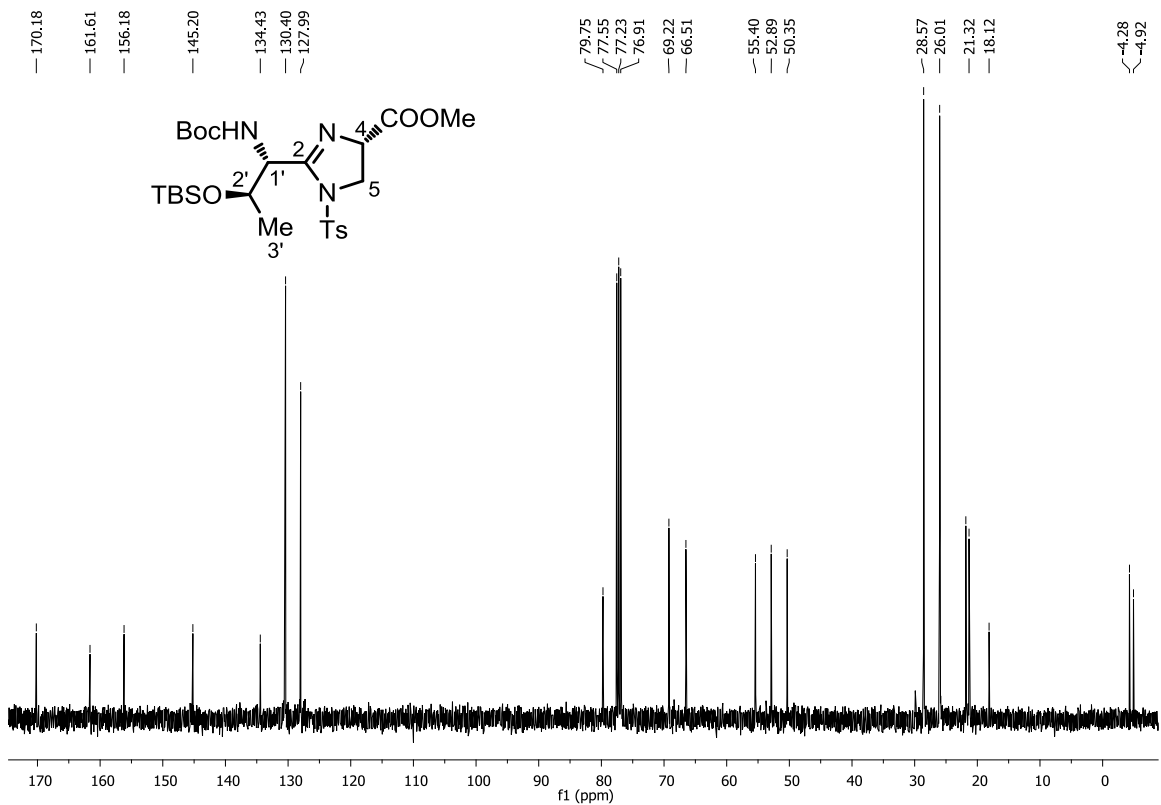


Abb. 49: ^{13}C -NMR Spektrum von Imidazolin **65a** (100 MHz, CDCl_3).

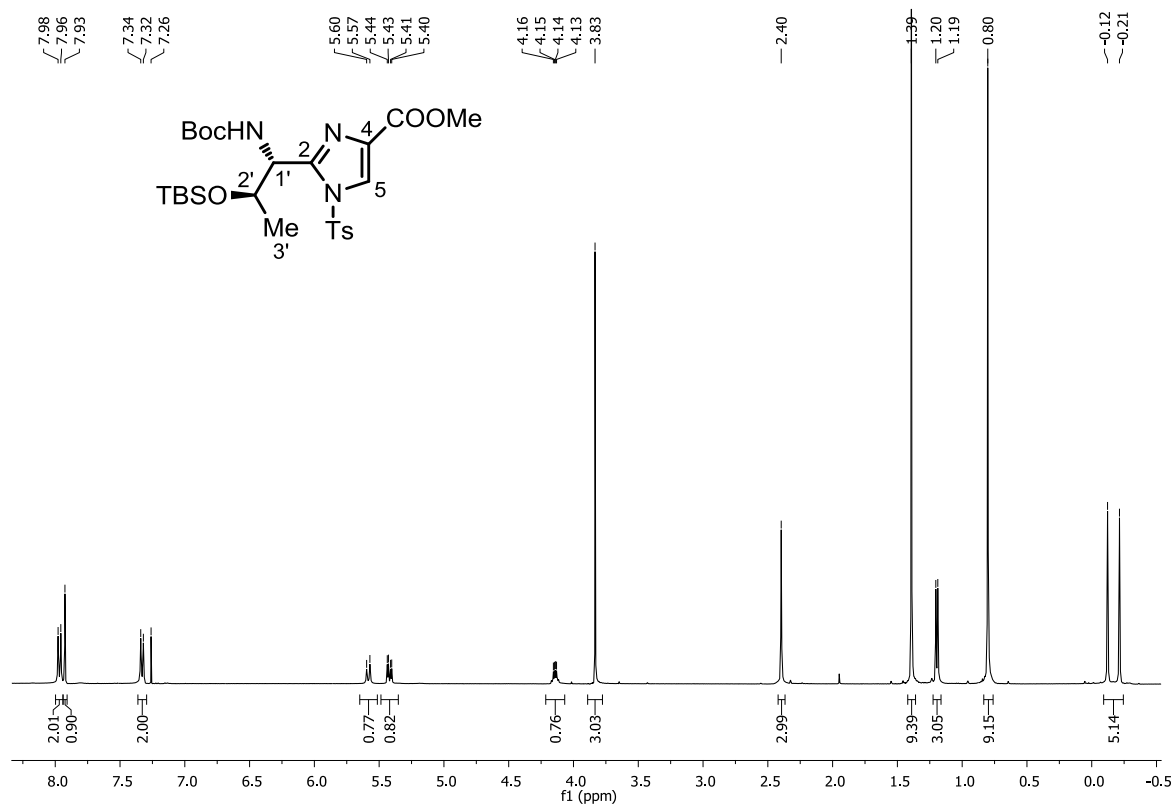


Abb. 50: ^1H -NMR Spektrum von Imidazol **66a** (400 MHz, CDCl_3).

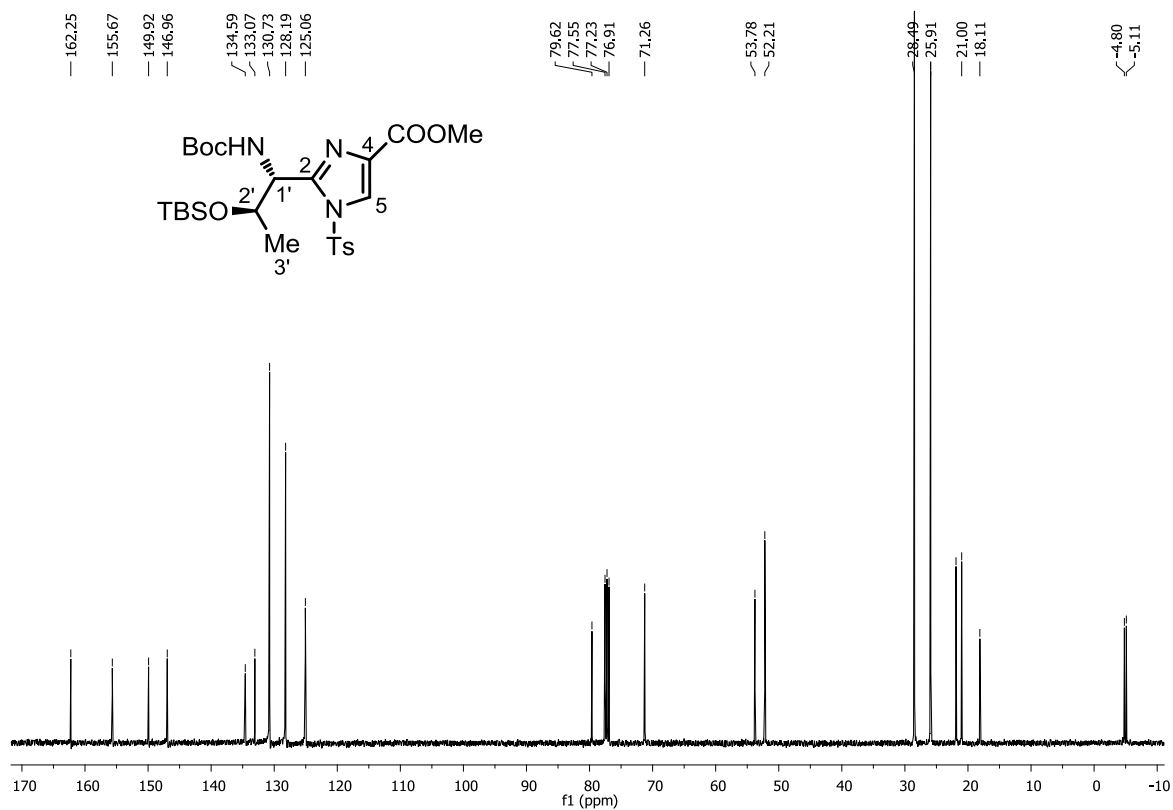


Abb. 51: ^{13}C -NMR Spektrum von Imidazol **66a** (100 MHz, CDCl_3).

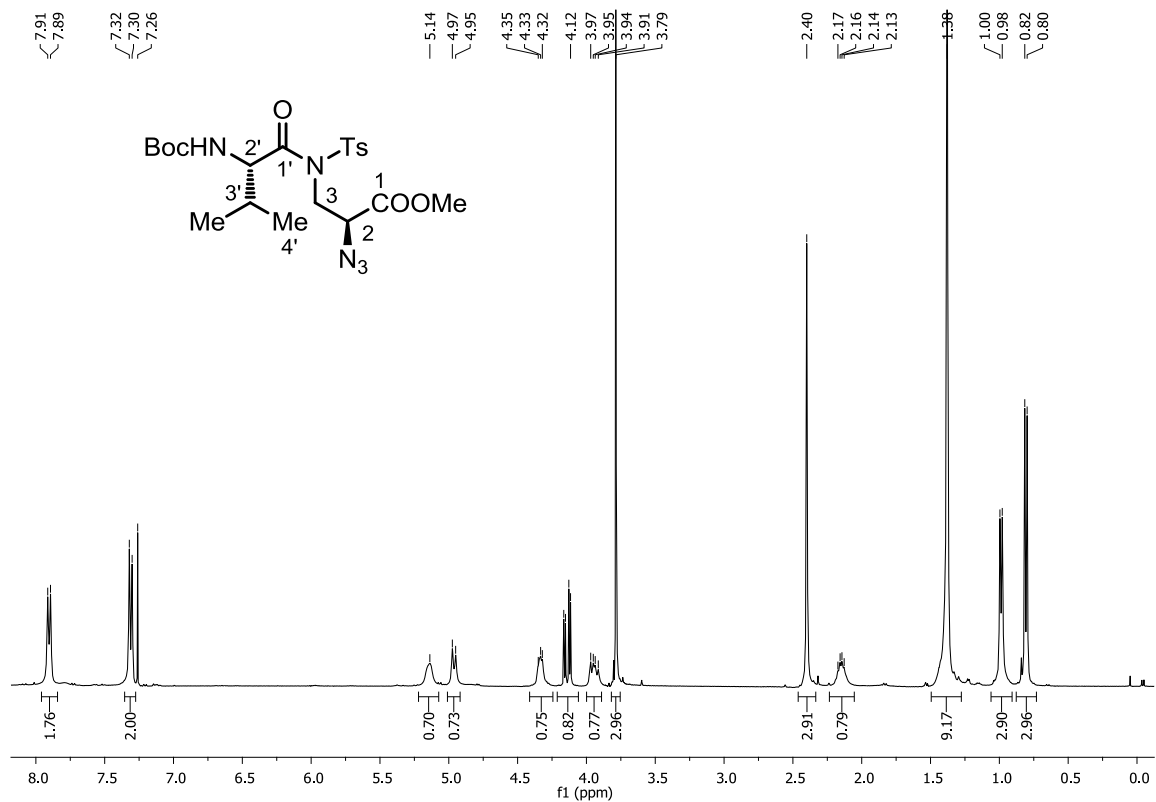


Abb. 52: ¹H-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64c** (400 MHz, CDCl₃).

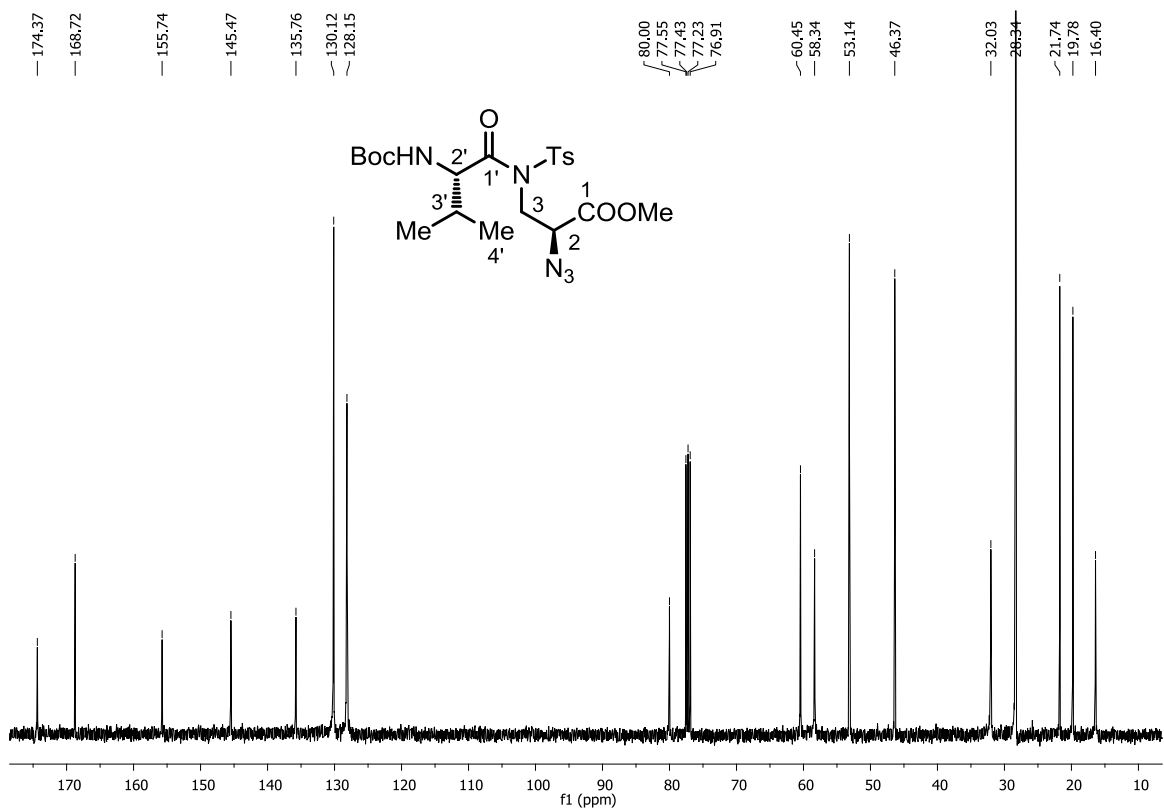


Abb. 53: ¹³C-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64c** (100 MHz, CDCl₃).

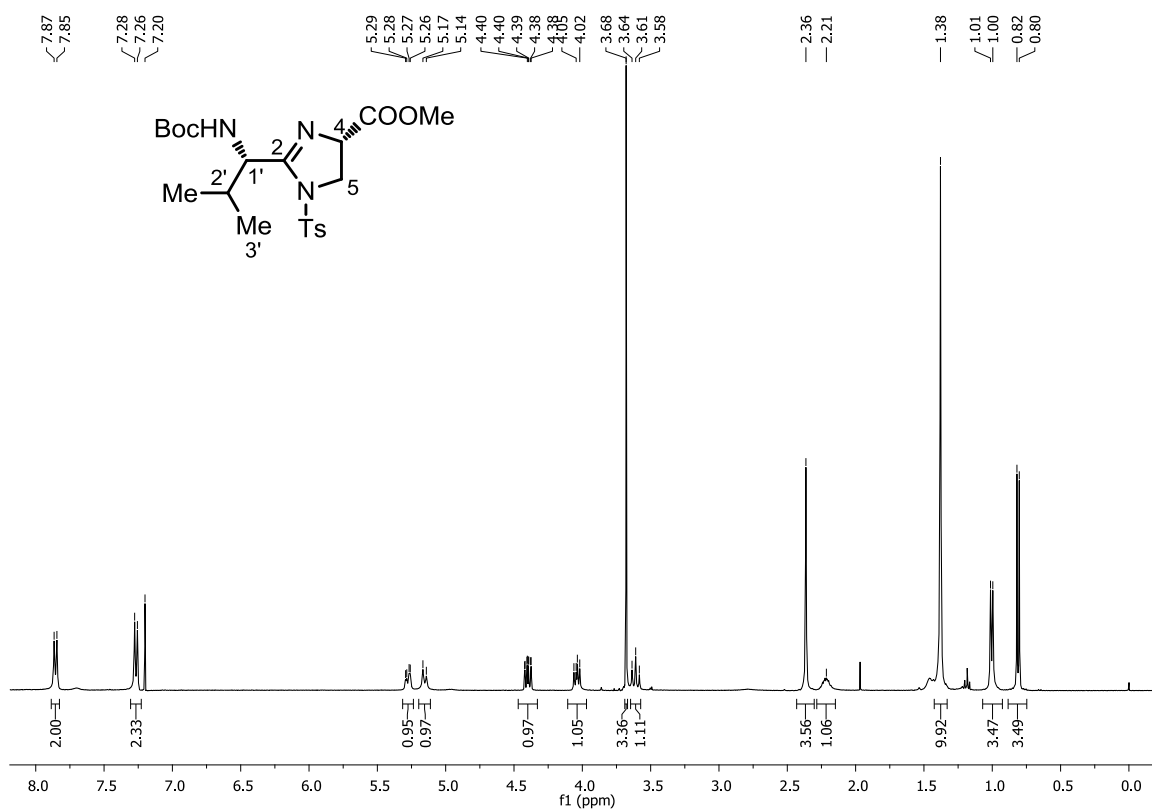


Abb. 54: ¹H-NMR Spektrum von Imidazolin 65c (400 MHz, CDCl₃).

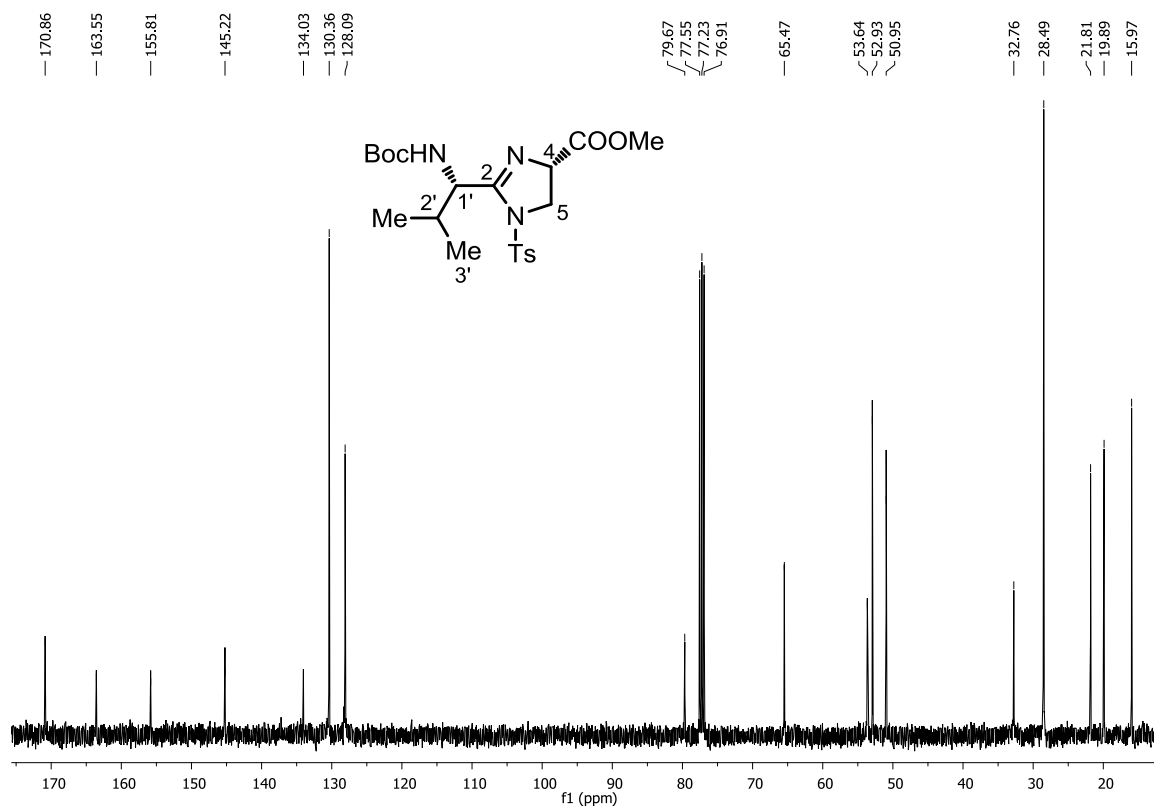


Abb. 55: ¹³C-NMR Spektrum von Imidazolin 65c (100 MHz, CDCl₃).

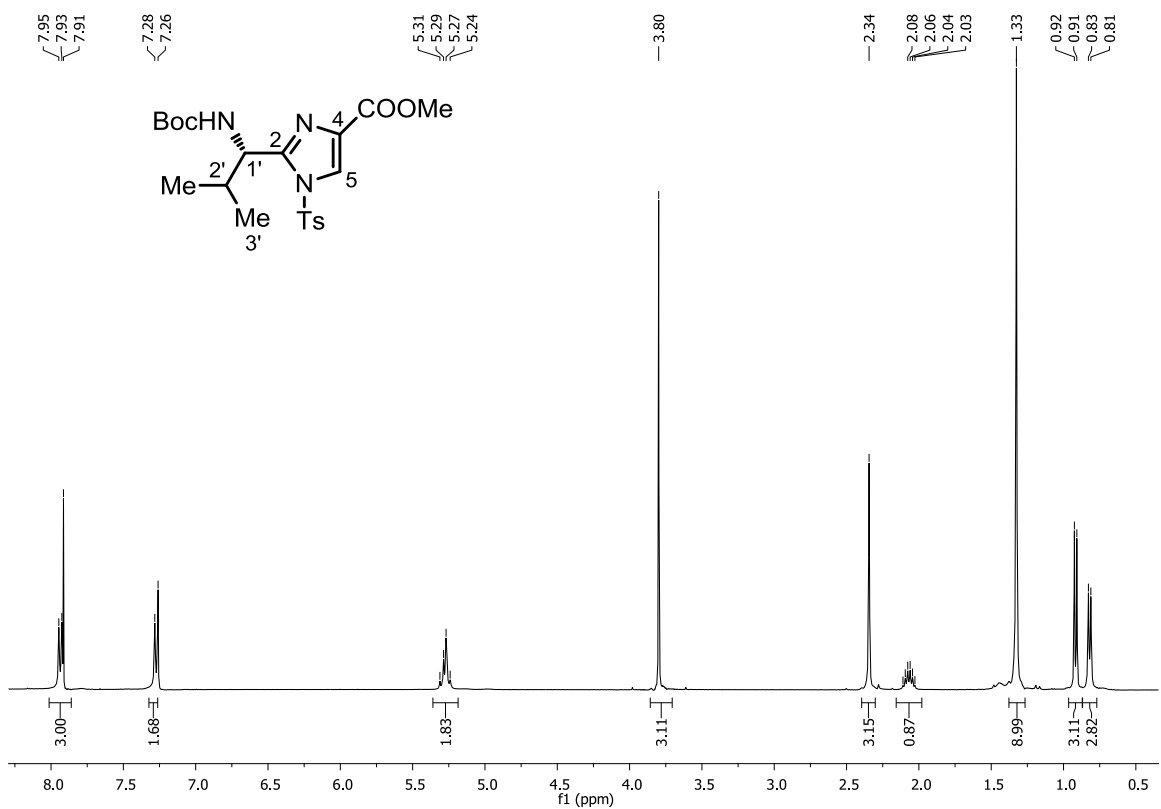


Abb. 56: ¹H-NMR Spektrum von Imidazol 66c (400 MHz, CDCl₃).

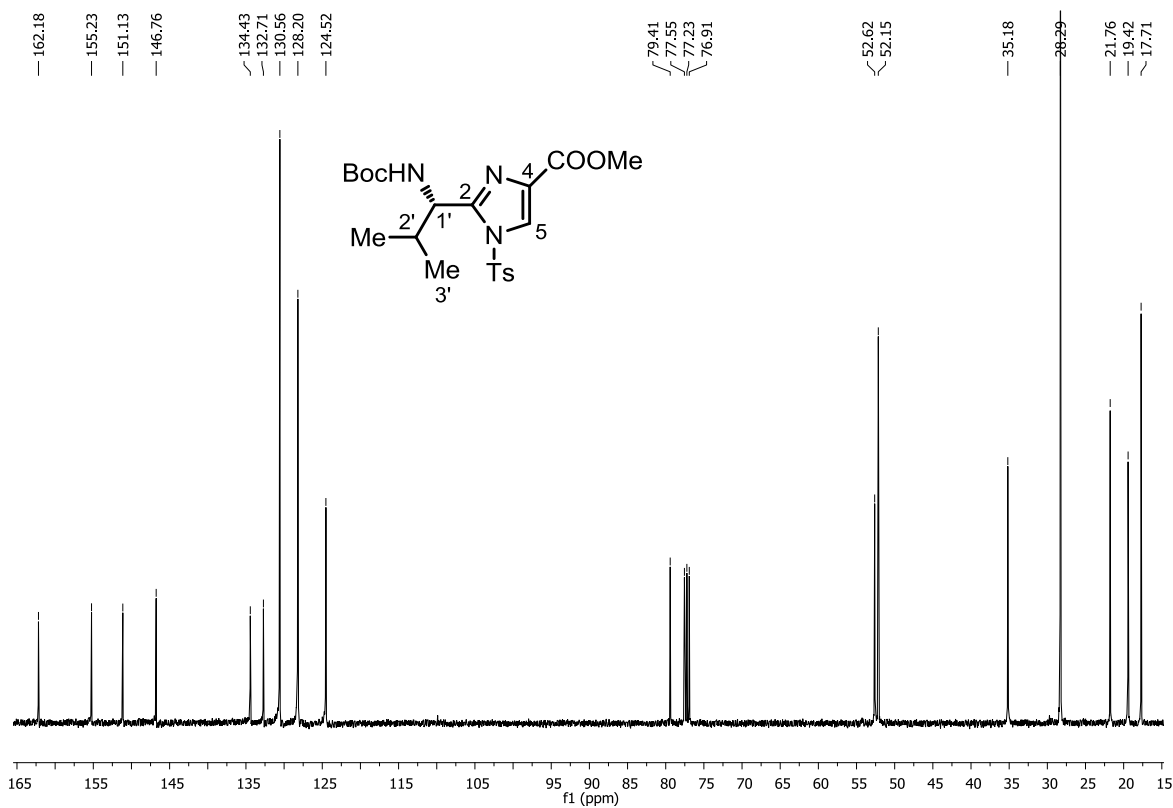


Abb. 57: ¹³C-NMR Spektrum von Imidazol 66c (100 MHz, CDCl₃).

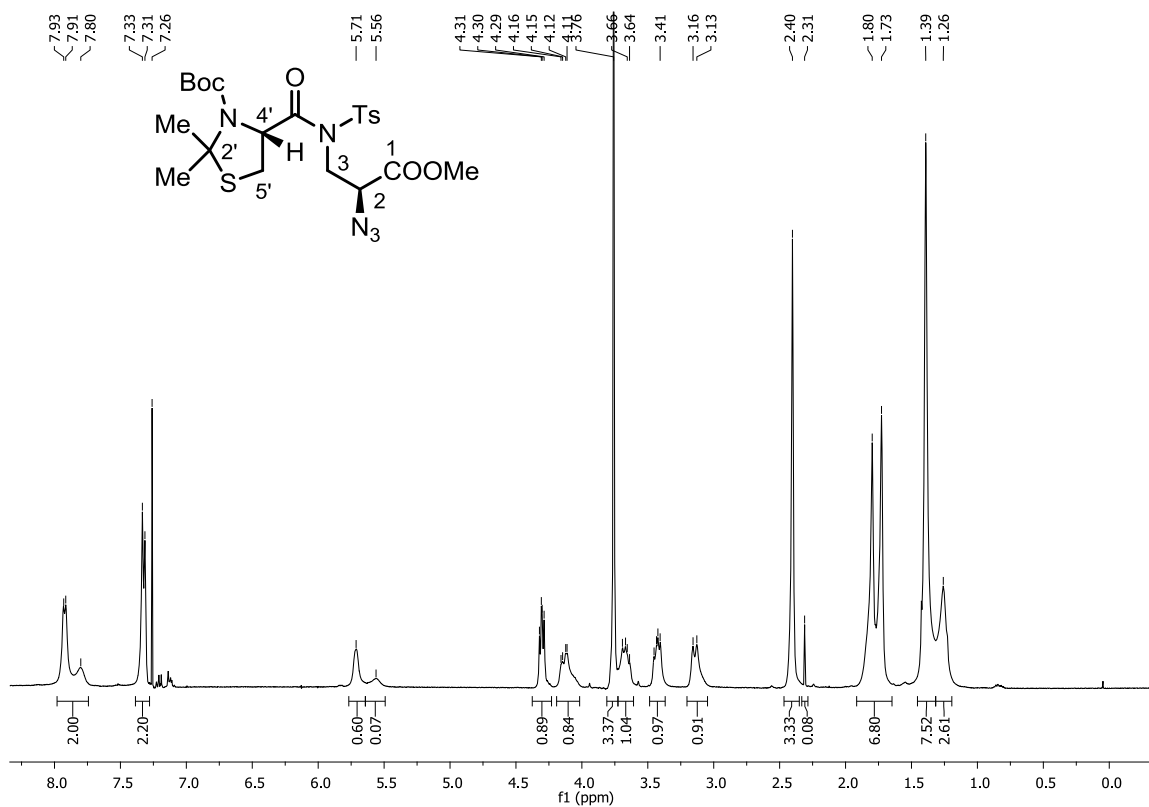


Abb. 58: ^1H -NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64b** (400 MHz, CDCl_3).

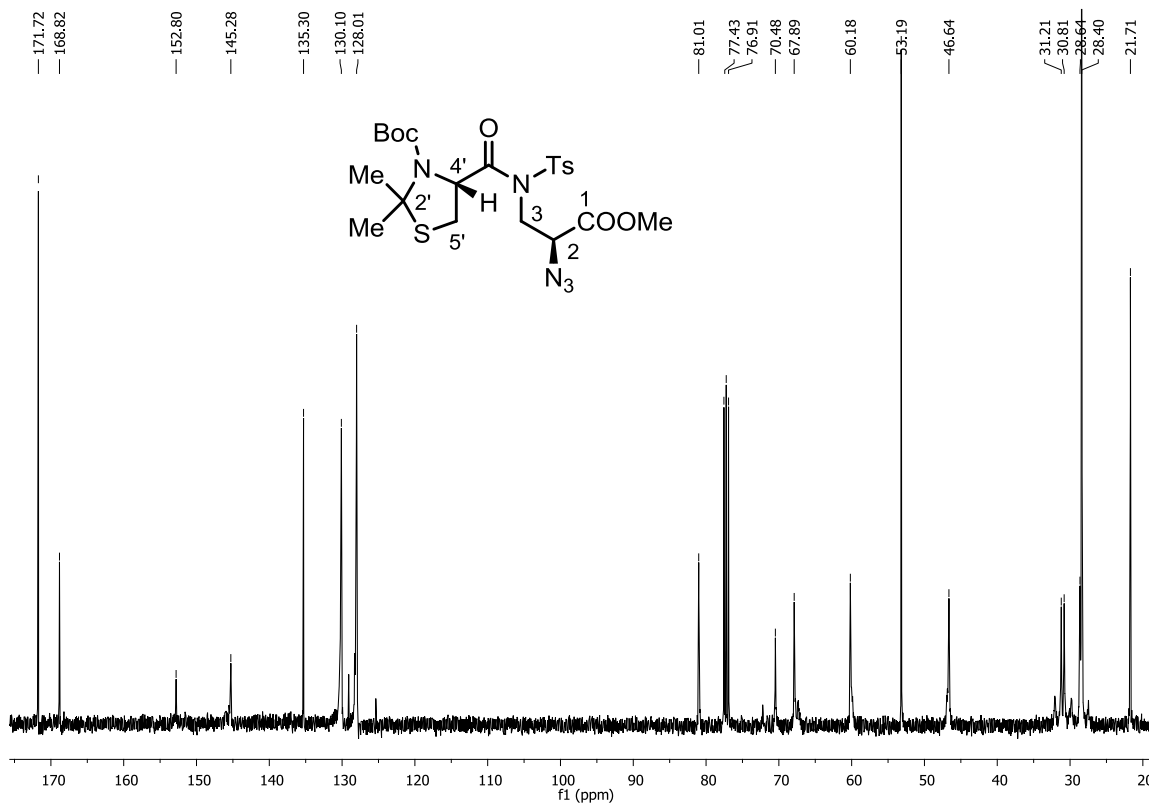


Abb. 59: ^{13}C -NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64b** (100 MHz, CDCl_3).

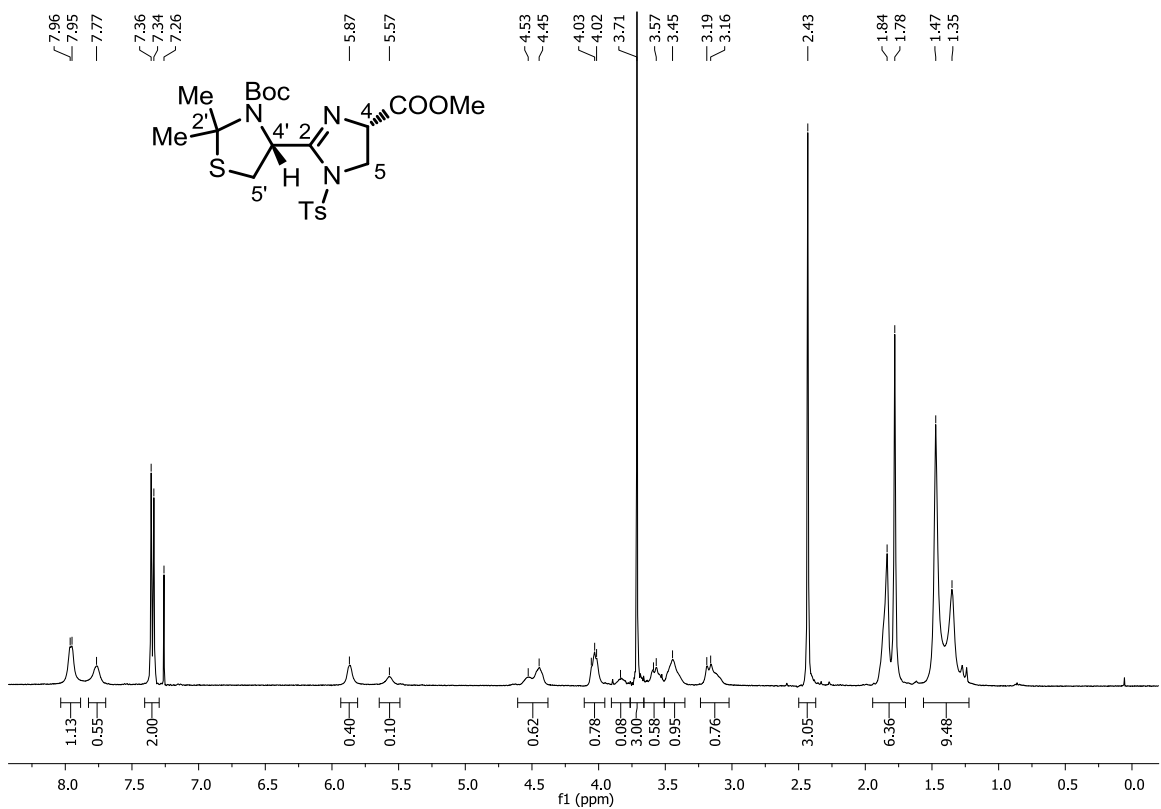


Abb. 60: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Imidazolin **65b** (400 MHz, CDCl_3).

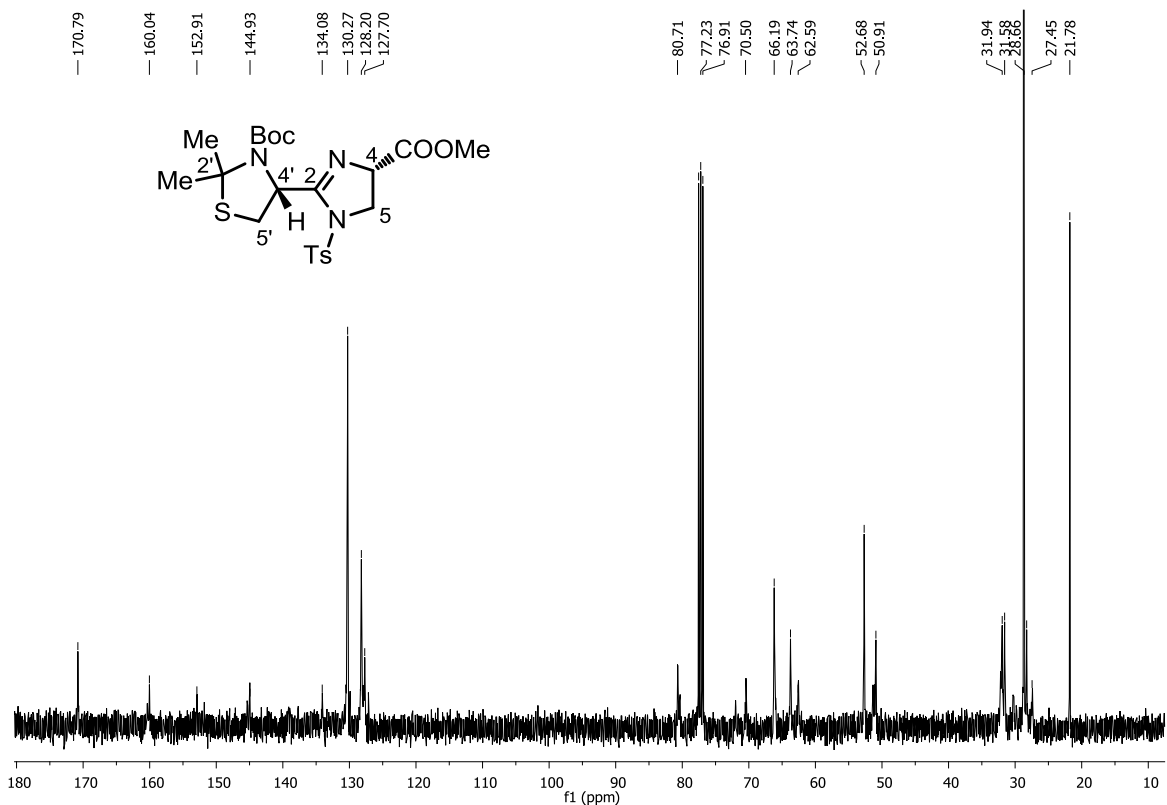


Abb. 61: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von Imidazolin **65b** (100 MHz, CDCl_3).

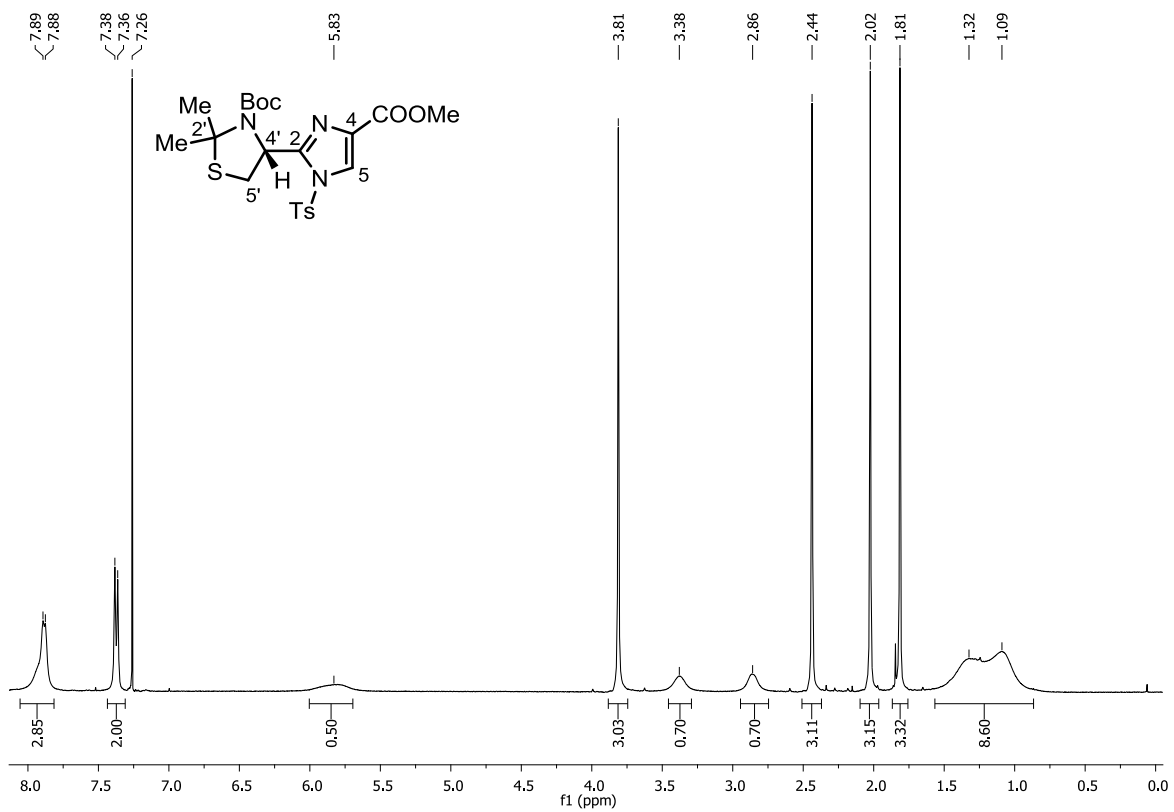


Abb. 62: ¹H-NMR Spektrum von Imidazol **66b** (400 MHz, CDCl₃).

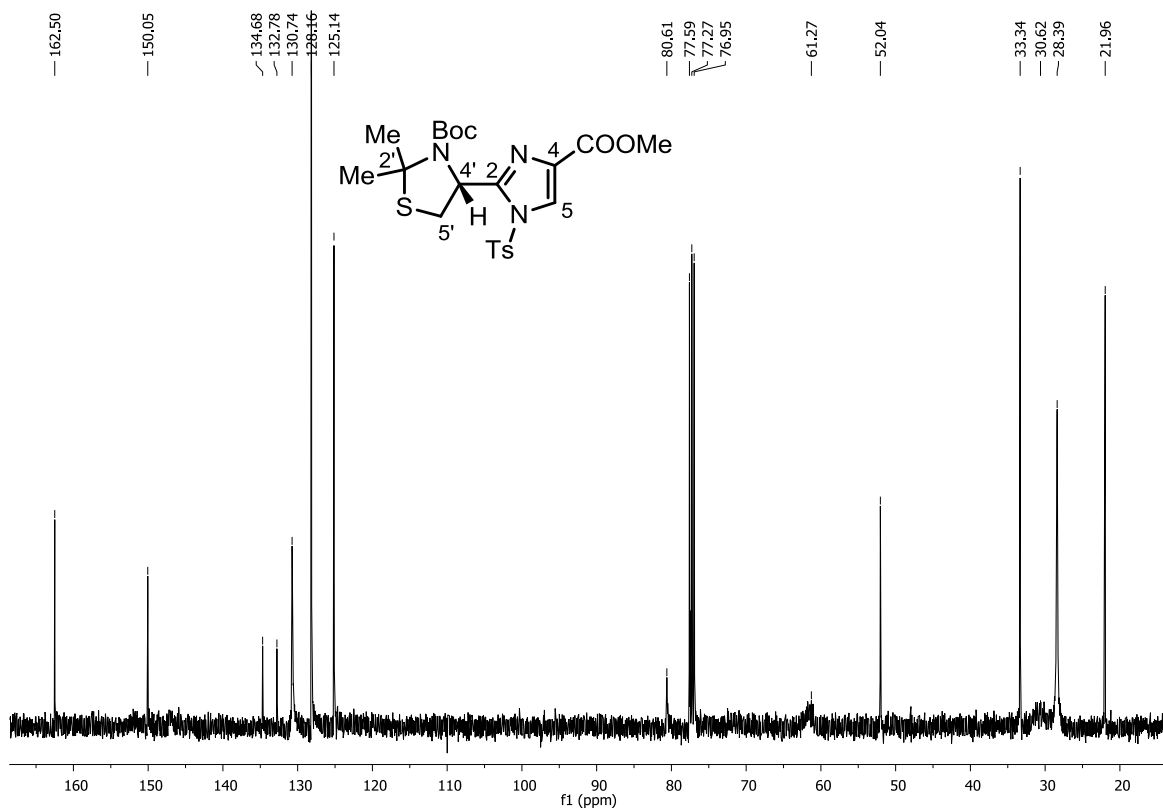


Abb. 63: ¹³C-NMR Spektrum von Imidazol **66b** (100 MHz, CDCl₃).

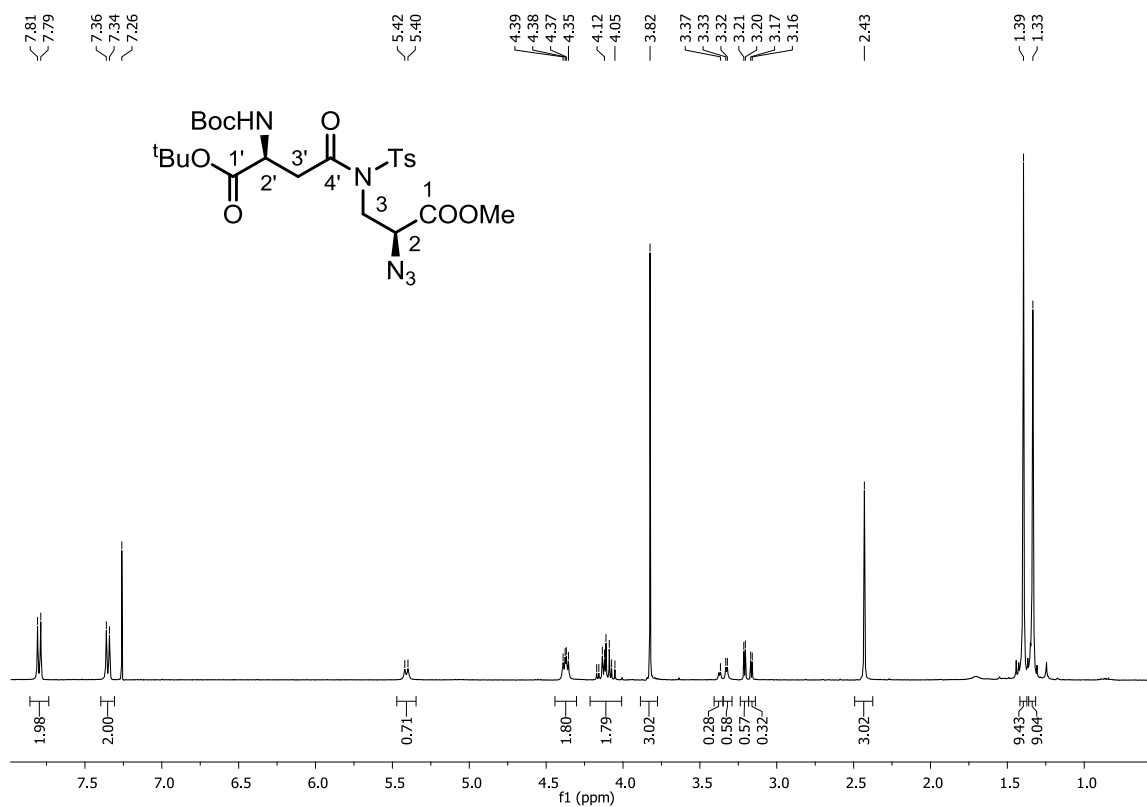


Abb. 64: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64d** (400 MHz, CDCl_3).

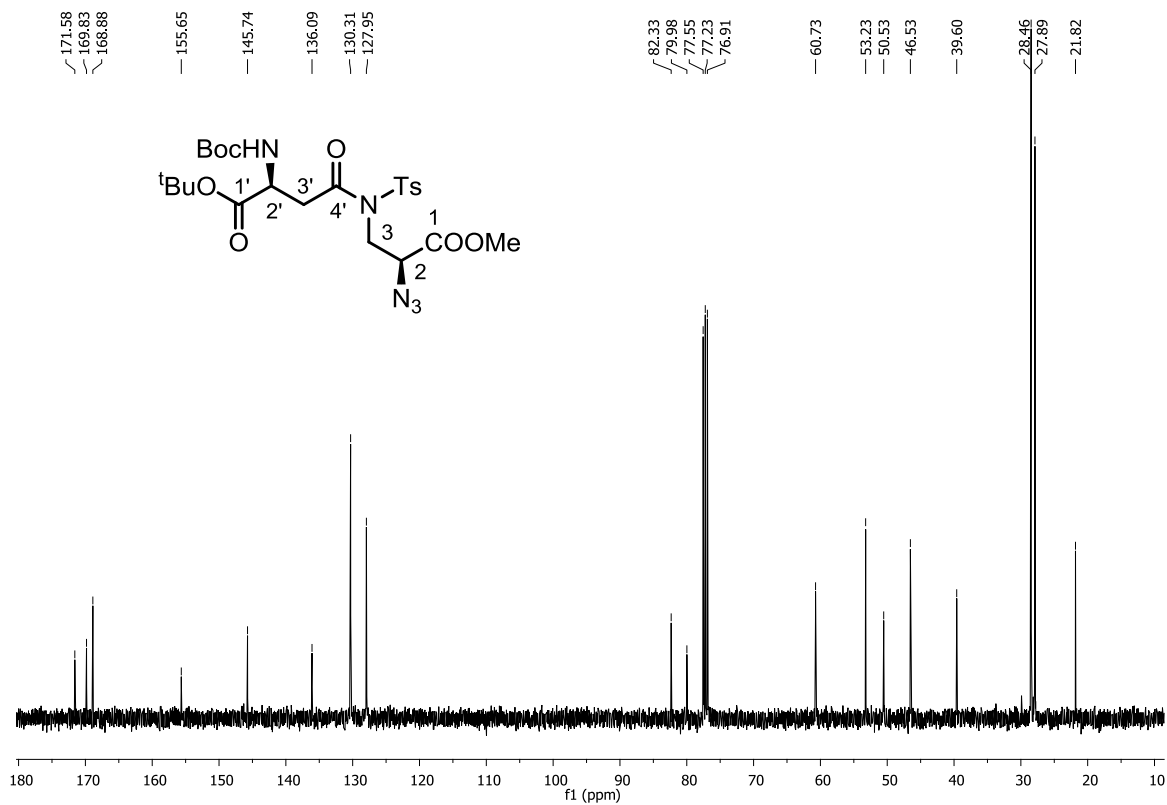


Abb. 65: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64d** (100 MHz, CDCl_3).

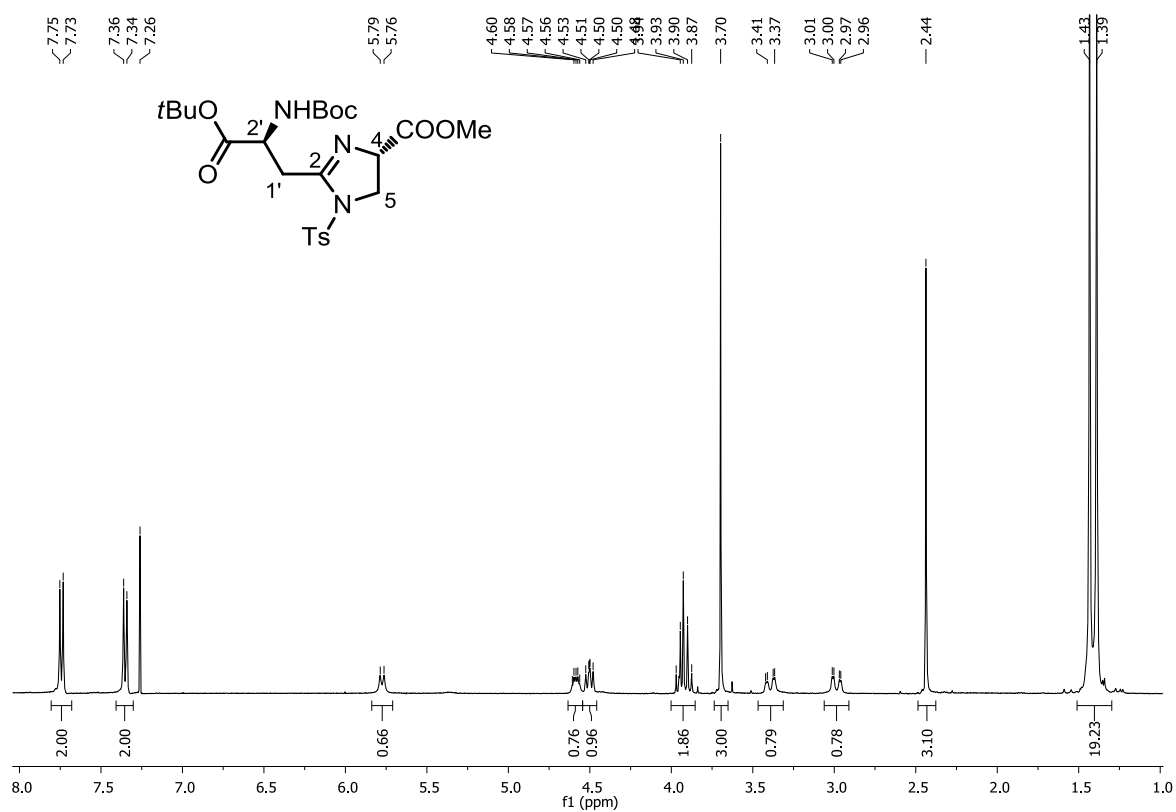


Abb. 66: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Imidazolin **65d** (400 MHz, CDCl_3).

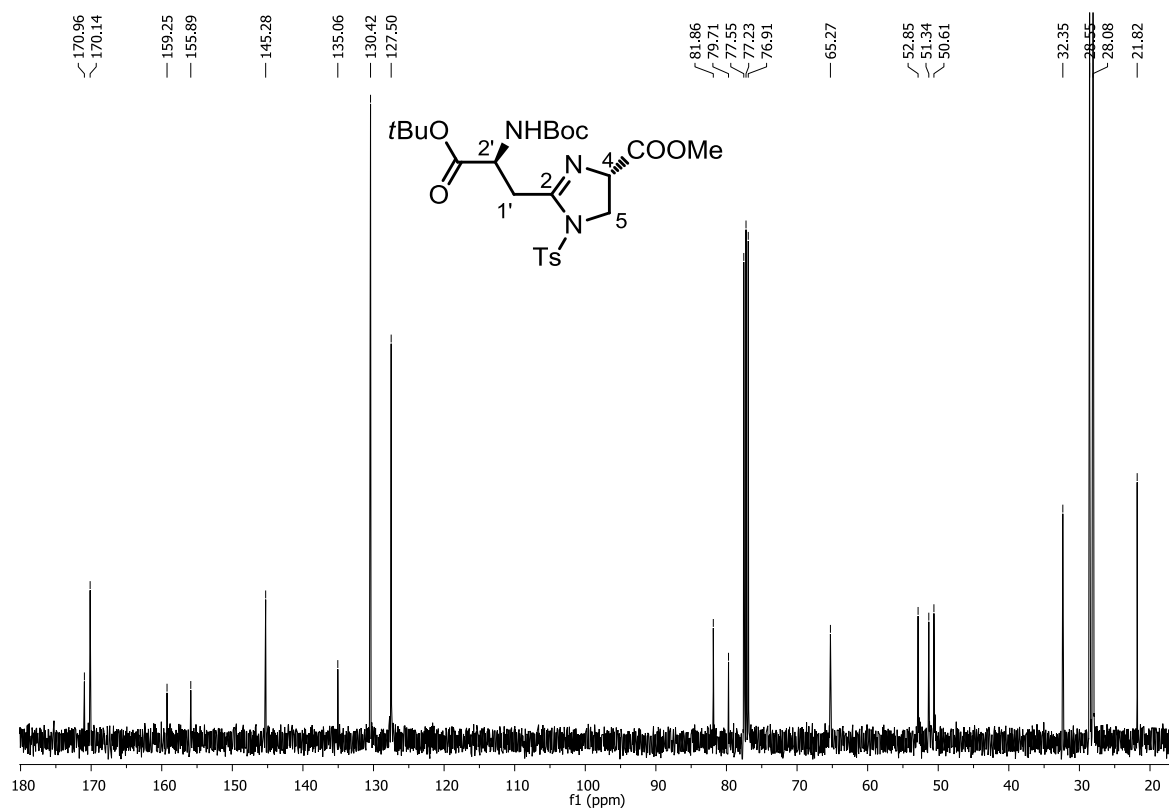


Abb. 67: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von Imidazolin **65d** (100 MHz, CDCl_3).

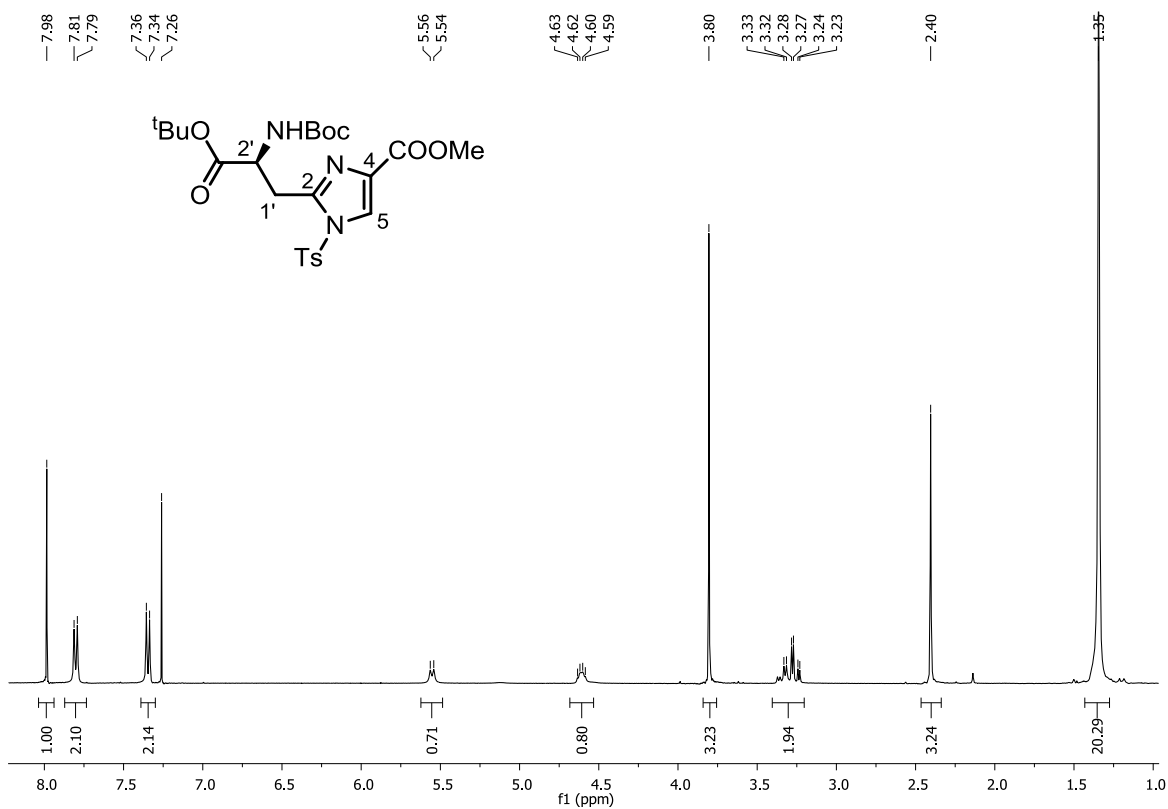


Abb. 68: ¹H-NMR Spektrum von Imidazol **66d** (400 MHz, CDCl₃).

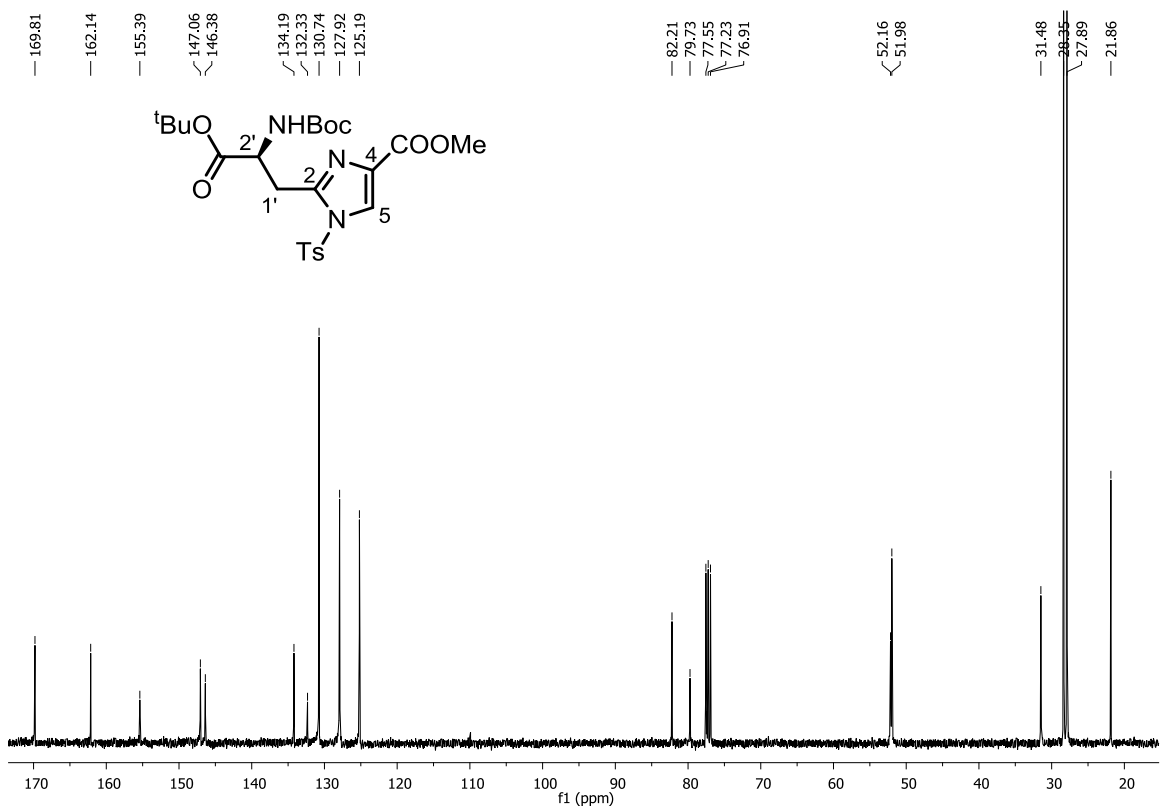


Abb. 69: ¹³C-NMR Spektrum von Imidazol **66d** (100 MHz, CDCl₃).

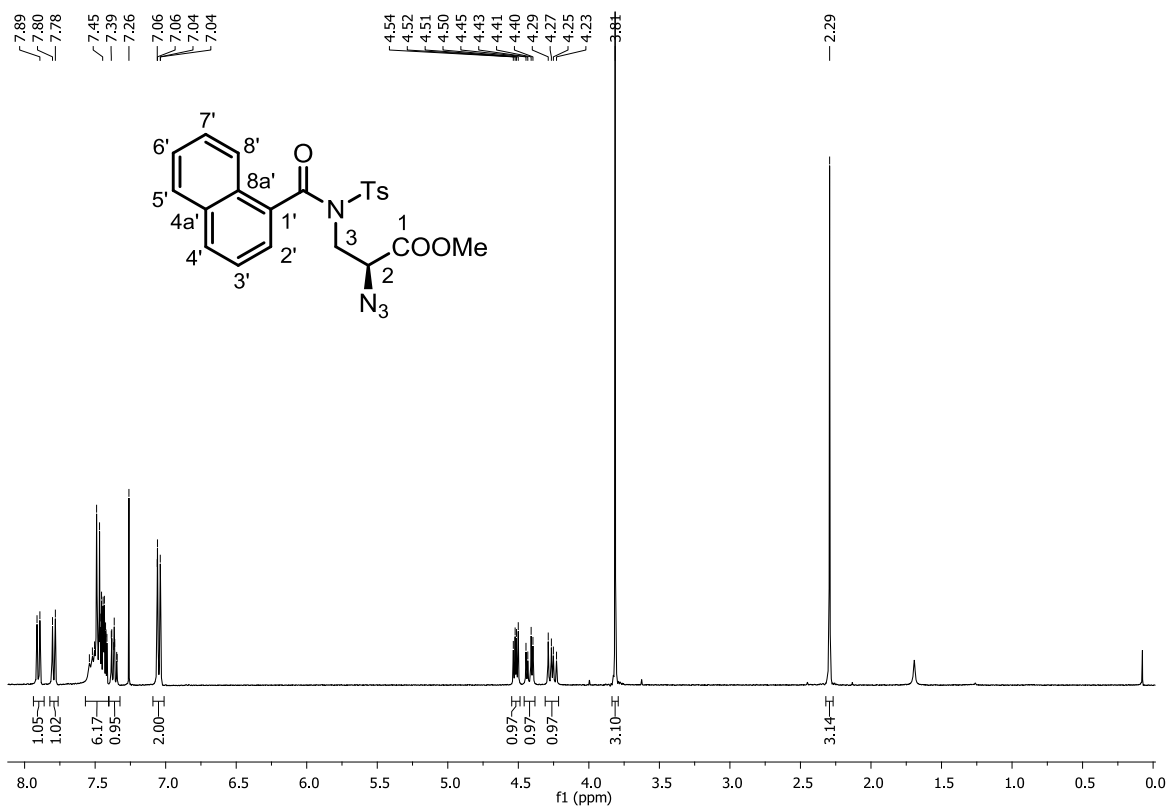


Abb. 70: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64e** (400 MHz, CDCl_3).

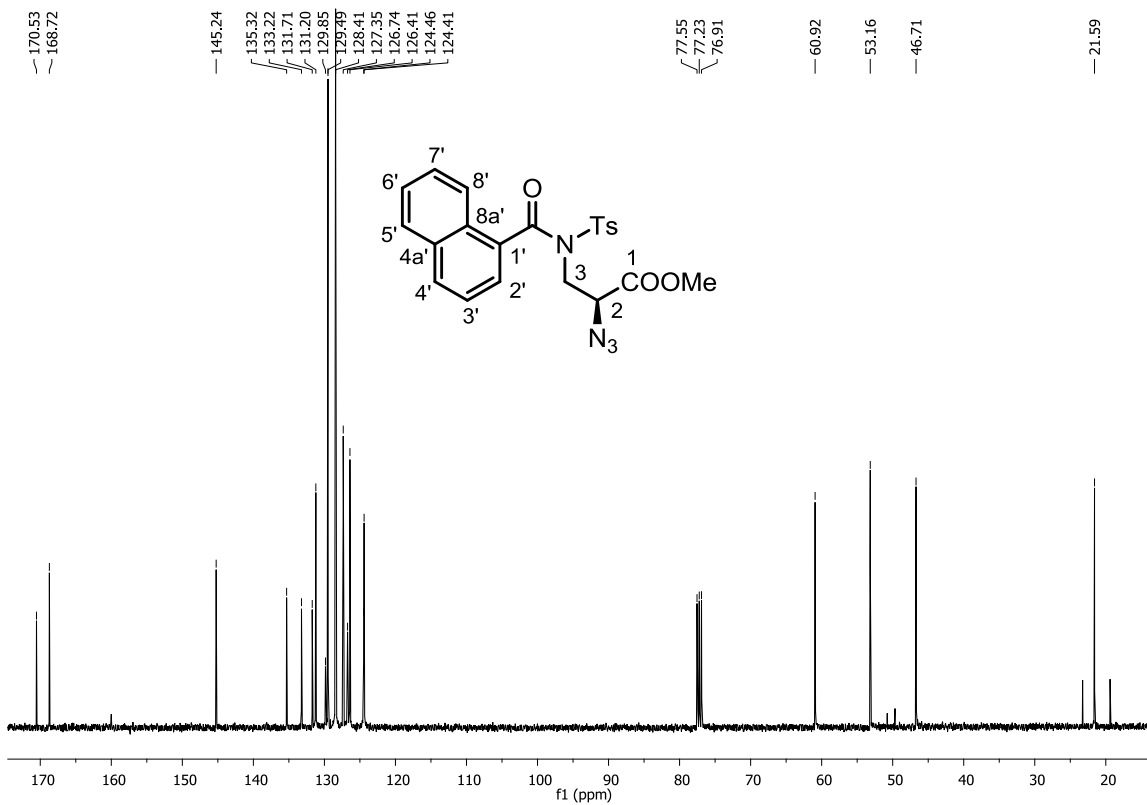


Abb. 71: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **64e** (100 MHz, CDCl_3).

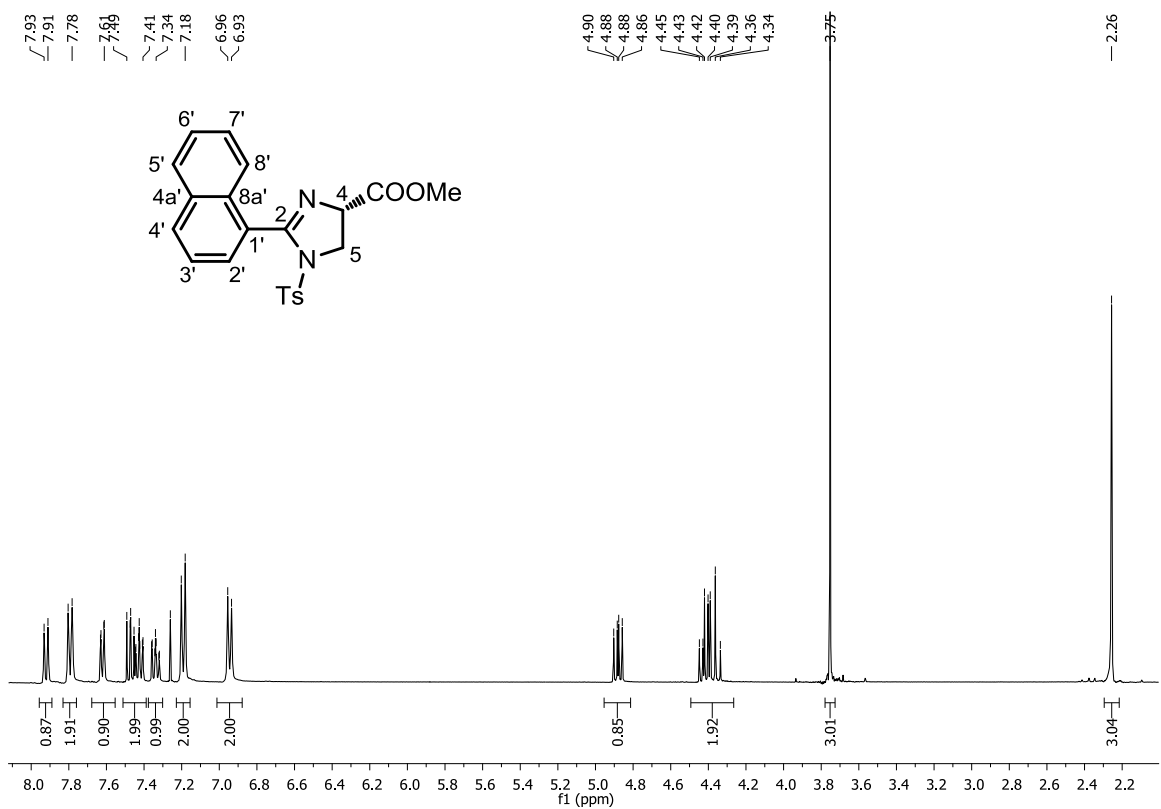


Abb. 72: ¹H-NMR Spektrum von Imidazolin **65e** (400 MHz, CDCl₃).

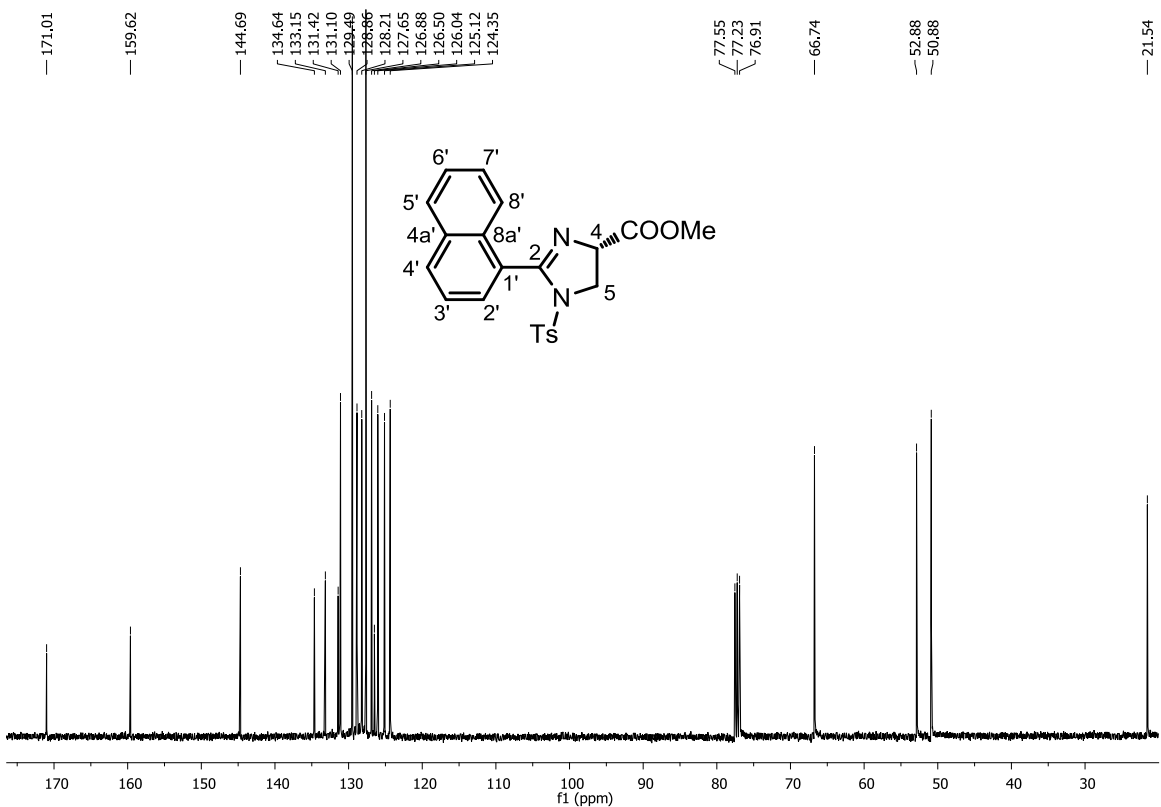


Abb. 73: ¹³C-NMR Spektrum von Imidazolin **65e** (100 MHz, CDCl₃).

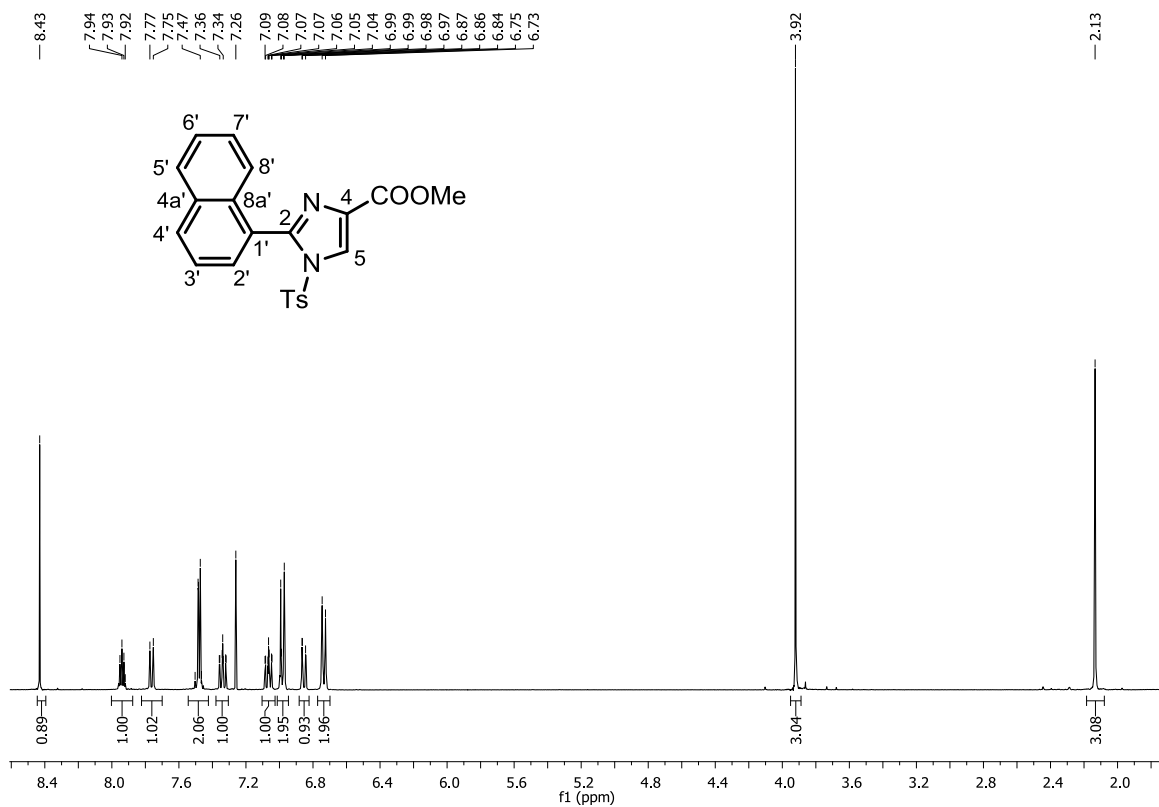


Abb. 74: ¹H-NMR Spektrum von Imidazol **66e** (400 MHz, CDCl₃).

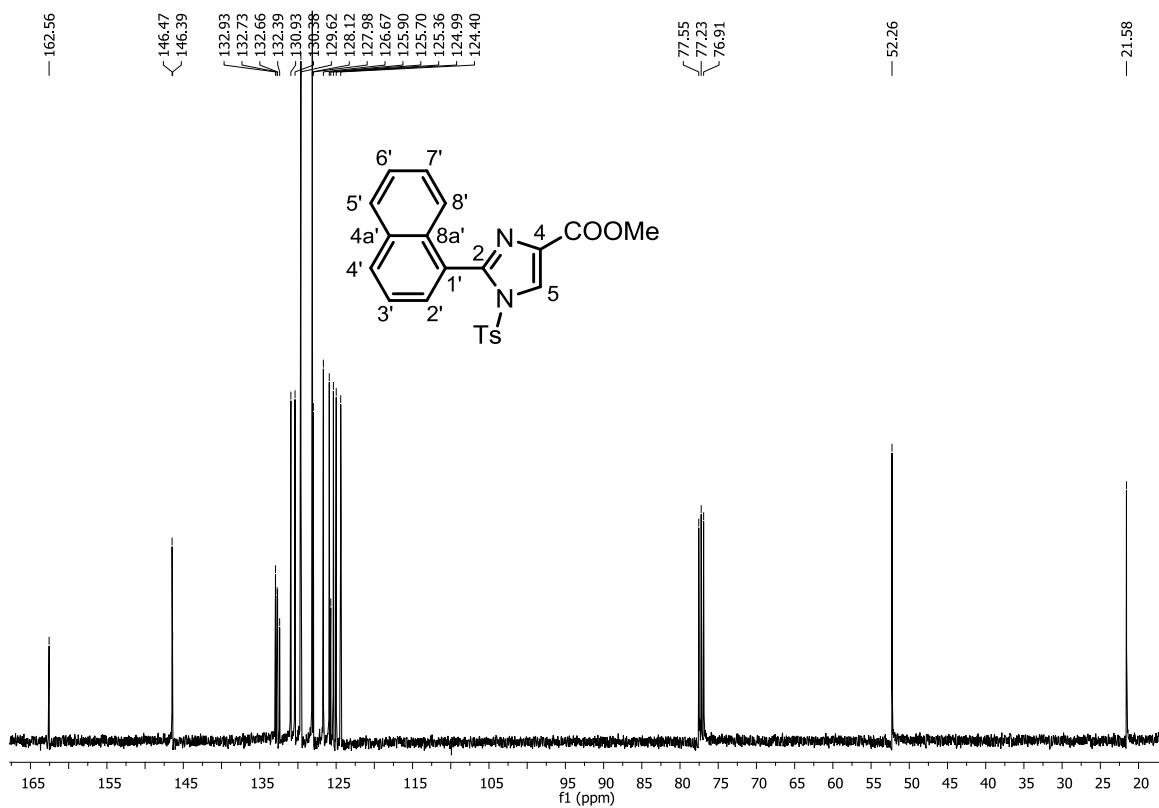


Abb. 75: ¹³C-NMR Spektrum von Imidazol **66e** (100 MHz, CDCl₃).

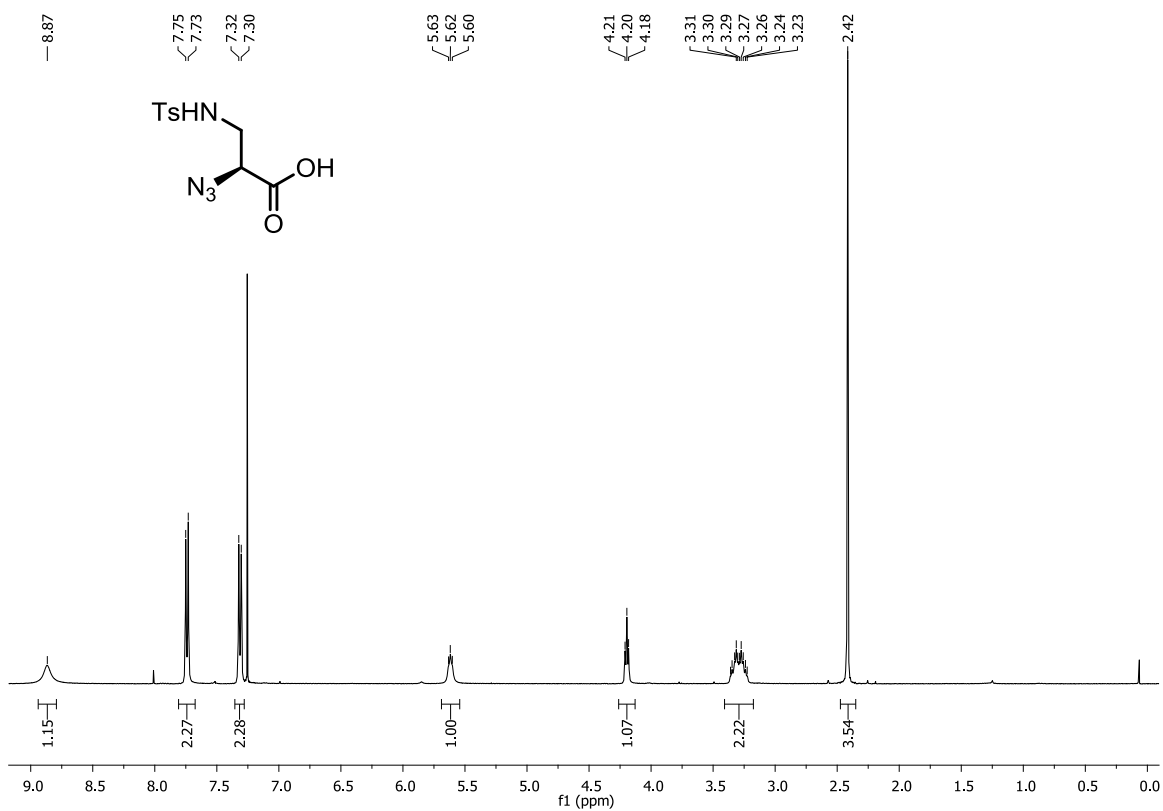


Abb. 76: ^1H -NMR Spektrum von α -Azidocarbonsäure **73** (400 MHz, CDCl_3).

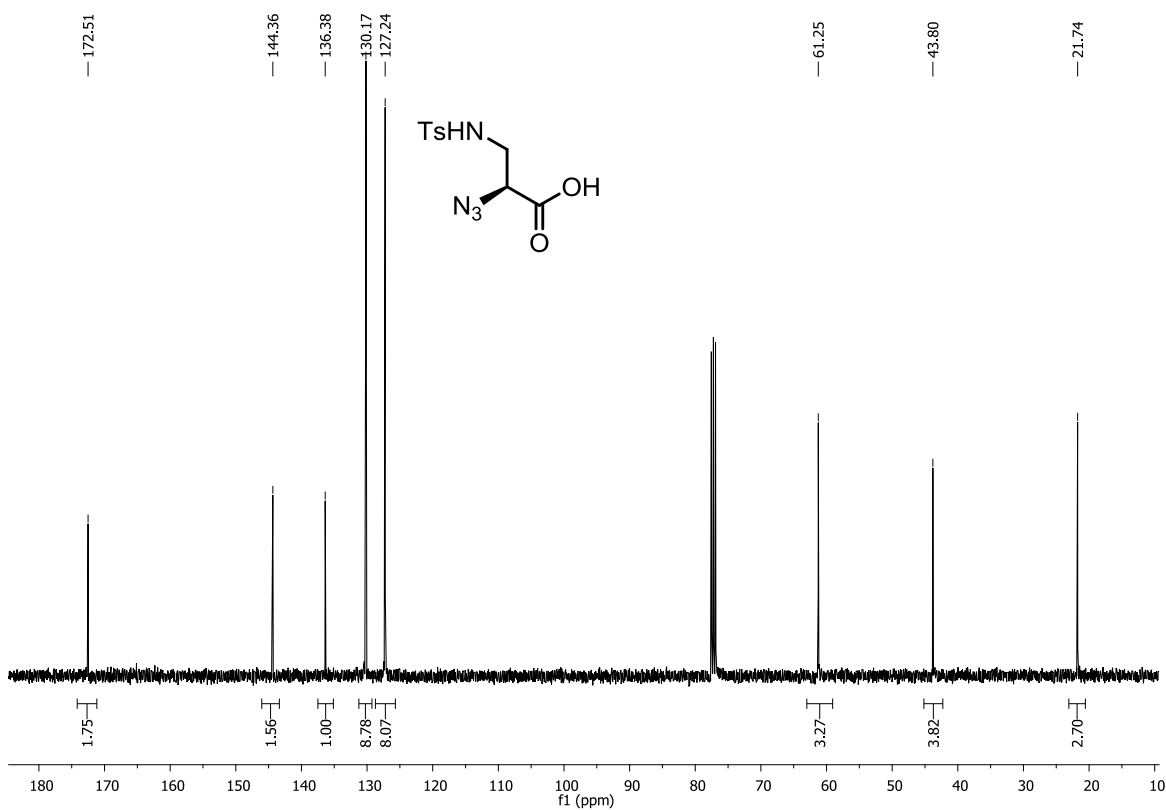


Abb. 77: ^{13}C -NMR Spektrum von α -Azidocarbonsäure **73** (100 MHz, CDCl_3).

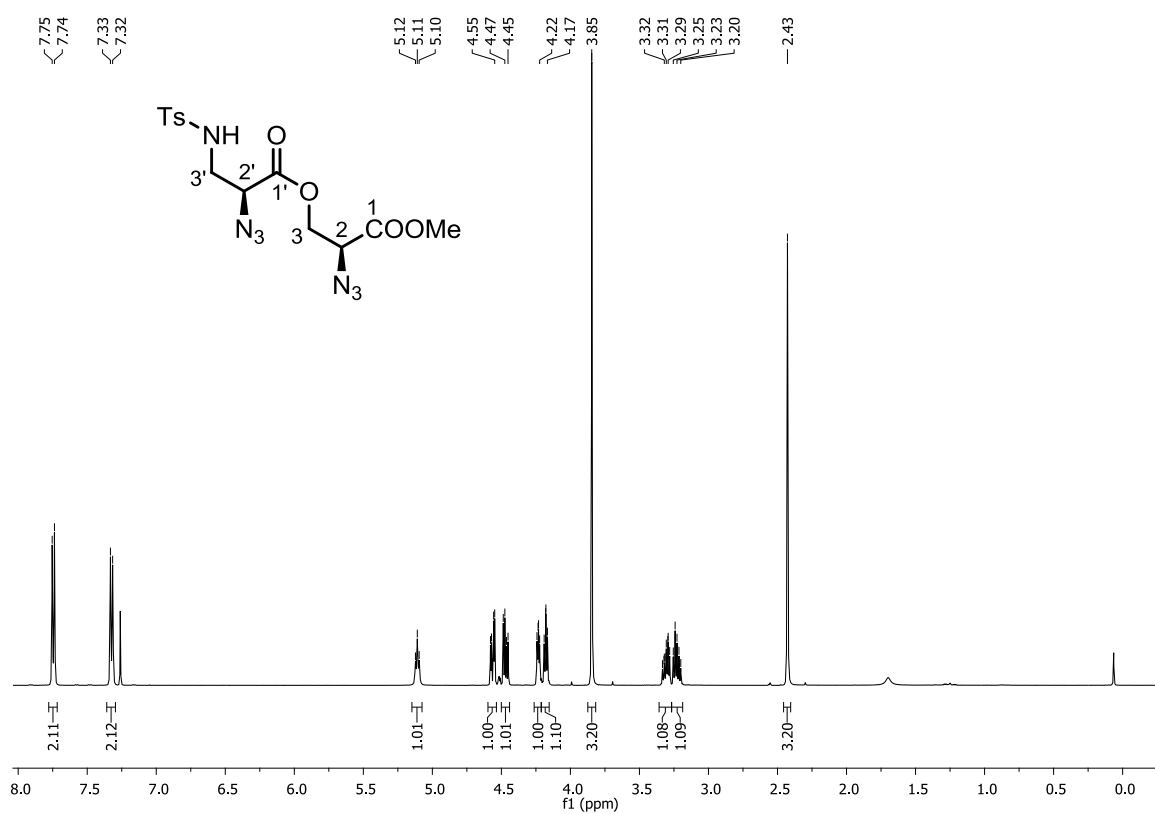


Abb. 78: ^1H -NMR Spektrum von Diester **75a** (400 MHz, CDCl_3).

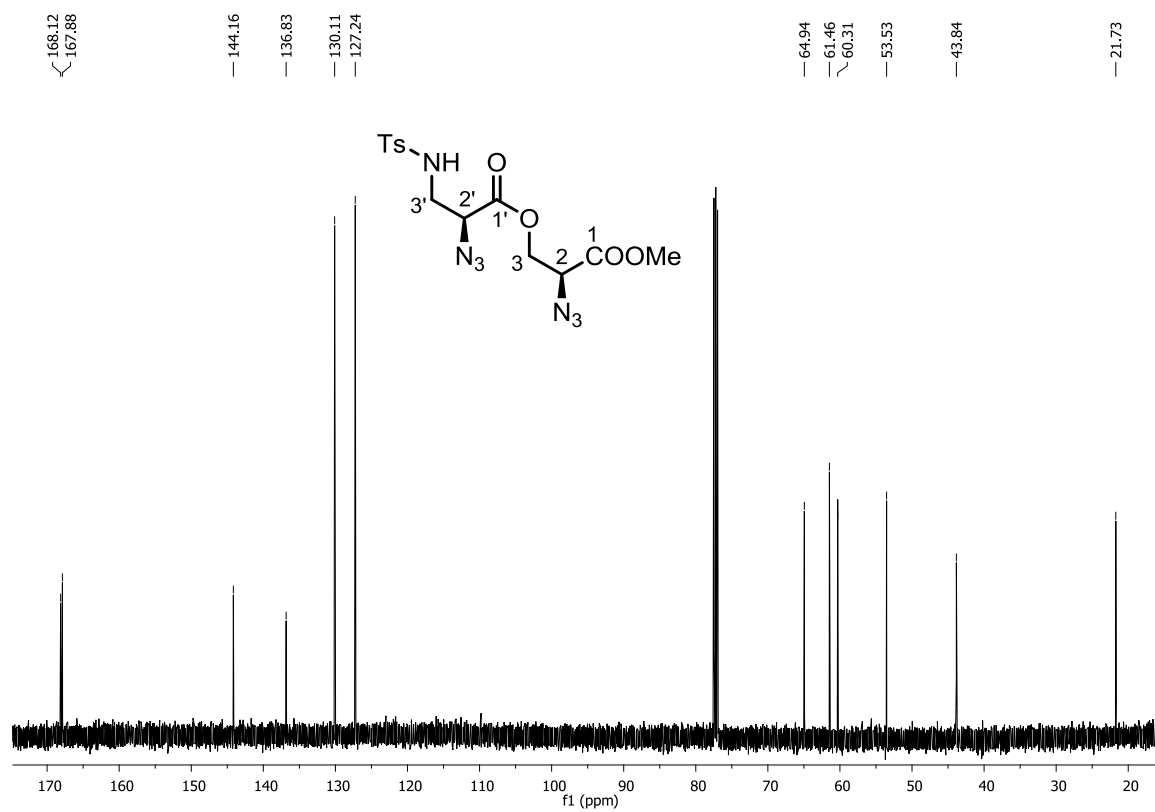


Abb. 79: ^{13}C -NMR Spektrum von Diester **75a** (100 MHz, CDCl_3).

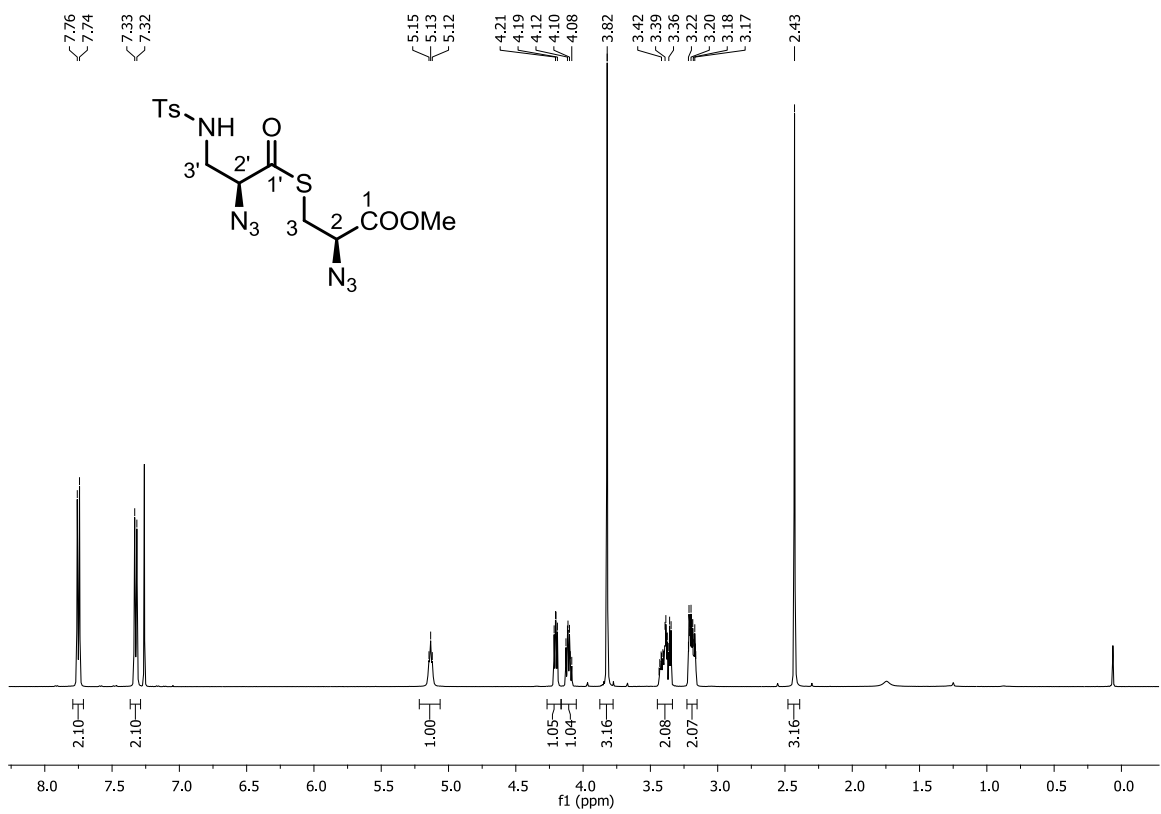


Abb. 80: ¹H-NMR Spektrum von Thioester **75b** (500 MHz, CDCl₃).

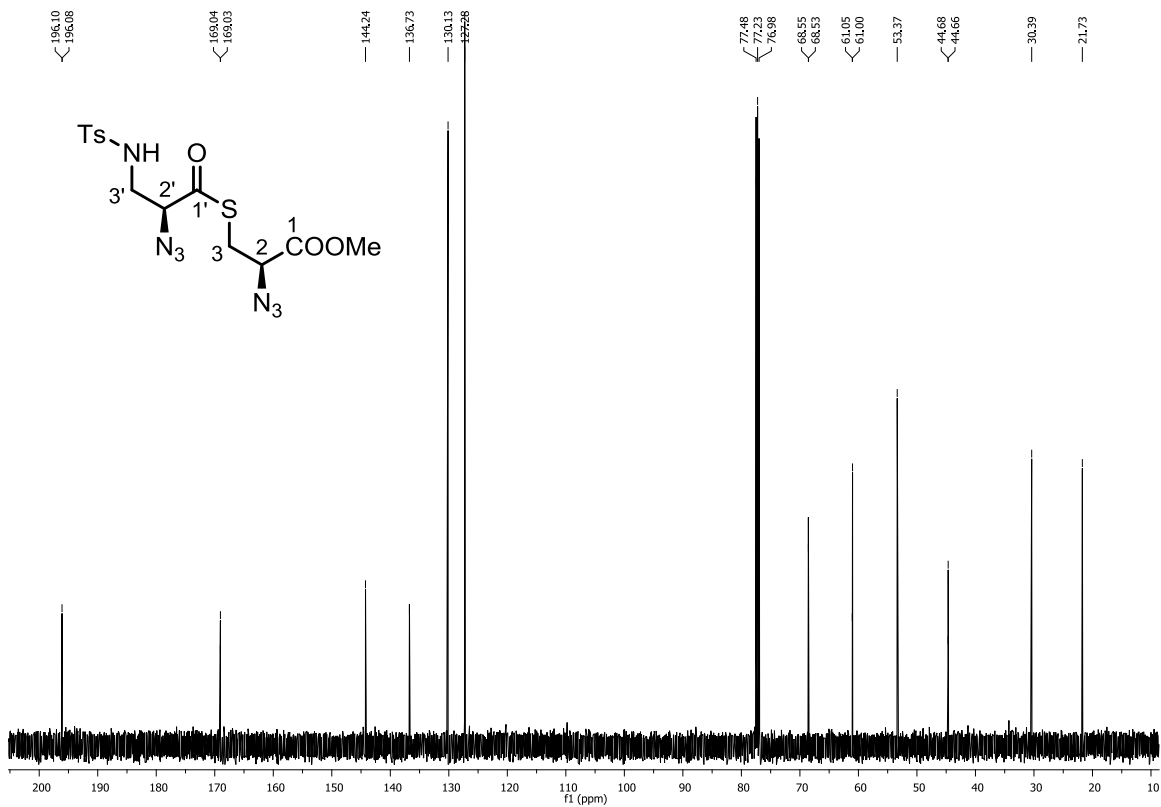


Abb. 81: ¹³C-NMR Spektrum von Thioester **75b** (133 MHz, CDCl₃).

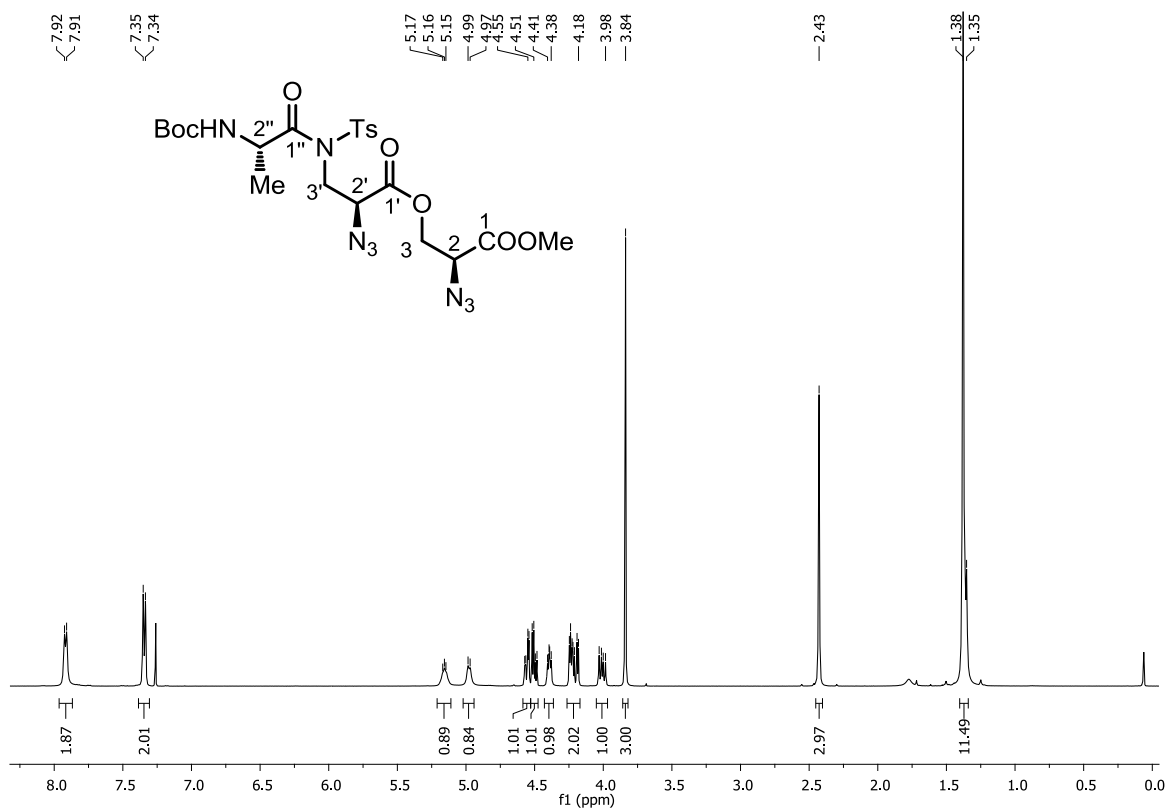


Abb. 82: ¹H-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **76a** (500 MHz, CDCl₃).

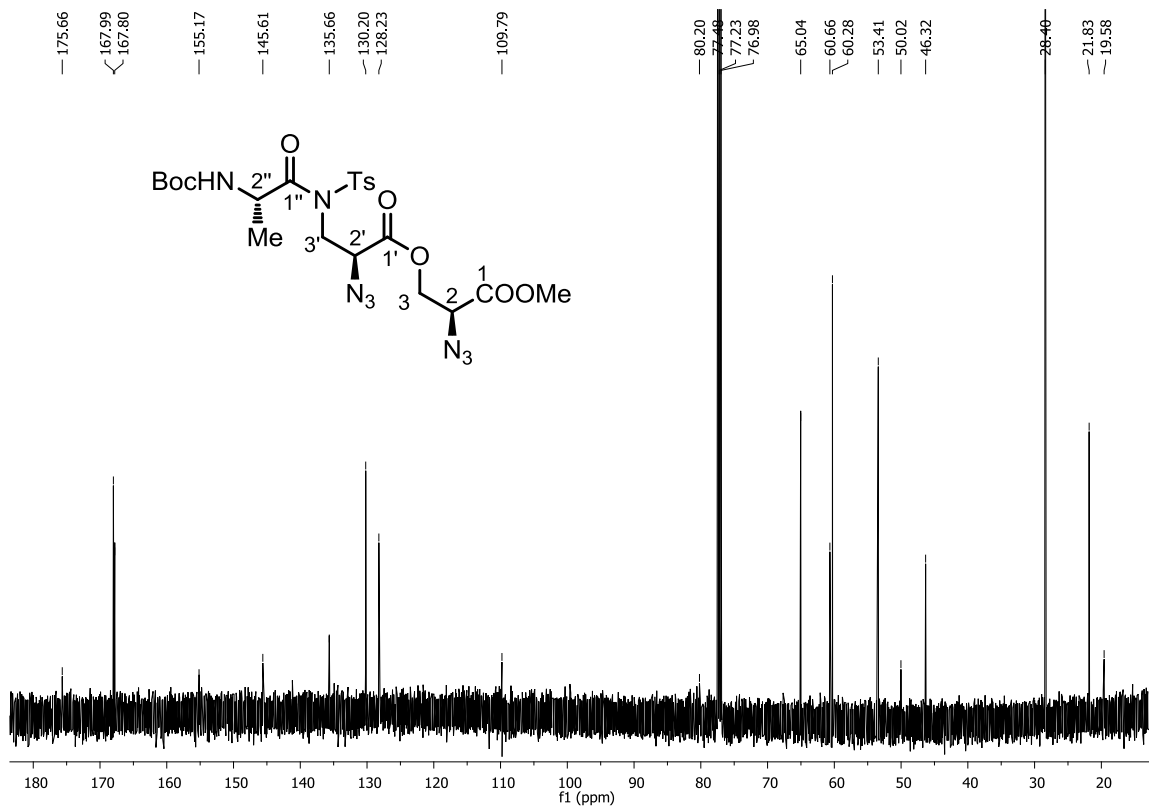


Abb. 83: ¹³C-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **76a** (133 MHz, CDCl₃).

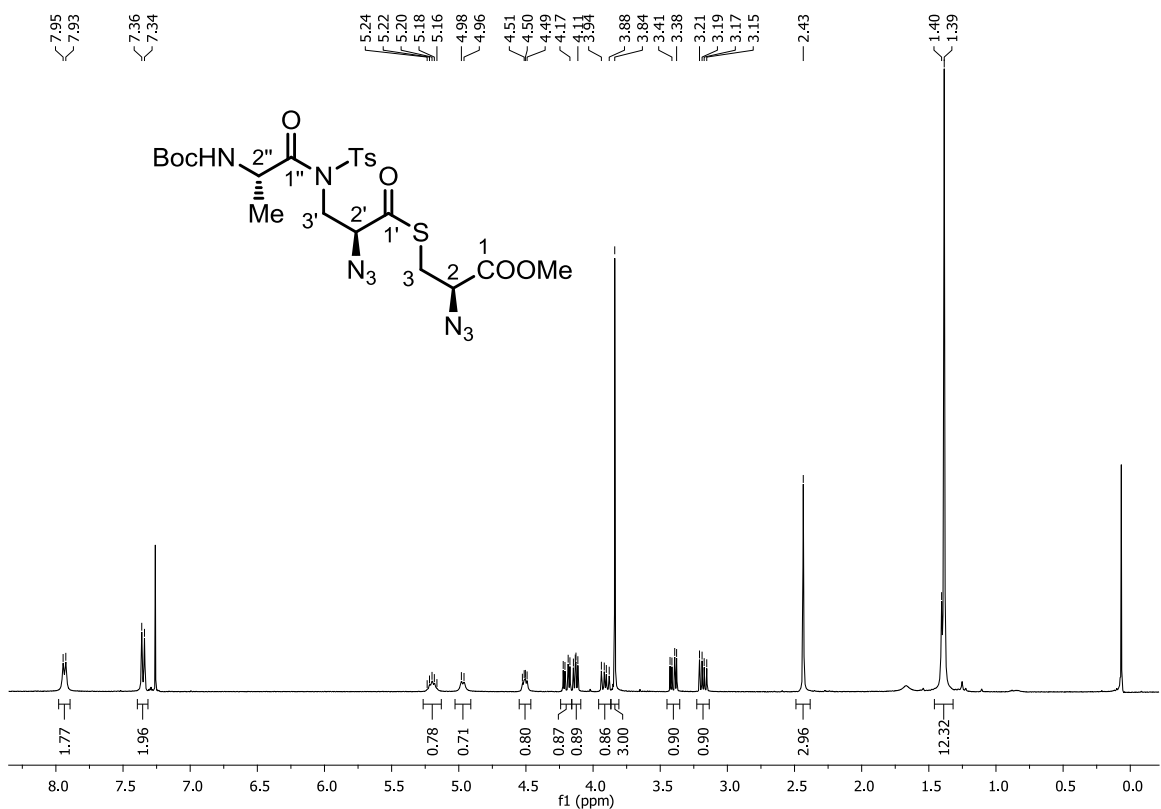


Abb. 84: ¹H-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **76b** (400 MHz, CDCl₃).

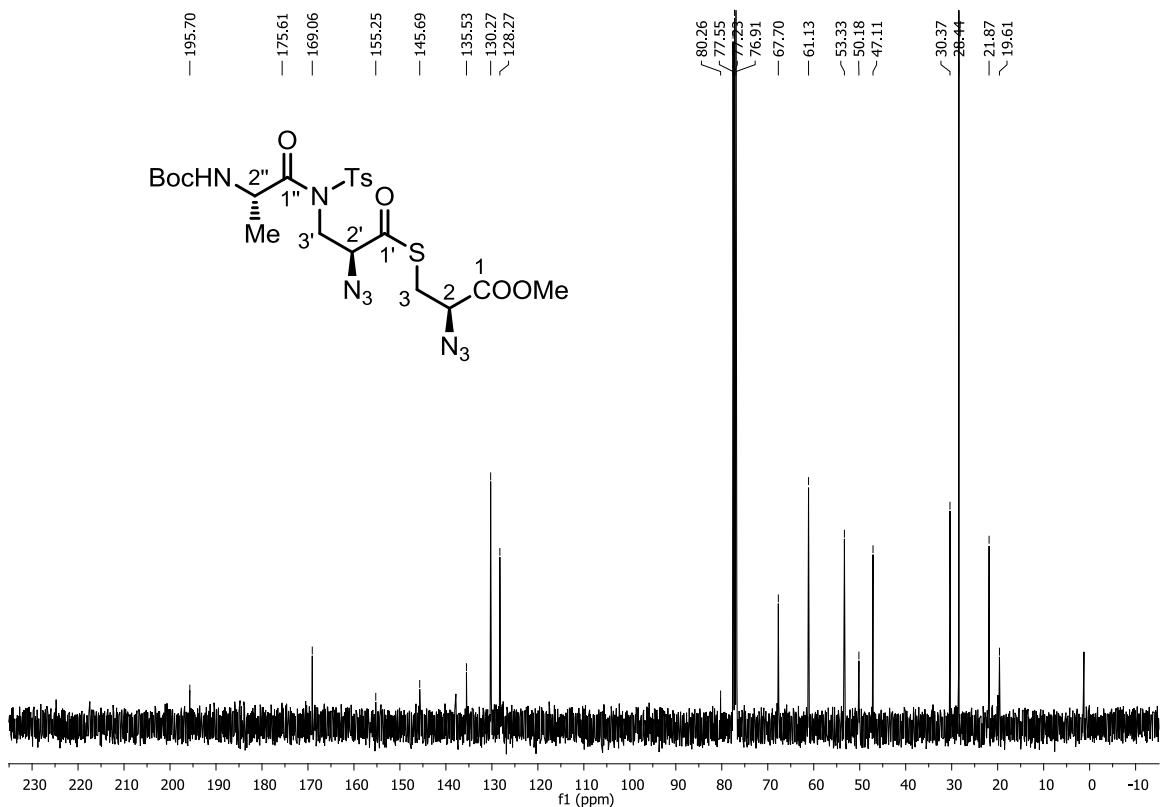


Abb. 85: ¹³C-NMR Spektrum von *N*-Acylsulfonamid **76b** (100 MHz, CDCl₃).

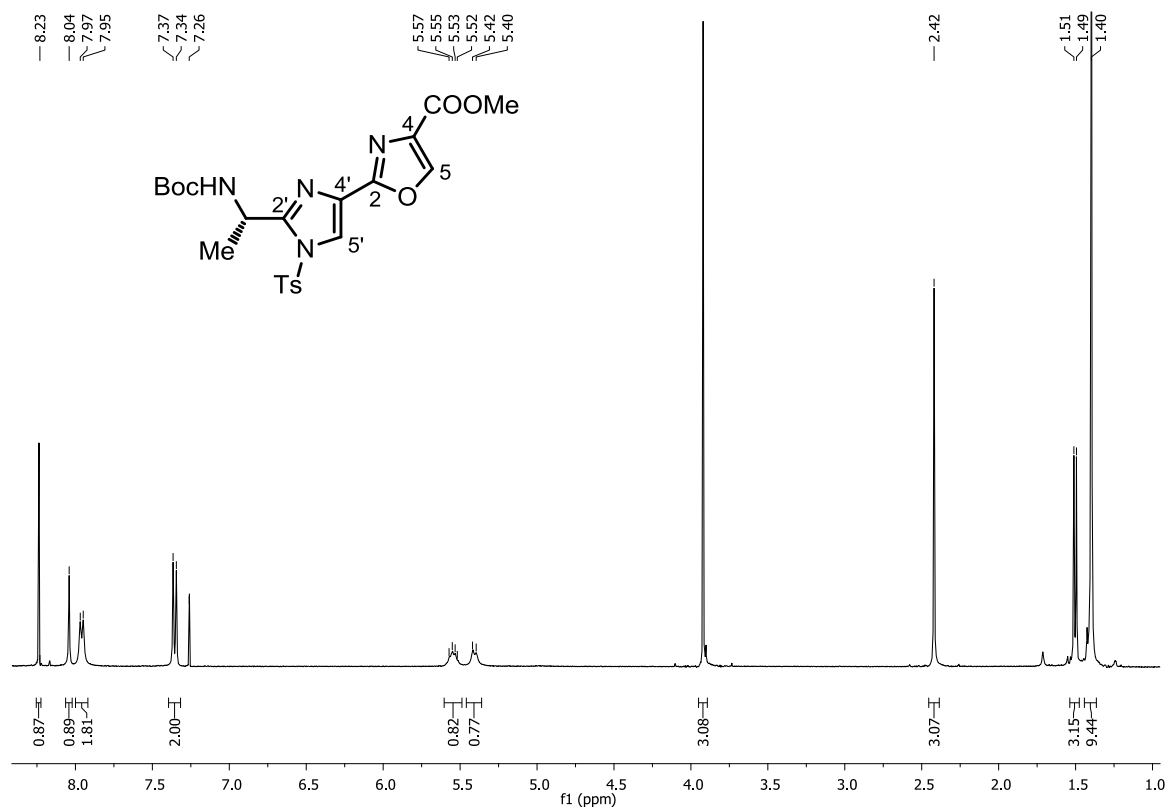


Abb. 86: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Bisazol **78a** (400 MHz, CDCl_3).

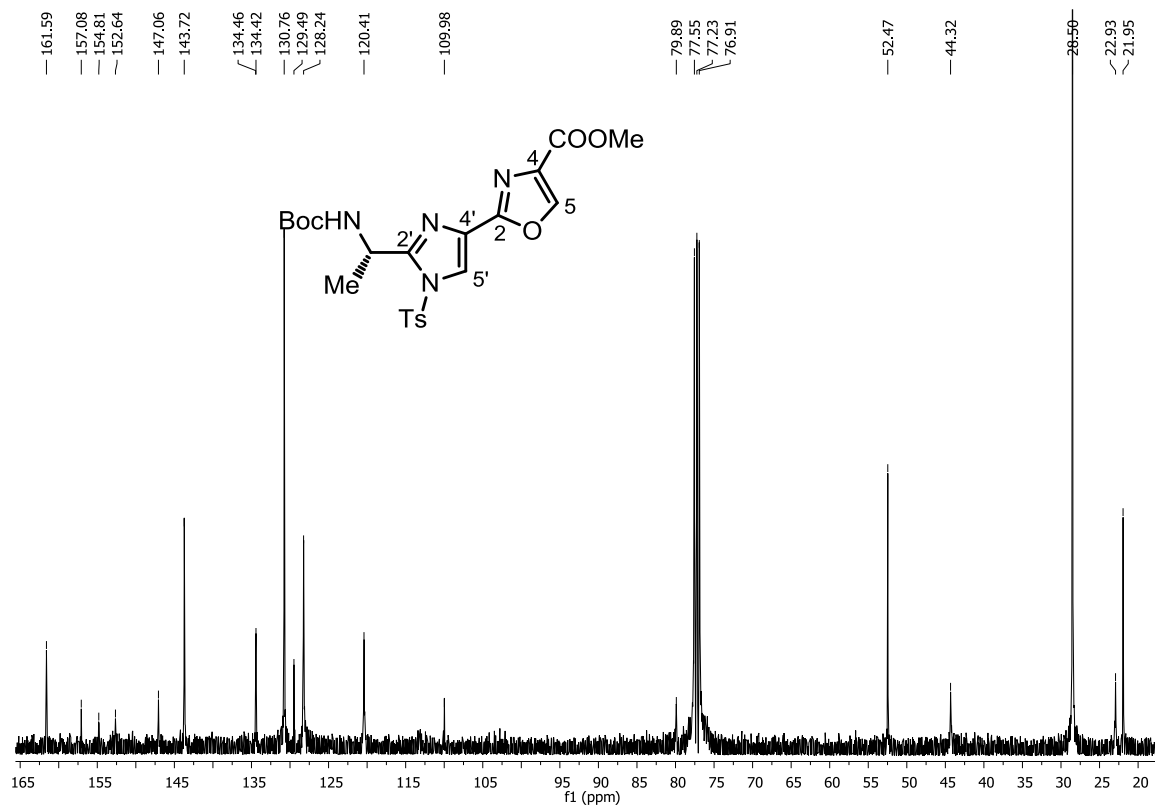


Abb. 87: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von Bisazol **78a** (100 MHz, CDCl_3).

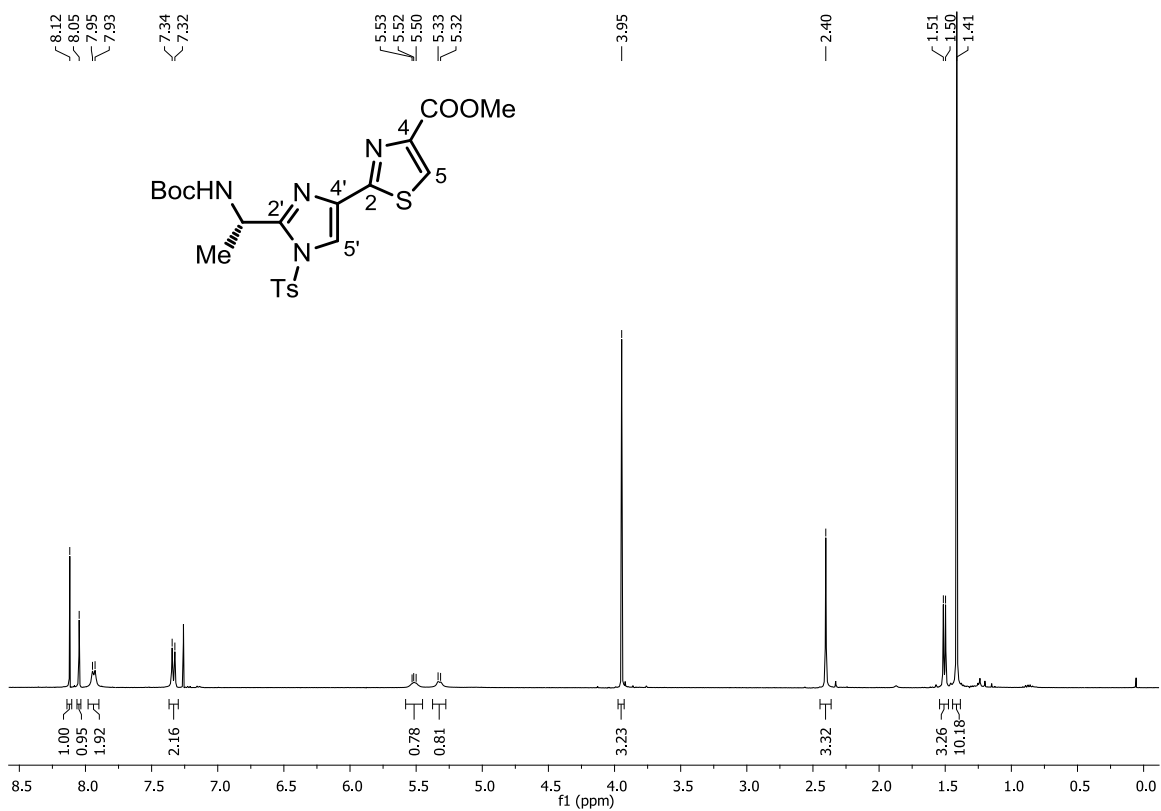


Abb. 88: ¹H-NMR Spektrum von Bisazol **78b** (400 MHz, CDCl₃).

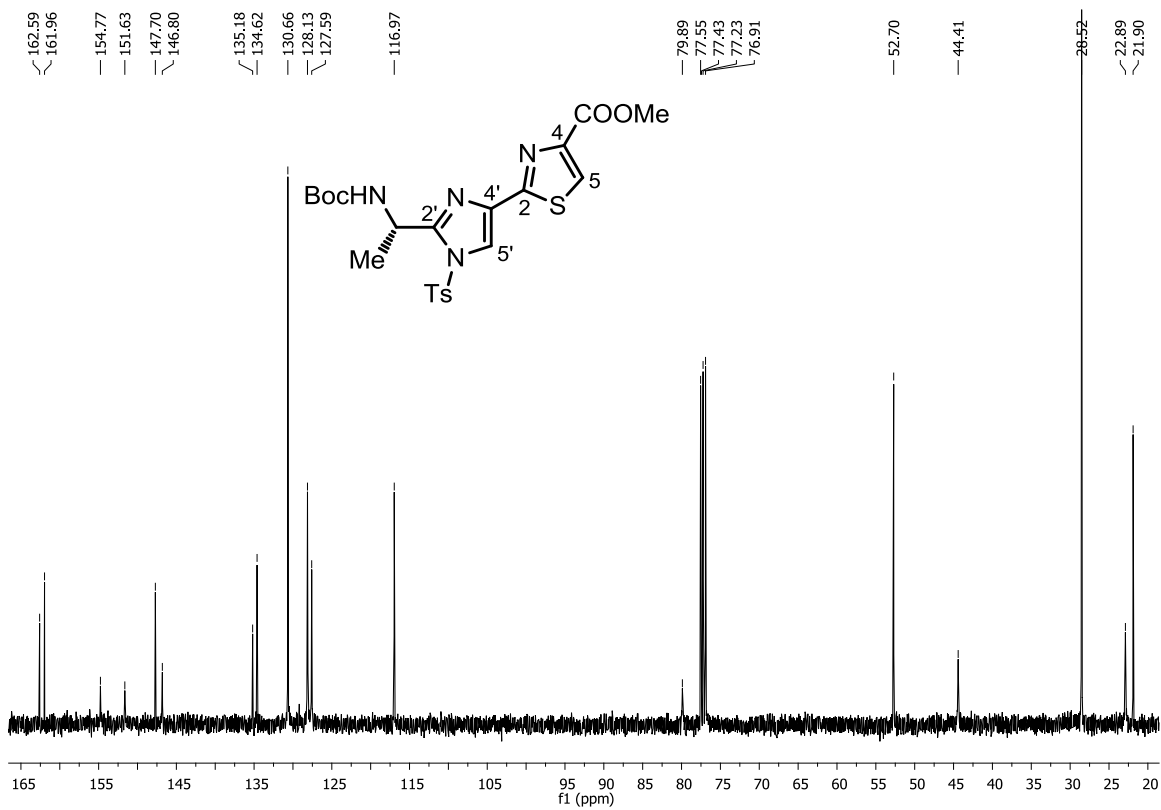


Abb. 89: ¹³C-NMR Spektrum von Bisazol **78b** (100 MHz, CDCl₃).

10 Analytische Daten zur Telomestatsynthese

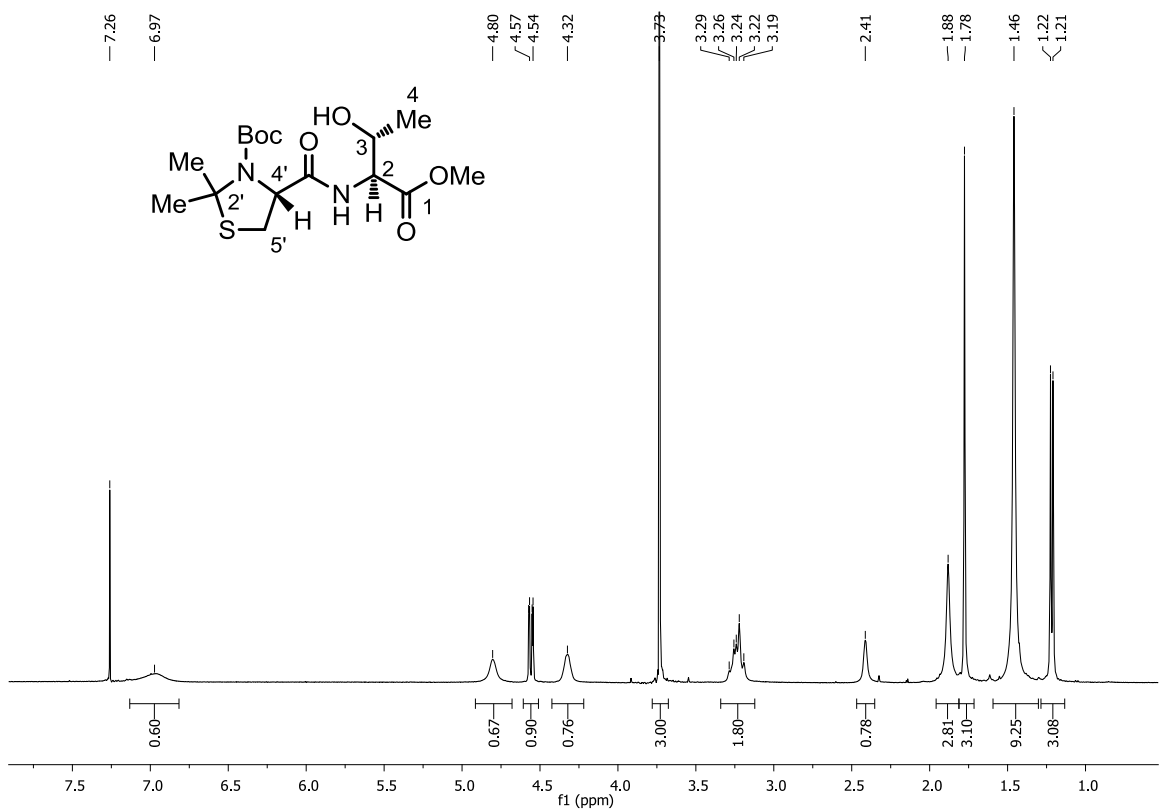


Abb. 90: ¹H-NMR Spektrum von Dipeptid 87 (400 MHz, CDCl₃).

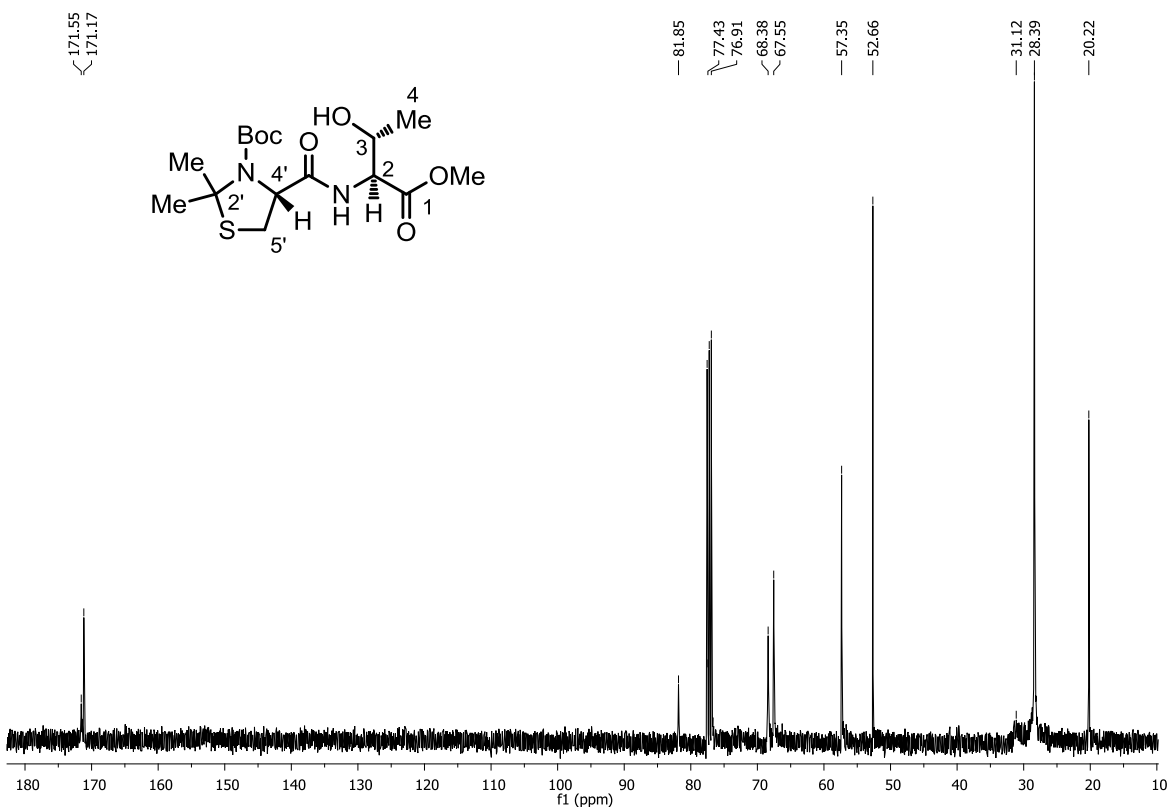


Abb. 91: ¹³C-NMR Spektrum von Dipeptid 87 (100 MHz, CDCl₃).

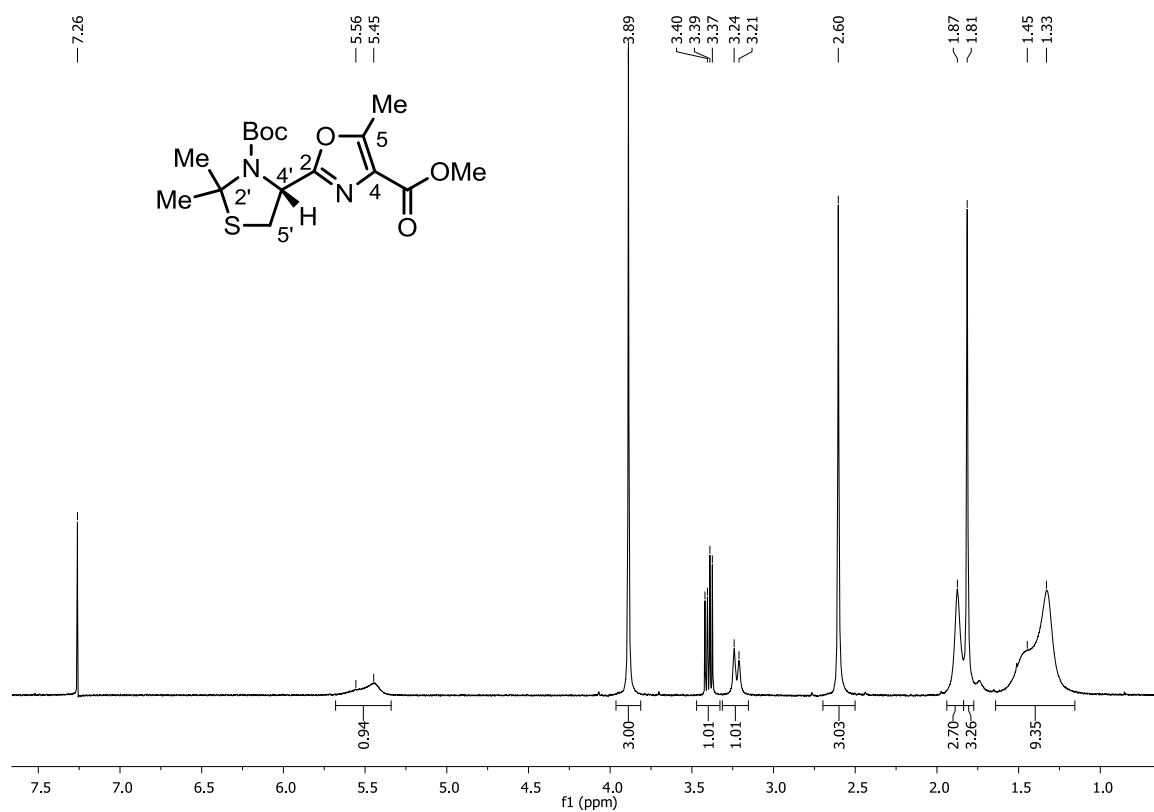


Abb. 92: ^1H -NMR Spektrum von Thiazolidinyloxazol **84** (400 MHz, CDCl_3).

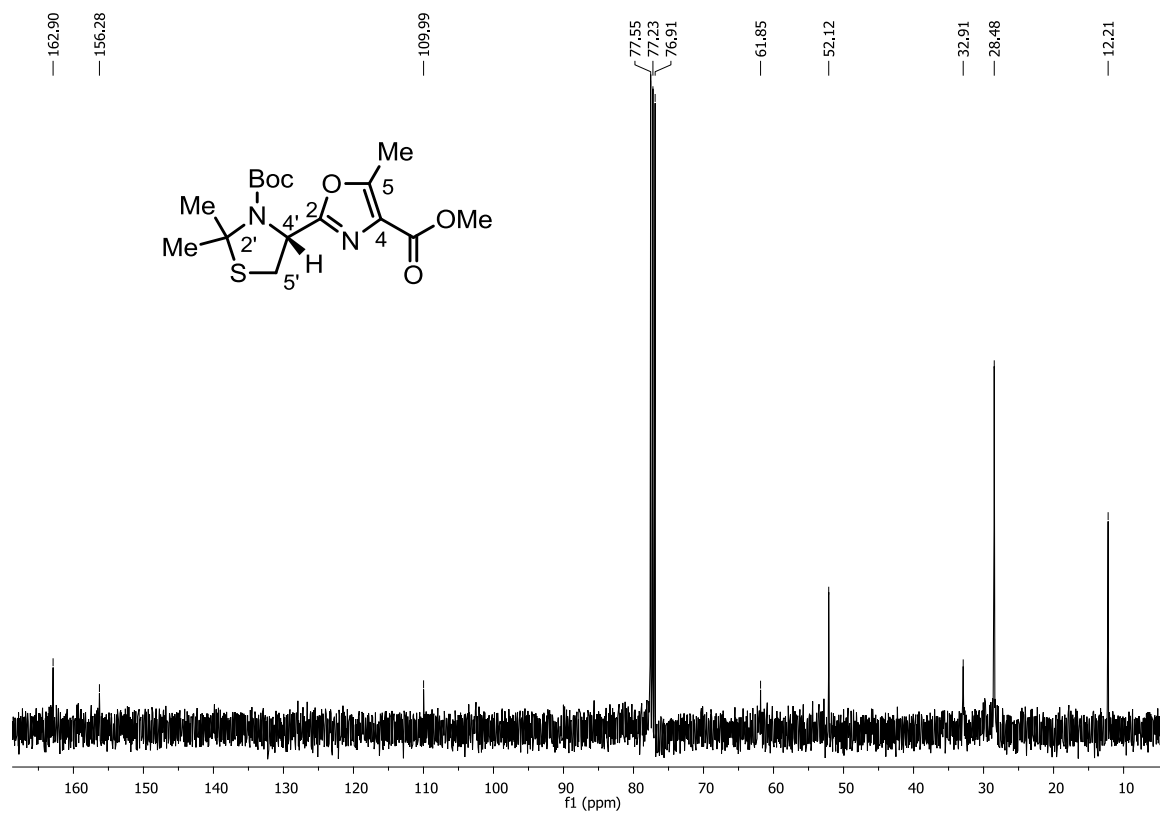


Abb. 93: ^{13}C -NMR Spektrum von Thiazolidinyloxazol **84** (100 MHz, CDCl_3).

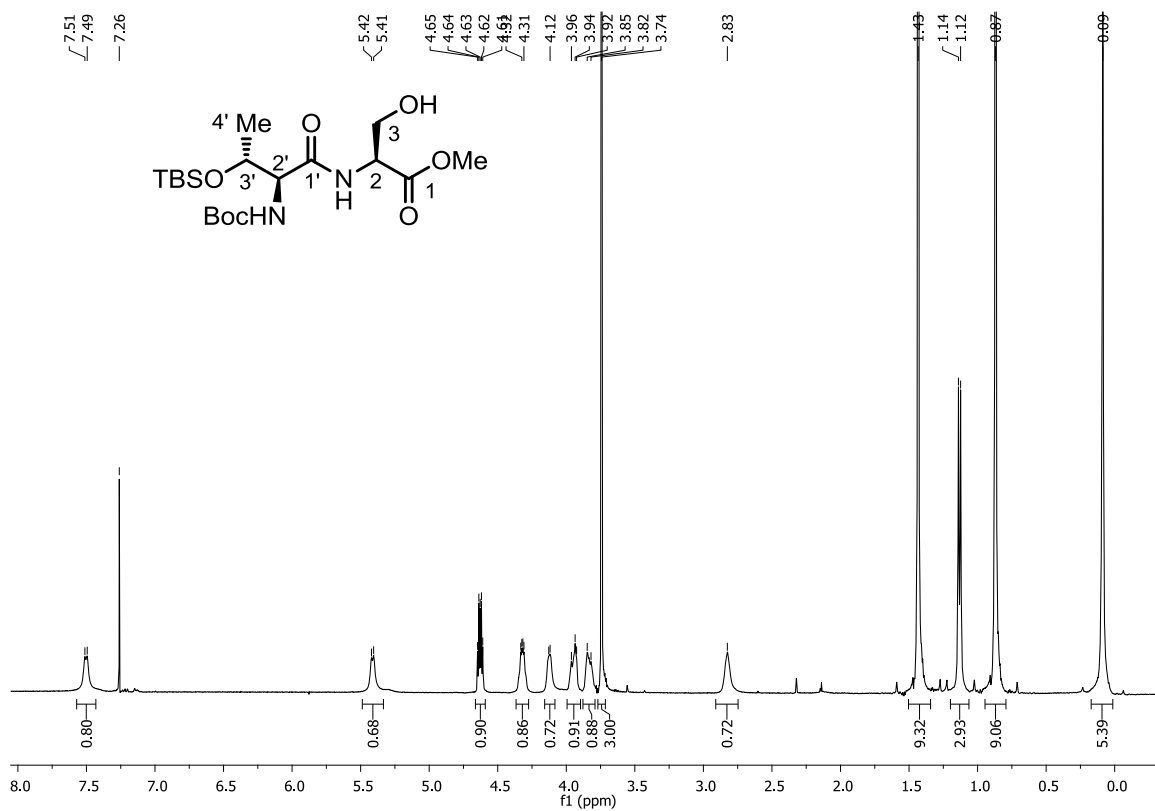


Abb. 94: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Dipeptid **88** (400 MHz, CDCl_3).

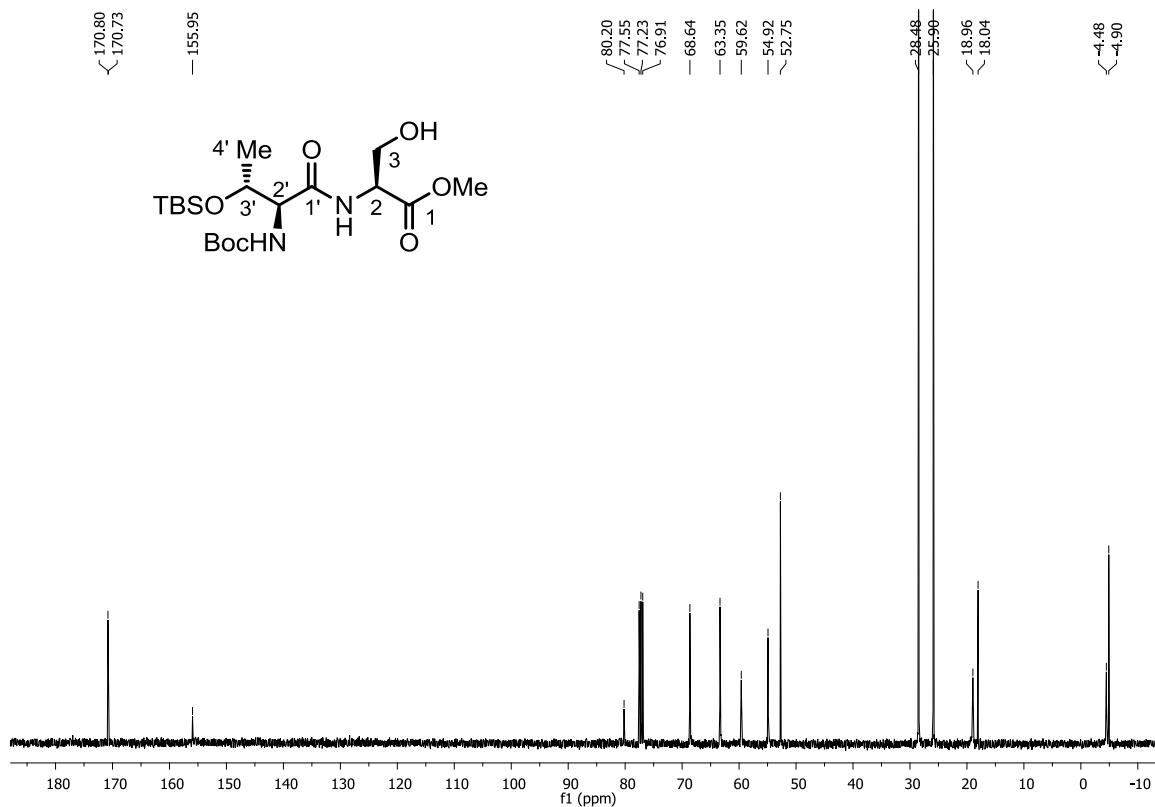


Abb. 95: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von Dipeptid **88** (100 MHz, CDCl_3).

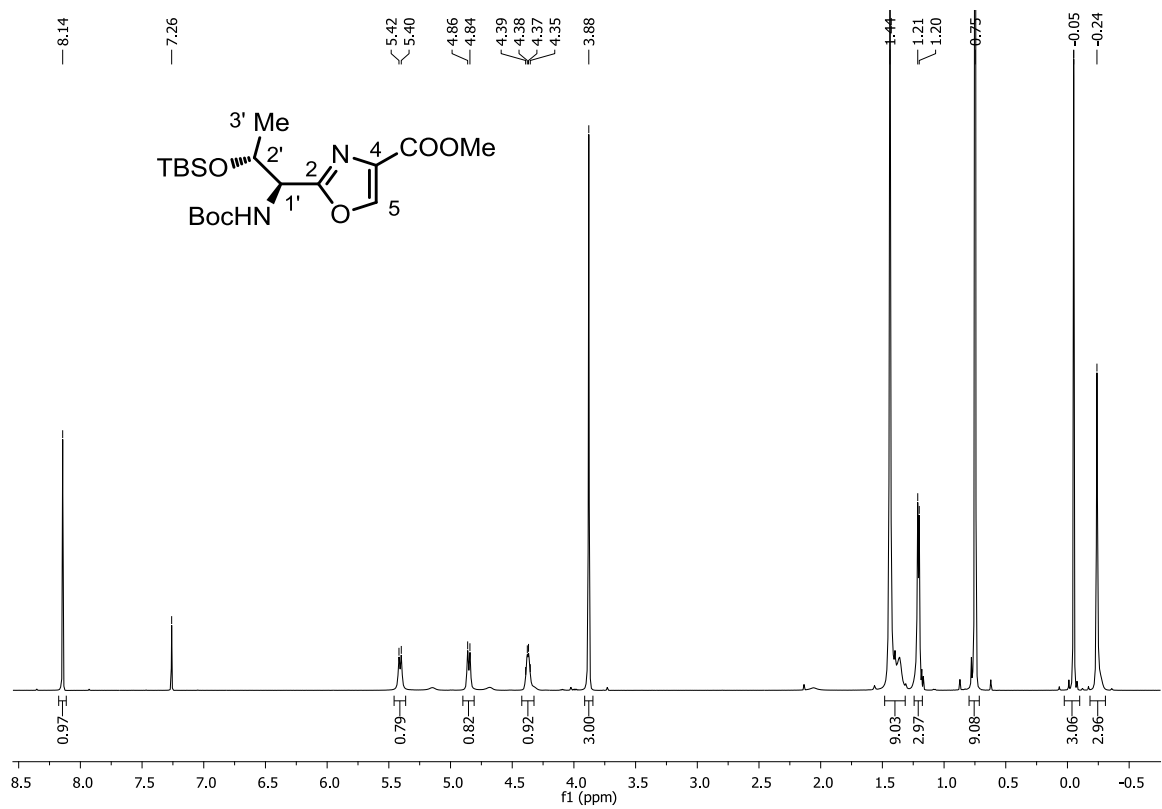


Abb. 96: ¹H-NMR Spektrum von Oxazol **121** (500 MHz, CDCl₃).

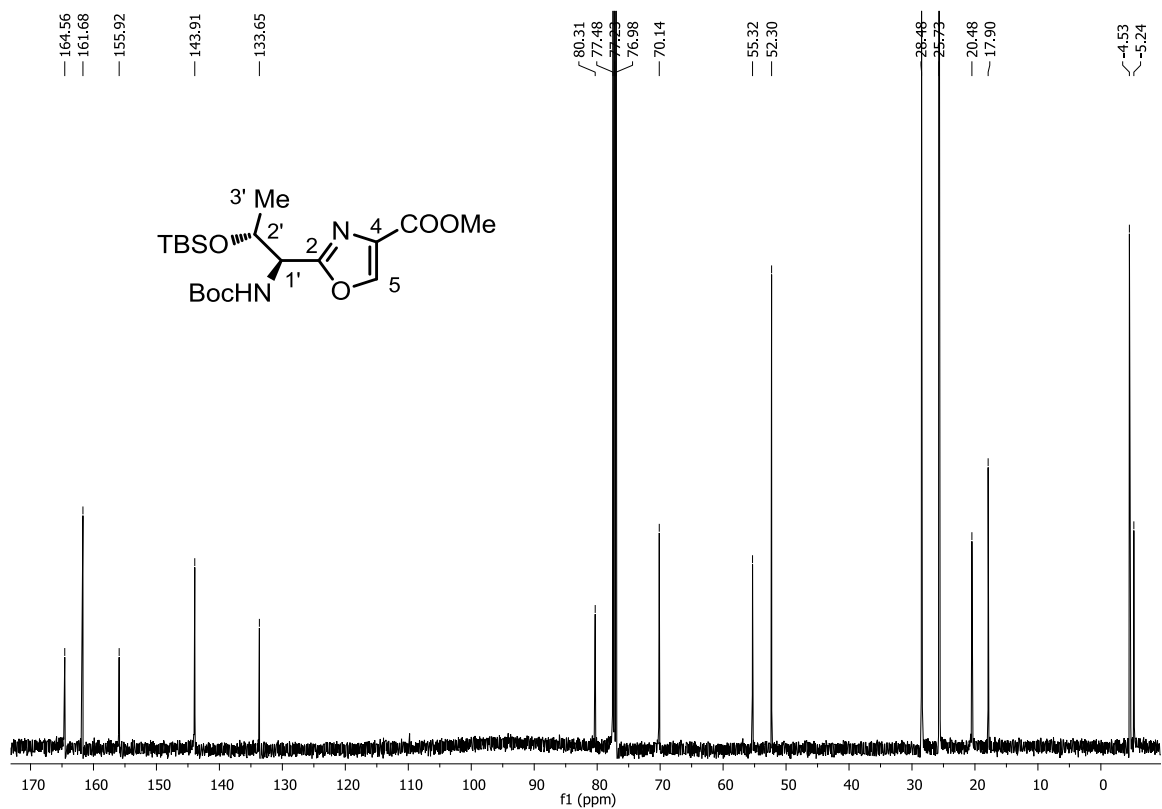


Abb. 97: ¹³C-NMR Spektrum von Oxazol **121** (133 MHz, CDCl₃).

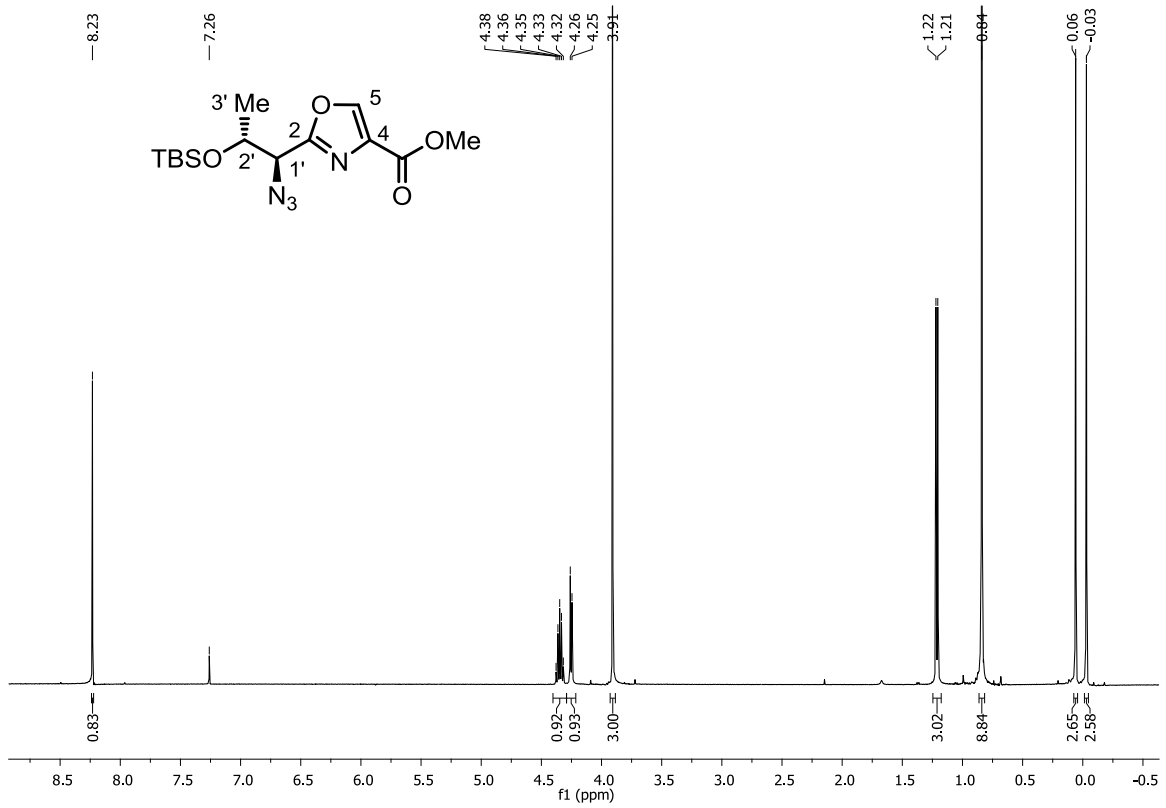


Abb. 98: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Oxazolazid **85** (400 MHz, CDCl_3).

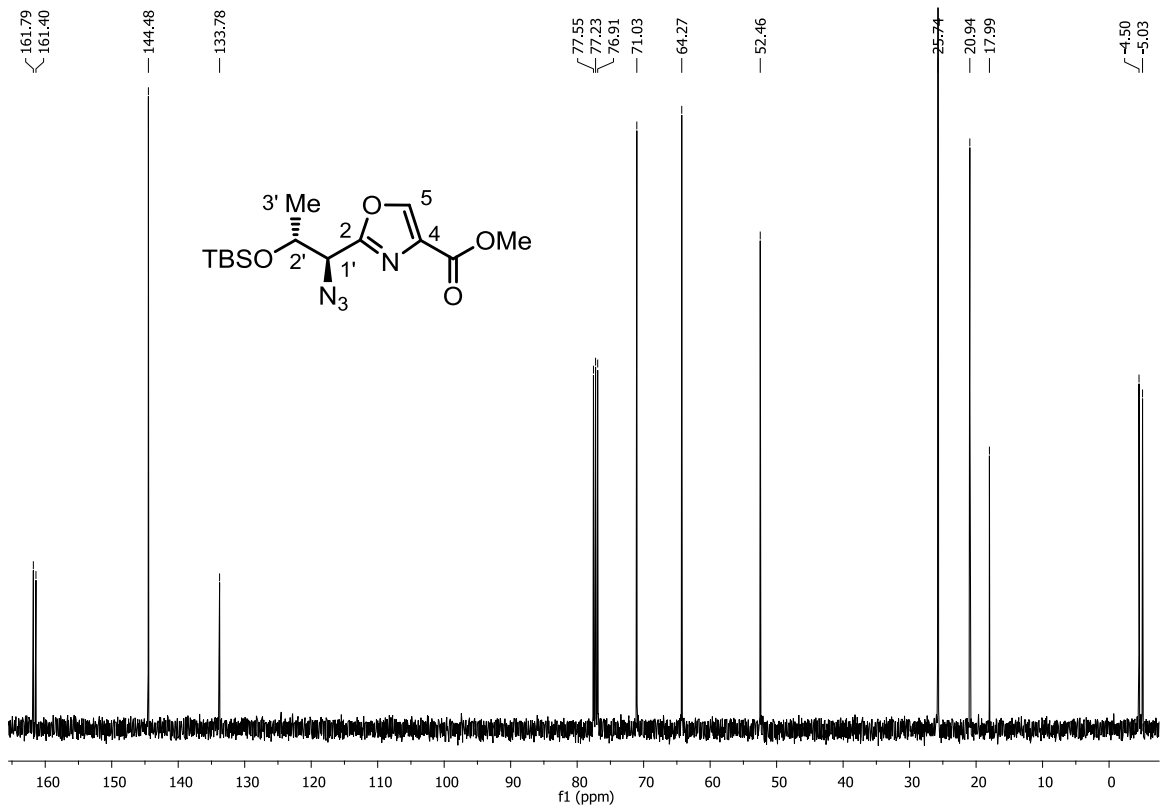


Abb. 99: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von Oxazolazid **85** (100 MHz, CDCl_3).

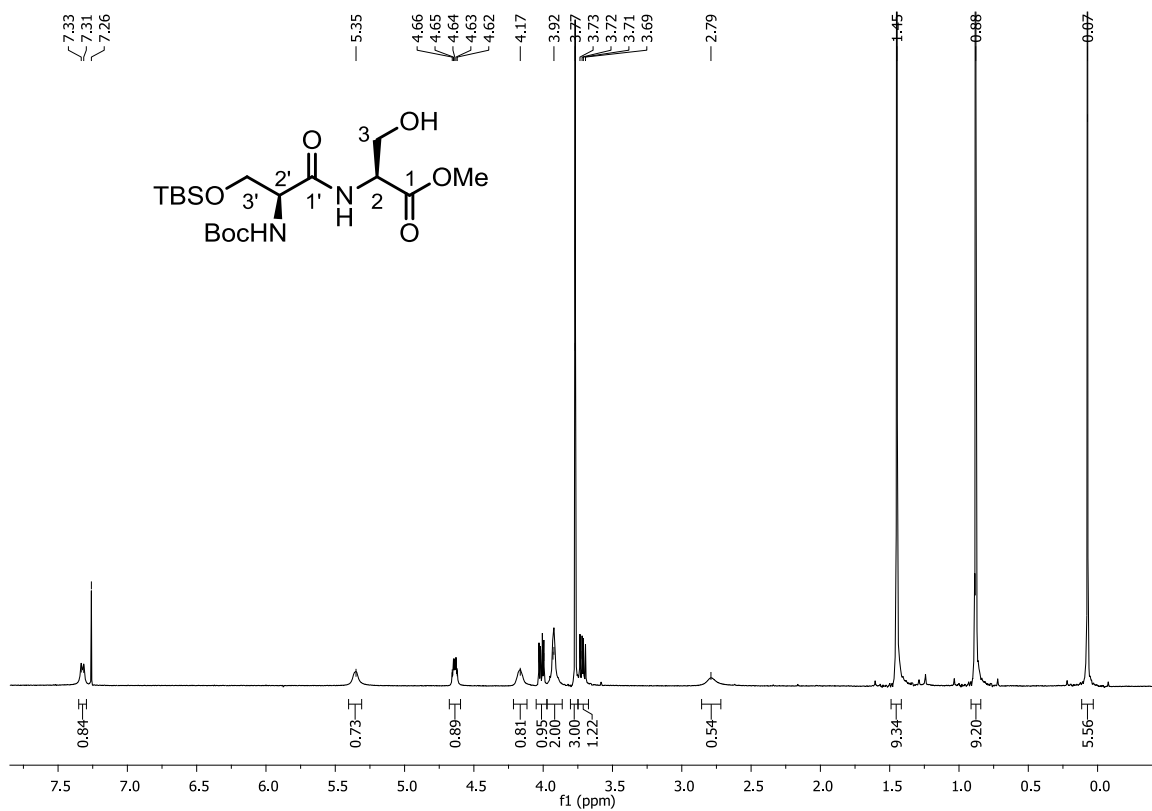


Abb. 100: ¹H-NMR Spektrum von Dipeptid **89** (400 MHz, CDCl₃).

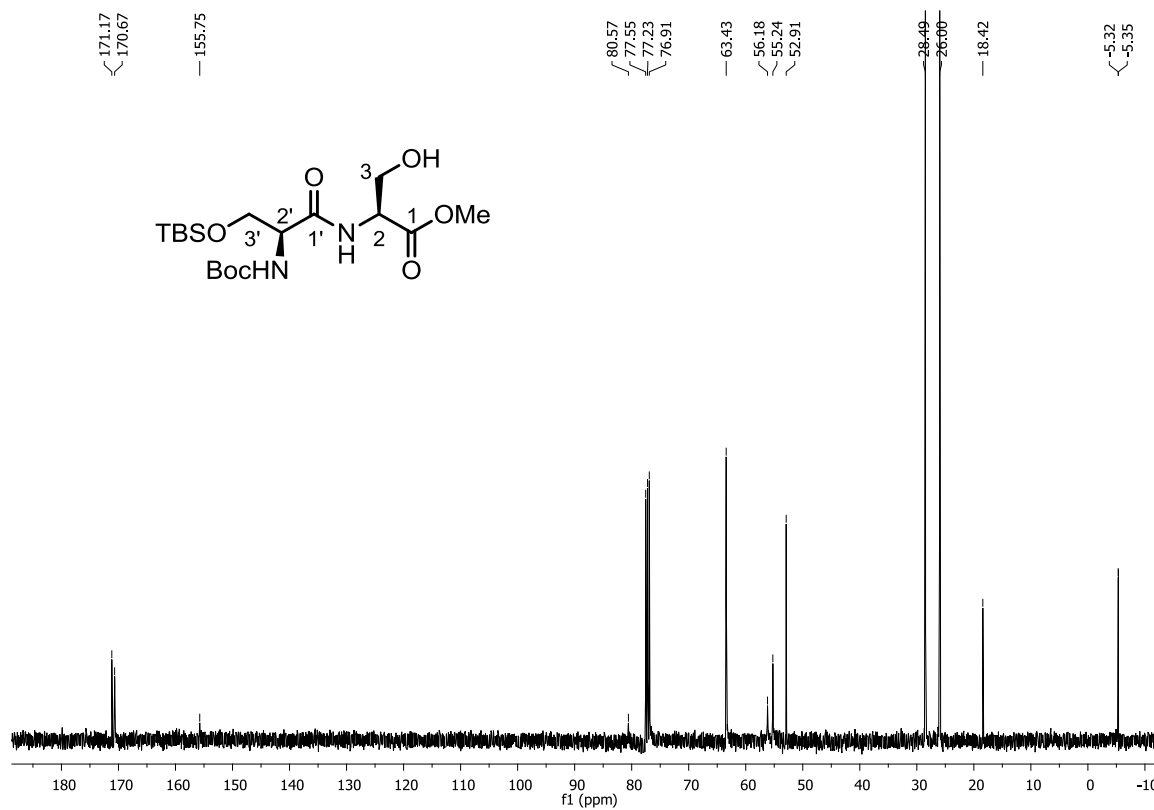


Abb. 101: ¹³C-NMR Spektrum von Dipeptid **89** (100 MHz, CDCl₃).

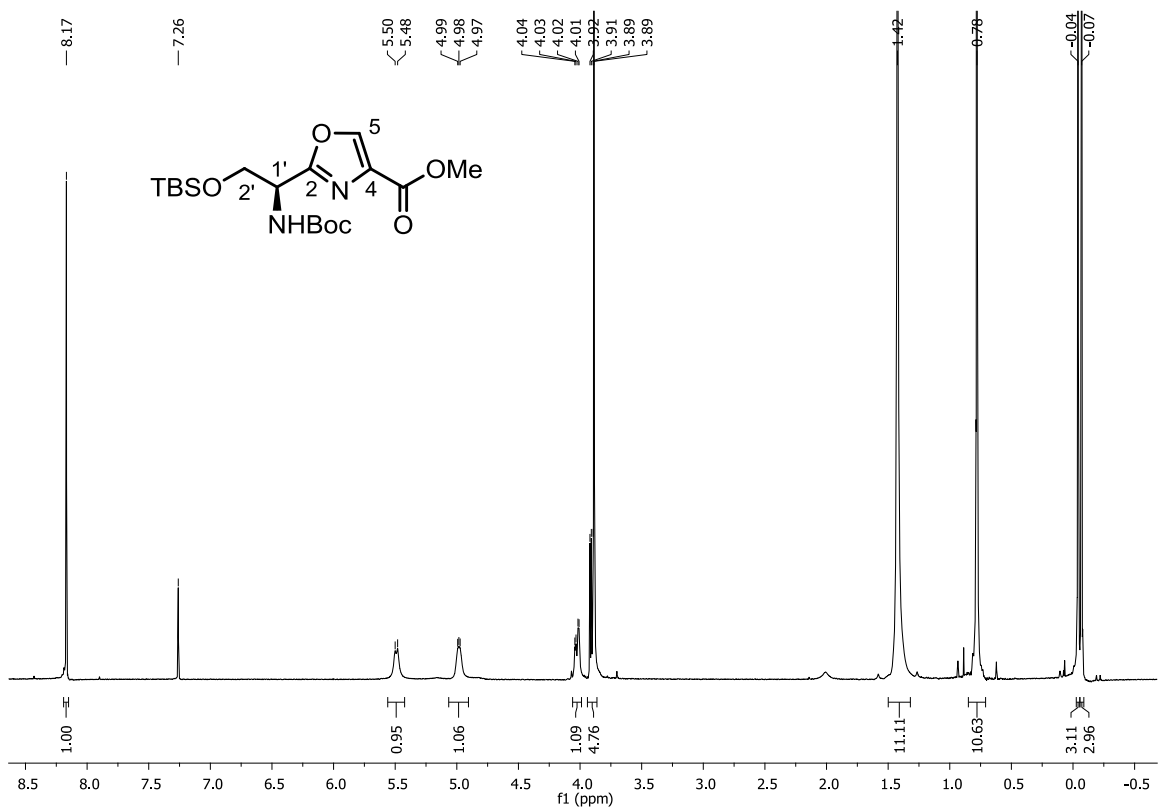


Abb. 102: ¹H-NMR Spektrum von Oxazol 122 (400 MHz, CDCl₃).

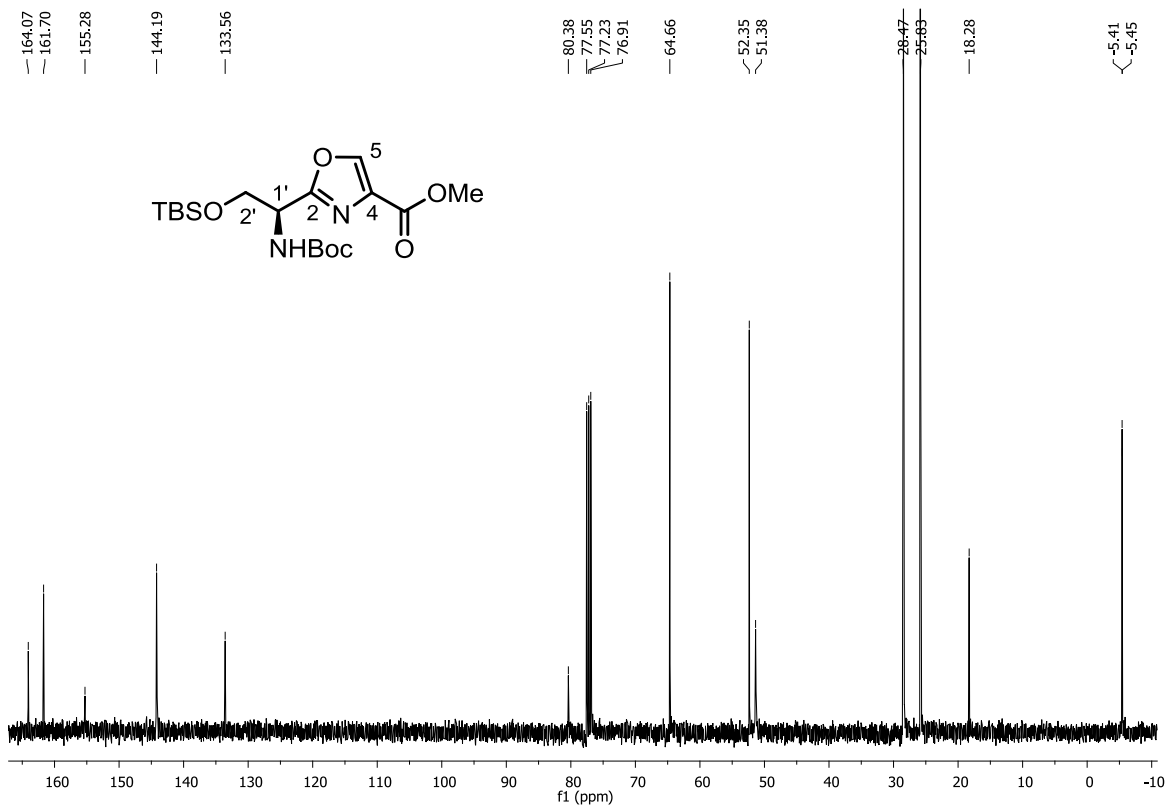


Abb. 103: ¹³C-NMR Spektrum von Oxazol 122 (100 MHz, CDCl₃).

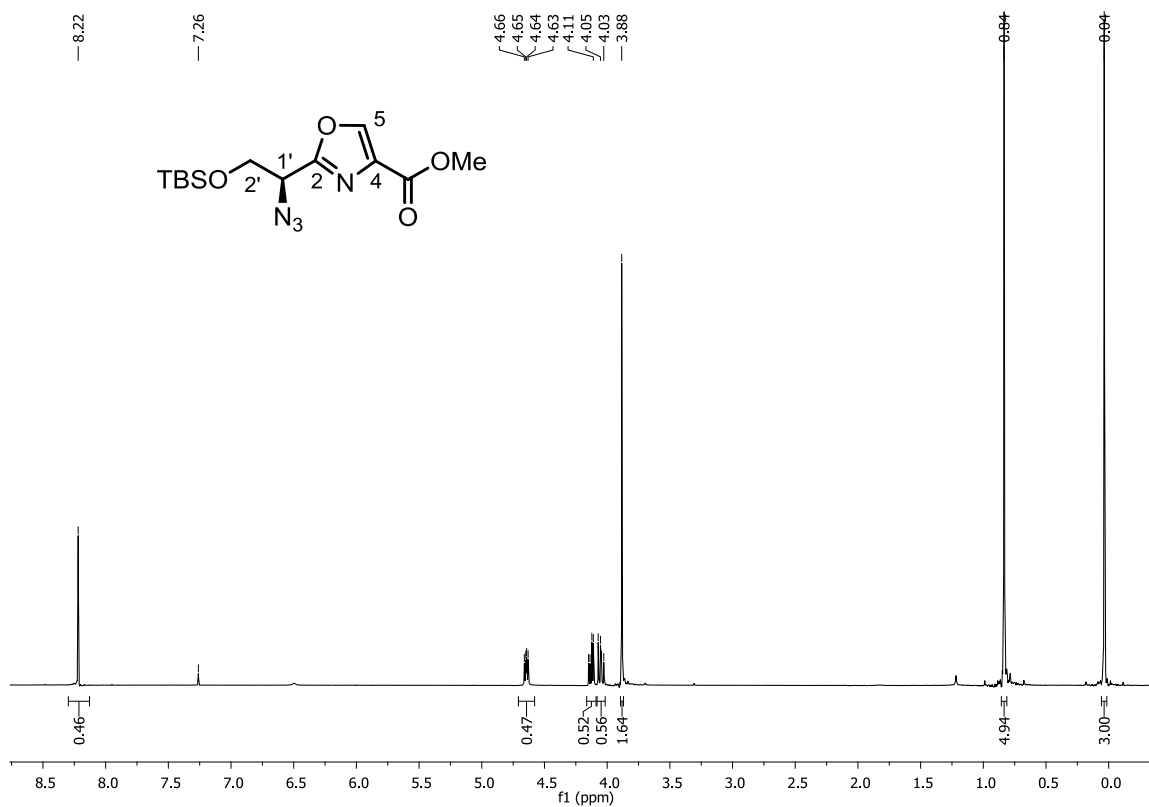


Abb. 104: ¹H-NMR Spektrum von Oxazolazid **86** (400 MHz, CDCl₃).

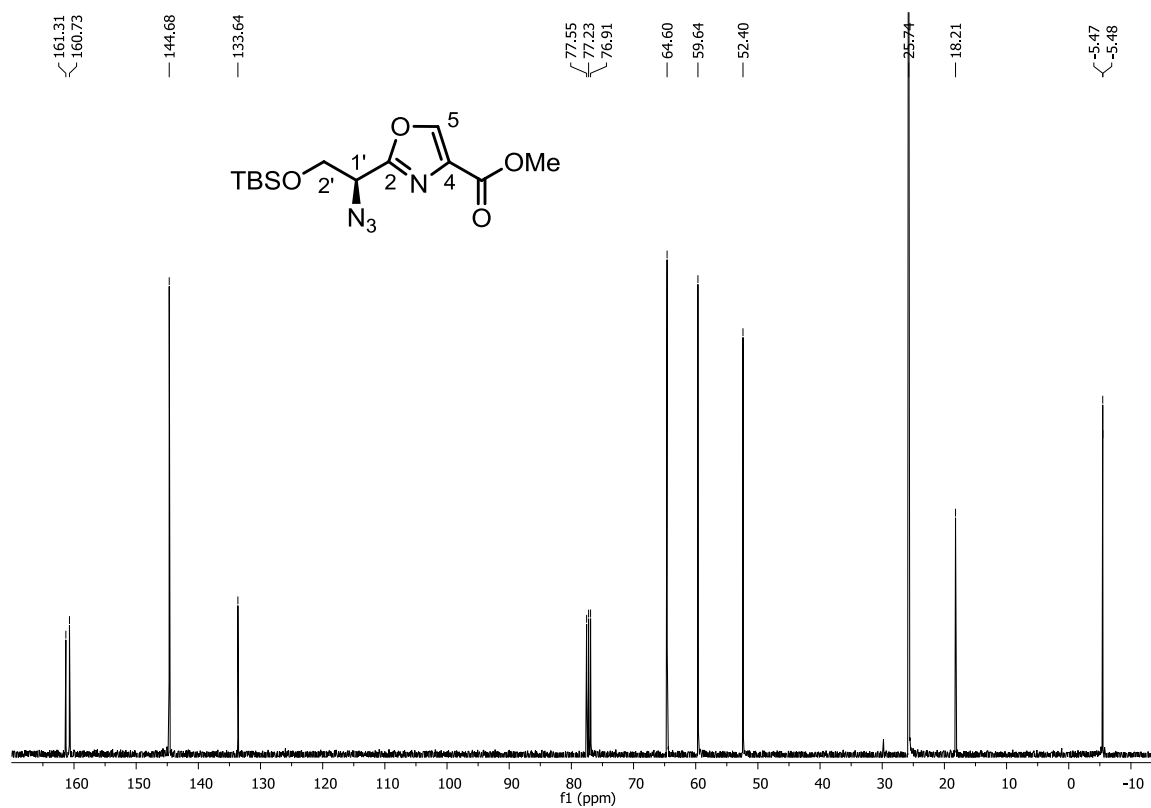


Abb. 105: ¹³C-NMR Spektrum von Oxazolazid **86** (100 MHz, CDCl₃).

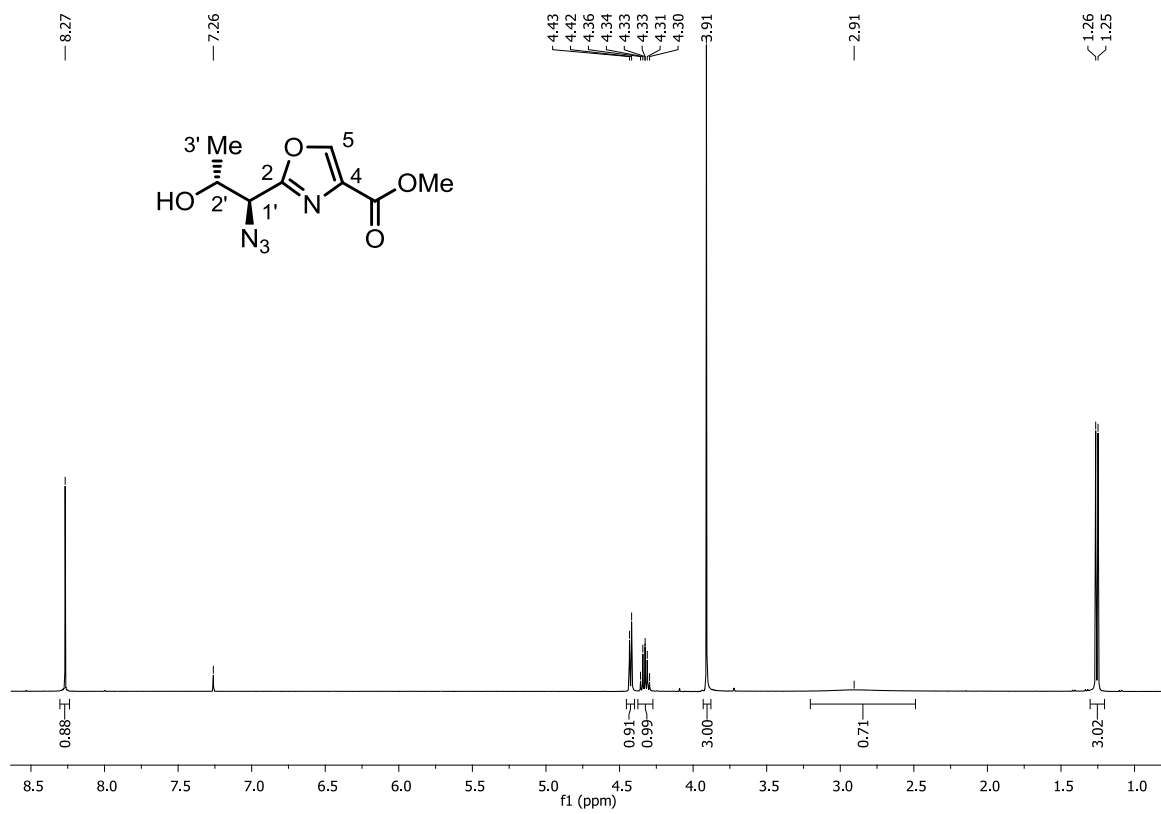


Abb. 106: ¹H-NMR Spektrum von Azidoalkohol **125** (400 MHz, CDCl₃).

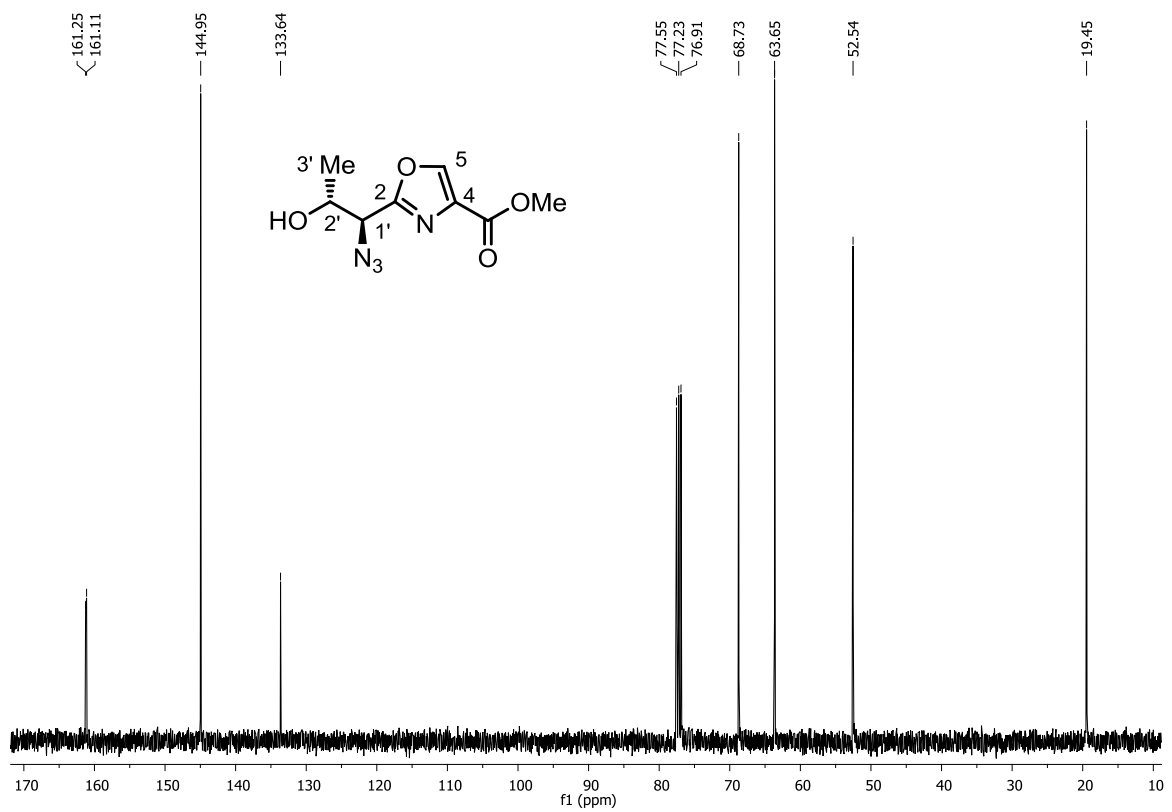


Abb. 107: ¹³C-NMR Spektrum von Azidoalkohol **125** (100 MHz, CDCl₃).

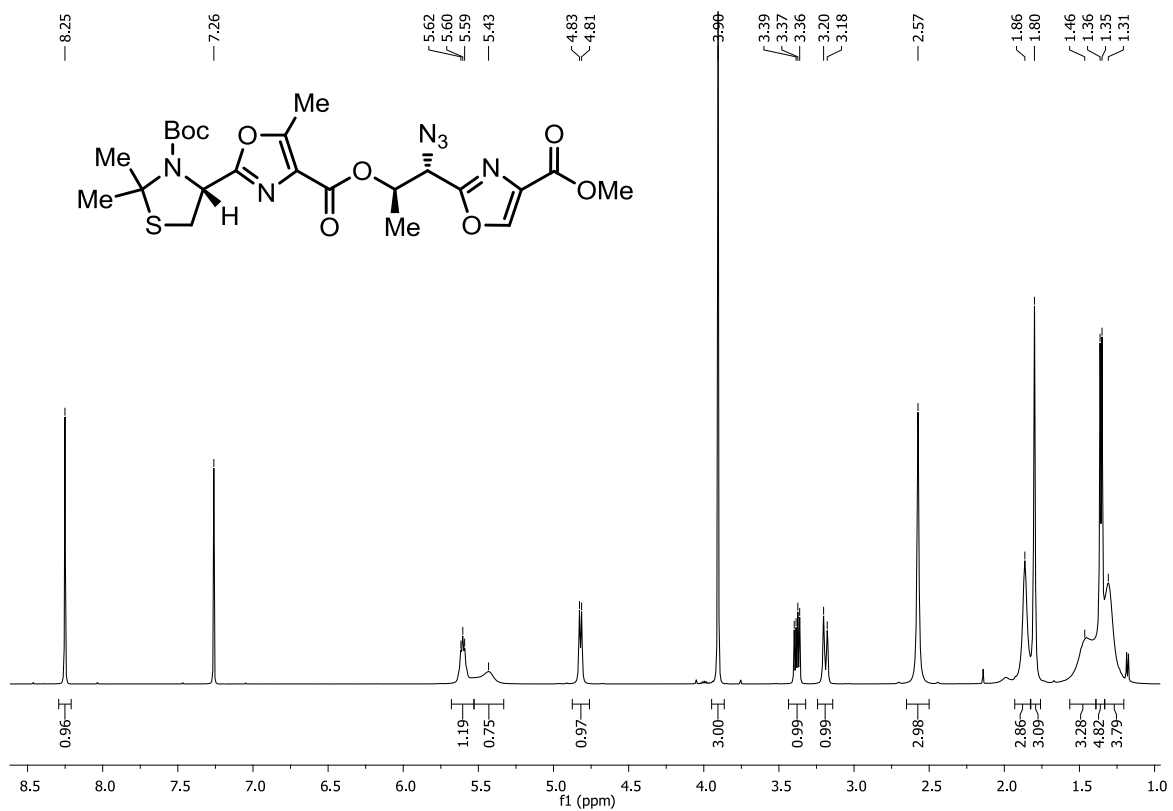


Abb. 108: ¹H-NMR Spektrum von Dioxazol 128 (500 MHz, CDCl₃).

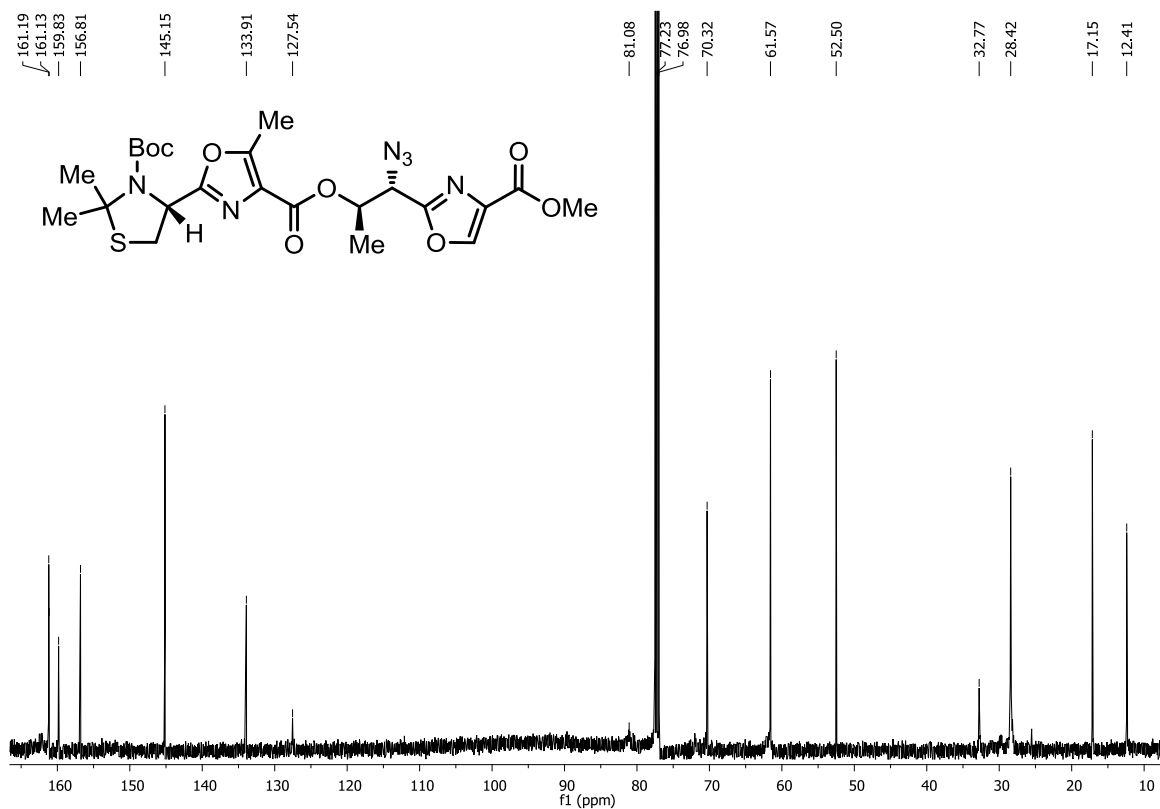


Abb. 109: ¹³C-NMR Spektrum von Dioxazol 128 (133 MHz, CDCl₃).

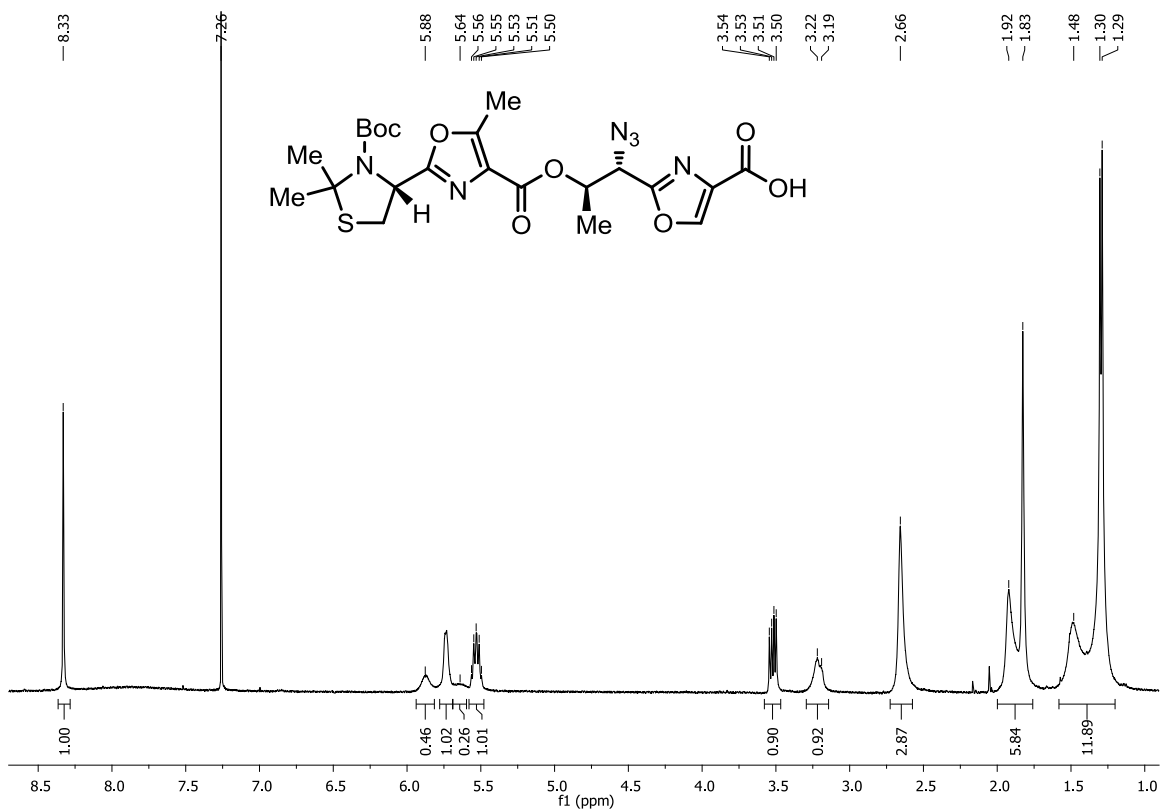


Abb. 110: ¹H-NMR Spektrum von Oxazolcarbonsäure **129** (400 MHz, CDCl₃).

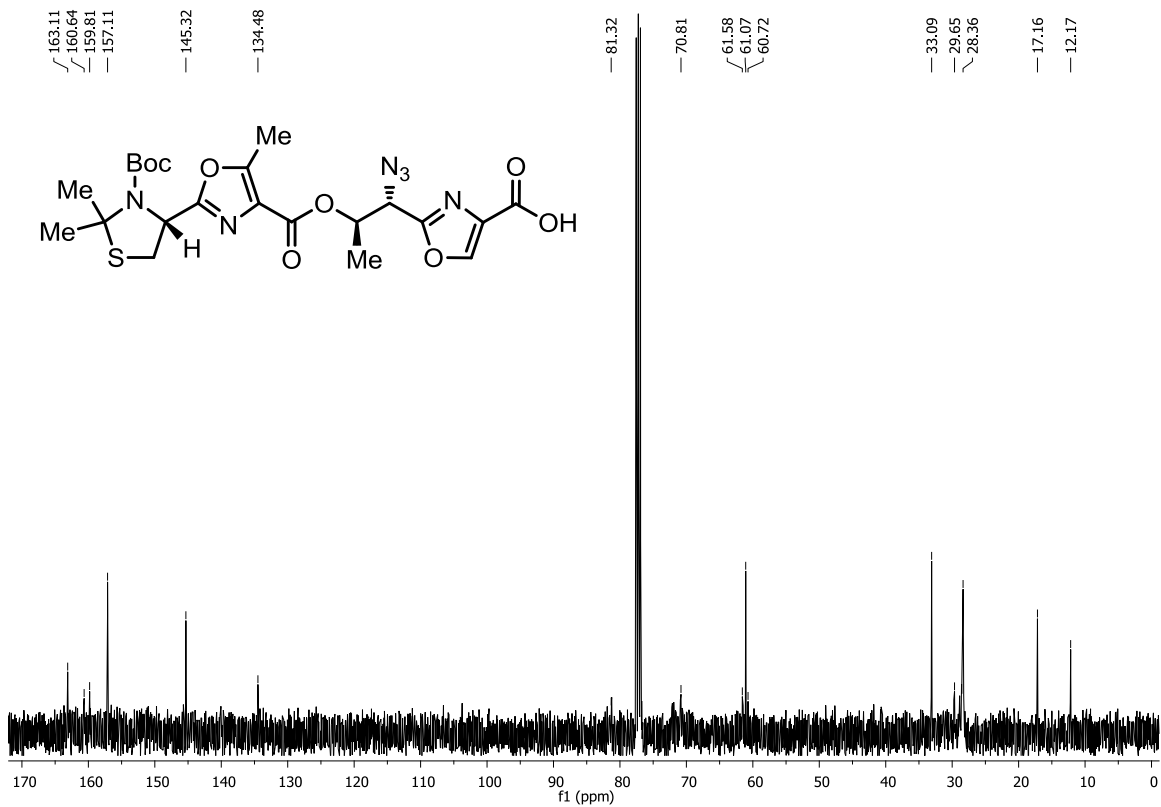


Abb. 111: ¹³C-NMR Spektrum von Oxazolcarbonsäure **129** (100 MHz, CDCl₃).

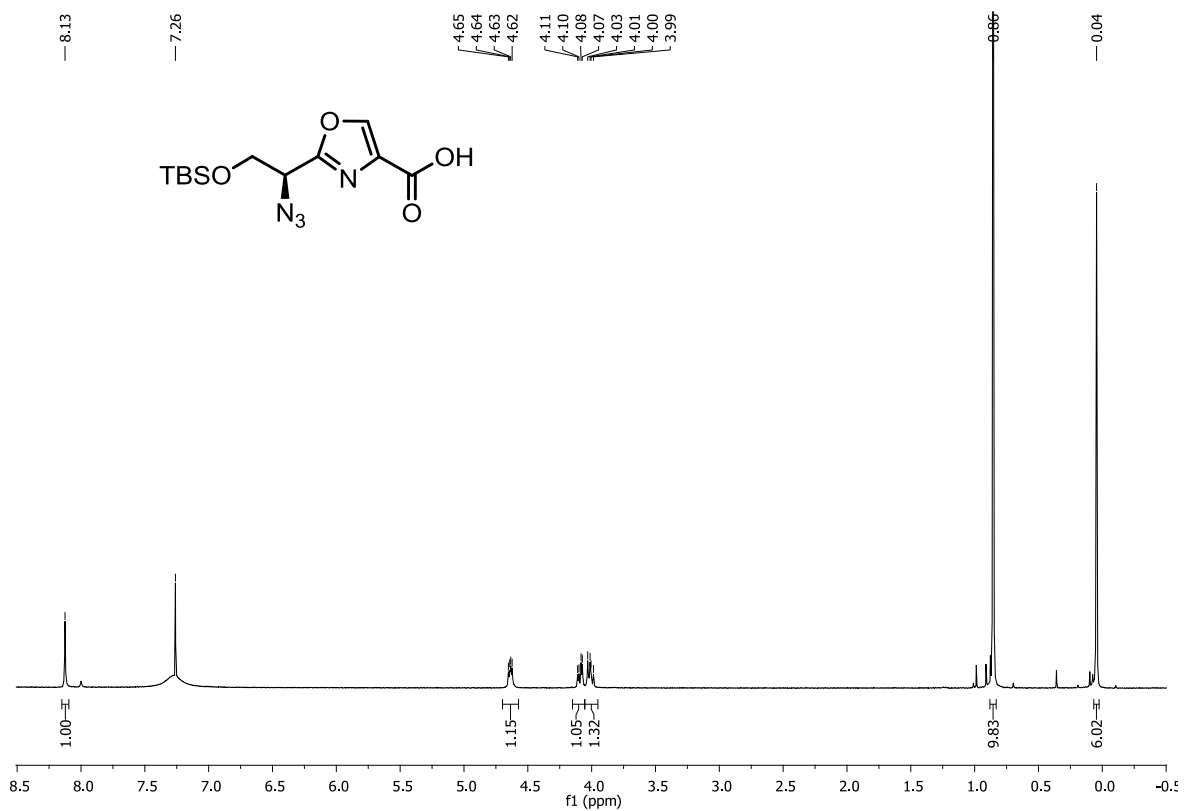


Abb. 112: ¹H-NMR Spektrum von Oxazolcarbonsäure **130** (400 MHz, CDCl₃).

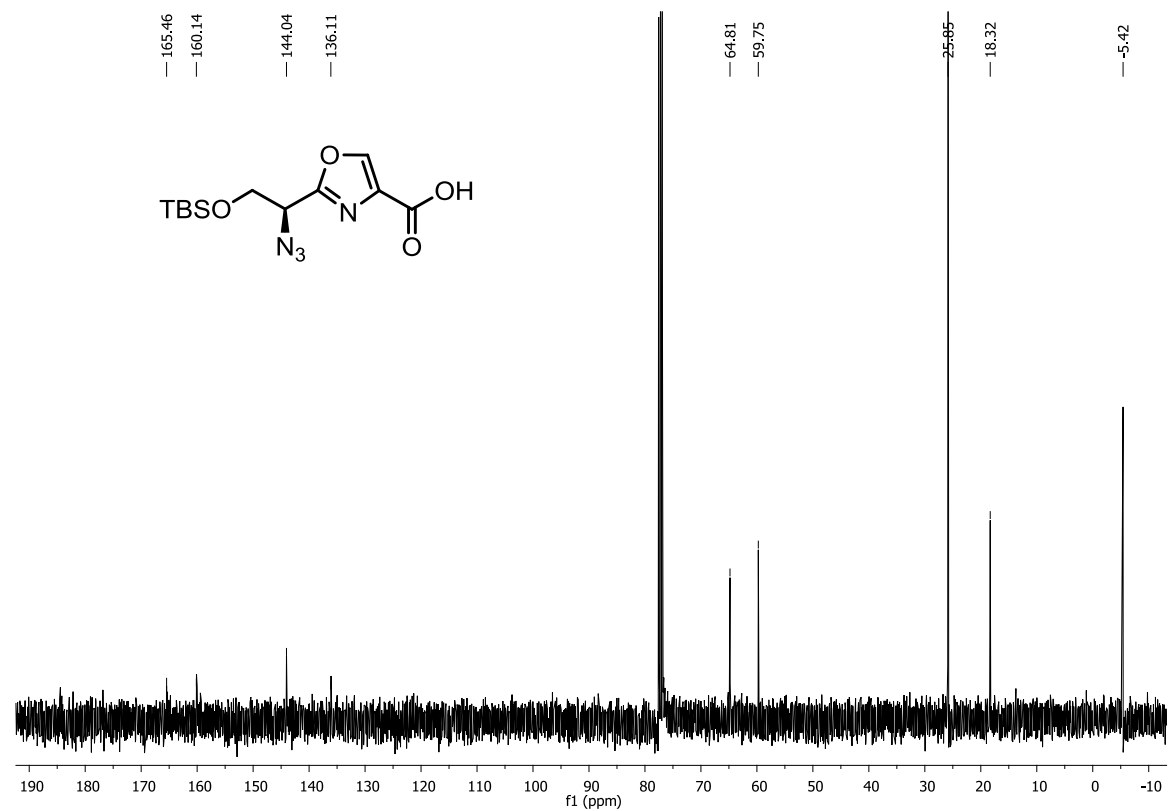


Abb. 113: ¹³C-NMR Spektrum von Oxazolcarbonsäure **130** (100 MHz, CDCl₃).

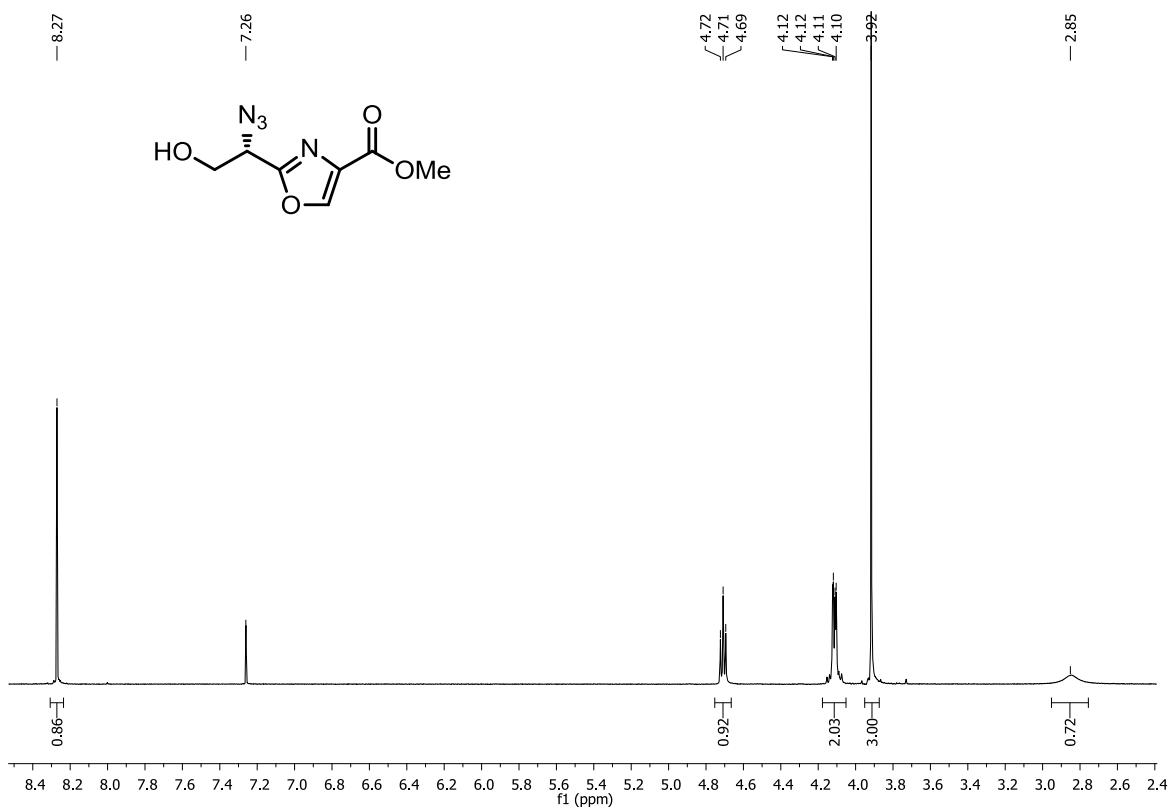


Abb. 114: ¹H-NMR Spektrum von Azidoalkohol **126** (400 MHz, CDCl₃).

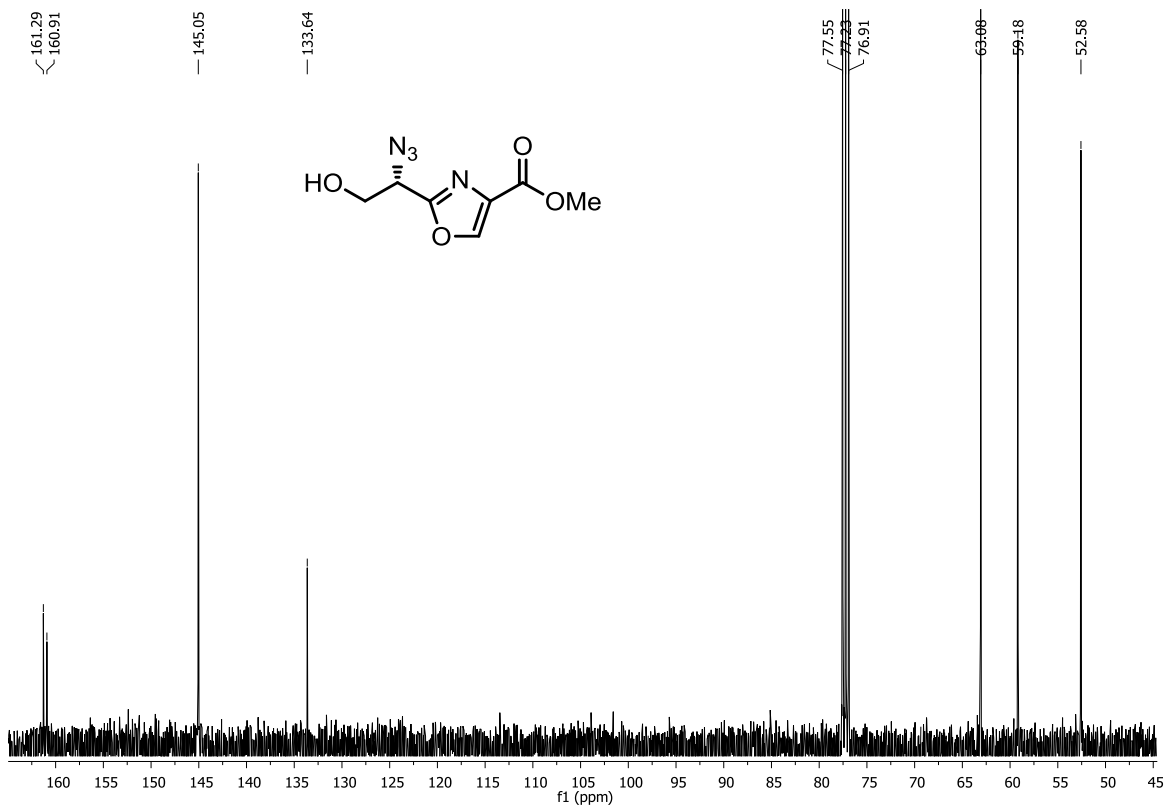


Abb. 115: ¹³C-NMR Spektrum von Azidoalkohol **126** (100 MHz, CDCl₃).

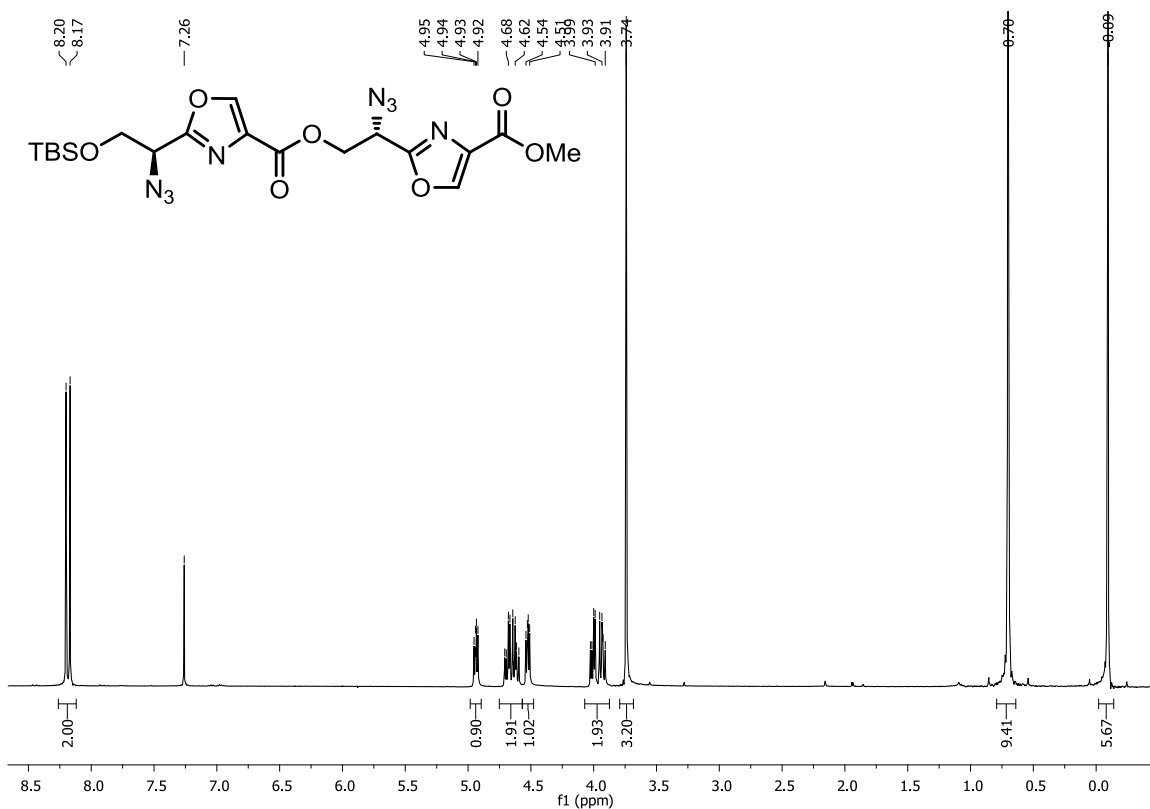


Abb. 116: ¹H-NMR Spektrum von Dioxazol **131** (400 MHz, CDCl₃).

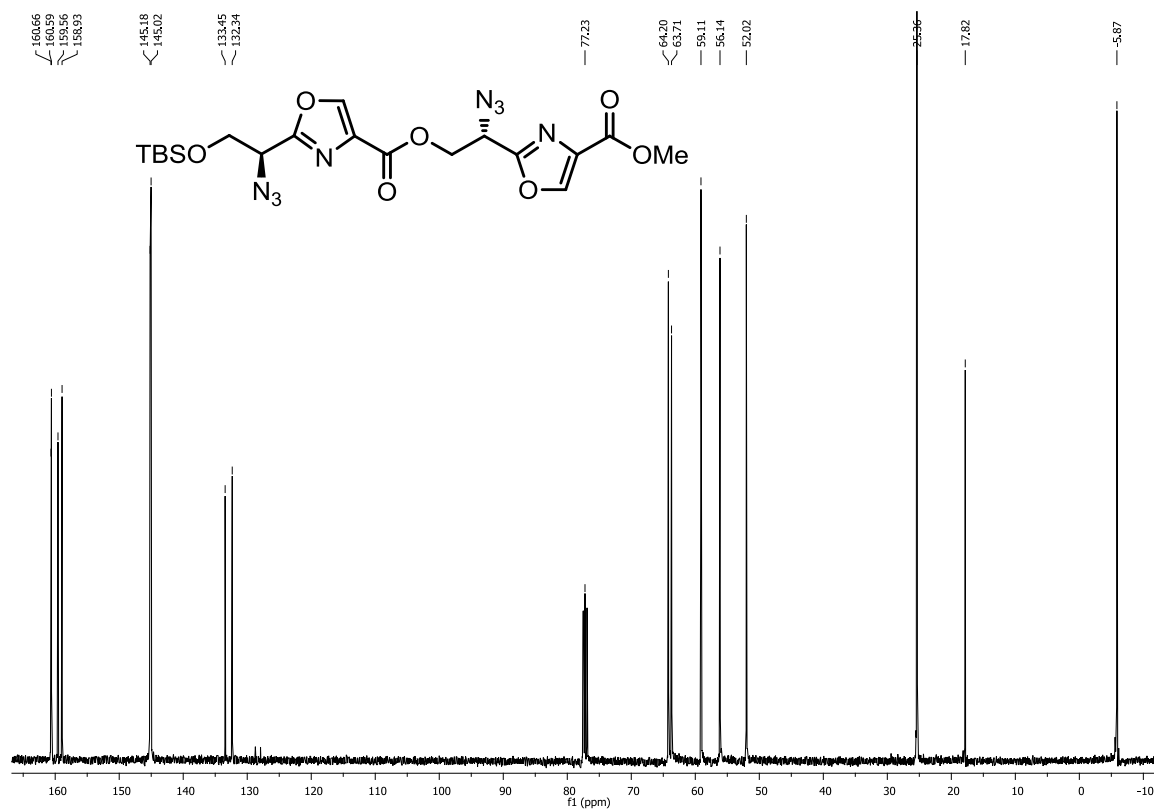


Abb. 117: ¹³C-NMR Spektrum von Dioxazol **131** (100 MHz, CDCl₃).

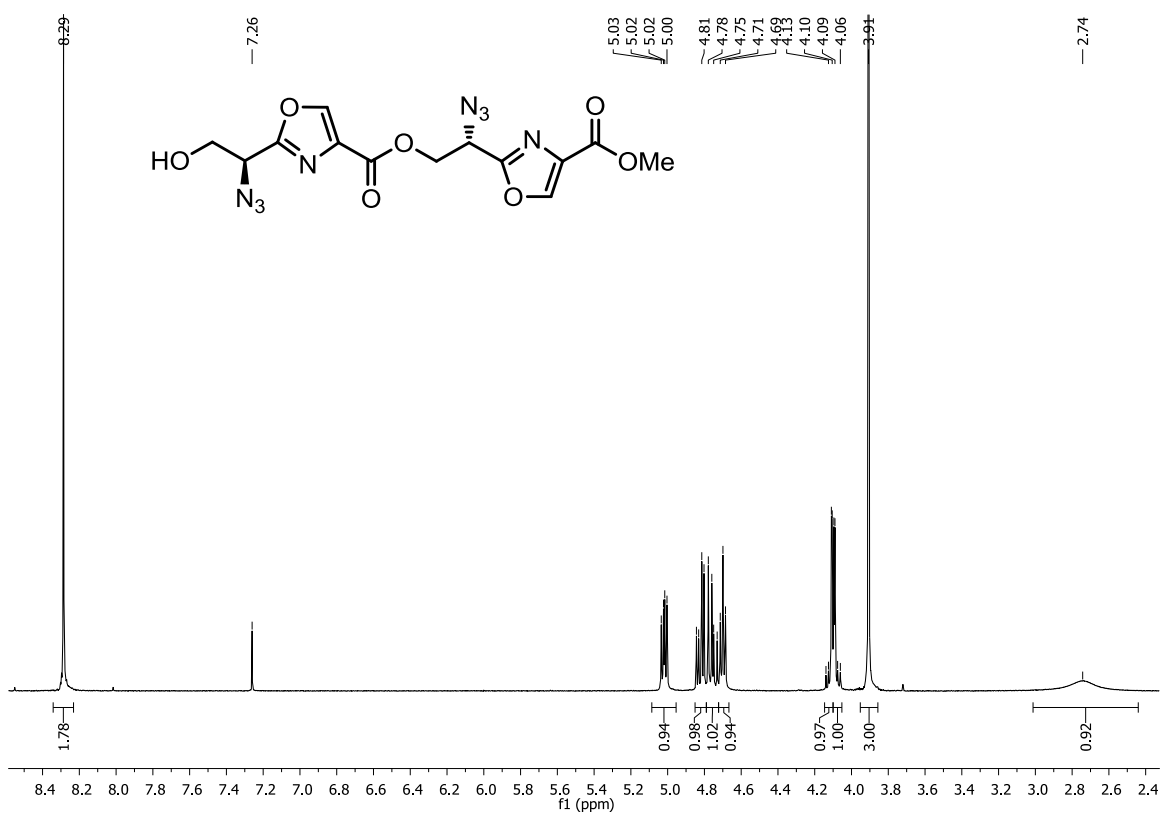


Abb. 118: ^1H -NMR Spektrum von Azidoalkohol **132** (400 MHz, CDCl_3).



Abb. 119: ^{13}C -NMR Spektrum von Azidoalkohol **132** (100 MHz, CDCl_3).

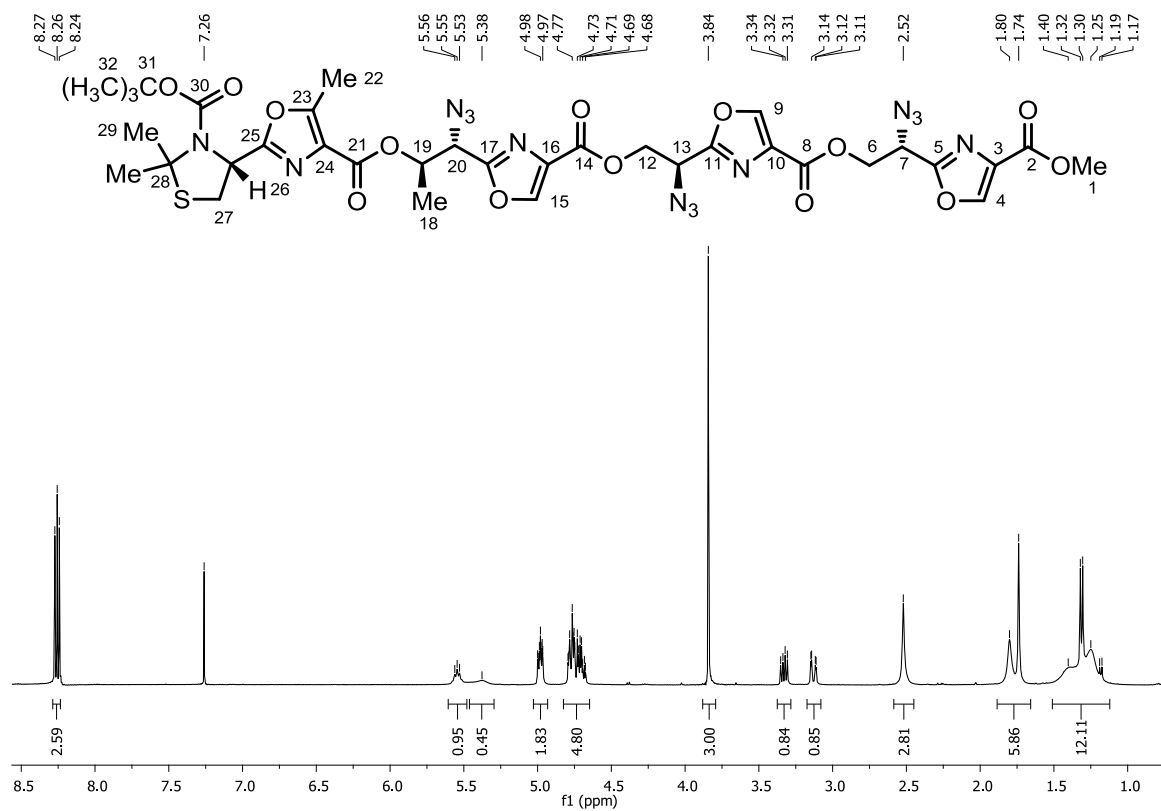


Abb. 120: ^1H -NMR Spektrum von Triazid 134 (400 MHz, CDCl_3).

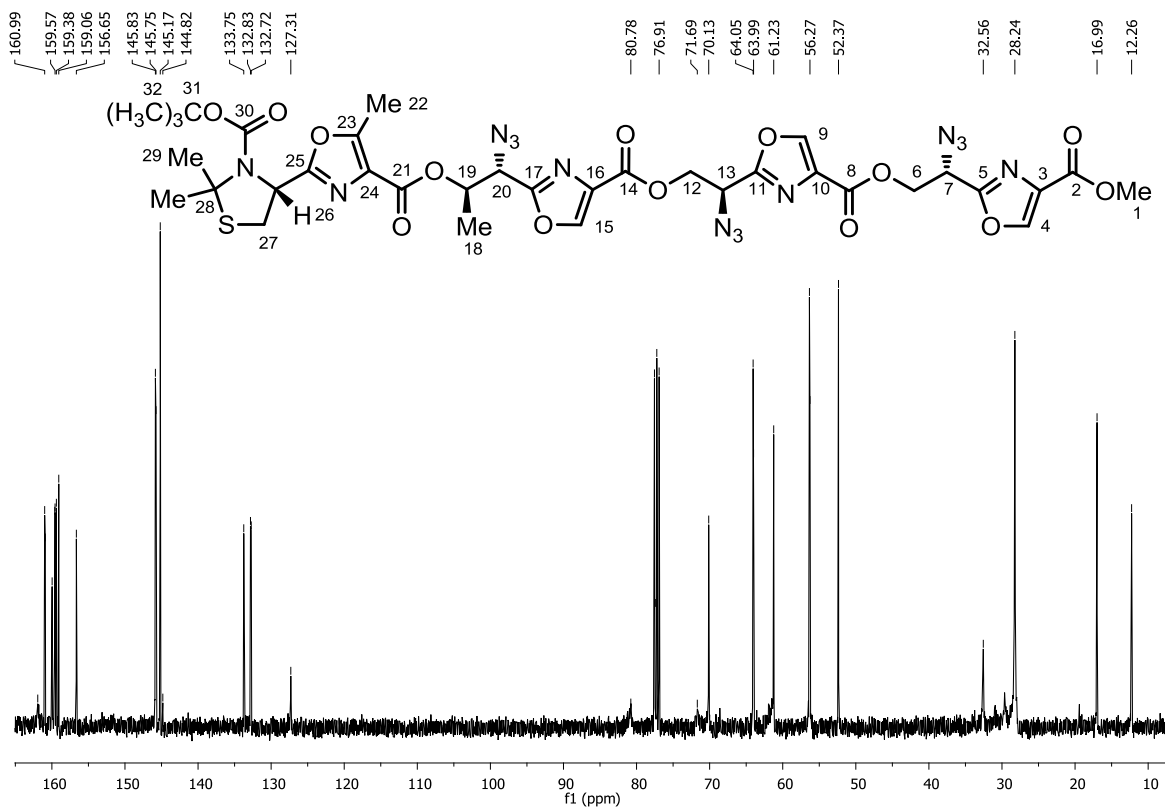


Abb. 121: ^{13}C -NMR Spektrum von Triazid 134 (100 MHz, CDCl_3).

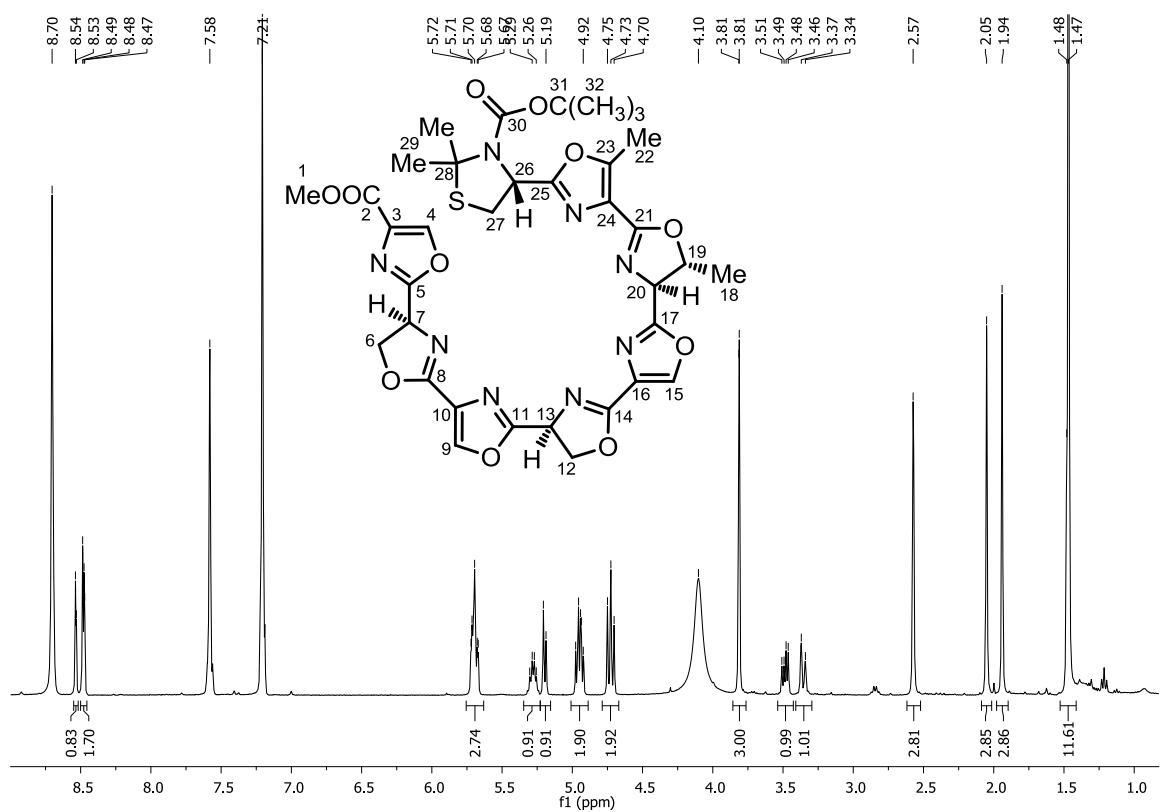


Abb. 122: ¹H-NMR Spektrum von Trisoxazolin **135** (400 MHz, Pyridin-d₅, 70 °C).

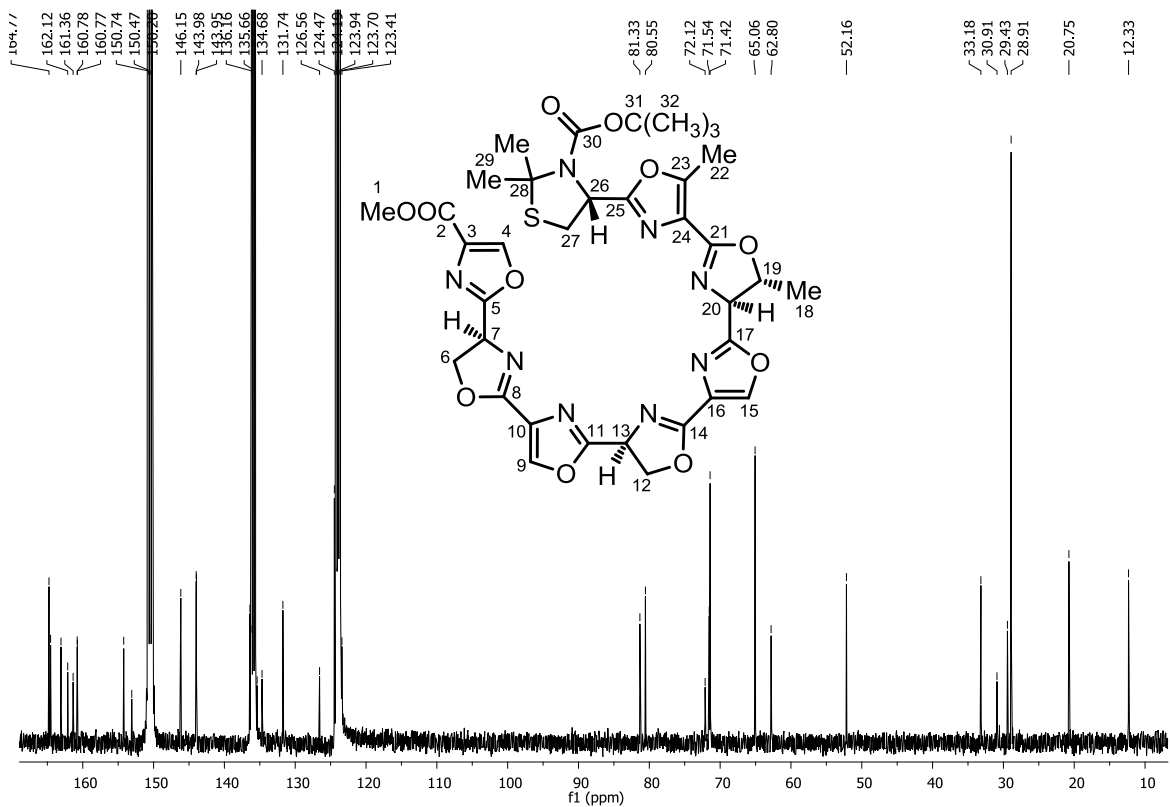
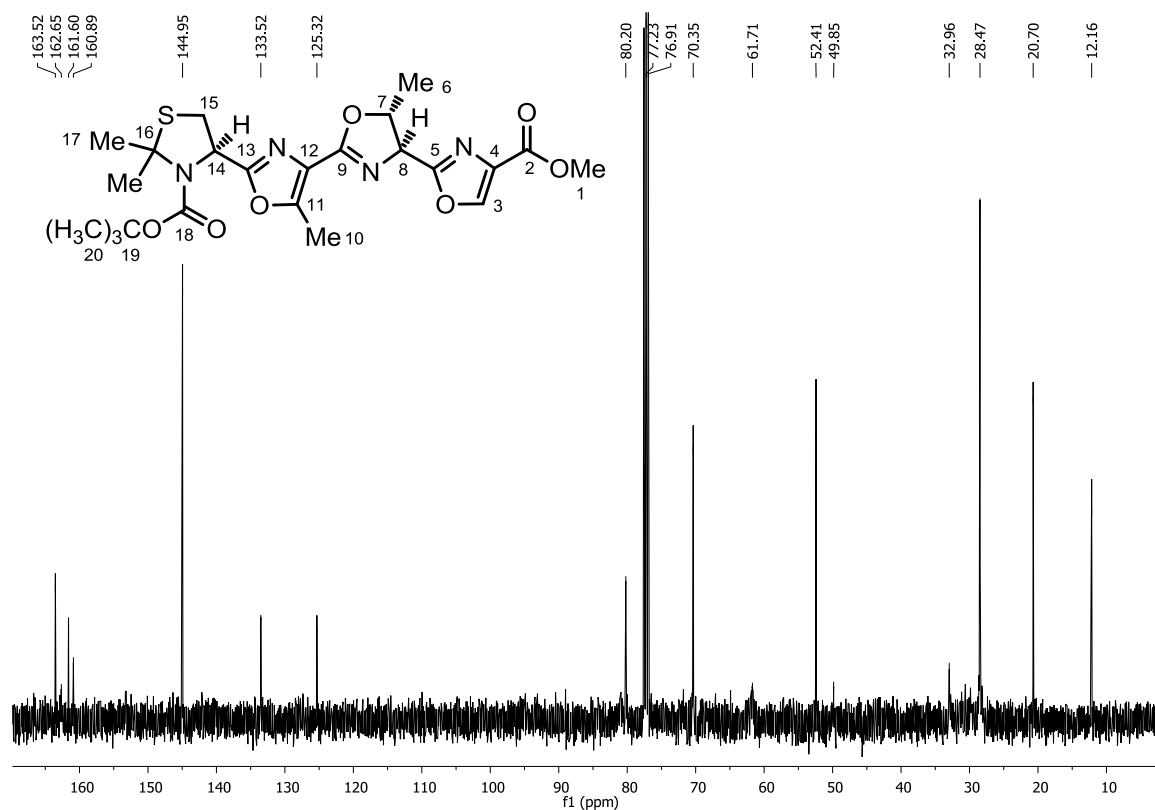
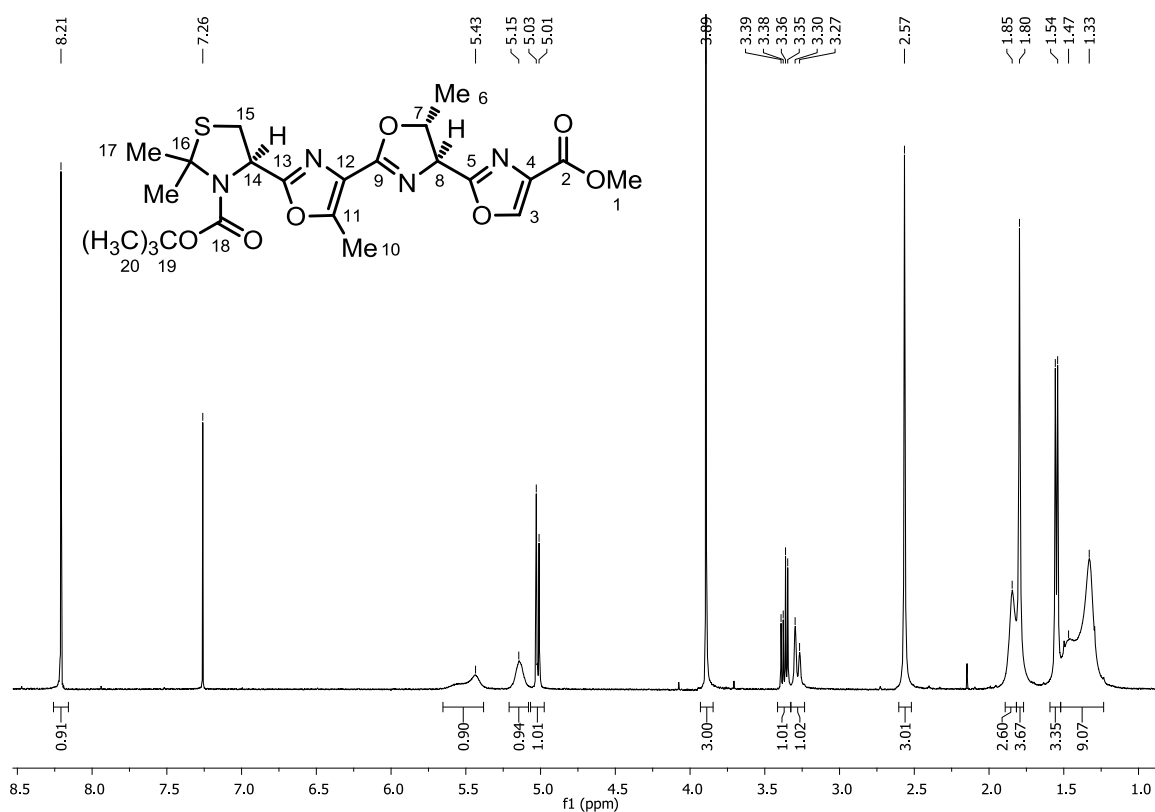


Abb. 123: ¹³C-NMR Spektrum von Trisoxazolin **135** (100 MHz, Pyridin-d₅, 70 °C).



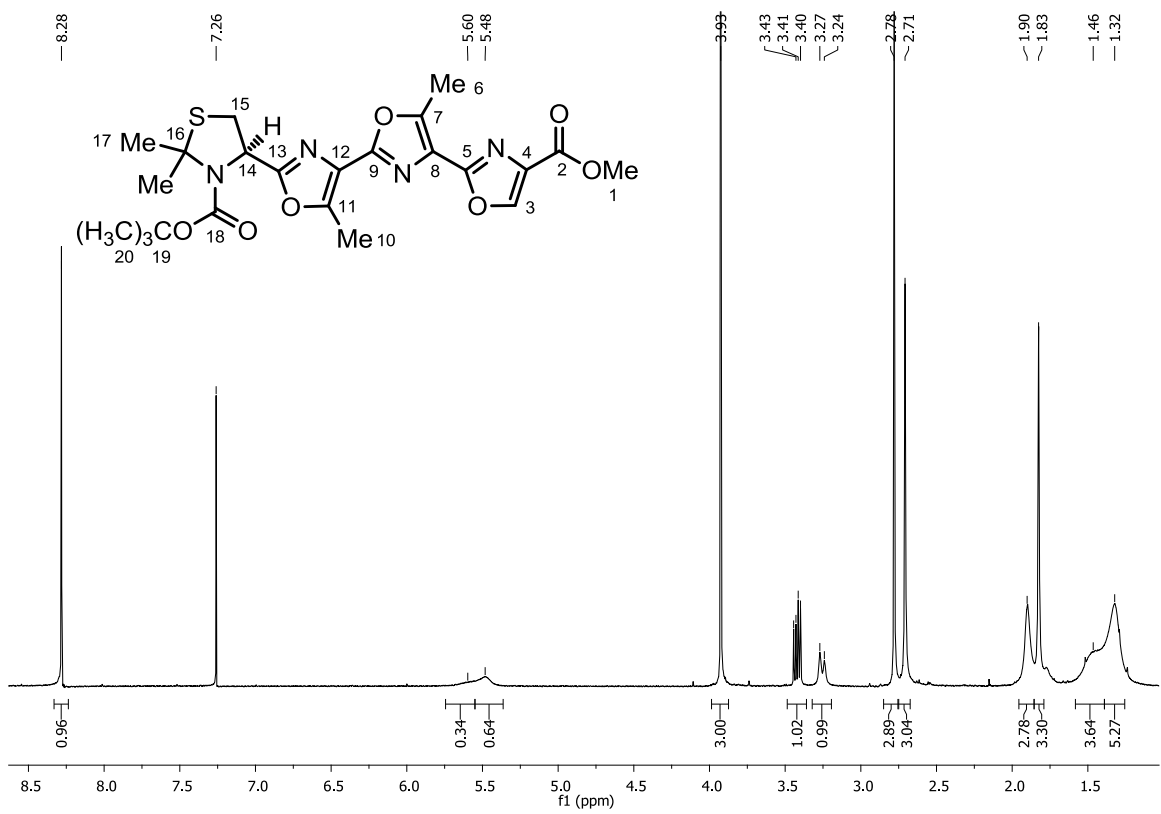


Abb. 126: ¹H-NMR Spektrum von Trisoxazol **141** (400 MHz, CDCl₃).

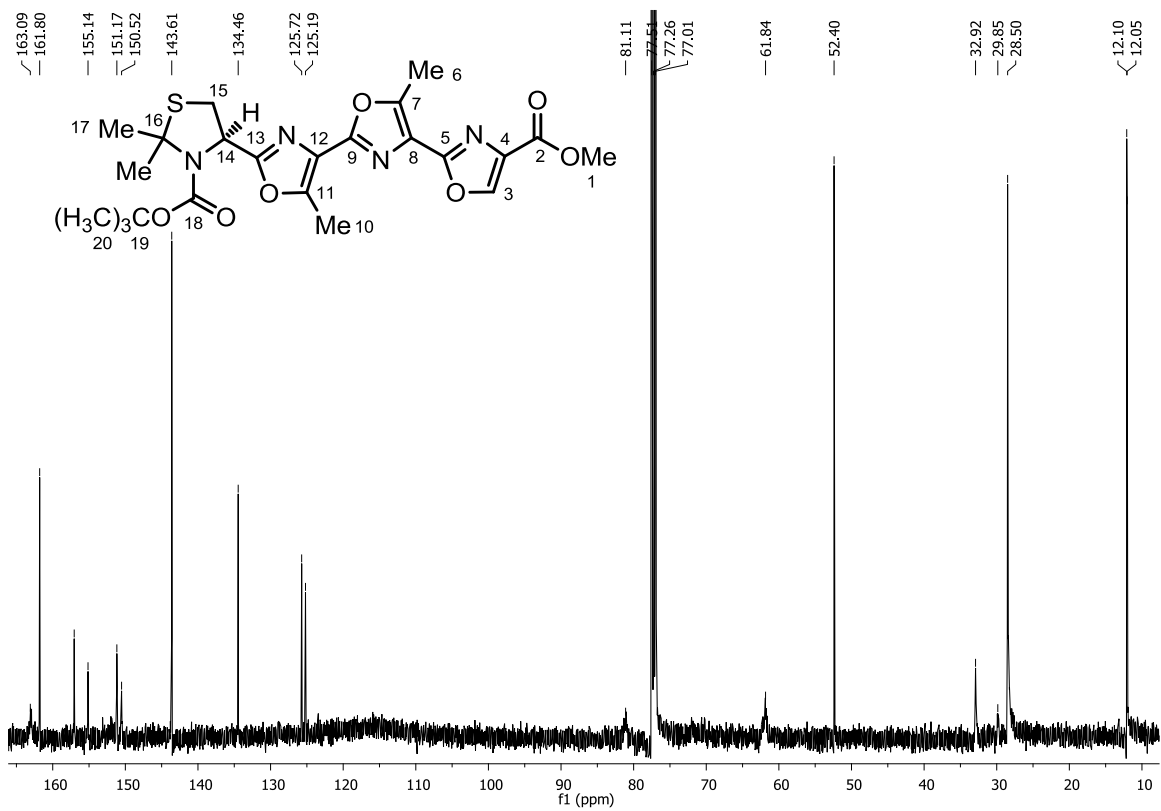


Abb. 127: ¹³C-NMR Spektrum von Trisoxazol **141** (100 MHz, CDCl₃).

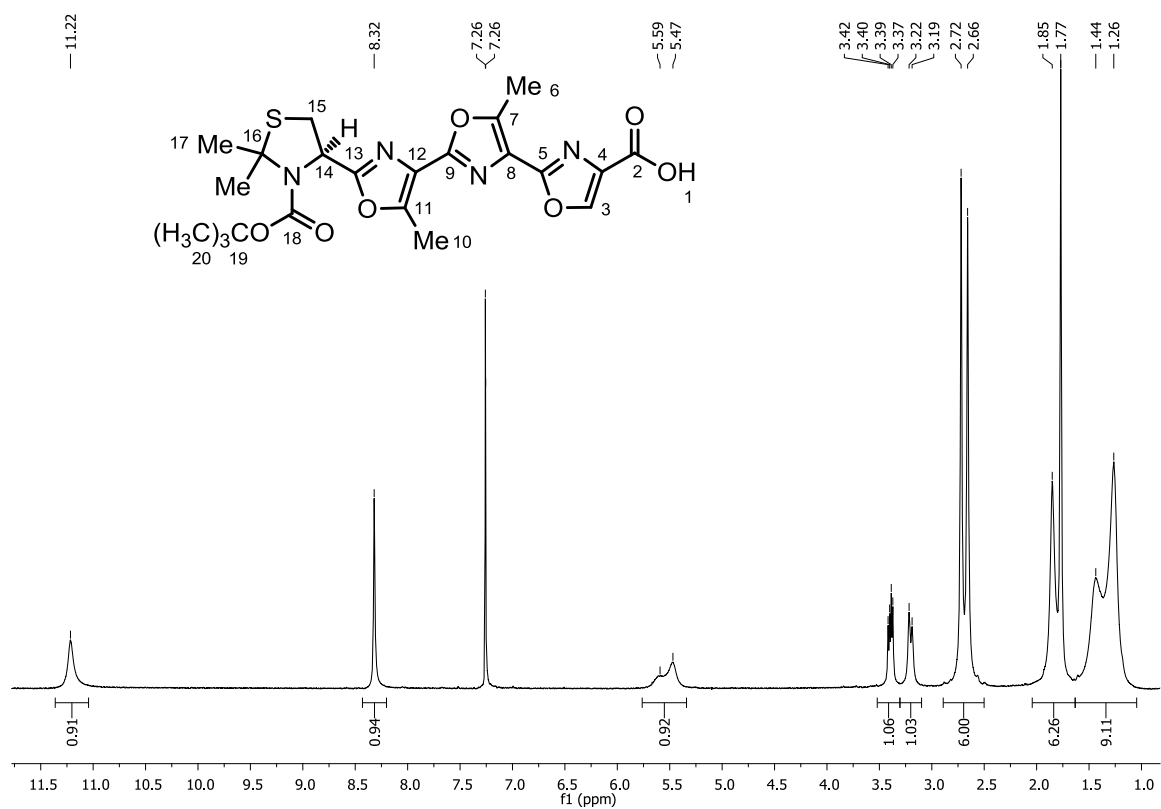


Abb. 128: ¹H-NMR Spektrum von Trisoxazolcarbonsäure **142** (400 MHz, CDCl₃).

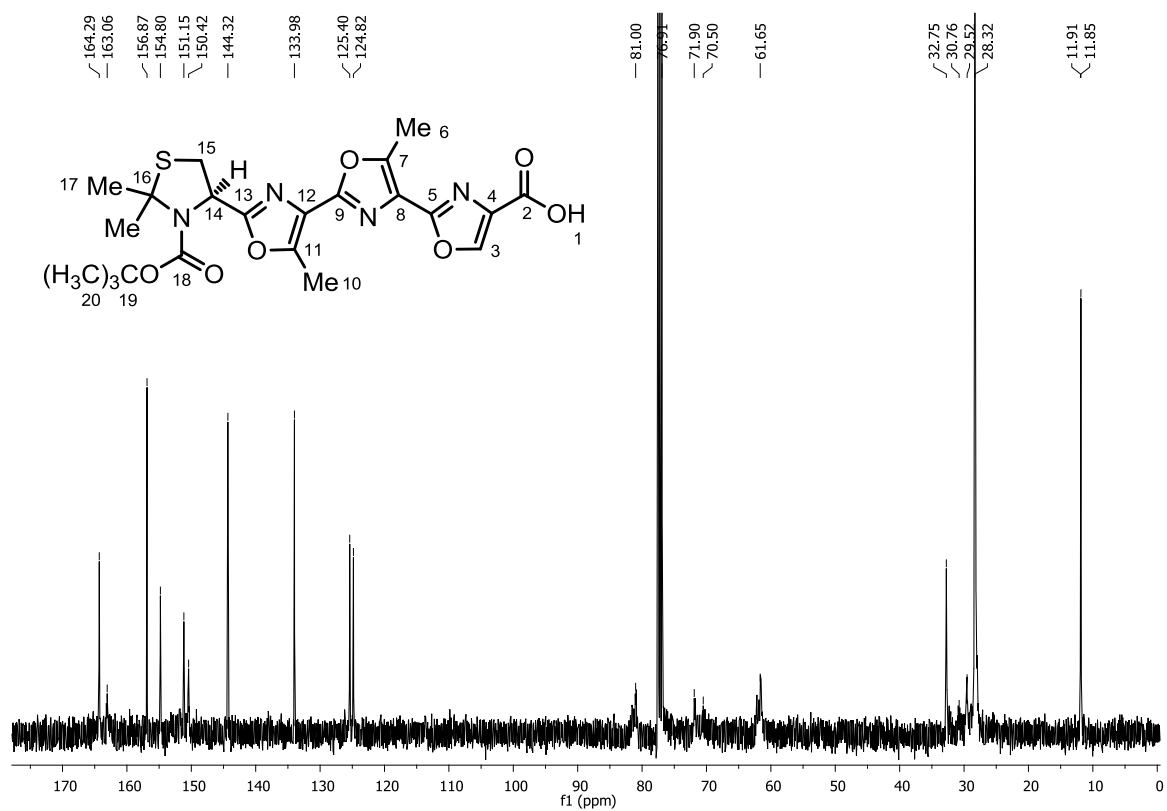


Abb. 129: ¹³C-NMR Spektrum von Trisoxazolcarbonsäure **142** (100 MHz, CDCl₃).

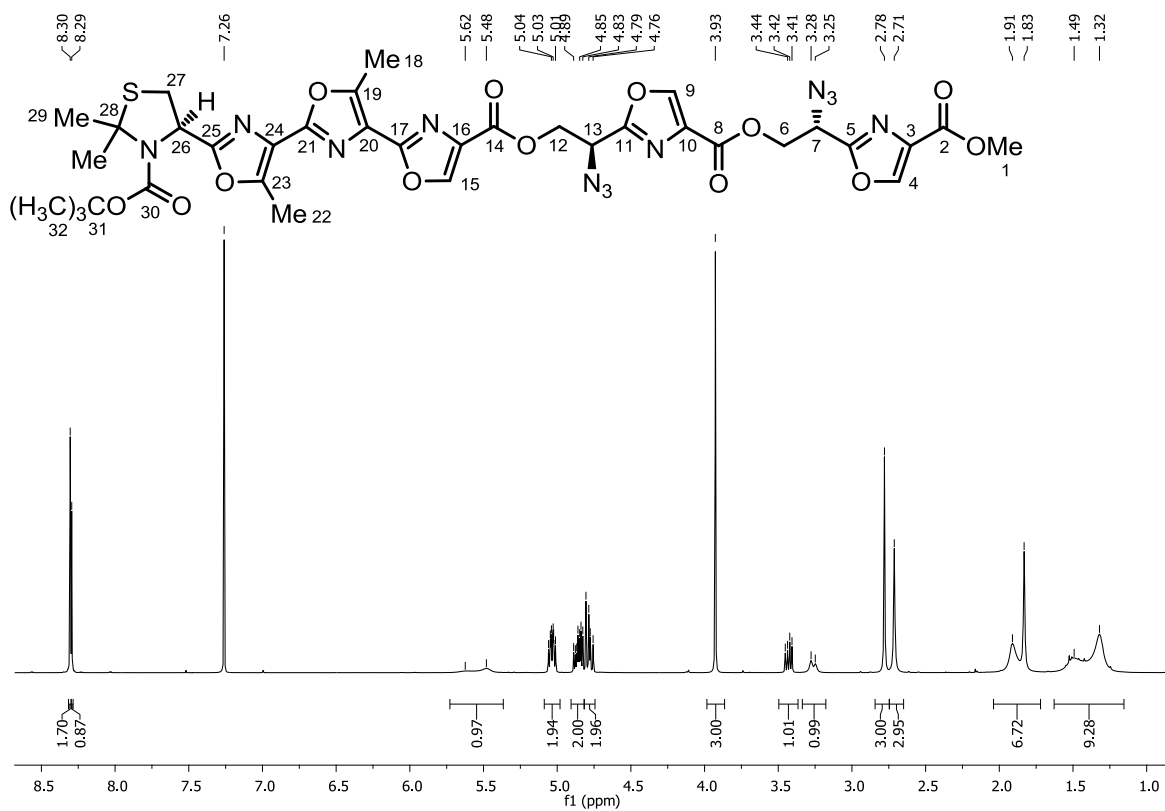


Abb. 130: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Pentaoxazol 144 (400 MHz, CDCl_3).

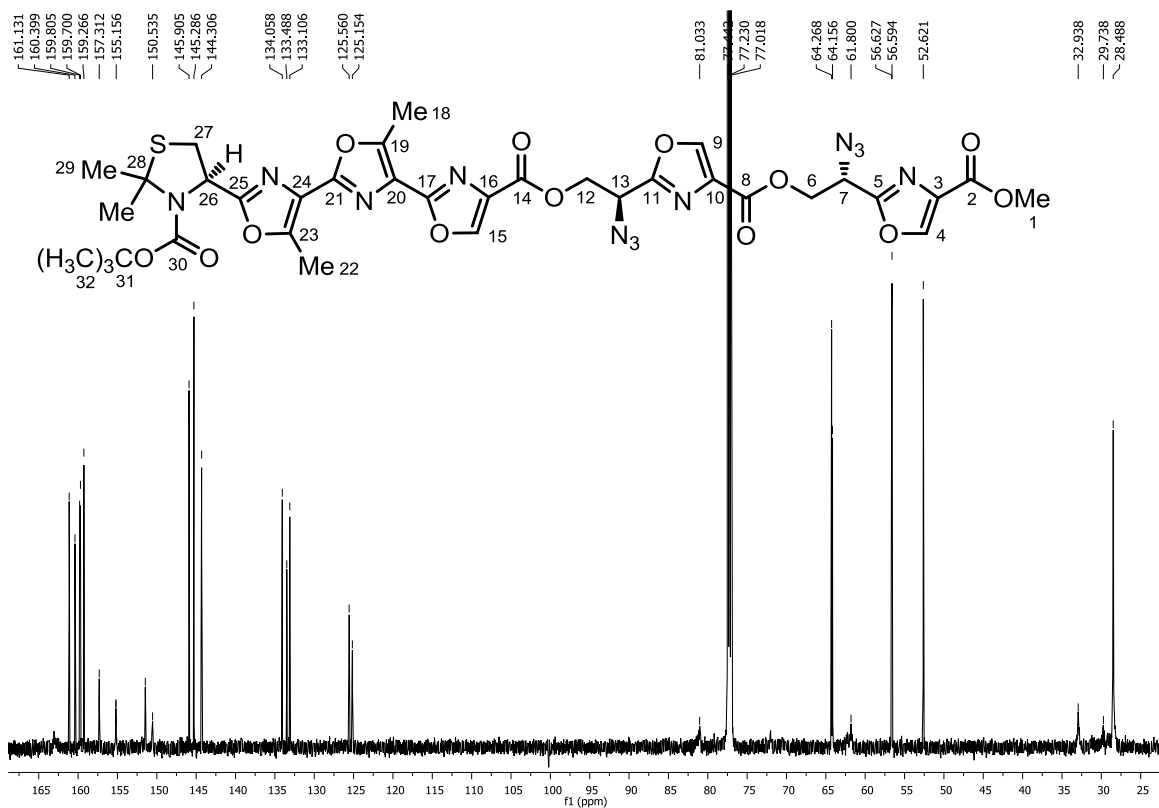


Abb. 131: $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum von Pentaoxazol 144 (100 MHz, CDCl_3).

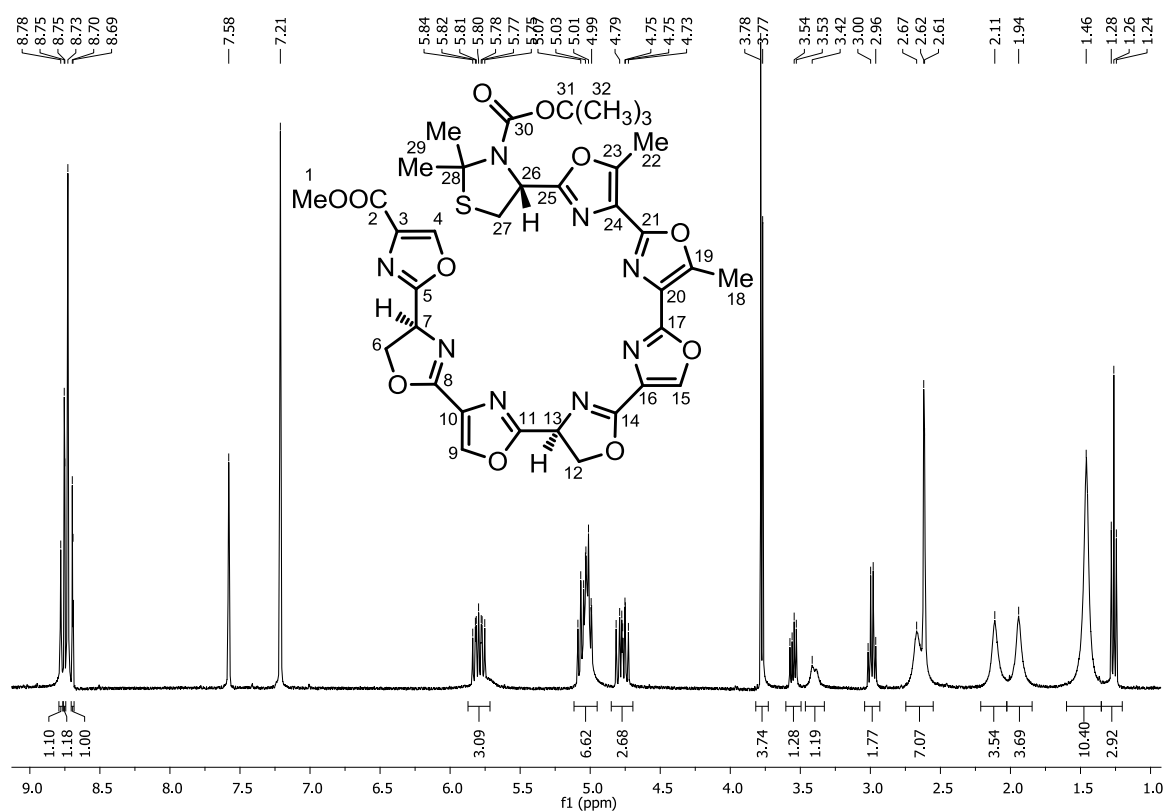


Abb. 132: ¹H-NMR Spektrum von Bisoxazolin 145 (400 MHz, Pyridin-d₅).

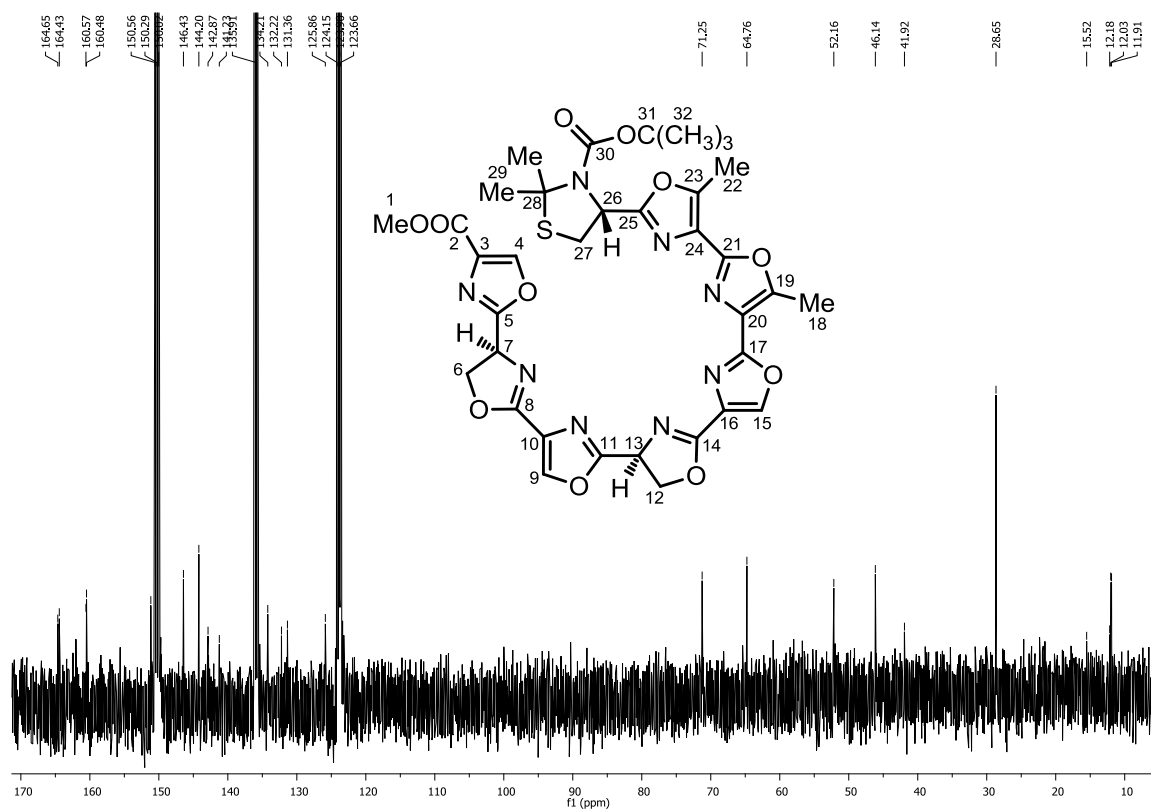


Abb. 133: ¹³C-NMR Spektrum von Bisoxazolin 145 (100 MHz, Pyridin-d₅).

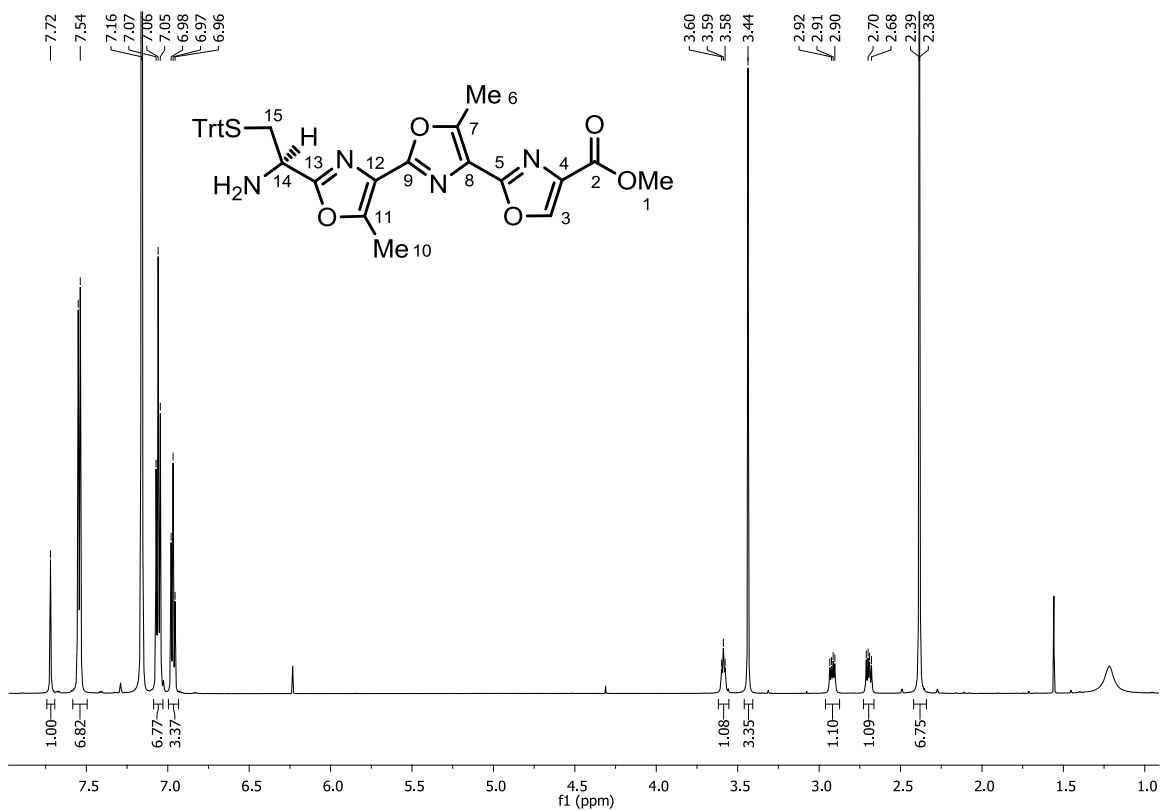


Abb. 134: ^1H -NMR Spektrum von Trisoxazolamin **147** (600 MHz, Benzol- d_6).

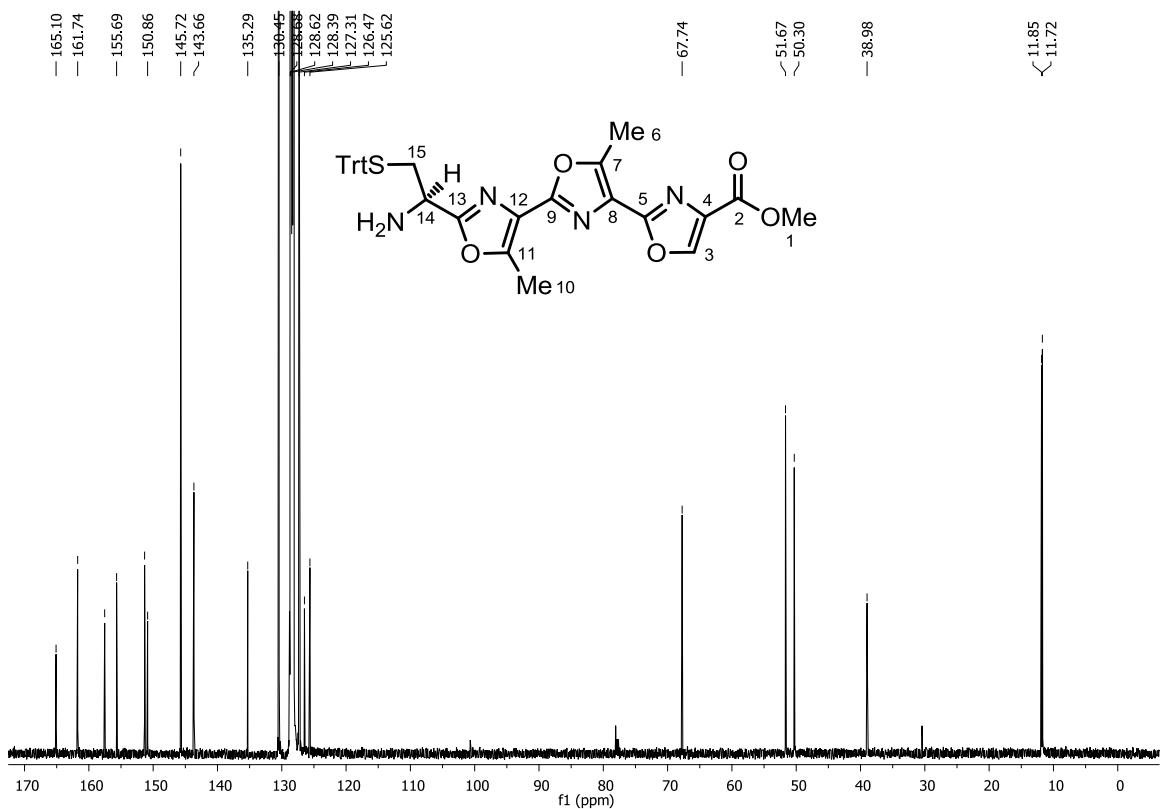


Abb. 135: ^{13}C -NMR Spektrum von Trisoxazolamin **147** (150 MHz, Benzol- d_6).

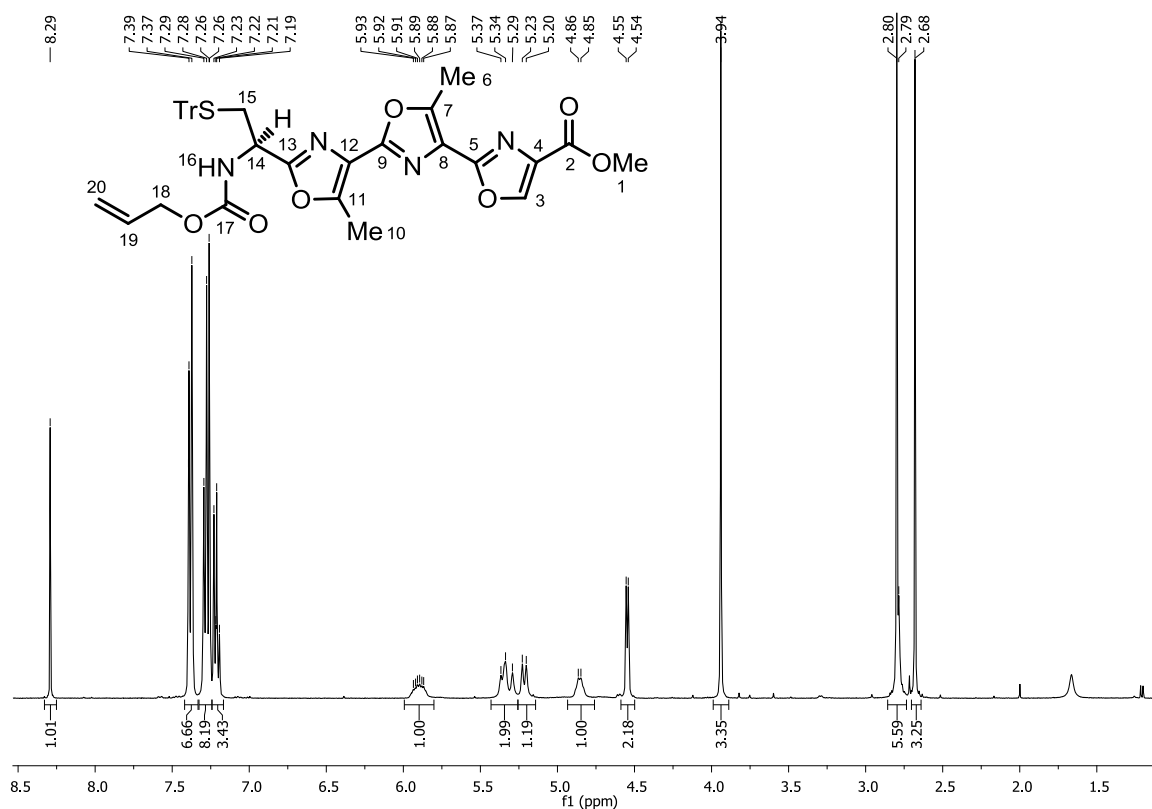


Abb. 136: ^1H -NMR Spektrum von Allylcarbamat **148** (400 MHz, CDCl_3).

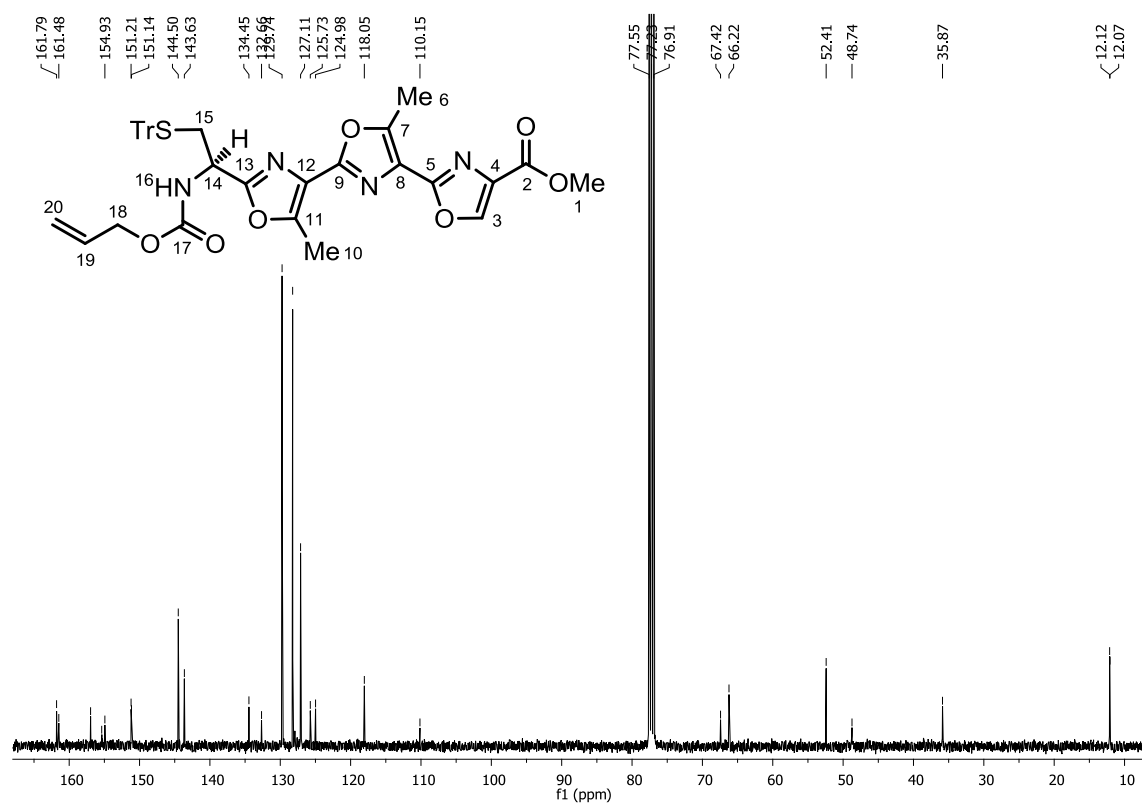


Abb. 137: ^{13}C -NMR Spektrum von Allylcarbamat **148** (100 MHz, CDCl_3).

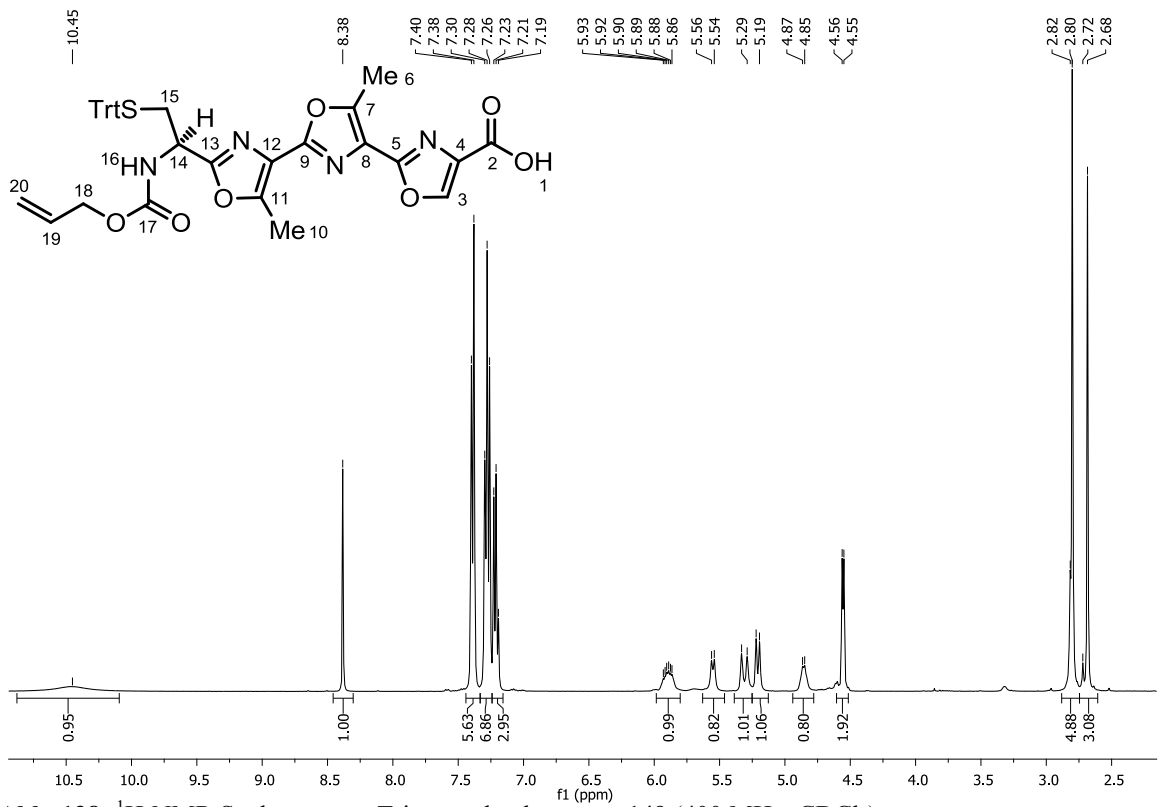


Abb. 138: ¹H-NMR Spektrum von Trisoxazolcarbonsäure **149** (400 MHz, CDCl₃).

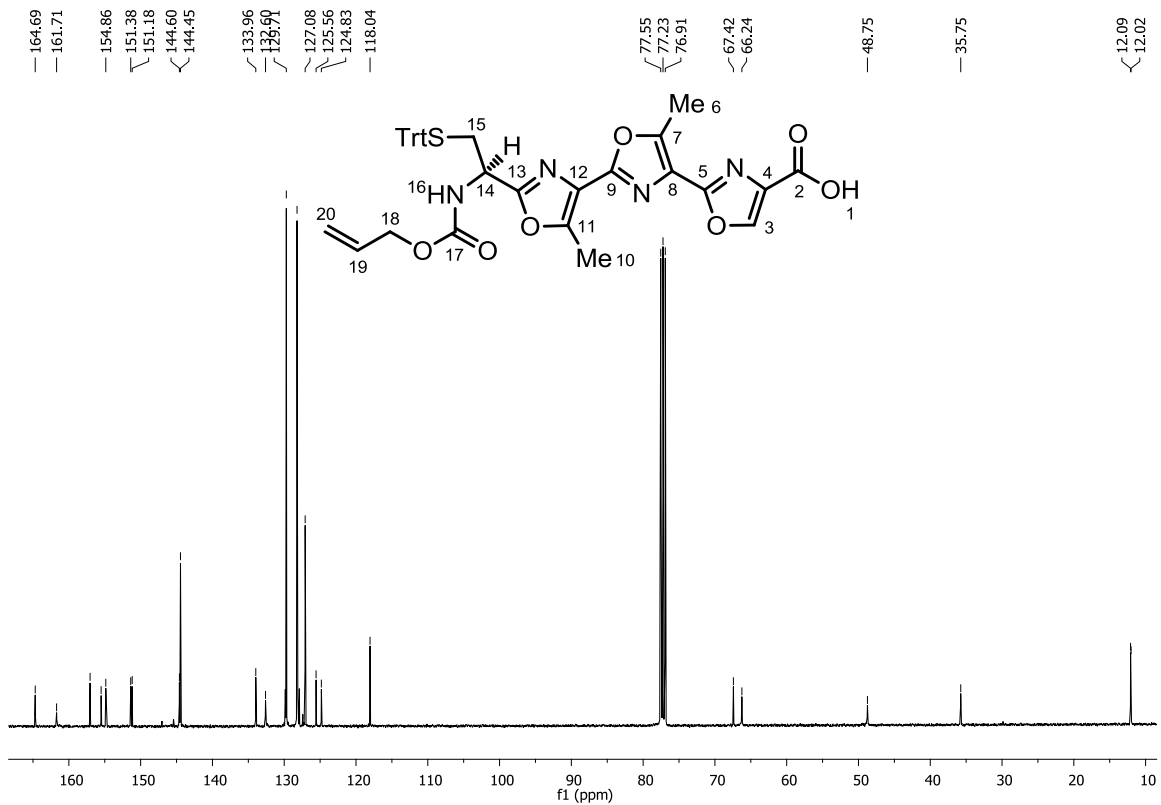


Abb. 139: ¹³C-NMR Spektrum von Trisoxazolcarbonsäure **149** (100 MHz, CDCl₃).

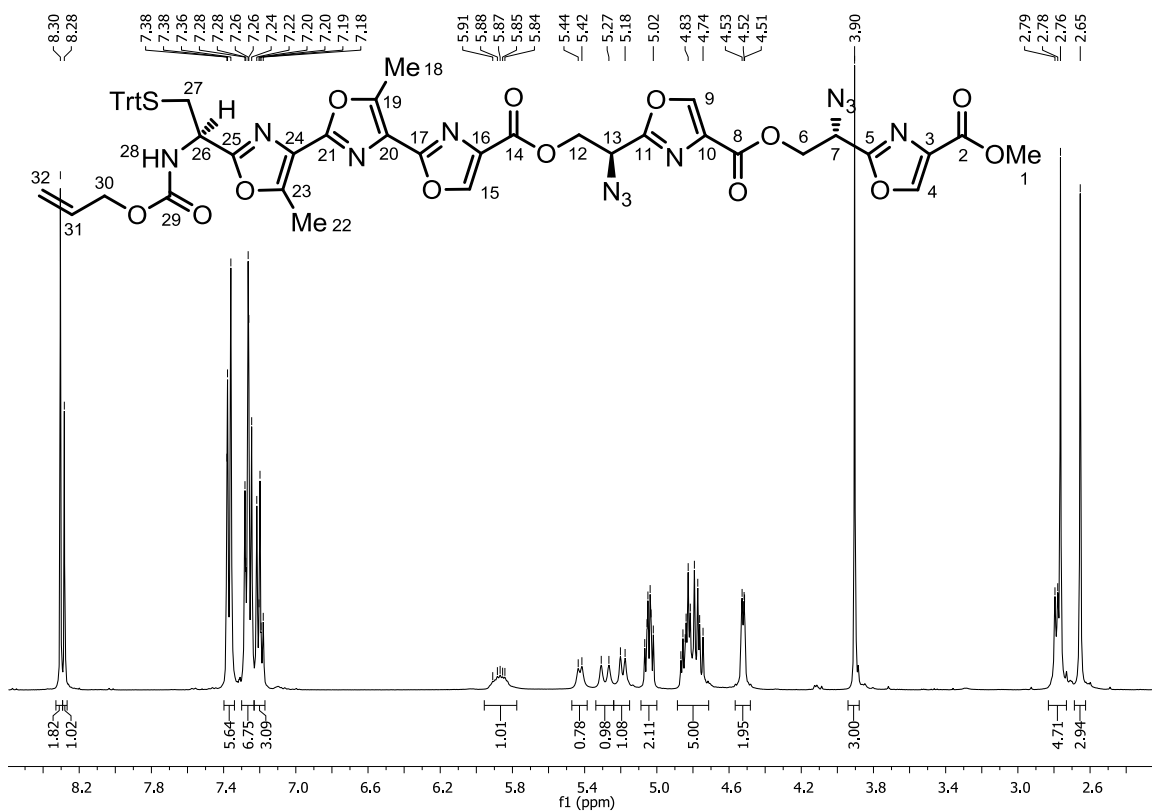


Abb. 140: ¹H-NMR Spektrum von Pentaoxazol **150** (400 MHz, CDCl₃).

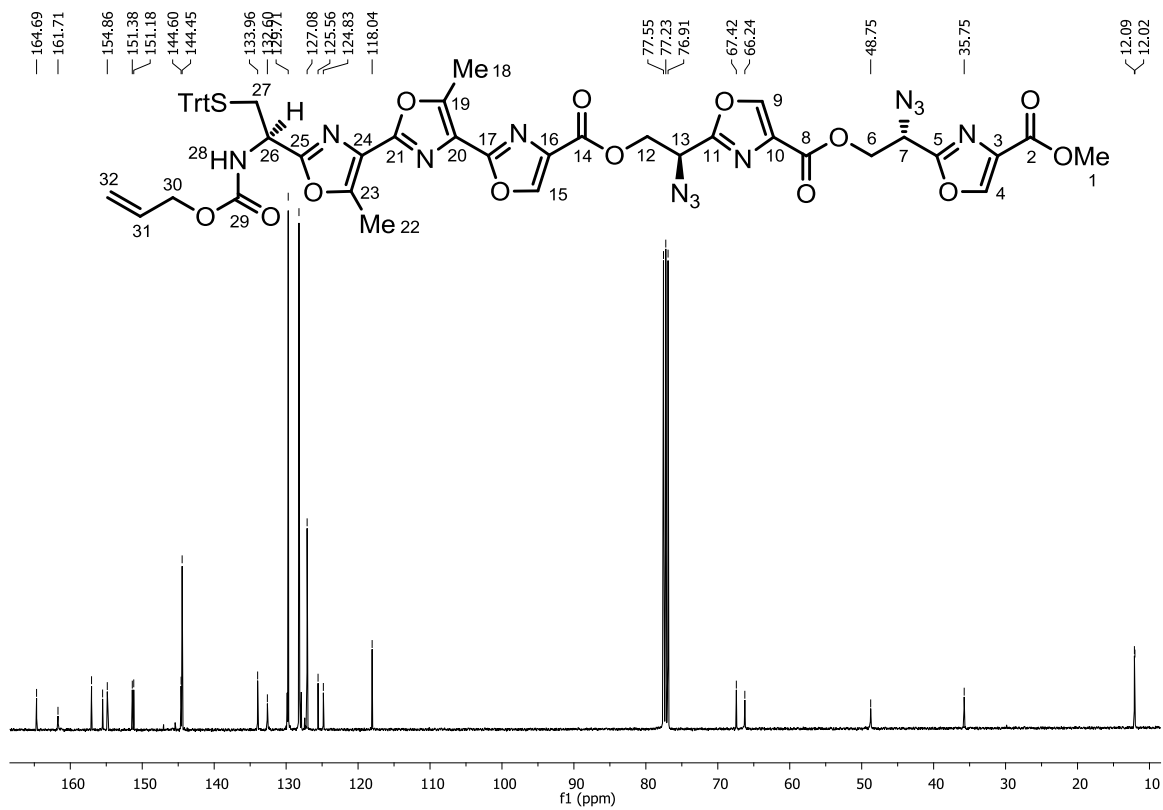


Abb. 141: ¹³C-NMR Spektrum von Pentaoxazol **150** (100 MHz, CDCl₃).

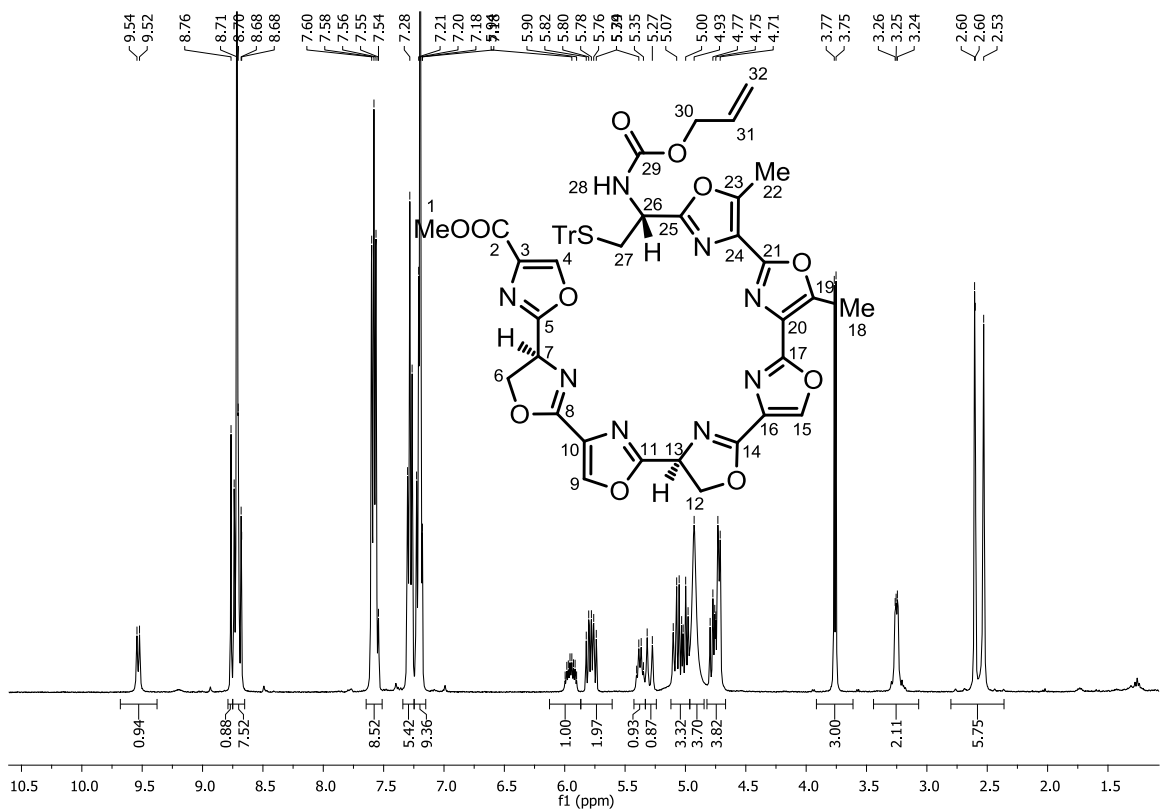


Abb. 142: ¹H-NMR Spektrum von Bisoxazolin **151** (400 MHz, Pyridin-d₅).

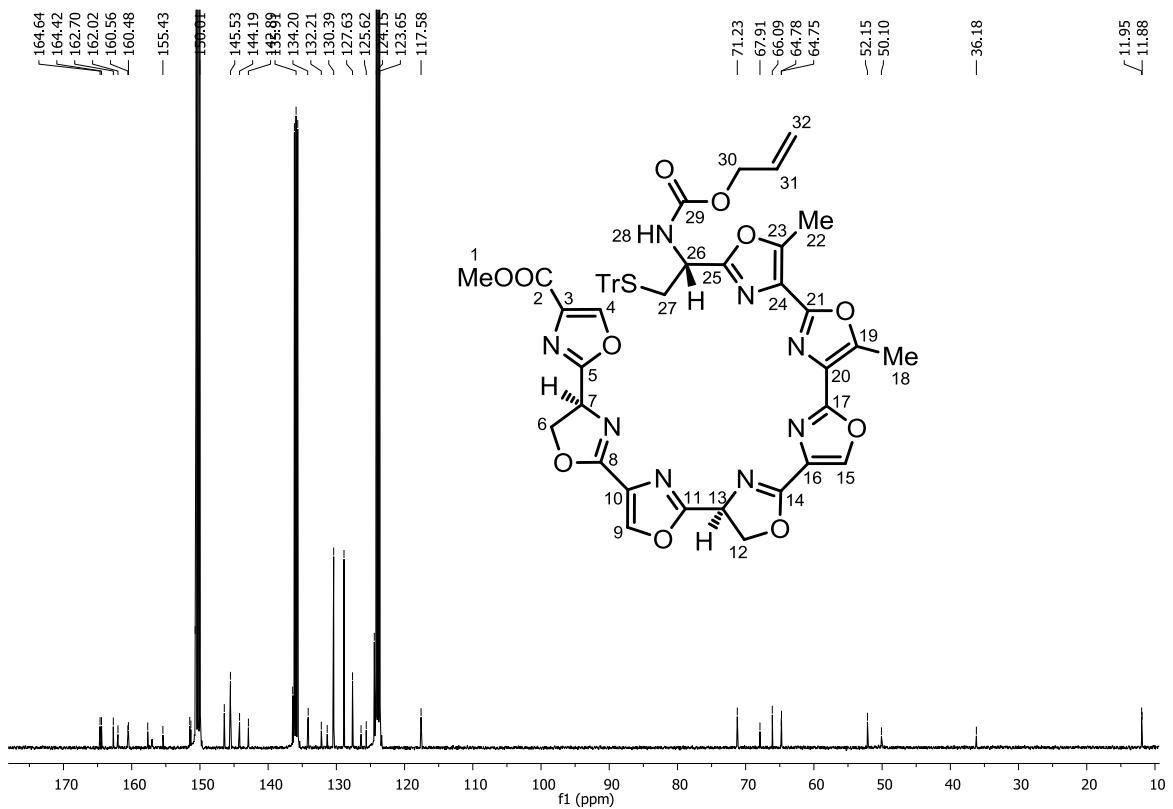


Abb. 143: ¹³C-NMR Spektrum von Bisoxazolin **151** (100 MHz, Pyridin-d₅).

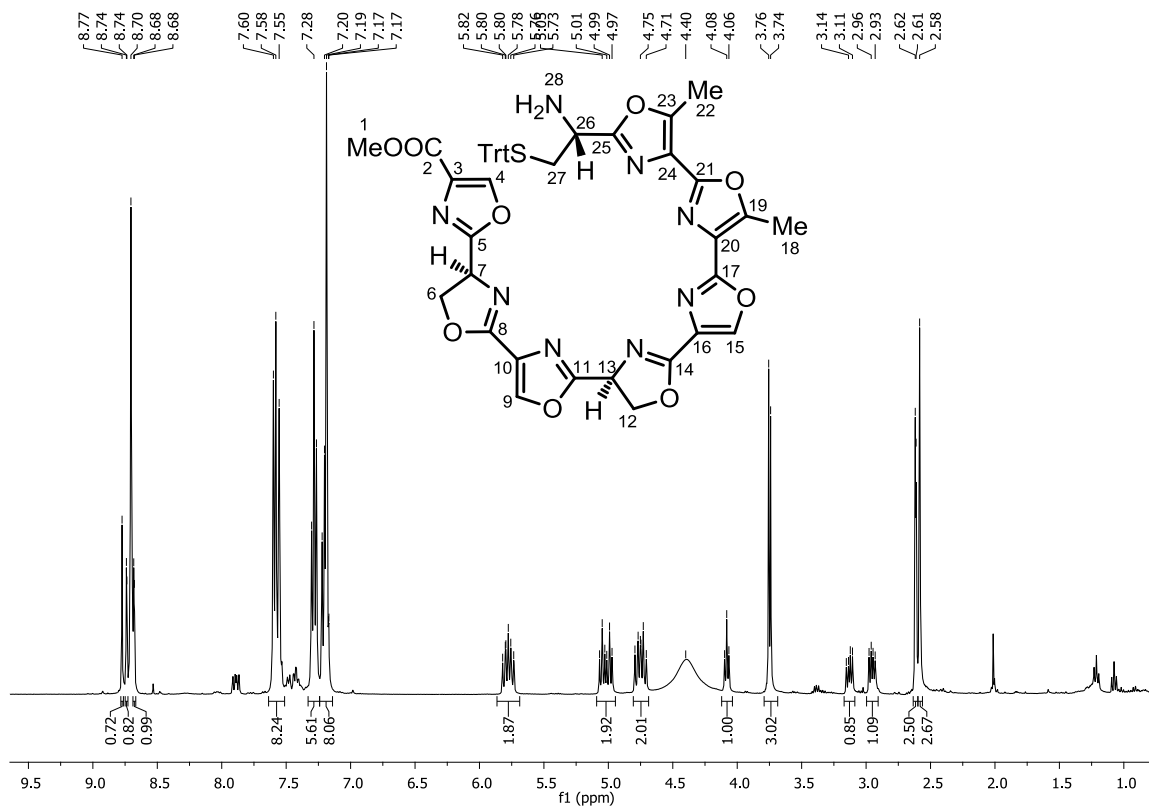


Abb. 144: ¹H-NMR Spektrum von Bisoxazolinamin **155** (400 MHz, Pyridin-d₅).

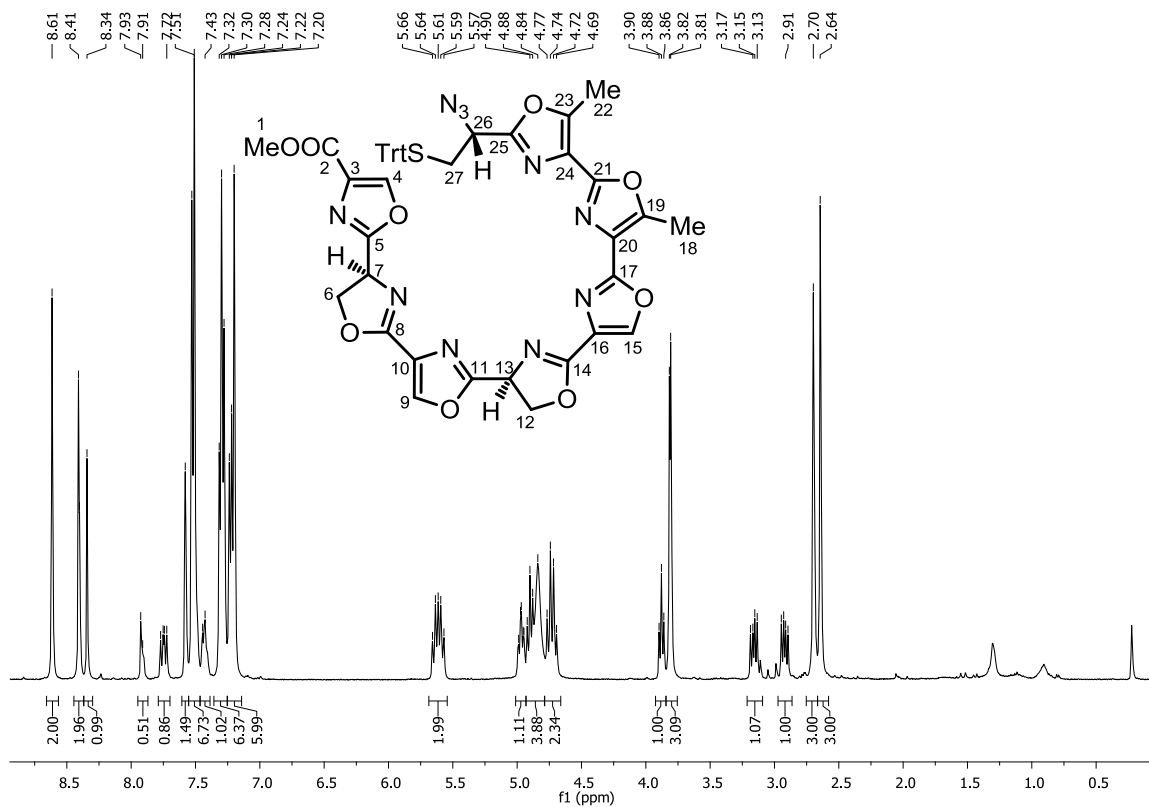


Abb. 145: ¹H-NMR Spektrum von Bisoxazolinazid **156** (400 MHz, Pyridin-d₅).

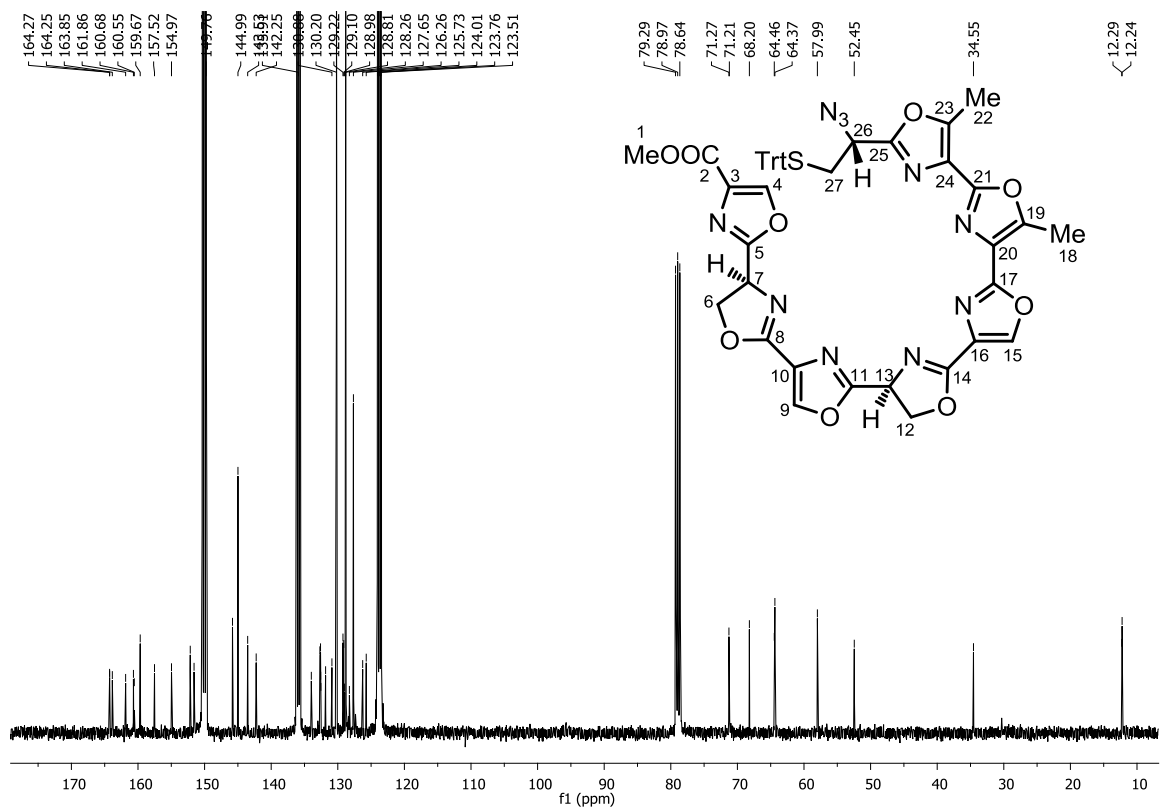


Abb. 146: ^{13}C -NMR Spektrum von Bisoxazolinazid **156** (100 MHz, Pyridin- d_5).

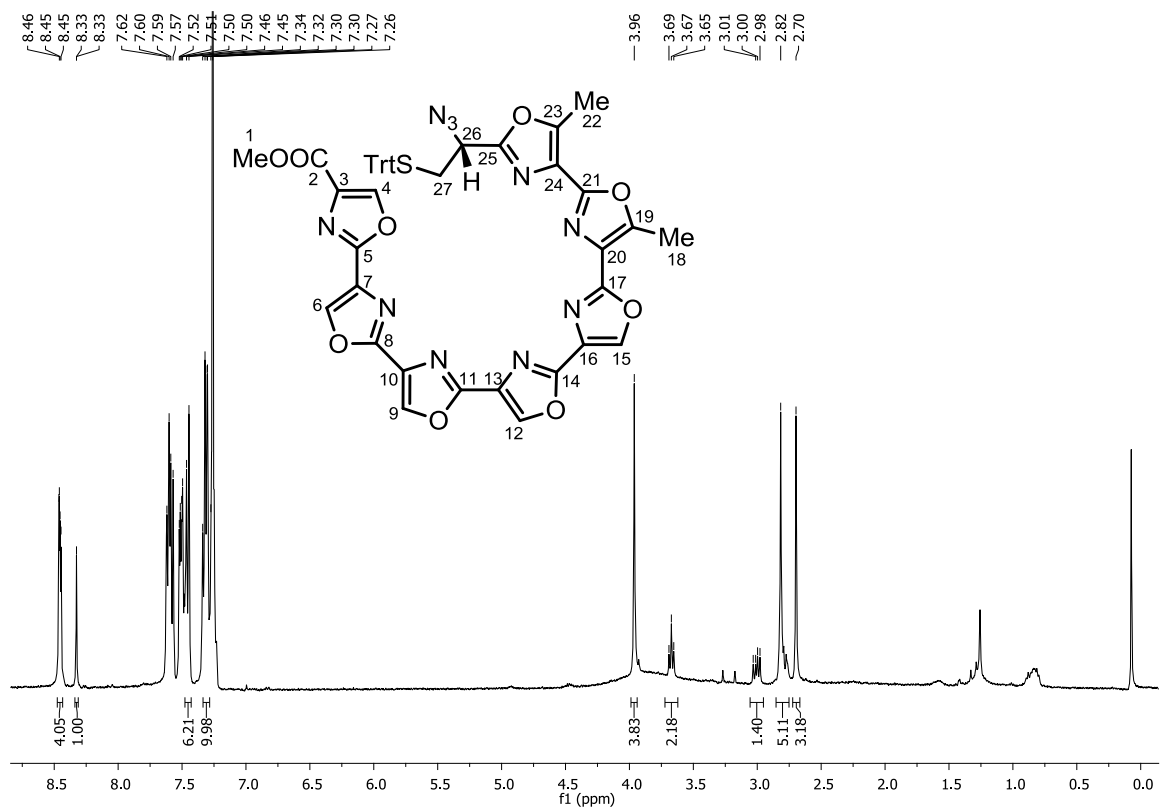


Abb. 147: ^1H -NMR Spektrum von Heptaoxazol **154** (400 MHz, CDCl_3 :HFIP- d_2 , 95:5).

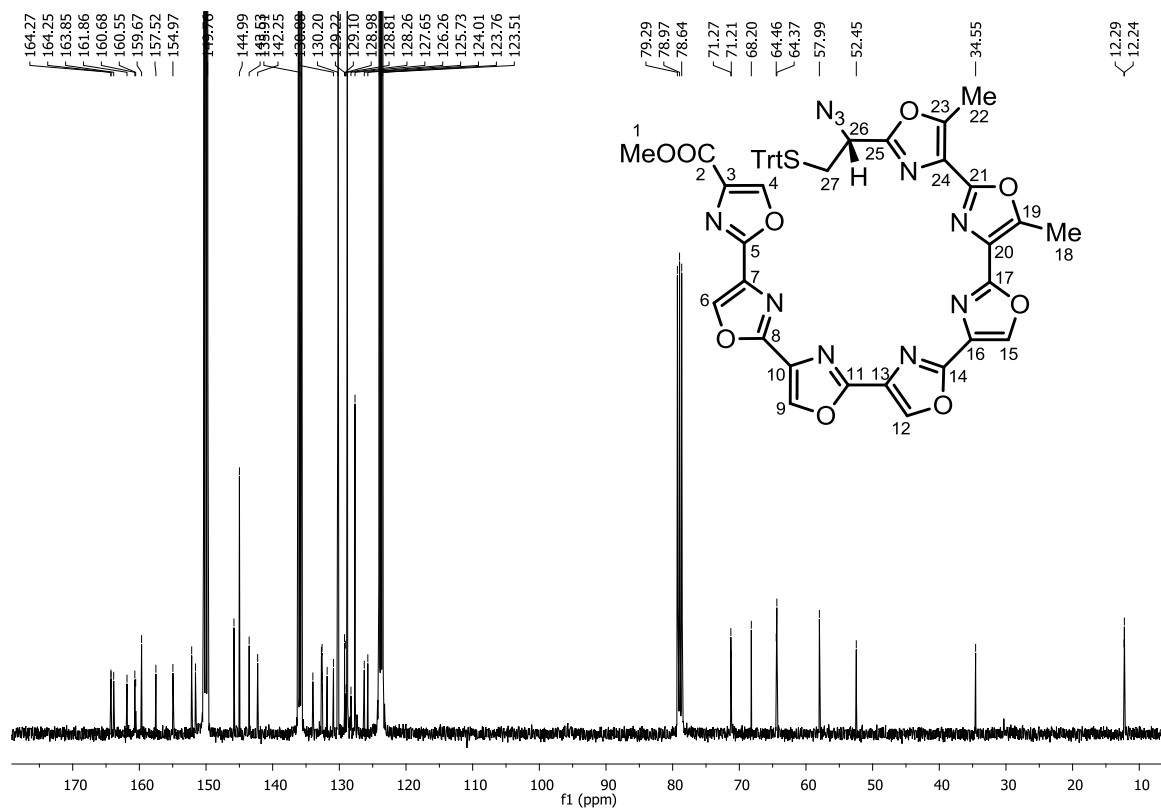


Abb. 148: ^{13}C -NMR Spektrum von Heptaoxazol **154** (100 MHz, CDCl_3 :HFIP- d_2 , 95:5).

11 Danksagung

Ich bedanke mich bei Professor Dr. Hans-Dieter Arndt für eine anspruchsvolle Aufgabenstellung, seinen Ansporn zu wissenschaftlicher Stringenz und viele Ideen für neue Experimente.

Bei Herrn Professor Dr. Herbert Waldmann bedanke ich mich für die Bereitstellung eines hervorragenden Arbeitsumfelds am Max-Planck Institut in Dortmund. Professor Dr. Georg Pohnert danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei meinen Kollegen im und um den AK Arndt Dr. S. Baumann, S. Chiha, K. Jadhav, Dr. B. Kilitoglu, Dr. R. Lichtenecker, Dr. J.-Y. Lu, Dr. L.-G. Milroy, Dr. M. Riedrich, Dr. S. Rizzo, Dr. C. Ronco, Dr. S. Schoof, S. Schwenk, Dr. E. Täuscher, Dr. D. Weiß, T. Winkler, P. Winter und P. Wojtas.

Viele Studenten haben mich tatkräftig durch die Synthese von Intermediaten aber auch durch die Optimierung neuer Syntheserouten unterstützt. Mein Dank gilt B. Holzapfel, R. Mourtada, N. Nowak, S. Schwenk, F. Quentin und N. Yunis.

Den Auszubildenen T. Goldmann und J. Warmers danke ich für ihre Unterstützung.

Ich danke meinen Bürokollegen Dr. R. Bon, Dr. B. Over, Dr. U. Sundermann, N. Martinez und Dr. S. Wetzel in Dortmund für eine ausgezeichnete Arbeitsatmosphäre und ihre große Hilfsbereitschaft.

Zahlreiche Mitarbeiter des AK Waldmann haben mich durch Rat und Tat unterstützt. Mein besonderer Dank gilt Dr. N. Bisek, Dr. Y. Chen, Dr. H. Dückert, Dr. B. Ellinger, V. Eschenbrenner, Dr. K. Görmer, Dr. Y.-p. He, Dr. S. Koch, Dr. S. Menninger, Dr. A. Richter, P. Schröder, M. Schwalfenberg, Dr. H. Schuster, Dr. A. Stigter, Dr. H. Sun, Dr. H. Tan, Dr. T. Walter, Dr. D. Weinrich, Dr. K. Wittstein, G. Zimmermann und Dr. T. Zimmermann.

Ich bedanke mich herzlich für die Unterstützung durch die wissenschaftlichen Angestellten A. Brockmeyer, Dr. A. Crecelius, A. Güther, B. Griewel, Dr. W. Günther, M. Hüffner, Dr. P. Janning, E. Merten, S. Rosin-Steiner, B. Schölermann, A. Schramm, S. Thavam, Dr. G. Triola, Dr. D. Weiß, H. Zdon und die Sekretärinnen Brigitte Rose und Sylke Kaiser.

D. Jacquemoud, C. Paul und S. Wolfram aus dem AK Pohnert danke ich recht herzlich für eine Reihe von UPLC-MS Messungen. E. Altuntas aus dem AK Schubert danke ich für die Messung von HRMS-Proben.

Für anregende Diskussionen über Chemie und weit darüber hinaus möchte ich mich bedanken bei Martjin Eerland, Dr. Christian Hedberg und ganz besonders bei Dr. Bart van Vliet.

Ich bedanke ich mich bei meinen Telomestatin-Mitstreitern Rida Mourtada, Sebastian Schwenk und Dr. Cyril Ronco für ihren unermüdlichen Einsatz.

Sebastian Schwenk danke ich außerdem für die Durchsicht des vorliegenden Manuskripts. Die Unterstützung, die ich durch meine Familie im Studium und während den Arbeiten für diese Dissertation erfahren habe, ist nicht zu ermessen; ich danke Euch dafür.

Liebe Mareike, ich danke Dir für deine vorbehaltlose Unterstützung. Ob ich nun wegen einer Verzögerung im Labor um Stunden zu spät zur Weihnachtsfeier kam oder du mehrmals im Monat 400 km fahren musstest um mich zu sehen; nie habe ich auch nur ein Wort des Tadels gehört. Hab vielen, vielen Dank dafür.

12 Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre,

dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen (siehe Danksagung) und Quellen angefertigt habe.

Jena, den 5. Dezember 2012

Patrick Loos