

Photochemisch orthogonale Festphasensynthesen

Inauguraldissertation

**zur Erlangung der Würde eines
Doktors der Philosophie**

vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Martin Werner Keßler

aus Rheinfelden-Eichsel (Deutschland)

Basel 2008

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel auf
Antrag der Dozenten

Prof. Dr. B. Giese

Prof. Dr. H. Wennemers

Basel, den 25.03.08

Prof. Dr. Hans-Peter Hauri
(Dekan)

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung und unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Bernd Giese in der Zeit von Oktober 1999 bis Februar 2005 am Institut für Organische Chemie der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel durchgeführt.

Teile dieser Arbeit wurden an folgenden Veranstaltungen vorgestellt:

REGIO-Symposien **2001** (Sornetan, Schweiz) und **2002** (Falkau, Deutschland),
Herbstversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Basel (Schweiz), **2003**,
Chimia **2002**, 351 (Abstract).

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

M. Kessler, R. Glatthar, B. Giese, C.G. Bochet, *Org. Lett.* **2003**, 5, 1179.

Herrn Prof. Dr. B. Giese danke ich für die stete Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit und die anregenden Diskussionen. Den Mitgliedern des Arbeitskreises, sowie den Mitarbeitern der analytischen und spektroskopischen Abteilungen danke ich für die gute Zusammenarbeit und das angenehme Arbeitsklima.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Christian G. Bochet (Universität Freiburg/Schweiz) für das gemeinsame Projekt über die photochemisch orthogonale Peptidsynthese und Prof. Dr. Benedikt M. Kessler (Harvard Medical School, Boston/USA, jetzt Oxford/UK) für die vielen Anregungen zu den Synthesen der MHC class I und MHC class II Peptide.

Kirsten Belser, Stephan Bürgi, Dr. Karine Heintz, Dr. Christoph Kressierer und Susanne Schäfer danke ich für die Durchsicht des Manuskripts.

Für meine Eltern

und

Susanne

Verwendete Abkürzungen

δ	chemische Verschiebung
ϵ	Extinktionskoeffizient
λ	Wellenlänge
μ	micro-
AA	Aminosäure
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
abs.	absolut/absolutiert
APT	Attached Proton Test
Ar	Aromat/aromatisch/Aryl
Bn	Benzylrest
br	breit
BuLi	Butyllithium
^t Bu	<i>tert.</i> -Butylrest
CMC	<i>N</i> -Cyclohexyl- <i>N'</i> -(2-(4-methylmorpholino)-ethyl)-carbodiimid
COSY	Correlation Spectroscopy (2-dim. NMR-Spektroskopie)
d	Tag
<i>d</i>	Dublett (¹ H-NMR)
<i>D</i>	Dublett (¹³ C-NMR)
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
(DHQ) ₂ PHAL	Hydrochinin-1,4-phthalazindiyl-diether
DIC	<i>N,N</i> -Diisopropylcarbodiimid
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DMD	Dimethyldioxiran
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
<i>E</i>	Extinktion
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Electrospray-ionization
eq.	Äquivalente
Et	Ethyl
Et ₃ N	Triethylamin

Et ₂ O	Diethylether
EtOH	Ethanol
FAB	Fast Atom Bombardement
Fmoc	Fluorenylmethyloxycarbonyl-Gruppe
GC	Gaschromatographie
gem.	geminal
h	Stunde(n)
HCTU	2-(6-Chloro-1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium-hexafluorophosphat
<i>hν</i>	Energiezufuhr in Form von Licht
HMBC	
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence (NMR Spektroskopie)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HTS	High Throughput Screening
HV	Hochvakuum
Hz	Hertz
IR	Infrarotspektroskopie/Infrarotspektrum
<i>J</i>	Kopplungskonstante
kat.	katalytisch
l	Liter
LDA	Lithiumdiisopropylamid
LM	Lösemittel
<i>m</i>	Multiplett (¹ H-NMR)
m	mittel
MALDI-TOF-MS	Matrix Assisted Laser Desorption-Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry
Me	Methyl
MeCN	Acetonitril
MHC	Major Histocompatibility Complex
MeI	Methyljodid
MeOH	Methanol
MG	Molekulargewicht
MHz	Megahertz

min	Minute(n)
MPLC	Medium Performance Liquid Chromatography
MS	Massenspektrometrie/Massenspektrum
n-PrOH	n-Propanol
NBA	Nitrobenzylalkohol
NMR	Kernmagnetische Resonanzspektroskopie
NOE	Nuclear Overhauser Enhancement
NOEDIF	Nuclear Overhauser Effect-Differenzspektrometrie
NVOC	Nitroveratryloxycarbonyl-Gruppe
Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl-Gruppe
Pd/C	Palladium auf Kohle
PEG-PS	Polyethylenglycol-Polystyrol
Ph	Phenyl
PhCHO	Benzaldehyd
ppm	parts per million (NMR)
Pr	Propylrest
PSG	photolabile Schutzgruppe
p-TsOH	4-Toluolsulfonsäure
PyBOP	(Benzotriazol-1-yloxy)-tripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat
<i>q</i>	Quartett (¹ H-NMR)
<i>Q</i>	Quartett (¹³ C-NMR)
R	Rest
<i>R_f</i>	Retentionsfaktor
<i>R_t</i>	Retentionszeit
RP-HPLC	Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography
RT	Raumtemperatur
<i>s</i>	Singulett (¹ H-NMR)
Sdp.	Siedepunkt
Smp.	Schmelzpunkt
st	stark
<i>t</i>	Triplett (¹ H-NMR)
t	Zeit
<i>T</i>	Triplett (¹³ C-NMR)

T	Temperatur
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert.</i> -Butyldimethylsilyl
TBDMSCI	<i>tert.</i> -Butyldimethylchlorsilan
TBTU	O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-tetrafluoroborat
TFA	Trifluoressigsäure
TG	TentaGel
THF	Tetrahydrofuran
TIS	Tri-isopropylsilan
^t BuLi	<i>tert.</i> -Butyllithium
<i>tert.</i>	tertiär
Tf	Trifluormethansulfonyl
THF	Tetrahydrofuran
Tosyl	<i>p</i> -Toluolsulfonyl
<i>t_R</i>	Retentionszeit
Ts	<i>p</i> -Toluolsulfonyl
TsCl	<i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid
Ts-CH ₃	Methylgruppe des Tosylrestes
UV	Ultraviolett-spektroskopie/Ultraviolett-spektrum
UV/VIS	Ultraviolett- / visueller Bereich
W	Watt
Z	Benzoyloxycarbonyl-Gruppe

Aminosäuren

Glycin	Gly	G
Alanin	Ala	A
Valin	Val	V
Leucin	Leu	L
Isoleucin	Ile	I
Prolin	Pro	P
Phenylalanin	Phe	F
Tryptophan	Trp	W
Methionin	Met	M
Serin	Ser	S
Threonin	Thr	T
Cystein	Cys	C
Tyrosin	Tyr	Y
Asparagin	Asn	N
Glutamin	Gln	Q
Asparaginsäure	Asp	D
Glutaminsäure	Glu	E
Lysin	Lys	K
Histidin	His	H
Arginin	Arg	R

Inhaltsverzeichnis

1	KOMBINATORIK UND FESTPHASENSYNTHESE	1
1.1	EINLEITUNG	1
1.1.1	<i>Kombinatorische Festphasensynthese</i>	2
1.1.2	<i>Trägermaterialien</i>	4
1.2	ANALYTISCHE METHODEN AN DER FESTPHASE	6
1.2.1	<i>Der Linker</i>	6
1.2.2	<i>Orthogonalität der Linker und Schutzgruppen</i>	7
1.2.3	<i>Anwendungen photolabiler Linker und Schutzgruppen</i>	8
2	PHOTOLABILE SCHUTZGRUPPEN UND LINKER	10
2.1	<i>o</i> -NITROBENZYLGRUPPEN	10
2.2	BENZOIN-GRUPPEN	11
2.3	2-PIVALOYLGLYCERIN-GRUPPEN	12
3	AUFGABENSTELLUNGEN	14
4	SYNTHESE DER FUNKTIONALISIERTEN PHOTOLINKER	16
4.1	DIOLLINKER 19	16
4.2	EPOXIDLINKER 22	18
4.3	AMINLINKER 24	18
4.4	BELADUNG VON TENTA GEL-S-NH ₂ UND NOVABIOCHEM-POLYSTYROL-NH ₂ MIT DEN PHOTOLABILEN LINKERN	18
5	PHOTOCHEMISCH ORTHOGONALE FESTPHASENSYNTHESEN	20
5.1	VORAUSSIEHENDE EXPERIMENTE	21
6	SYNTHESEPROJEKT DES NEUROPEPTIDS LEU-ENKEPHALIN	26
6.1	EINLEITUNG	26
6.1.1	<i>Endorphine und Enkephaline</i>	26
6.2	SYNTHESEKONZEPT	27
6.2.1	<i>Vorbereitungen zur orthogonalen photochemischen Peptidsynthese</i>	28
6.2.1.1	Synthese der NVOC-geschützten α -Aminosäuren	28
6.2.1.2	Unabhängige Synthese der Referenzen für die homogene Phase und die Festphase	29
6.3	ABFANGREAGENZNIEN – SCAVENGER	32
6.3.1	<i>Aldehydscavenger</i>	32
6.3.2	<i>Effizienz der Abfangreagenzien und Nachweis der vollständigen NVOC-Entschützung</i>	35
6.3.2.1	Wirksamkeit der Abfangreagenzien	35
6.3.2.2	Polymer gebundene Scavenger	37
6.3.3	<i>Ergebnisse</i>	38
6.4	PHOTOCHEMISCH ORTHOGONALE LEU-ENKEPHALINSYNTHESE	39
6.4.1	<i>Abspaltung der Peptide Leu-Enkephalin (50) und H-Gly-Phe-Leu-OH (60) von den photolabilen Harzen</i>	42
6.4.2	<i>Photolytische Freisetzung der nach konventionellen Protokollen hergestellten Peptide</i>	45
6.4.3	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse</i>	48
6.5	AKTUELLE ENTWICKLUNGEN UND AUSBLICK	50
7	WEITERE ANWENDUNGEN DES PIVALOYLLINKERS IN PEPTIDSYNTHESEN	53
7.1	PHOTOLYSE AN SYNPHASE [®] -LATERNEN	53
7.1.1	<i>Einleitung</i>	53
7.1.2	<i>Synthese des Dipeptids H-Phe-Gly-OH (85) an PS- und PA-Laternen</i>	54
7.1.3	<i>Zusammenfassung und Deutung der Ergebnisse</i>	55

8	SYNTHESE GRÖßERER PEPTIDSEQUENZEN AM PHOTOLINKER.....	57
8.1	HINTERGRUND.....	57
8.1.1	<i>T-Zellen und Major Histocompatibility Complexes (MHC).....</i>	57
8.1.2	<i>MBP-Peptide NIVTPRR und ENPVVHFFKNIVTPR.....</i>	58
8.1.2.1	Syntheseprotokoll für NIVTPRR.....	58
8.1.2.2	Syntheseprotokoll für ENPVVHFFKNIVTPR.....	59
8.2	QUALITATIVE UNTERSUCHUNGEN ZUR EINSETZBARKEIT.....	59
8.3	PHOTOLYSEN DER MBP-PEPTIDE.....	60
8.3.1	<i>Perspektive.....</i>	64
8.4	WEITERE MHC CLASS I UND MHC CLASS II PEPTIDE.....	64
8.4.1	<i>Einleitung.....</i>	64
8.4.2	<i>Ausgewählte MHC class I Peptide.....</i>	64
8.4.3	<i>Ausgewählte MHC class II Peptide.....</i>	65
8.4.4	<i>Photolytische Abspaltung der Peptide.....</i>	67
8.4.5	<i>Belichtungen in der Tüpfelplatte.....</i>	70
8.4.6	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse und Ausblick.....</i>	71
9	DER PIVALOYLLINKER – WEITERE ANWENDUNGEN.....	73
9.1	AMINE.....	73
9.1.1	<i>Herstellung der Festphasen-Aminmodelle.....</i>	74
9.1.2	<i>Photolyse der Festphasen-Amine 98 und 99.....</i>	75
9.2	AMIDE.....	76
9.2.1	<i>Herstellung der Amidsubstrate.....</i>	77
9.2.1.1	Für Photolysen in Lösungen.....	77
9.2.1.2	Für Photolysen an Festphasen.....	78
9.2.2	<i>Synthesen der Referenzverbindungen.....</i>	78
9.2.3	<i>Photolysen.....</i>	79
9.2.3.1	Lösliche Amidsubstrate 104, 105 und 106.....	79
9.2.3.2	Festphasengebundene Amidsubstrate 107 und 108.....	82
9.2.4	<i>Zusammenfassung.....</i>	83
9.2.5	<i>Diskussion.....</i>	84
10	EIN MODIFIZIERTER PIVALOYLLINKER.....	87
10.1	EINLEITUNG.....	87
10.2	SYNTHESE DES LINKERGERÜSTES.....	88
10.2.1	<i>Funktionalisierung des Linkers.....</i>	88
10.2.2	<i>Synthese der Photolysesubstrate (Schema 42).....</i>	90
10.2.3	<i>Bestimmung der relativen Stereochemie am Diol 131.....</i>	90
10.3	PHOTOLYSEN.....	91
10.3.1	<i>Photolyse des Benzylethers 133 unter verschiedenen Bedingungen.....</i>	91
10.3.2	<i>Photolyse des Benzylethers 133 in verschiedenen Lösungsmitteln ohne Säurezusatz.....</i>	91
10.3.3	<i>Photolyse des Benzylethers 133 in verschiedenen Lösungsmitteln mit Säurezusatz.....</i>	92
10.3.4	<i>Photolyse des Z-Phenylalaninesters 135.....</i>	94
10.3.5	<i>Vergleichende Photolysen der Linker-Benzylether 133 und 136.....</i>	96
10.4	ZUSAMMENFASSUNG.....	99
10.5	DISKUSSION.....	99
11	PHOTOLABIL GESCHÜTZTE KOHLENHYDRATE.....	101
11.1	HINTERGRUND.....	101
11.2	SYNTHESEWEGE.....	102
11.2.1	<i>Mannopyranoside mit nucleofugen Gruppen an C-6.....</i>	102
11.2.2	<i>Pivaloyllinker mit β-ständigen nucleofugen Gruppen.....</i>	103
11.2.3	<i>Talopyranosid 153 mit nucleofuger Gruppe an C-4.....</i>	104
11.3	KUPPLUNGSVERSUCHE DER PYRANOSIDE MIT DEM PIVALOYLLINKER.....	105
11.4	EPOXIDÖFFNUNGEN AN METHYL-2,3-ANHYDRO-4,6-BENZYLIDEN-A-D-ALLOPYRANOSID (162).....	107
11.5	ZUSAMMENFASSUNG.....	109
12	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE.....	110

Experimenteller Teil

13	VORBEMERKUNGEN	115
13.1	PHYSIKALISCHE DATEN	115
13.2	CHROMATOGRAPHISCHE METHODEN	117
13.3	BELICHTUNGSAPPARATUREN	119
13.4	PEPTIDSYNTHESEZIZER/SOFTWARE	120
13.5	MATERIALIEN FÜR EXPERIMENTE AN DER FESTPHASE	120
13.6	VERWENDETE REAGENZIEN UND LÖSEMittel	121
13.7	CHARAKTERISIERUNG VON VERBINDUNGEN	121
14	SYNTHESE DER FUNKTIONALISIERTEN PHOTOLINKER	122
14.1.1	8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxo-nonansäuremethylester (18).....	123
14.2	DIOLLINKER.....	124
14.2.1	8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (20)	124
14.2.2	8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6- <i>t</i> -butyldimethylsilyloxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (21).....	126
14.2.3	8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6- <i>t</i> -butyldimethylsilyloxymethyl-7-oxo-nonansäure (19)	127
14.3	EPOXIDLINKER.....	128
14.3.1	8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxo-nonansäure (23).....	128
14.3.2	8,8-Dimethyl-6-methylenoxid-7-oxo-nonansäure (22)	130
14.4	AMINLINKER.....	131
14.4.1	8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[<i>N</i> -(<i>tert.</i> -butyloxycarbonyl)-aminomethyl]-nonansäuremethylester (25).....	131
14.4.2	8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[<i>N</i> -(<i>tert.</i> -butyloxycarbonyl)-aminomethyl]-nonansäure (24).....	133
15	BELADUNG VON TENTAGEL S-NH₂ UND NOVABIOCHEM-POLYSTYROL-NH₂ MIT DEN PHOTOLABILEN LINKERN	135
15.1	TENTAGEL-DIOLLINKER (TG-27) UND POLYSTYROL-DIOLLINKER (PS-27)	136
15.2	TENTAGEL-EPOXIDLINKER (28).....	138
15.3	TENTAGEL-AMINOALKOHOLLINKER.....	139
16	SYNTHESE DES PENTAPEPTIDS LEU-ENKEPHALIN AN DER FESTPHASE	141
16.1	SYNTHESE DER NVOC-GESCHÜTZTEN α -AMINOSÄUREN 49, 51, 52, 53	141
16.1.1	AAV1: Synthese der NVOC-geschützten α -Aminosäureallylester 55a-d	141
16.1.2	AAV2: Spaltung der NVOC-geschützten α -Aminosäureallylester 55a-d zu den NVOC-geschützten α -Aminosäuren 49, 51, 52, 53	145
16.1.3	Synthese der Referenzpeptide	149
16.1.3.1	Synthese des Referenzpeptids Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (56) in homogener Phase.	149
16.1.3.2	Synthese Referenzpeptid H-Gly-Phe-Leu-OH (60) in homogener Phase.	152
16.1.3.3	Synthese von Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (63).	153
16.1.4	Syntheseprotokoll für Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (63).....	154
16.1.5	Syntheseprotokoll für H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (64)	155
16.2	SCAVENGER-HARZE FÜR ALDEHYDE.....	156
16.2.1	Herstellung der Scavenger-Laternen 76.....	156
16.2.1.1	Anbindung des Scavengers (4-Hydrazinylsulfonylphenyl)-3-propansäure (74) an aminofunktionalisierte PS-Synphase [®] -Laternen als Amid.....	156
16.2.2	Anbindung des Scavengers (4-Hydrazinylsulfonylphenyl)-3-propansäure (74) an aminofunktionalisierte Festphasenharze als Amid.....	157
16.2.3	Effizienz der Aldehydabfangreagenzien bei der NVOC-Entschützung an der Festphase.....	158
16.2.3.1	Lösliche Scavenger.....	158
16.2.3.2	Polymer gebundene Scavenger	159
16.3	PEPTIDSYNTHESEN AN DER FESTPHASE MIT PHOTOCHEMISCH ORTHOGONALEN SCHUTZGRUPPEN	161
16.4	SYNTHESEPROTOKOLL FÜR LEU-ENKEPHALIN (50)	162
16.5	FREISETZUNG DER IMMOBILISIERTEN PEPTIDE MIT DER PHOTOCHEMISCH ORTHOGONALEN SCHUTZGRUPPENMETHODE.....	165
16.5.1	Leu-Enkephalin (50).....	165
16.5.2	H-Gly-Phe-Leu-OH (60)	167
16.6	PHOTOLYTISCHE FREISETZUNG DER NACH KONVENTIONELLEM PROTOKOLL SYNTHETISIERTEN REFERENZPEPTIDE	168

16.6.1	<i>Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (56)</i>	168
16.6.2	<i>H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (81)</i>	168
17	SYNTHESE VON H-PHE-GLY-OH (85) AN PHOTOLINKER-PS UND -PA „SYNPHASE LANTERNS“	170
17.1	BELADUNG DER PS- UND PA-LATERNEN MIT PHOTOLINKER 19.....	170
a)	<i>Kupplung des Linkers 19 an die aminofunktionalisierten PS- und PA-Laternen</i>	170
b)	<i>Abspaltung der TBDMS-Gruppe</i>	170
17.2	SYNTHESE VON H-PHE-GLY-OH (85) AN DEN PHOTOLINKER-LATERNEN.....	171
17.3	VERWENDETE APPARATUREN.....	172
17.4	PHOTOLYSEN.....	173
18	SYNTHESE GRÖßERER PEPTIDSEQUENZEN AM LINKERHARZ PS-15. QUALITATIVE ... UNTERSUCHUNGEN ZUR EINSETZBARKEIT	174
18.1	MBP-PEPTIDE	174
18.1.1	<i>MBP-Peptid H-Asn-Ile-Val-Thr-Pro-Arg-Arg-OH (NIVTPRR)</i>	174
18.1.1.1	<i>Syntheseprotokoll für NIVTPRR</i>	174
18.1.2	<i>MBP-Peptid H-Glu-Asn-Pro-Val-Val-His-Phe-Phe-Lys-Asn-Ile-Val-Thr-Pro-Arg-OH (ENPVVHFFKNIVTPR)</i>	176
18.1.2.1	<i>Syntheseprotokoll für ENPVVHFFKNIVTPR</i>	176
18.1.3	<i>Photolyse von N(Trt)IVT(OBu')R(Pbf)R(Pbf)-O-Photolinker-Polystyrol (90)</i>	176
18.1.4	<i>Photolyse von H-Glu-Asn-Pro-Val-Val-His-Phe-Phe-Lys-Asn-Ile-Val-Thr-Pro-Arg-O-Photolinker-Polystyrol (91)</i>	181
18.2	WEITERE MHC CLASS I UND II PEPTIDE.....	183
18.2.1	<i>Beladung von Wang-Harz und Photolinkerharz TG-15</i>	183
18.2.2	<i>Synthese der Peptide KSYVLEGLTAE, KTGGPYIKR, SLYNTVATL und PKYVKQNTLKLAT</i>	184
18.2.3	<i>Photolytische Abspaltung der Peptide</i>	185
18.2.4	<i>Photolysen auf der Tüpfelplatte</i>	190
19	AMINE	191
19.1	SYNTHESE DER AMINSUBSTRATE AN DER FESTPHASE	191
19.1.1	<i>Tentagel-Photolinker-Phenylpropylamin 98</i>	191
19.1.2	<i>Tentagel-Photolinker-Piperidin 99</i>	192
19.2	PHOTOLYSEN DER AMINVORLÄUFER	193
19.2.1	<i>Photolyse von 98-Trifluoracetat</i>	193
20	AMIDE	194
20.1	SYNTHESE DER AMIDVORLÄUFER.....	195
20.1.1	<i>Synthese des Aminlinker-Benzylamidmodells (103)</i>	195
20.2	SYNTHESE DER AMID-PHOTOLYSEVORLÄUFER	198
20.2.1	<i>Vorläufer für Photospaltungen in homogener Phase</i>	198
20.2.2	<i>Vorläufer für Photospaltungen an der Festphase</i>	202
20.3	SYNTHESE DER AMIDREFERENZEN	204
20.4	PHOTOLYSEN DER AMIDSUBSTRATE	208
20.4.1	<i>Allgemeine Photolysenbedingungen</i>	208
20.4.2	<i>Photolysen in homogener Phase</i>	208
20.4.3	<i>Photolysen an der Festphase</i>	214
21	PHOTOLINKERDERIVAT	216
21.1	SYNTHESE DES DERIVATISIERTEN FESTPHASENPHOTOLINKERS	217
21.1.1	<i>Aufbau des modifizierten Linkergerüsts</i>	217
21.1.2	<i>Funktionalisierung des modifizierten Photolinkers</i>	226
21.1.3	<i>Benzylamidmodell des modifizierten Diollinkers (131)</i>	229
21.1.4	<i>Synthese der Photolysesubstrate</i>	235
21.1.5	<i>Synthese des Acetonids 136 zur Bestimmung der relativen Stereochemie</i>	239
21.2	PHOTOLYSEN	241
21.2.1	<i>Allgemeine Photolysevorschrift (APV)</i>	241
21.2.2	<i>Photolyse des Benzylethers 133 unter verschiedenen Bedingungen</i>	241
21.2.3	<i>Photolyse des Z-Phenylalaninesters 135</i>	243
21.2.4	<i>Vergleichende Photolyse der Linker-Benzylether 133 und 136</i>	243

22	PIVALOYLLINKER-GESCHÜTZTE GLYCOSIDE	245
22.1	MANNOPYRANOSID 142 - SYNTHESE DER VORLÄUFER.....	245
22.1.1	<i>Pivaloyllinker-Derivate 151 und 152 mit β-ständigen Nucleofugen.</i>	251
22.2	MANNOPYRANOSID 143 - SYNTHESE DER VORLÄUFER.....	254
22.3	KUPPLUNGSVERSUCHE DER PYRANOSIDE MIT DEM PIVALOYLLINKER.....	263
22.3.1	<i>Linkerankupplung durch nucleophile Substitution</i>	263
22.3.2	<i>Linkerankupplung durch Epoxidöffnung</i>	265
23	ANHANG	268
23.1	SYNTHESE DES PIVALOYLLINKER-AMMONIUMIODIDVORLÄUFERS 17	268
23.2	SYNTHESE NICHTKOMMERZIELLER REAGENZIEN.....	275
23.3	QUANTIFIZIERUNG MITTELS HPLC UND GASCHROMATOGRAPHIE	278
23.3.1	<i>Bestimmung der Ausbeuten mithilfe relativer Flächenfaktoren</i>	278
24	LITERATURVERZEICHNIS	281

Theoretischer Teil

1 Kombinatorik und Festphasensynthese

1.1 Einleitung

Die kombinatorische Chemie hat sich über gut zwei Jahrzehnte von einem zunächst weniger beachteten Randgebiet der Synthesechemie zu einem leistungsfähigen Synthesekonzept entwickelt, das in kurzer Zeit die gleichzeitige Herstellung unterschiedlicher Substrate ermöglicht. Das Vorbild findet sich in der Natur, wo durch die Kombination einfacher Bausteine, wie etwa der Aminosäuren, eine unermeßliche Vielfalt an Lebensformen entstanden ist. Gerade die chemisch-pharmazeutische Branche setzt diese Methode mit Erfolg ein, wenn es gilt, eine Vielzahl von Substanzen für die Wirkstoffsuche bereitzustellen. Innerhalb kurzer Zeit können mit verhältnismäßig geringem wirtschaftlichem Aufwand zahlreiche Verbindungen hergestellt werden, die schließlich in sogenannten Substanzbibliotheken zur Verfügung stehen. Wirkstoffe haben bei geringer Konzentration eine ausgeprägte physiologische Wirkung. Diese können sowohl Arzneistoffe, als auch Pestizide für die Landwirtschaft sein.¹

Zu Beginn jeder Wirkstoffentwicklung stehen die Leitstruktursuche und die Leitstrukturoptimierung.^{2,3,4} Dies setzt voraus, daß es mit molekularbiologischen Methoden gelingt, Proteine (Enzyme, Rezeptoren, Ionenkanäle) zu finden, die mit den Krankheiten ursächlich in Verbindung stehen. Ihre Strukturaufklärung macht es möglich, die Ursache von Krankheiten auf molekularer Ebene zu verstehen und öffnet die Tür zum rationalen Wirkstoffdesign.^{2,4}

Bei der Leitstruktursuche werden viele verschiedenartige Substanzen durch *In-vitro*-Tests, die mit dem therapeutischen Schlüsselmechanismus gut übereinstimmen sollten, auf ihre Wirksamkeit überprüft. Pro Tag können mit ausgereiften Testsystemen Tausende neuer Verbindungen geprüft werden. Dank neuer dreidimensionaler Rechenmodelle können die üblicherweise relativ niedrigen Trefferquoten von weniger als 1 % weiter erhöht werden, da Wechselwirkungen zwischen dem Therapeutikum und dem biologischen Zielmolekül im Vorfeld simuliert werden können.² Die Abschätzungen der Computermodelle können aber die biologischen Primärtests wegen der Komplexität der Interaktionen nicht ersetzen. Die erfolgreichen Treffer werden anschließend auf ihre Eignung als Leitstruktur überprüft. Viele Verbindungen scheiden weiterhin aus, wenn ihre Wirkung zu schwach, zu unspezifisch oder die Verfügbarkeit schlecht ist.

Die Leitstrukturoptimierung ist die systematische Modifikation der gefundenen Leitstruktur zur Verbesserung der Wirksamkeit. Durch die gewonnenen experimentellen Daten und mit der Unterstützung von computergestützten Rechenmodellen können Struktur-Wirkungs-Beziehungen gefunden werden, die zum optimierten Zielmolekül führen. Hat diese Zielverbindung die toxikologischen und klinischen Prüfungen bestanden, so steht sie nach einem langen und kostspieligen Prozeß als zulassungsfähiges Medikament zur Verfügung.

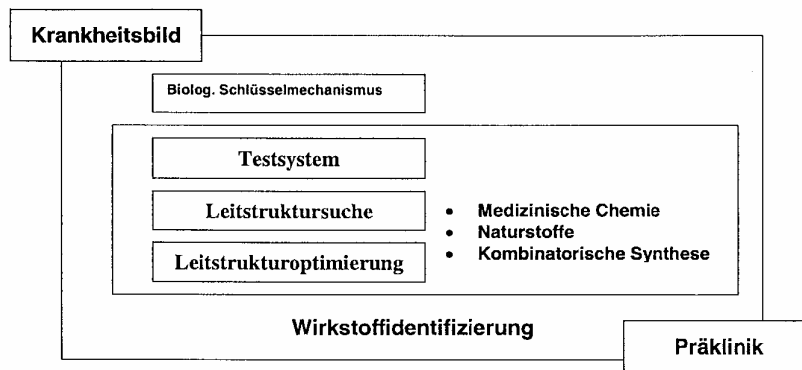


Abbildung 1: Der Weg zu einem neuen Wirkstoff.

1.1.1 Kombinatorische Festphasensynthese

Kombinatorische Verfahren sollen gleichzeitig unterschiedliche Produkte mit definierter Struktur liefern,⁵ die in Substanzbibliotheken zusammengefaßt werden. Chemische Kombinatorik ist in flüssiger und an fester Phase möglich.^{4,6}

Die Vorteile der Festphasensynthese liegen in der einfachen Automatisierbarkeit der einzelnen Reaktionsschritte, wobei Reagenzienüberschüsse durch Filtration und Ausspülen leicht entfernt werden können. Unter den verschiedenen Strategien zur Erzeugung molekularer Vielfalt ist die Synthese von *one-bead-one-compound*-Bibliotheken mit Hilfe der *split-and-mix*-Synthese eine der effektivsten und elegantesten.⁴

Die Nachteile liegen zum einen in den beschränkten analytischen Verfahren, zum anderen in den eingeschränkten synthetischen Methoden, bedingt durch die Inkompatibilität des Trägermaterials oder des Linkers. Die Umsetzungen müssen stets vollständig sein, weil eine Reinigung von Zwischenstufen nicht möglich ist. Dies setzt aber große Reagenzienüberschüsse voraus, die ihrerseits wieder zu unerwünschten Nebenreaktionen führen können. Quell- und Diffusionsprobleme des Kunstharzträgers wegen

Aggregationserscheinungen, beispielsweise bei Peptidsynthesen, können ebenfalls Schwierigkeiten bereiten.

Die Synthese in flüssiger Phase hat den Vorteil, daß alle Reaktionen ohne Anpassung der Bedingungen möglich sind und auch alle gängigen analytischen Methoden (NMR, MS, Chromatographie, optische Verfahren) zur Reaktionskontrolle verfügbar sind. Es bestehen grundsätzlich auch keine Beschränkung in der Größe der Reaktionsansätze. Die Nachteile liegen in der aufwendigeren Reinigung der Produkte und der erschwerten Automatisierbarkeit der Syntheseschritte.

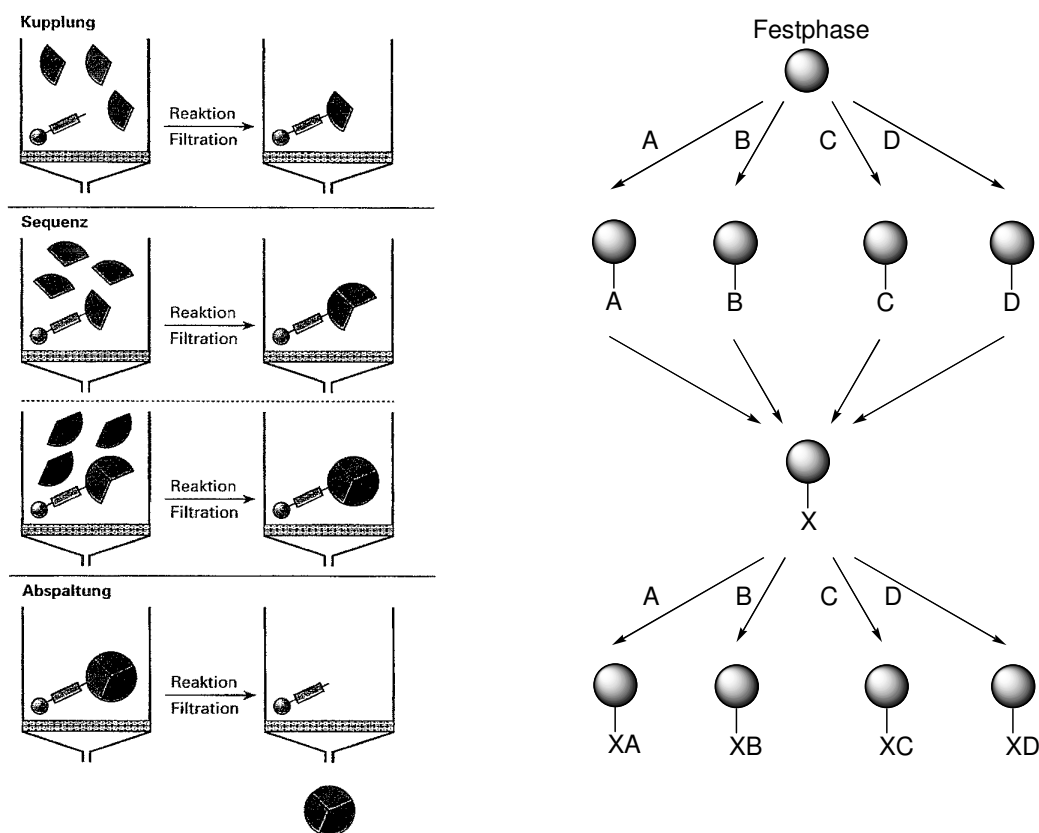


Abbildung 2: Schematische Darstellung einer Festphasensynthese (links) und der *split-and-mix*-Methode (rechts). X: A, B, C, oder D.

Nach den Pionierarbeiten von Merrifield⁷ im Gebiet der Festphasenpeptidsynthese 1963 baute Letsinger⁸ kurze Zeit später erstmals Oligonucleotide mit dem neuen Verfahren auf. Der entscheidende Durchbruch der Methode erfolgte allerdings erst mit der Einführung von Hochdurchsatzverfahren während der vergangenen zwanzig Jahre. Hält man sich vor Augen, daß für ein gut funktionierendes Syntheselabor ein Arbeitstag pro neue Substanz veranschlagt

wird,⁴ so erkennt man schnell die Vorzüge der kombinatorischen Chemie, wenn Hunderte neuer Substanzen geprüft werden sollen. Mittlerweile kommt die Festphasensynthese in fast allen Gebieten der organischen Chemie zum Einsatz. Der zunehmende Erfahrungsschatz bezüglich der Handhabung erlaubt eine schnellere Anpassung von Reaktionsbedingungen, als dies vor einigen Jahren noch der Fall war. Unter industriellen Gesichtspunkten überwiegen daher die Vorteile der Festphasentechnik gerade hinsichtlich der einfacheren Automatisierbarkeit.

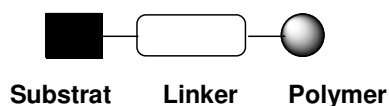


Abbildung 3: Festphasensystem.

1.1.2 Trägermaterialien

Das am häufigsten eingesetzte Trägermaterial ist Polystyrol, das mit 1-2 % Divinylbenzol quervernetzt ist, was entscheidenden Einfluß auf die Quellfähigkeit, die Porengröße und die mechanische Stabilität hat.⁹ Üblicherweise werden Polystyrolharze in der Form kleiner Kügelchen (Durchmesser 38-75 µm), sogenannter *Beads*, eingesetzt.⁷ Es sind jedoch auch andere Geometrien wie Laternen, Kronen und Pins erhältlich. Kieselgur und Glas finden ebenfalls Verwendung als Trägermaterialien.

Eine Weiterentwicklung der Polystyrolträger sind die PEG-PS-Harze (Polyethylenglycol-Polystyrol-Copolymere), die von Rapp und Bayer eingeführt wurden.¹⁰ Es handelt sich um quervernetzte Polystyrolharze mit Polyethylenglycolketten, die an ihren freien Enden funktionalisiert sind und als *TentaGel*, *ArgoGel* oder *NovaGel* im Handel sind. Sie weisen als Vorzüge einheitliche Größen der Harzkügelchen (90-130 µm) und hohe mechanische Stabilität beim Schütteln und bei Ultraschallbehandlung auf. Die gute Quellfähigkeit der PEG-PS-Harze sowohl in Wasser, als auch in organischen Lösungsmitteln erleichtert die Festphasensynthese enorm (Tabelle 1).

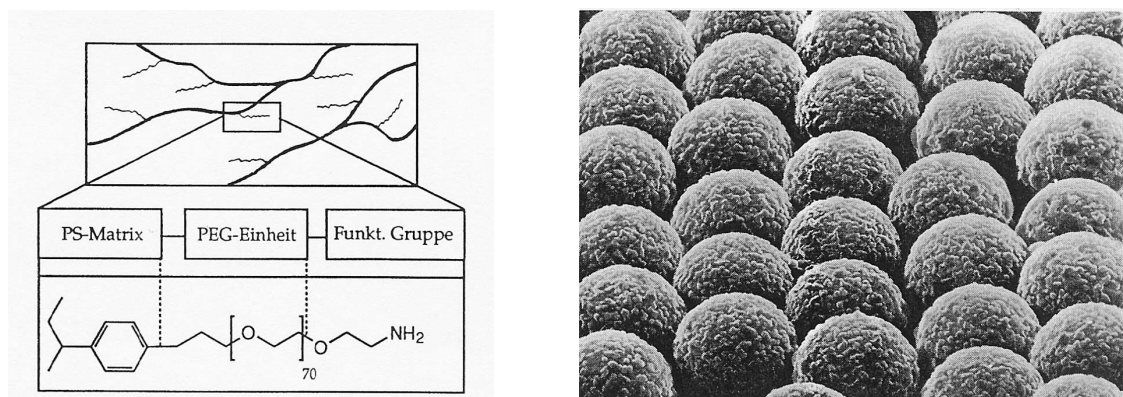


Abbildung 4: Chemische Struktur und Mikroskopaufnahme von TentaGel-Harz.

Tabelle 1: Vergleich der Quellvolumina von Polystyrol- und TentaGel S-Harz in einigen Lösungsmitteln.

Lösungsmittel	Wasser	Toluol	MeOH	THF	DMF	DCM
Polystyrol-Harz ^a	-	7	2	8	3	7
TentaGel-Harz ^b	4	5	4	6	5	5

^aTrockenvolumen Polystyrol-Harz: 1.6 ml/g (0.3 – 2.5 mmol/g)

^bTrockenvolumen TentaGel-Harz: 1.7 ml/g (0.25 – 0.45 mmol/g)

Aufgrund der guten Solvataion der PEG-PS-Harze lassen sich Reaktionen und ¹³C-NMR-Messungen an diesen Festphasen unter "quasi-homogenen" Bedingungen durchführen.

1.2 Analytische Methoden an der Festphase

Die zweifellos aussagekräftigste Untersuchungsmethode für niedermolekulare Substrate an Polystyrolharzen ist die Gelphasen-NMR-Spektroskopie. Die Signale sind in der Regel breit wegen der Anisotropie der chemischen Verschiebung. PEG-PS-Harze liefern wegen der guten Beweglichkeit der solvatisierten PEG-Ketten im ^{13}C -NMR-Spektrum relativ scharfe Signale.¹¹ Es sind auch ^{19}F -, ^{15}N -, und ^{31}P -Messungen möglich.^{12,13,14}

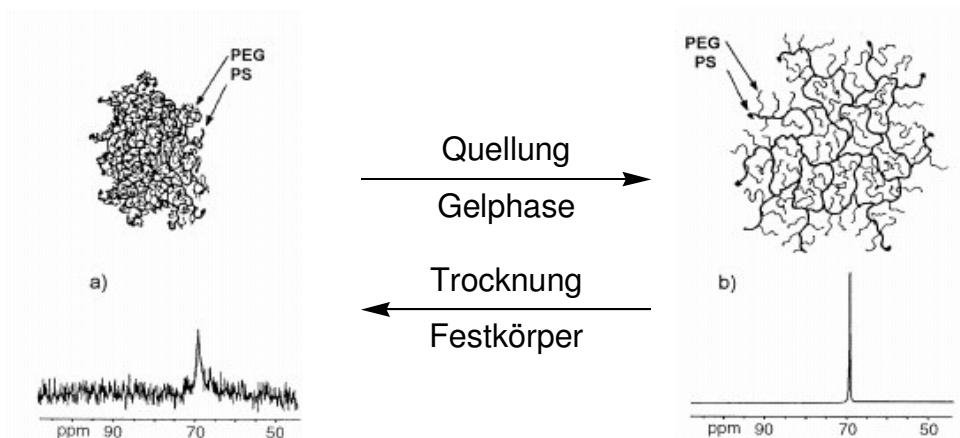


Abbildung 5: ^{13}C -NMR-Spektrum von nicht solvatisiertem (a) und solvatisiertem (b) TentaGel.¹⁵

Ferner können Infrarotspektren in KBr-Preßlingen oder direkt an einzelnen *Beads* aufgenommen werden.¹⁶ Eine direkte massenspektrometrische Untersuchung mittels MALDI-ToF-MS ist allenfalls bei photolabil gebundenen Substraten möglich.¹⁷ Mit Farbreaktionen wie dem qualitativen Kaisertest¹⁸ oder dem quantitativen photometrischen Pikrattest¹⁹ für primäre Amine lassen sich Hinweise auf funktionelle Gruppen und die Harzbeladung gewinnen. In Peptidsynthesen wird häufig die Titration und photometrische Bestimmung der Fmoc-Schutzgruppe eingesetzt.²⁰ Der Reaktionskontrolle und Beladungsbestimmung dienen bei halogen-, stickstoff- oder schwefelhaltigen Proben auch Elementaranalysen.²¹

1.2.1 Der Linker

Der erste essentielle Schritt einer jeden Festphasensynthese ist die Anbindung des Substratmoleküls an das Trägerharz. Die Verbindung zwischen dem polymeren Rückgrat des Trägers und dem Substrat bildet der sogenannte *Linker*. Der Linker stellt eine bifunktionelle Schutzgruppe dar, die so konzipiert ist, daß die stabilere und während der ganzen

Synthesesequenz inerte Bindung zum Trägerharz gerichtet ist, während die am Ende spaltbare Bindung zum Substratmolekül zeigt.

Der ideale Linker zeichnet sich durch einen hohen Umsatz bei der Knüpfung an die Festphase bei möglichst geringem Arbeits- und Zeitaufwand aus. Zudem soll er kostengünstig und leicht herzustellen sein. Er muß die gesamte Synthese unbeschadet überstehen und am Ende eine effiziente Abspaltung des Zielmoleküls erlauben, ohne dieses dabei zu beschädigen. Das gewünschte Produkt sollte leicht aufgearbeitet und Verunreinigungen sollten einfach abgetrennt werden können.^{22,23} Gerade der letzte Gesichtspunkt bereitet manchmal Probleme, da teilweise sehr drastische Bedingungen für die Linkerspaltung nötig sind.

Neben den gebräuchlichen, durch Säuren, Basen oder andere Reagenzien²² spaltbaren Linkern wurden auch *traceless*-Linker^{6,24,25} entwickelt, die nach der Spaltung am Zielmolekül keine funktionelle Gruppe, sondern lediglich eine C- oder C-H-Einheit hinterlassen. Zusammenstellungen gebräuchlicher Festphasenlinker und Abspaltungstechniken finden sich in ausführlichen Übersichtsartikeln.^{22,26}

Besonderes Interesse kommt Linkern zu, die mit UV-Licht gespalten werden können. Diese sogenannten photolabilen Linker bieten eine Reihe von Vorteilen. Zum einen ist die Spaltung mit Licht eine milde und sehr kostengünstige Methode, die auch unter neutralen Bedingungen stattfinden kann. Diese Orthogonalität zu den sauren und basischen Reaktionsbedingungen erhöht die Flexibilität in der Synthesepaltung. Zum anderen kann die Zielverbindung vom Harz abgespalten werden, nachdem andere Schutzgruppen bereits entfernt worden sind, was beispielsweise nachfolgende Aufarbeitungsschritte in homogener Phase erübrigt und ein sehr reines Produkt liefert. Die Menge an abgespaltenem Produkt läßt sich dabei über die Belichtungsdauer regulieren.²⁷

1.2.2 Orthogonalität der Linker und Schutzgruppen

Zueinander orthogonale Schutzgruppen lassen sich selektiv in beliebiger Reihenfolge entfernen.²⁸ Ein orthogonales System liegt beispielsweise vor, wenn säure-, basen- und photolabile Schutzgruppen kombiniert werden. *Photolabile Schutzgruppen* stellen eine interessante Untergruppe dar, da sie ohne Reagenzienzugabe gespalten werden. Dieser Umstand erhöht die Verträglichkeit mit anderen funktionellen Gruppen.

Kombinationen unterschiedlicher, wellenlängenselektiv spaltbarer Photoschutzgruppen waren bis zum Jahr 2000 noch nicht beschrieben worden. Eine photochemische Orthogonalität kann nach einem Vorschlag von Bochet als *chromatische Orthogonalität* bezeichnet werden.²⁹

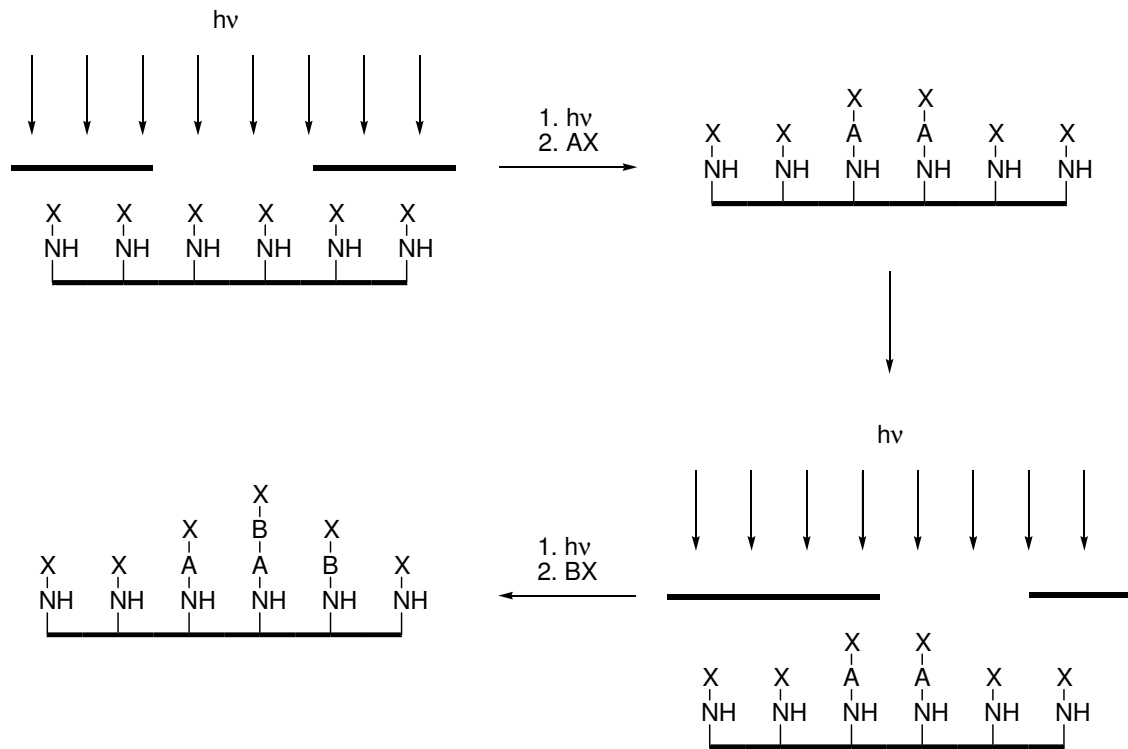
1.2.3 Anwendungen photolabiler Linker und Schutzgruppen

Photoschutzgruppen werden auch als Festphasenlinker eingesetzt, weil gerade in der organischen Synthese an der Festphase (*solid-phase organic synthesis*, SPOS) oft drastische Entschützungsbedingungen angewandt werden müssen.³⁰

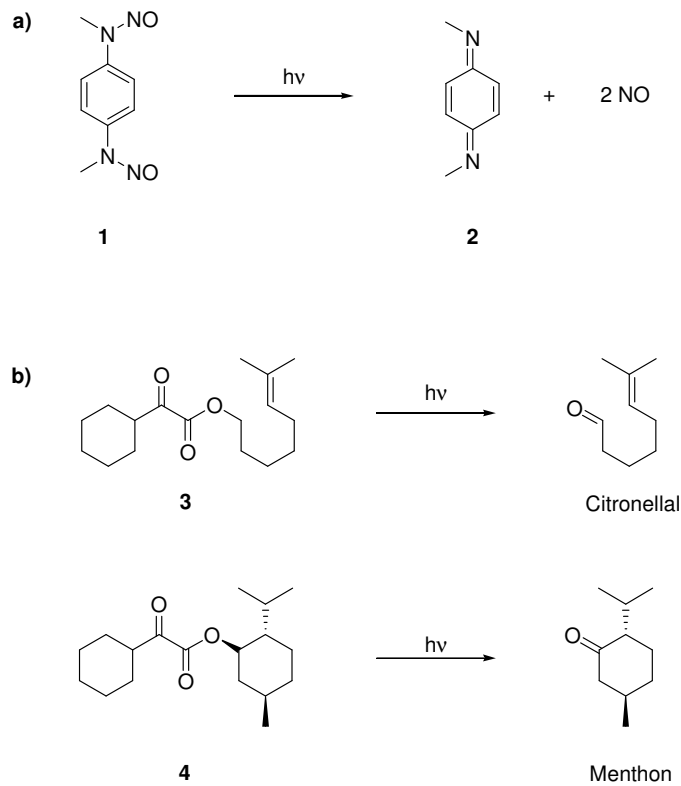
Die Einsatzmöglichkeiten der photolabilen Schutzgruppen beschränkt sich dabei nicht nur auf die Synthesechemie. Durch die gute Kontrollierbarkeit des Wellenlängenspektrums von Licht ergibt sich eine Fülle von Einsatzmöglichkeiten. Die Photolithographie zum Aufbau von Peptid- und Nucleotidarrays^{31,32,33} (Schema 1) und die photochemische Freisetzung (*uncaging*) biologisch aktiver Substanzen wie Stickstoffmonoxid³⁴ (Schema 2a) in lebenden Zellen und im Gewebe.^{35,36}

Photoaktivierbare Verbindungen (*photo-caged compounds*) sind durch Photoschutzgruppen (*photo-caging groups*) derivatisierte Wirkstoffe und erlauben die Freisetzung hoher Wirkstoffmengen durch Belichtung unmittelbar am gewünschten Zielort. Somit werden zeitlich und räumlich aufgelöste Untersuchungen biologischer Abläufe mit den inaktivierten Wirksubstanzen möglich.³⁷

In Körperpflege- und Haushaltprodukten kommen teilweise maskierte Duftstoffe (**3**, **4**) zum Einsatz, welche durch photolytische Entschützung im Sonnenlicht (Schema 2b) eine anhaltende Parfümierung bewirken.³⁸



Schema 1: Schematischer Aufbau einer Photolithographie. Mit Hilfe einer Schablone können ausgewählte Bereiche eines Assays photochemisch geschützt und weiter chemisch verändert werden.

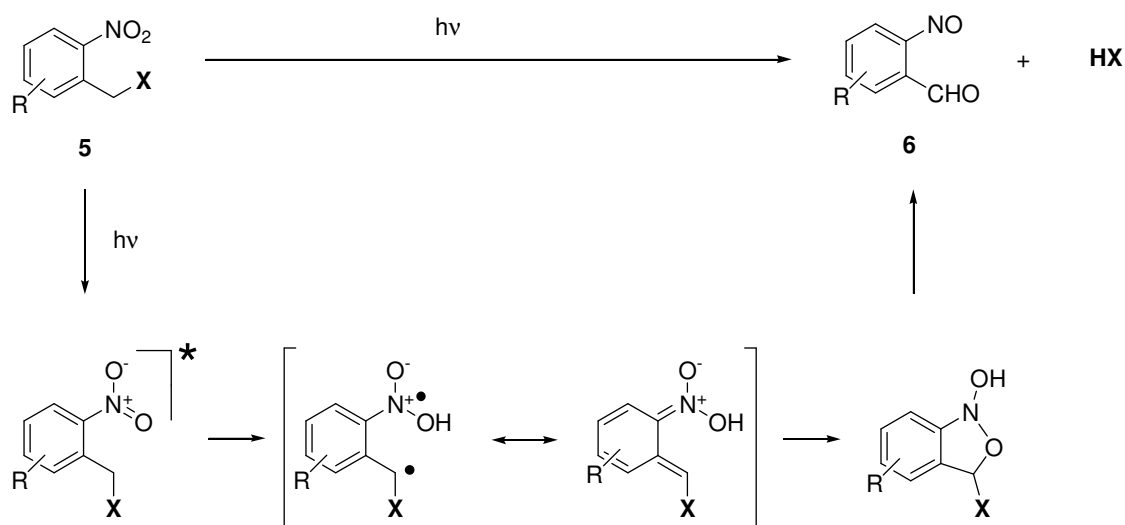


Schema 2: a) Photolytische Freisetzung von *caged*-Stickstoffmonoxid (1) und b) der maskierten Riechstoffe Citronellal und Menthon aus ihren α -Ketoester-Derivaten 3 bzw. 4.

2 Photolabile Schutzgruppen und Linker

2.1 *o*-Nitrobenzylgruppen

Die wahrscheinlich am häufigsten eingesetzten Photoschutzgruppen sind die *o*-Nitrobenzylsysteme. Die Abspaltung beruht auf einer Norrish-Typ-II-Spaltung nach photochemischer Anregung der Arylnitrogruppe in **5**, die nach Wasserstoffabstraktion in benzyli-scher Position über mehrere Zwischenstufen zum Nitrosoaldehyd **6** isomerisiert, wobei der protonierte benzyli-sche Substituent austritt (Schema 3).³⁹



Schema 3: Aktivierung der *o*-Nitrobenzylschutzgruppen **5**.

Die Aktivierung der *o*-Nitrobenzylgruppe erfolgt zwischen 350-400 nm und ist abhängig von weiteren Substituenten R am Ring. Eine Verbesserung der Einsetzbarkeit erfolgte durch die Einführung der 6-Nitroveratryloxycarbonyl-Gruppe (NVOC, **7**) (Abbildung 6).⁴⁰ Sie wird zur Freisetzung von Carbonsäuren⁴¹, Phosphaten⁴², Alkoholen⁴³, Aminen⁴⁴ und Amiden⁴⁵, sowie in der Kohlenhydratchemie⁴⁶ als Festphasenlinker (**8**) eingesetzt.

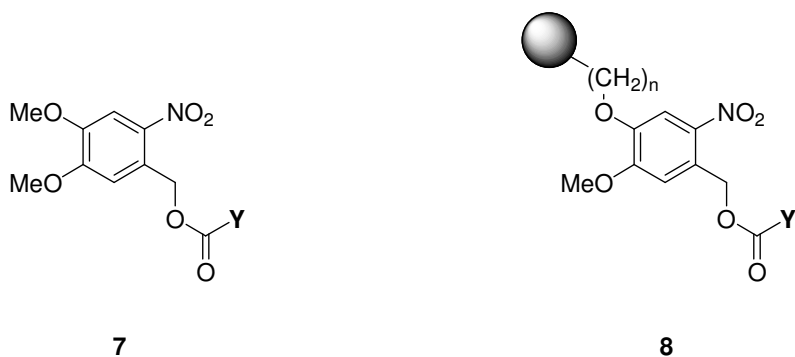
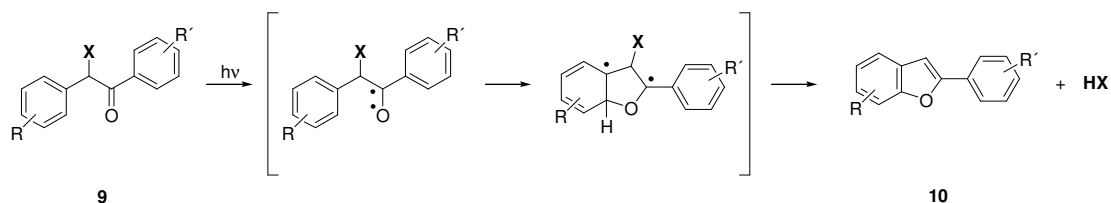


Abbildung 6: NVOC-geschützte Substrate **7** und **8** (polymergebunden).

Der entstehende *o*-Nitrosoaldehyd **6** besitzt eine starke Eigenabsorption und wirkt als interner Filter,⁴² so daß teilweise lange Belichtungszeiten für eine vollständige Photolyse nötig sind. Außerdem schränkt dessen hohe Reaktivität und die damit einhergehende mögliche Substratschädigung die Brauchbarkeit der *o*-Nitrobenzylschutzgruppen ein.

2.2 Benzoin-Gruppen

Sheehan⁴⁷ fand mit Benzoinestern der allgemeinen Struktur **9** (Schema 4) sehr effizient abspaltbare Schutzgruppen für Carbonsäuren, die bei etwa 350 nm angeregt werden. Die Spaltung erfolgt auch hier nach Norrish-Typ-II. Die entstehenden Phenylbenzofurane (**10**) absorbieren kaum bei dieser Wellenlänge, sind unreaktiv und chemisch sehr stabil. Dies ist ein Vorteil gegenüber den Nitrobenzylschutzgruppen, die hochreaktive Nitrosoaldehyde bilden.

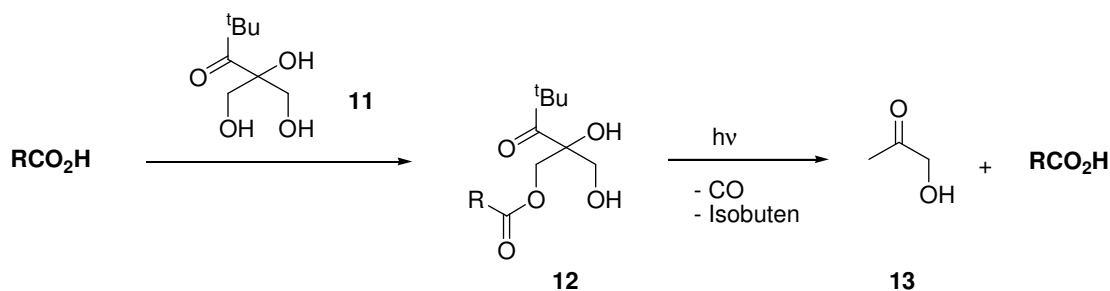


Schema 4: Photochemische Spaltung der Benzoinester **9**.

Die Benzoinester sind allerdings stark hydrolyseempfindlich, was durch Dithianschätzung umgangen werden kann.⁴⁸

2.3 2-Pivaloylglycerin-Gruppen

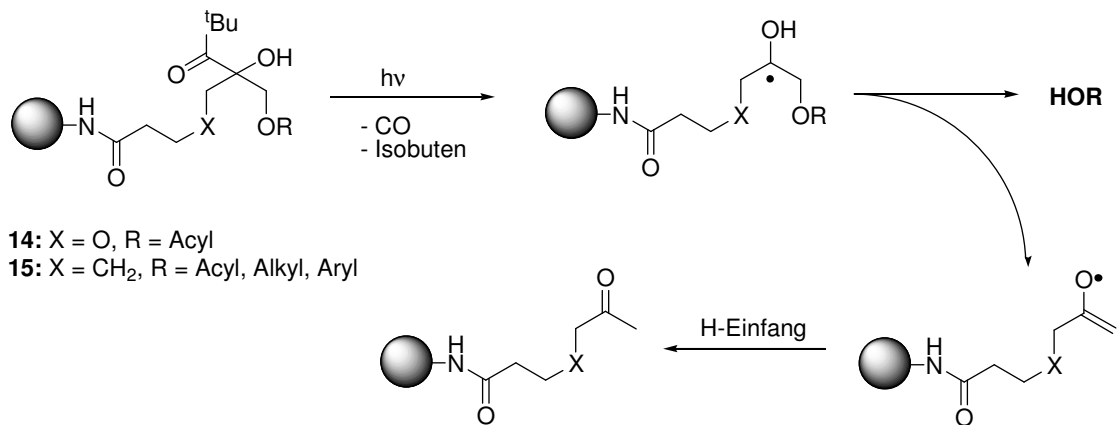
Schönleber⁴⁹ untersuchte die Eignung der photolabilen Schutzgruppe 2-Pivaloylglycerin⁵⁰ (**11**) für die Synthese verschiedener *caged compounds*, welcher das Prinzip des radikalinduzierten β -C-O-Bindungsbruchs zugrunde liegt. Diese Norrish-Typ-I-Spaltreaktion beinhaltet die Kombination der photolytischen Erzeugung von Radikalen und anschließendem spontanem β -C,O-Bindungsbruch.



Schema 5: 2-Pivaloylglycerin (**11**) als Schutzgruppe für Carbonsäuren.

Diese Schutzgruppe eignet sich zur Anwendung in biologischen Systemen, weil sie wasserlöslich und hydrolysebeständig ist. Die flüchtigen Spaltprodukte (Isobuten, CO , Hydroxyacetone (**13**)) und die rasche Freisetzung der Carbonsäure, bedingt durch eine hohe Eliminationsgeschwindigkeit ($2 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$ für maskiertes Phenylalanin) sind ein großer Vorteil gegenüber den *o*-Nitrobenzylschutzgruppen.

Peukert^{51,52} entwickelte aus diesem Konzept einen brauchbaren photolabilen Festphasenlinker **14** zur Immobilisierung von Carbonsäuren. Glatthar^{53,54} modifizierte diesen Linker (**15**) zugunsten einer größeren chemischen Stabilität und hinsichtlich der Einsetzbarkeit zur Immobilisierung von Alkoholen (Schema 6).



Schema 6: Photolabile Festphasenlinker **14** und **15** zur Ester- und Etherspaltung durch radikalinduzierten heterolytischen β -C-O-Bindungsbruch.

3 Aufgabenstellungen

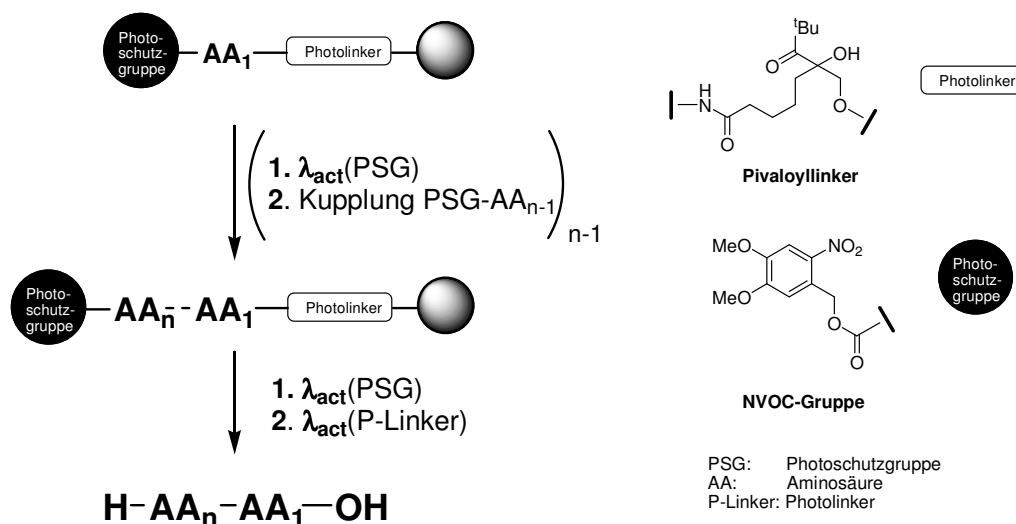
Die Methoden der synthetischen Chemie an Festphasen werden seit ihrer Einführung in den frühen 1960er Jahren ständig weiterentwickelt und verfeinert. Waren die ersten konkreten Anwendungen noch auf den sequentiellen Aufbau von Peptiden beschränkt, so hat die Festphasenchemie bis heute in fast alle Bereiche der synthetischen organischen Chemie Einzug gehalten.

Die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten in der Synthesechemie ergeben sich mit der ständigen Entwicklung neuer Linkerbausteine und Schutzgruppen, die auf sehr spezifische Fragestellungen zugeschnitten werden. Über die Fülle der bis heute verfügbaren Linker informieren Übersichtsartikel und Monographien.^{22,26,55}

Besondere Beachtung finden photolabile Schutzgruppen und von ihnen abgeleitete Photolinker. Sie bieten die Vorzüge, daß lediglich Licht als "Abspaltungsreagens" benötigt wird und deshalb die Produktreinigung einfacher wird. Neben den ökonomischen und ökologischen Vorteilen der lichtinduzierbaren Entschützungen ergeben sich auch Erleichterungen bei der Handhabung empfindlicher Substrate. Photolabil maskierte Substrate finden sowohl als *caged compounds* im biologisch-medizinischen Bereich als auch in photolithographischen Assays Verwendung.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit folgenden spezifischen Fragestellungen:

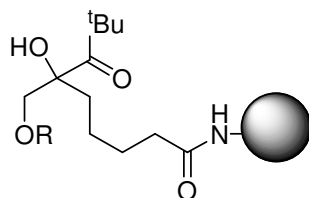
- Ist es möglich, eine ausschließlich *photochemisch orthogonale* Schutzgruppenstrategie ohne chemische Entschützungsverfahren für die Peptidsynthese an der Festphase zu entwickeln (Schema 7)?



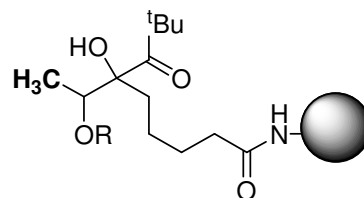
Schema 7: Prinzip der photochemisch orthogonalen Schutzgruppenstrategie bei der Peptidsynthese an einem polymeren Träger.

Dabei soll auf die bereits bekannten NVOC- und Pivaloylschutzgruppen zurückgegriffen werden.

- Mit dem Pivaloyllinker **15** ist ein sehr effizientes Werkzeug zur Immobilisierung und Freisetzung von Carbonsäuren an Festphasen-*Beads* gefunden worden. Lassen sich auch andere Geometrien wie Festphasen-*Laternen* effizient bei photochemischen Entschützungen handhaben?
- Kann der Pivaloyllinker als *caging group* für biologisch aktive Peptide in immunologischen Assays zur kontrollierten *in-vivo*-Freisetzung durch einfache Belichtung eingesetzt werden?
- Lässt sich der Pivaloyllinker neben den bisher bekannten Anwendungen zur Freisetzung von Carbonsäuren und Alkoholen auch für andere Substanzklassen wie Amine und Amide einsetzen?
- Bringt eine strukturelle Modifikation des Pivaloyllinkers **16** erhöhte Ausbeuten und verkürzte Reaktionszeiten bei der Etherspaltung in pH-neutralen Medien?



Pivaloyllinker (**15**)



Modifizierter Pivaloyllinker (**16**)

Schema 8: Pivaloyllinker **15** und strukturelle Modifikation **16**.

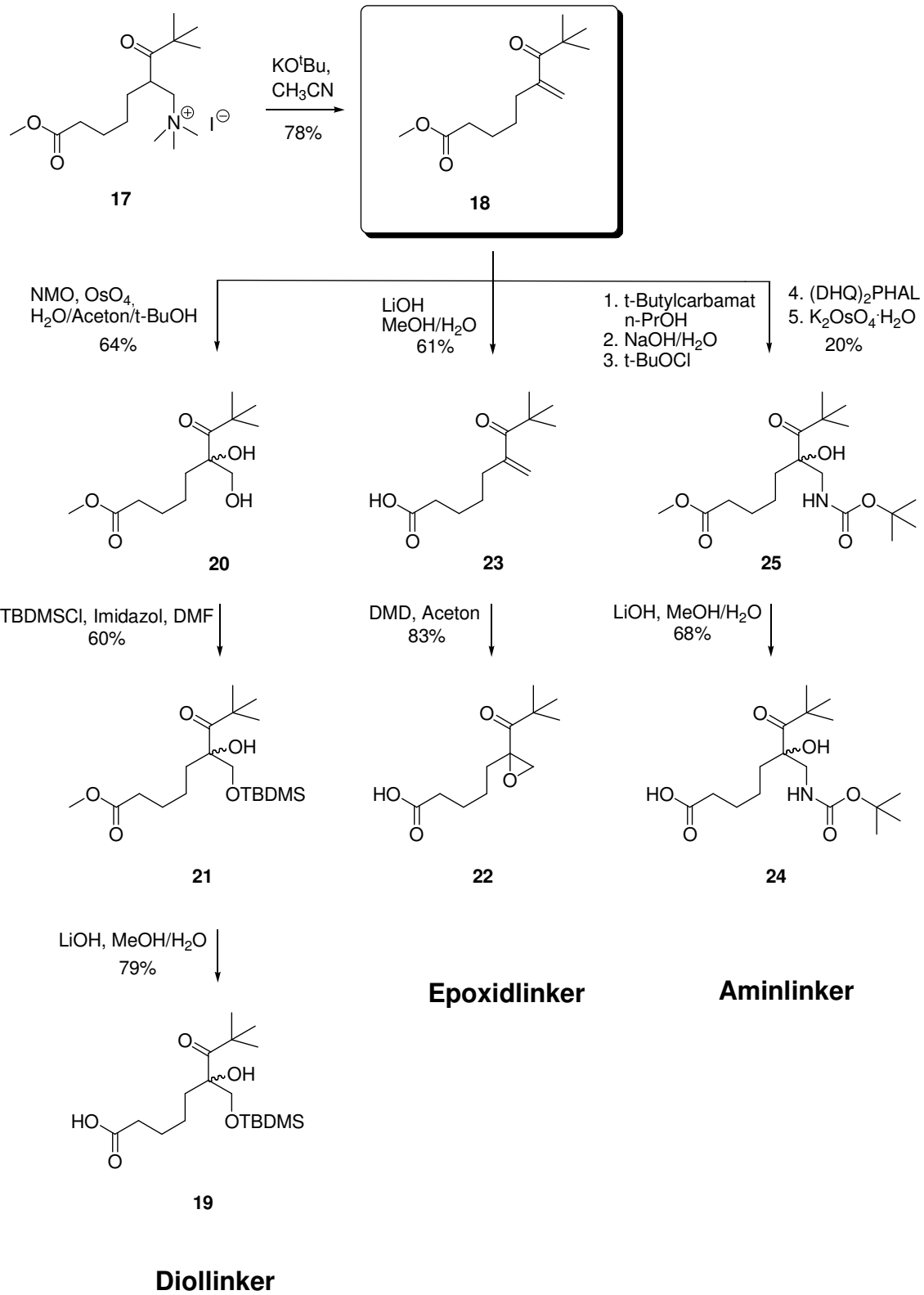
4 Synthese der funktionalisierten Photolinker

Für die geplanten Untersuchungen zur Verwendung des Pivaloylphotolinkers in Peptidsynthesen und als *caging group* für Peptide, sowie für die Abklärung des Einsatzes zur Freisetzung von Aminen und Amiden, wurden zunächst unterschiedlich funktionalisierte Pivaloyllinker hergestellt (Schema 9).

Der Vorläufer für die verwandten Linker ist 8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxononansäuremethylester (**18**), der aus dem quartären Ammoniumiodid **17** durch die baseninduzierte Elimination⁵⁶ von Trimethylamin erhalten wird. Das Ammoniumsalz wurde nach einem Synthesepan von Glatthar in sechs Stufen hergestellt (siehe Anhang).^{53,54}

4.1 Diollinker **19**

Durch die osmiumkatalysierte Dihydroxylierung⁵⁷ des α,β -ungesättigten Ketons **18** zum Diol **20** und die anschließende Silylierung⁵⁸ der terminalen Hydroxylgruppe wurde der Methylester **21** erhalten. Nach der Verseifung der Estergruppe mit Lithiumhydroxid⁵⁹ stand die freie racemische Linker-Carbonsäure **19** für die Knüpfung mit aminofunktionalisierten polymeren Festphasenträgern zur Verfügung.



Schema 9: Synthese der unterschiedlich funktionalisierten Pivaloylphotolinker.

4.2 Epoxidlinker 22

Zur Herstellung der freien racemischen Epoxidlinker-Carbonsäure **22** mußte vor der Epoxidierung⁶⁰ mit Dimethyldioxiran (DMD) zuerst der Methylester am α,β -ungesättigten Keton **18** verseift⁵⁹ werden (**23**), um eine unerwünschte Epoxidöffnung während der basischen oder sauren Methylesterspaltung zu vermeiden. DMD wurde unmittelbar vor Gebrauch frisch hergestellt (s. Anhang).

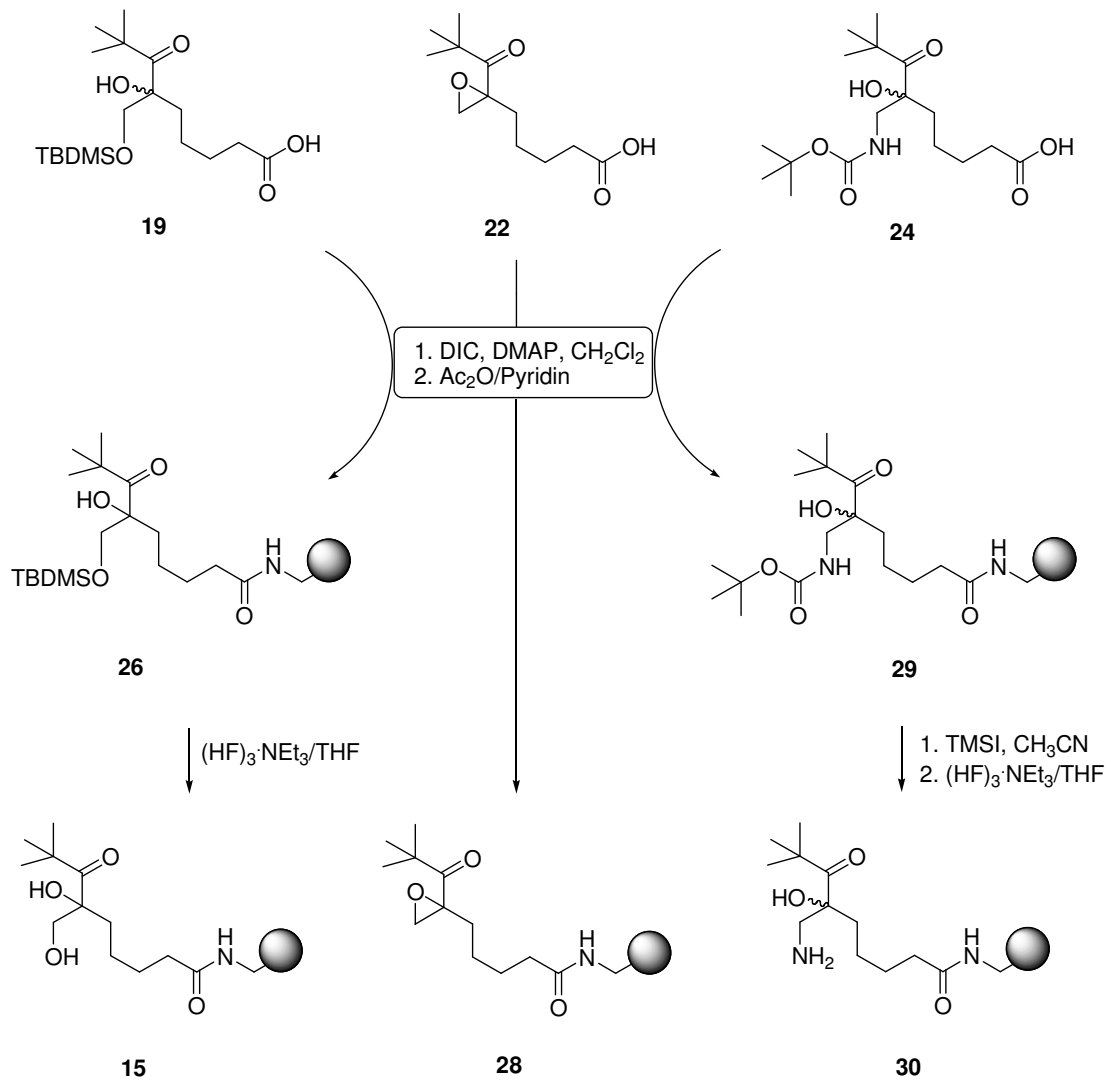
4.3 Aminlinker 24

Durch die Aminohydroxylierung nach Sharpless^{61,62} erhielt man das Carbamat **25**, welches nach der Verseifung des Methylesters⁵⁹ mit Lithiumhydroxid den racemischen Boc-geschützten Linker **24** lieferte. Die vergleichsweise geringe Ausbeute des Aminohydroxylierungsschrittes von 20 % ließ sich nicht verbessern. Die Rückgewinnung des nicht umgesetzten α,β -ungesättigten Ketons **18** war jedoch möglich. Das zur Aminohydroxylierung benötigte t-Butylhypochlorit wurde frisch hergestellt, da sich die stabilisierten käuflichen Produkte nicht verwenden ließen.

4.4 Beladung von TentaGel-S-NH₂ und Novabiochem-Polystyrol-NH₂ mit den photolabilen Linkern.

Die Beladung der aminofunktionalisierten TentaGel S- und Novabiochem-Polystyrolharze (Schema 10) erfolgte durch Aktivierung und Kupplung der Linker-Carbonsäuren **19**, **22**, **24** mit Diisopropylcarbodiimid und 4-Dimethylaminopyridin.⁶³ Die Beladung der Harze wurde mit Hilfe des Pikrattests¹⁹ bestimmt und betrug im Falle der TentaGel-Harze 89 % und für Polystyrolharz 100 %. Nach abschließender Acetylierung (*end-capping*) der primären Aminogruppen mit Acetanhydrid in Pyridin war der qualitative Färbetest nach Kaiser¹⁸ bei allen Harzen negativ.

Nach Desilylierung des polymergebundenen geschützten Diols **TG-26** oder **PS-26** mit Triethylamin-tris-Hydrofluorid⁶⁴ und dem Waschen des Harzes war das Photolinkerharz **TG-27** oder **PS-27** gebrauchsfertig. Das Carbamat des Aminoalkohols **29** wurde mit Trimethylsilyliodid⁶⁵ gespalten und der in einer Nebenreaktion entstehende Silylether nucleophil entschützt⁶⁴ und lieferte somit den Aminoalkohol **30**.



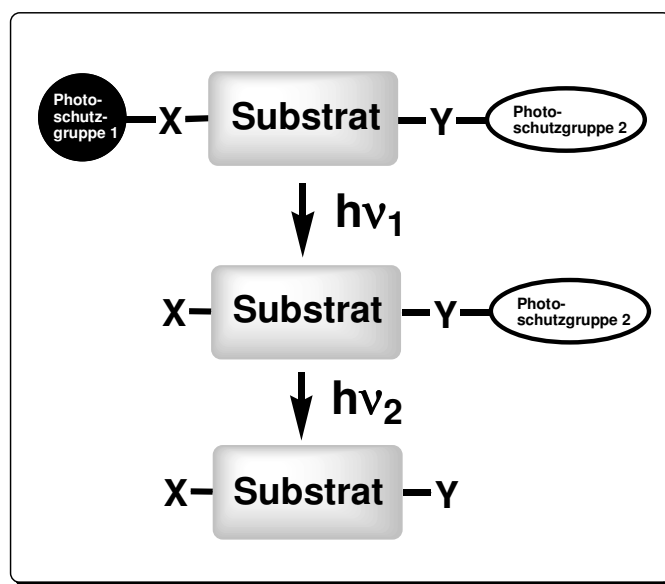
Schema 10: Herstellung der Photolinkerharze **15**, **28** und **30**.

5 Photochemisch orthogonale Festphasensynthesen

Photolabile Schutzgruppen und Festphasenlinker sind eine interessante Alternative zu den chemisch spaltbaren Gruppen, da die Entschützung ohne Reagenzienzugabe erfolgt und somit die Handhabung empfindlicher Substrate ermöglicht. Eine photochemische Orthogonalität unter Anwendung monochromatischen Lichts unterschiedlicher Wellenlänge wurde erstmals von Bochet im Jahr 2000 veröffentlicht.⁶⁶

Eine solche Schutzgruppenstrategie (Schema 11) wird möglich, wenn folgende Bedingungen erfüllt sind:⁶⁷

- Die intrinsische Stabilität jeder Schutzgruppe sollte bei verschiedenen Wellenlängen sehr unterschiedlich sein.
- Der Energietransfer von einem angeregten Chromophor auf einen benachbarten Chromophor im Grundzustand sollte ausgeschlossen sein.
- Die Entschützung bei höherer Energie (kürzerer Wellenlänge) sollte möglichst schnell sein, um Photoschädigungen anderer funktioneller Gruppen zu vermeiden.



Schema 11: Allgemeine Strategie für die photochemische Abspaltung orthogonaler Schutzgruppen.

5.1 Vorausgehende Experimente

Die ersten Versuche zur lichtinduzierten orthogonalen Spaltung wurden mit dem 3,5-Dimethoxybenzoinester **31** und dem Nitroveratrylester **32** der Laurinsäure durchgeführt (Abb. 7).

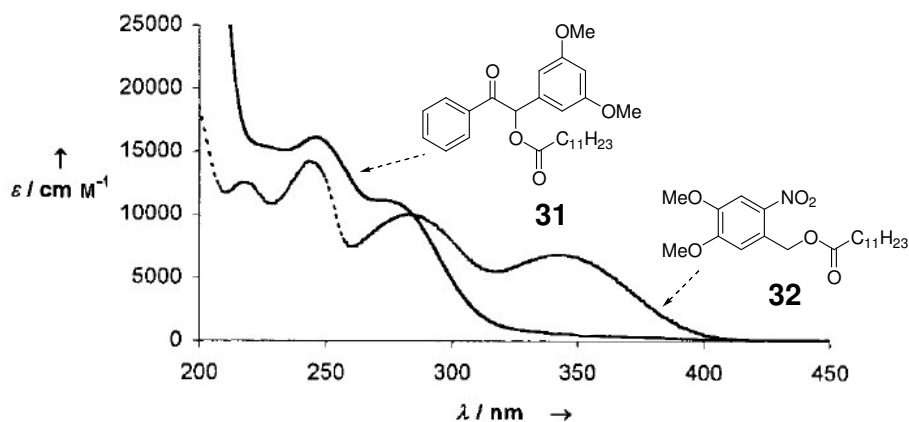
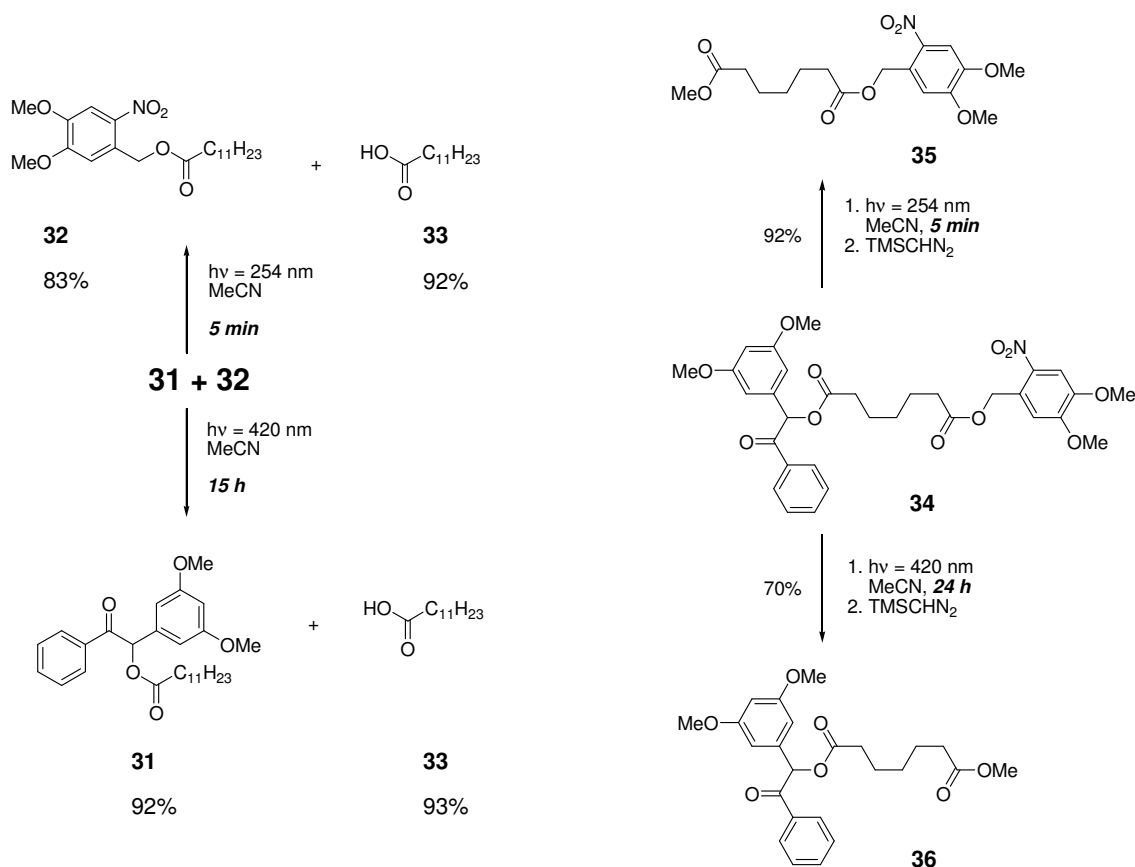


Abbildung 7: UV-Spektren des 3,5-Dimethoxybenzoinesters **31** und des Nitroveratrylesters **32**.

Es konnten auf diese Weise beachtliche Spaltungsselektivitäten bei der Belichtung eines 1:1-Gemisches der beiden Ester beobachtet werden, was sich in den sehr guten Ausbeuten der erhaltenen Laurinsäure (**33**) von 92-93 % für beide Entschützungen und der hohen Wiederfindungsrate der jeweiligen nichtaktivierten Spezies von 83-92 % zeigte (Schema 12). Ein intermolekularer Energietransfer konnte somit ausgeschlossen werden. Bei der orthogonalen Entschützung des Heptansäurediesters **34** fanden sich ähnlich gute Selektivitäten im Falle der Benzoinentschützung, wobei offensichtlich kein intramolekularer Energietransfer auftrat. Die Spaltung des Nitroveratrylesters erfolgte mit 70 %. Die anschließende quantitative Methylierung der Carbonsäuren mit TMS-Diazomethan diente der einfacheren Ausbeutebestimmung mittels Gaschromatographie.⁶⁸



Schema 12: **Links:** Selektive Photolyse des Benzoinesters **31** bei 254 nm und des Nitroveratrylesters **32** bei 420 nm. Es sind die jeweiligen Ausbeuten an Laurinsäure (**33**) und die Wiederfindungsrate des nicht-aktivierten Esters angegeben. **Rechts:** Vergleichbare Selektivitäten bei den Belichtungen des Heptansäurediesters **34**.

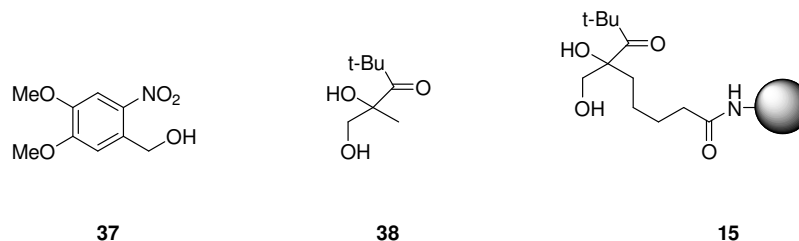
Angeregt durch diese ersten positiven Ergebnisse suchten wir nach einem photolabilen Schutzgruppensystem, das sich für den Einsatz bei der Peptidsynthese an der Festphase eignen könnte.

Die Hydrolyseempfindlichkeit der Benzoinester und die benötigte Aktivierungswellenlänge von weniger als 300 nm schränken allerdings deren Brauchbarkeit sowohl in längeren Syntheseprotokollen, als auch bei der Handhabung empfindlicher Substrate ein.⁴⁸

Nitroveratrylschutzgruppen sind dagegen als Ester, Carbamate oder Ether vergleichsweise stabil. Störend ist vorrangig die Bildung des reaktiven Nitrosoaldehyds, der aber durch den Einsatz geeigneter Abfangreagenzien⁴⁰, sogenannter *Scavenger*, *in-situ* gebunden werden kann. Vorteilhaft ist daneben die Aktivierbarkeit bis zu einer Wellenlänge von 420 nm.

Die Pivaloyllinker **14**, **15** zeigten hervorragende Spaltausbeuten bei der photochemischen Freisetzung von Carbonsäuren, C-terminal gebundenen Aminosäuren und Peptiden bis 335 nm und sind chemisch sehr stabil, was für ihre Anwendung in Peptidsynthesen spricht.^{51,53,54}

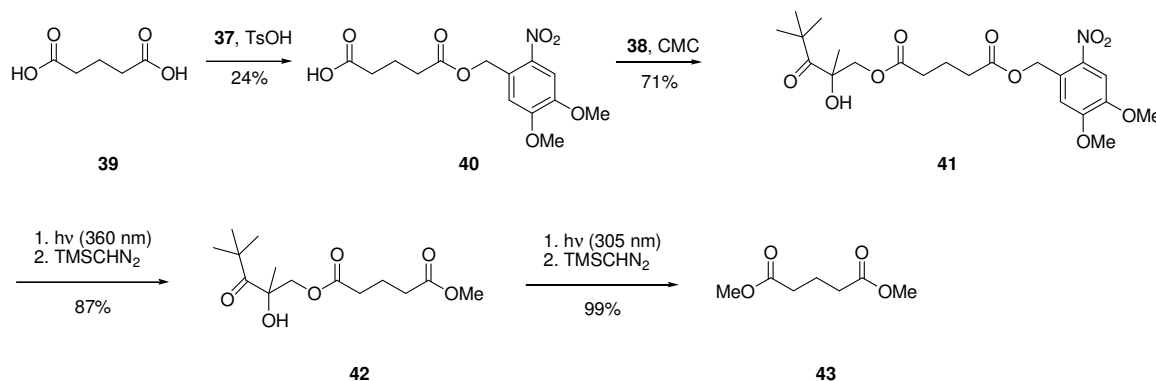
Mit der Kombination aus Pivaloyl- und Nitroveratrylschutzgruppe (Schema 13) wurden zunächst einige vorbereitende Experimente in Anlehnung an die in Schema 12 gezeigten Untersuchungen durchgeführt (Schema 14).^{54,69}



Schema 13: Schutzgruppen auf der strukturellen Grundlage von Nitroveratrol (**37**) und der Pivaloylalkohole (**38**, **15**) sind denkbar für den kombinierten Einsatz in Peptidsynthesen.

Aus Glutarsäure (**39**) und Nitroveratrol (**37**) wurde unter Säurekatalyse der Monoester **40** hergestellt.⁷⁰ Nach CMC-Aktivierung der freien Carboxylgruppe und Kupplung mit dem Diol **38** erhielt man den beidseitig geschützten Photolysevorläufer **41**.

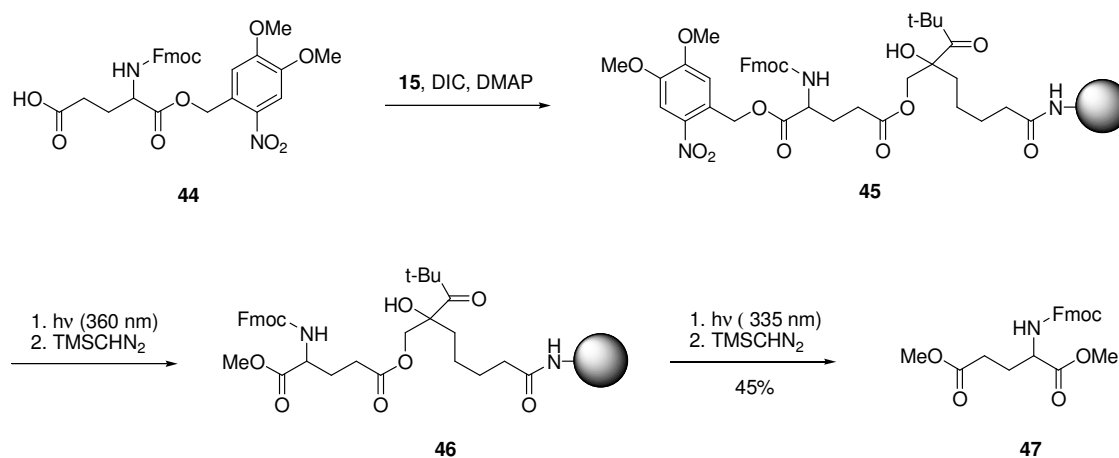
Sequentielle Photospaltung des Nitroveratrylesters (360 nm) und des Pivaloylesters (305 nm) mit umgehender Methylierung der freigesetzten Carboxylfunktionen mit TMS-Diazomethan⁶⁸ lieferten Glutarsäuredimethylester (**43**).



Schema 14: Synthese und sequentielle Photolyse des Glutarsäurediesters **41**.

In einem weiteren Vorversuch (Schema 15) wurde Fmoc-Glutaminsäure-nitroveratrylester (Fmoc-Glu-ONV, **44**) nach Aktivierung mit DIC und DMAP mit dem TentaGel-Pivaloyllinkerharz **15** zu **45** verestert. Der Nitroveratrylentschutz bei 360 nm und Methylierung am Harz **46** mit TMS-Diazomethan in Hexan folgte die Abspaltung des

Glutaminsäurederivats **47** vom Harz bei 335 nm. Die Gesamtausbeute betrug 45 % bezogen auf die gemessene Fmoc-Beladung²⁰ des Harzes **45**.



Schema 15: Photochemische Abspaltung von Fmoc-Glutaminsäuredimethylester (**47**) vom polymeren Träger.

Die überlagerten qualitativen UV-Spektren des Pivaloyllinkermodells **48** und von NVOC-Glycin (**49**) sind in Abbildung 8 gezeigt.

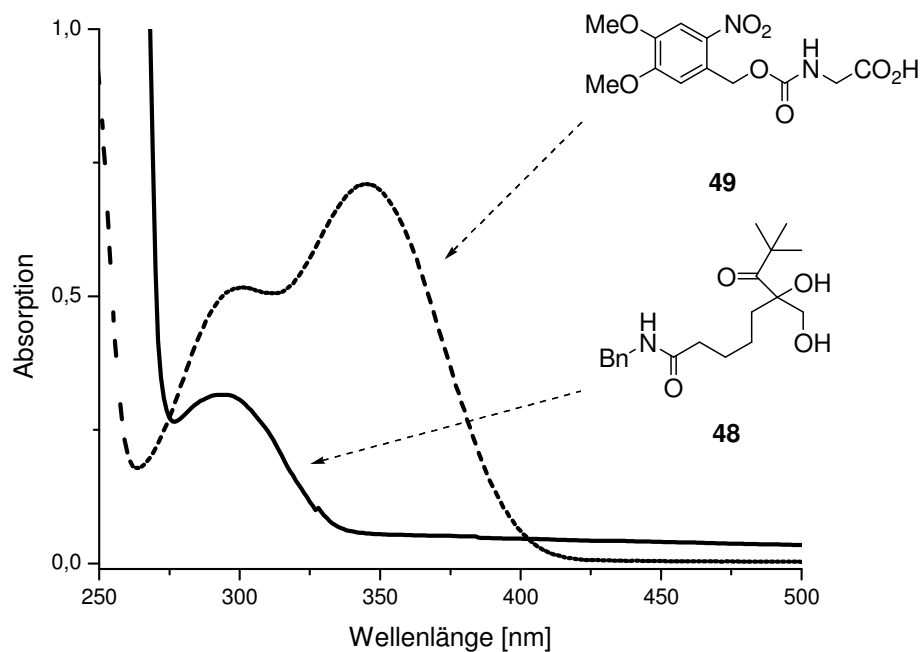


Abbildung 8: Qualitative UV-Spektren des Linkermodells **48** und von NVOC-Glycin (**49**).

Daraus ist ersichtlich, daß bis zu einer Wellenlänge von 340 nm selektiv die Nitroveratrylgruppe in **49** angeregt werden kann. Das Pivaloylketon **48** wird erst bei Wellenlängen unter 340 nm angeregt.

6 Syntheseprojekt des Neuropeptids Leu-Enkephalin

6.1 Einleitung

6.1.1 Endorphine und Enkephaline

Als Agonisten des körpereigenen schmerzhemmenden Systems wurden Poly- und Oligopeptide identifiziert, bei denen es sich teilweise um Bruchstücke eines in der Hypophyse vorkommenden Hormons, des β -Lipotropins, das selbst nicht analgetisch wirksam ist, handelt. Diese Fragmente werden als Endorphine bezeichnet, die wie folgt benannt werden:⁷¹

- β -Endorphin mit 31 Aminosäuren
- α - und γ -Endorphin sind Fragmente des β -Endorphins
- Dynorphine mit 17 bzw. 8 Aminosäuren
- die Pentapeptide *Methionin-* und *Leucin-Enkephalin* die aus den 5 endständigen Aminosäuren der Endorphine (Met-Enkephalin) bzw. der Dynorphine (Leu-Enkephalin) bestehen.

Hughes und Kosterlitz⁷² beschrieben 1975 erstmals die Isolierung und Strukturaufklärung des ersten endogenen Opiats aus Schweinehirn, das den Namen Enkephalin (enkephalos = Gehirn) erhielt. Es handelte sich dabei um ein Gemisch aus Leu-Enkephalin und Met-Enkephalin.

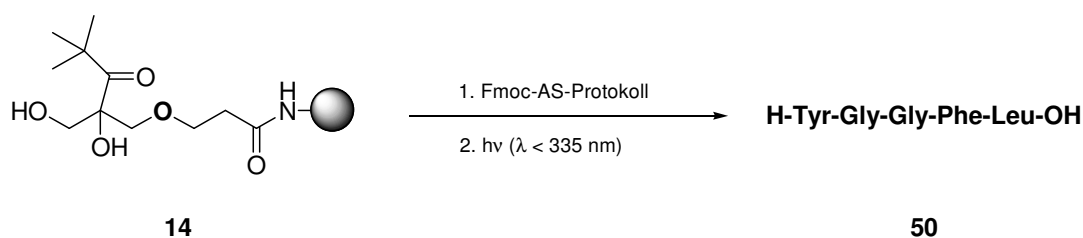
Die Endorphine greifen an denselben Rezeptoren, den sogenannten Opiatrezeptoren an wie starke Schmerzmittel. Sie besitzen die gleiche pharmakodynamische Wirkung wie die Opiate, unterscheiden sich aber von diesen aufgrund ihrer Peptideigenschaften in der Pharmakokinetik. Die Enkephaline haben nur bei intraventrikulärer Injektion eine schmerzdämpfende Wirkung, da sie im Blutplasma sehr schnell durch Proteasen hydrolysiert werden.

6.2 Synthesekonzept

Nitroveratryl- und Pivaloylschutzgruppen ließen sich in den weiter oben beschriebenen Vorversuchen sequentiell photochemisch entfernen. Die Erfordernisse für eine Photoschutzgruppenstrategie in der Peptidsynthese waren damit erfüllt.

Das Pentapeptid *Leu-Enkephalin*, H-Tyr-Gly-Gly-Phe Leu-OH (**50**) wurde als Zielverbindung ausgewählt, weil es UV-absorbierende Aminosäuren (Tyr, Phe) enthält und somit ihre Kompatibilität mit der Photolyse der Schutzgruppen geprüft werden konnte. Eine authentische, kommerziell erhältliche Probe Leu-Enkephalins zeigte in der Stabilitätsprüfung nach 60 minütiger Belichtung bei 305 nm in wäßriger Lösung und nachfolgender HPLC-Analyse eine Zersetzung von weniger als 1%. Somit waren keine unerwünschten Photoreaktionen des Pentapeptids während der Schutzgruppenmanipulationen zu erwarten.

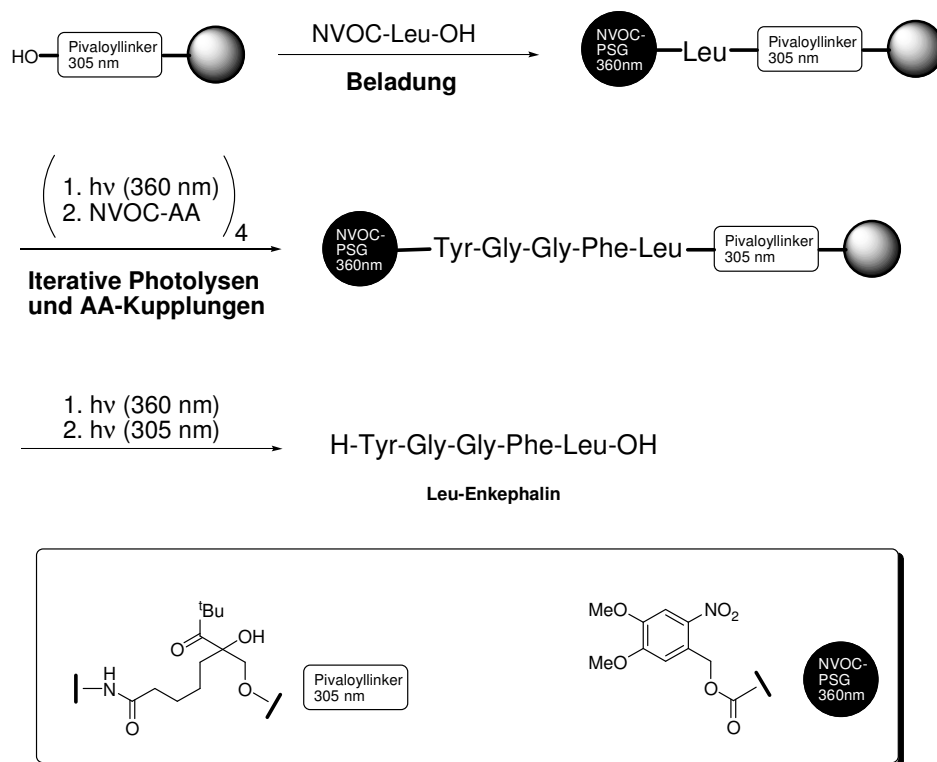
In einer früheren Arbeit von Peukert⁵¹ zur photolytischen Freisetzung von Carbonsäuren und Peptiden konnten bereits experimentelle Daten über Leu-Enkephalin gesammelt werden (Schema 16), was ein weiterer Grund für die Wahl dieses Peptids darstellte.



Schema 16: Freisetzung von Leu-Enkephalin (**50**), das über ein Fmoc-Protokoll am Pivaloyllinkerharz **14** aufgebaut wurde.

Außerdem hatte Bochet zuvor eine Methode zur Herstellung von Nitrobenzylcarbamaten unter milden Bedingungen entwickelt, welche für die Bereitstellung der NVOC-Aminosäuren sehr hilfreich war.⁷³

Mit diesen Aminosäuren wurde Leu-Enkephalin auf der mit dem Pivaloyllinker beladenen festen Phase synthetisiert (Schema 17).



Schema 17: Geplantes Vorgehen bei der Synthese von Leu-Enkephalin mit photolabilen Schutzgruppen.

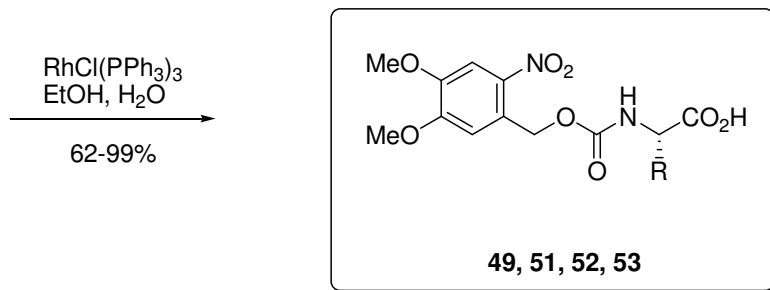
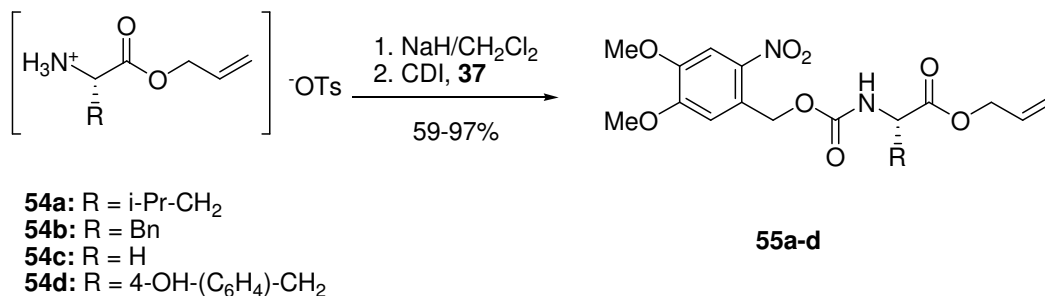
Nach der Beladung des Photolinkerharzes mit NVOC-Leu-OH (**51**) sollte eine Sequenz von N-terminalen NVOC-Entschützungen bei 360 nm und Peptidkupplungen durchgeführt werden. Nachdem das Pentapeptid aufgebaut und N-terminal entschützt war, sollte die Abspaltung vom Trägerharz bei 305 nm erfolgen.

6.2.1 Vorbereitungen zur orthogonalen photochemischen Peptidsynthese

6.2.1.1 Synthese der NVOC-geschützten α -Aminosäuren⁷³

Da die photolabil geschützten α -Aminosäuren NVOC-Leu-OH (**51**), NVOC-Phe-OH (**52**), NVOC-Gly-OH (**49**) und NVOC-Tyr-OH (**53**) nicht kommerziell erhältlich waren, wurden sie ausgehend von den käuflichen α -Aminosäureallylester-Hydrotosylaten (**54a-d**) mit der Nitroveratryloxycarbonylgruppe (NVOC) geschützt.

Nachdem das freie Amin durch Neutralisation mit Natriumhydrid in Dichlormethan bei 25 °C erzeugt wurde, erfolgte die Acylierung mit einem Gemisch aus Nitroveratrol (**37**) und *N,N*-1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI). Rhodiumkatalysierte Allylesterspaltung der Carbamate **55a-d** in Ethanol/Wasser lieferten die freien NVOC-Aminosäuren in Ausbeuten zwischen 62-99 % (Schema 18).⁷⁴



Schema 18: Syntheseübersicht NVOC- α -Aminosäuren **49, 51, 52, 53**.

6.2.1.2 Unabhängige Synthese der Referenzen für die homogene Phase und die Festphase

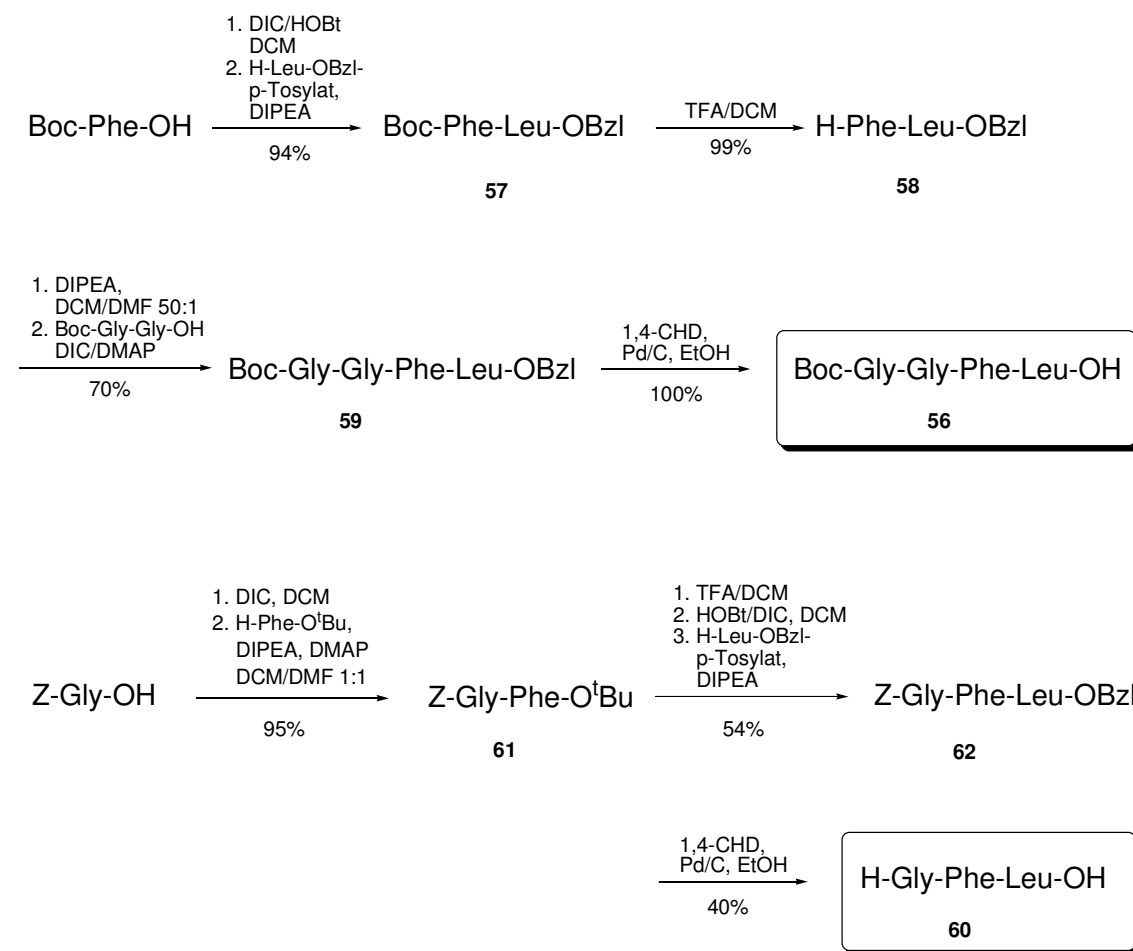
Begleitend zur geplanten orthogonalen Schutzgruppenstrategie in der Synthese von Leu-Enkephalin war die Herstellung verschiedener Referenzpeptide für die Charakterisierung und Quantifizierung der Photolyseprodukte notwendig, die mittels gängigem Standardprotokoll synthetisiert wurden (Schema 19).⁷⁵

Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**)

Boc-Phe-OH wurde nach der Aktivierung durch DIC und HOBt mit Leucinbenzylester zum geschützten Dipeptid **57** umgesetzt. Nach Entfernung der Boc-Gruppe mit Trifluoressigsäure zu **58** erfolgte die Kupplung mit käuflichen Boc-Glycylglycin unter DMAP-katalysierter DIC-Aktivierung zum Tetrapeptid **59**, welches C-terminal reaktiv mit 1,4-Cyclohexadien/Palladium-Kohlenstoff⁷⁶ zu **56** geschützt wurde. Die Ausbeute betrug 65 %.

H-Gly-Phe-Leu-OH (60)

Z-Glycin wurde mit DIC in Dichlormethan aktiviert und mit Phenylalanin-*t*-butylester zum Dipeptid Z-Gly-Phe-O-*t*Bu (**61**) gekuppelt. Der *t*-Butylester wurde mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan gespalten, die freie Säure mit HOBt/DIC aktiviert und mit Leucinbenzylester weiter zum Tripeptid **62** umgesetzt. Nach vollständiger reduktiver Entfernung⁷⁶ der C- und N-terminalen Benzylschutzgruppen erhielt man H-Gly-Phe-Leu-OH (**60**) in einer Ausbeute von 21 %.



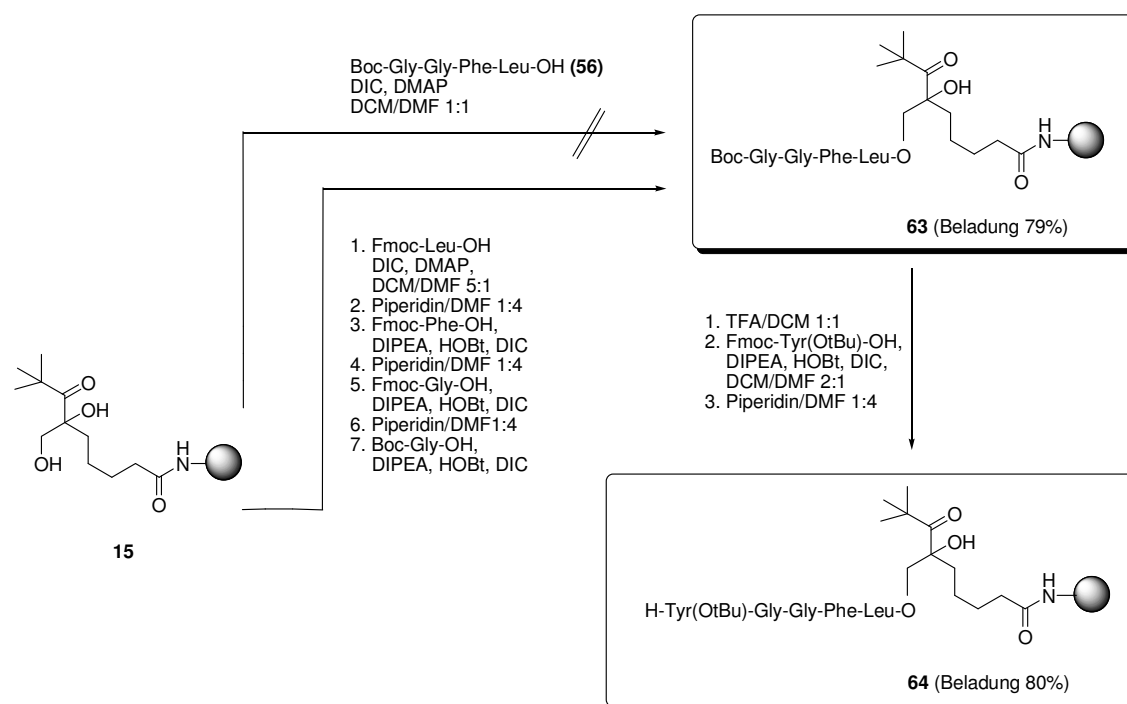
Schema 19: Synthesen der Referenzpeptide Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**) und H-Gly-Phe-Leu-OH (**60**).

Es wurden auch zwei Referenzsysteme (**63**, **64**) nach konventionellen Peptidprotokollen an pivaloyllinker-funktionalisierten Festphasen bereitgestellt (Schema 20), um eine Vergleichbarkeit mit dem photochemisch orthogonalen Verfahren zu gewährleisten und unerwünschte Nebenreaktionen während der Photolysen auszuschließen. Leu-Enkephalin (**50**) enthält eine Tyrosyleinheit, die unter Umständen photochemisch angeregt werden kann. Zur

Unterdrückung der Bildung von Tyrosylradikalen⁷⁷ wurde in Referenzpeptid **64** die Hydroxylfunktion als *t*-Butylether geschützt.

Da die direkte Kupplung des oben bereits erwähnten Tetrapeptids Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**) mit dem TentaGel-Pivaloyllinker **15** nach Aktivierung mit DIC und DMAP-Katalyse scheiterte, mußten die immobilisierten Peptide **63** und **64** sequentiell aufgebaut werden .

Die ersten drei Aminosäureeinheiten (Leu, Phe, Gly) wurden mit einem Fmoc-Protokoll und DIC/DMAP-, bzw. HOBt/DIC/DIPEA-Aktivierung eingebaut. Durch Kupplung mit Boc-Gly-OH erhielt man das harzgebundene Tetrapeptid **63** mit einer Beladung¹⁹ von 79 %. Ein Teil dieses Substrats wurde nach Boc-Entschützung mit Trifluoressigsäure, Kupplung mit Fmoc-Tyr(OtBu)-OH und Fmoc-Entschützung mit Piperidin (20 % in DMF) zum Leu-Enkephalinderivat **64** verlängert. Die gefundene Beladung betrug 80 %.²⁰



Schema 20: Sequentielle Synthese der harzgebundenen Vergleichssubstrate **63** und **64**.

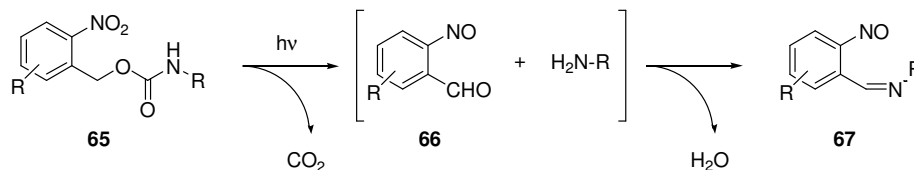
Aus praktischen Gründen wurden die festphasengebundenen Referenzpeptide **63** und **64** Boc-geschützt, da diese im Vergleich zur Fmoc-Gruppe, einem starken Chromophor, die spätere UV-Vis-HPLC-Analytik nicht beeinträchtigt.

6.3 Abfangreagenzien – Scavenger

Viele Reaktionen an der Festphase werden durch intermediär entstehende reaktive Nebenprodukte erschwert, da diese das herzustellende Substrat schädigen können. Besteht bei Umsetzungen in homogener Phase die Möglichkeit der Zwischenproduktreinigung durch Chromatographie, Kristallisation o. ä., so entfallen solche Reinigungsmethoden bei Festphasensynthesen. Man ist darauf angewiesen, daß Reaktionssequenzen an polymeren Trägern möglichst vollständig auf jeder Stufe ablaufen und daß schädliche Nebenprodukte möglichst schnell aus dem System entfernt werden können. Letzteres kann mit Abfangreagenzien, sogenannten *Scavengern* für bestimmte funktionelle Gruppen erreicht werden, die man dem Reaktionsgemisch zusetzt. Das Abfangreagens selbst darf die Reaktionen jedoch nicht beeinträchtigen und seine Abfangprodukte müssen sich leicht entfernen lassen. Am einfachsten ist die Abtrennung bei Verwendung *festphasengebundener Scavenger*, die bei Reaktionen in homogener Phase leicht abfiltriert werden können. Bei Festphasensynthesen ist dieses Vorgehen grundsätzlich auch möglich, sofern Reaktiv- und Scavengerharz räumlich getrennt gehalten werden können und ein Stofftransport zwischen beiden möglich ist (z.B. *IroriKan*[®]). Man wird jedoch in diesem Fall wegen der einfacheren Handhabung in Festphasenreaktoren vornehmlich lösliche Abfangreagenzien einsetzen.

6.3.1 Aldehydscavenger

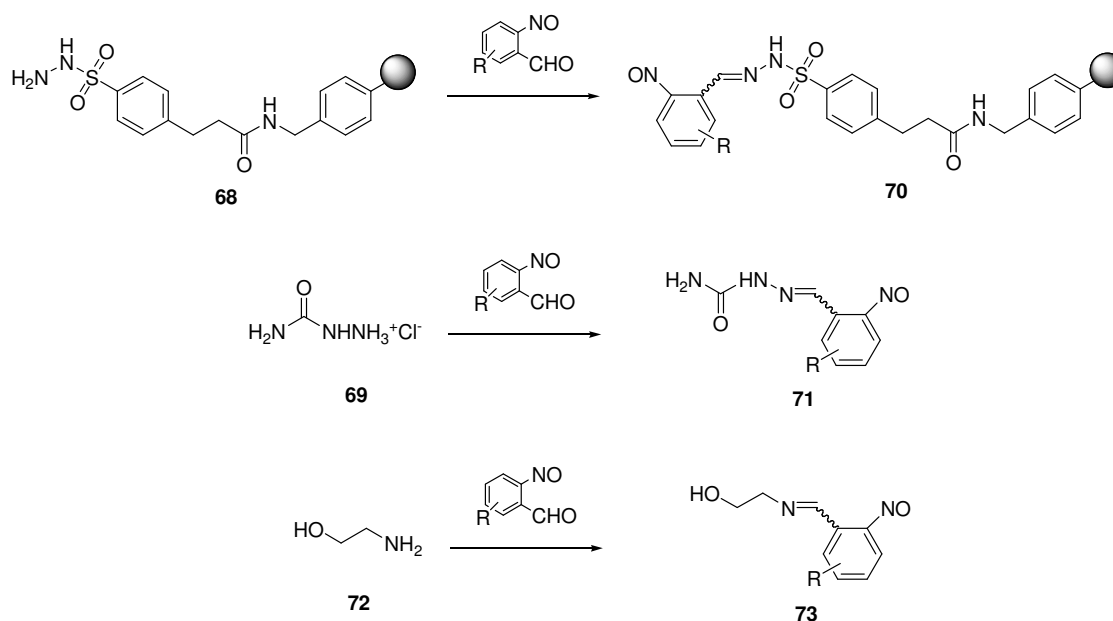
Die Handhabung von Nitrobenzylcarbamaten (**65**) ist insofern mit Schwierigkeiten verbunden, als bei ihrer Photolyse reaktive Nitrosoaldehyde (**66**) entstehen, die mit primären Aminen Schiffsbasen (**67**) bilden (Schema 21).



Schema 21: Reaktion intermediär gebildeter Nitrosoaldehyde (**66**) mit primären Aminen zu Schiffsbasen (**67**).

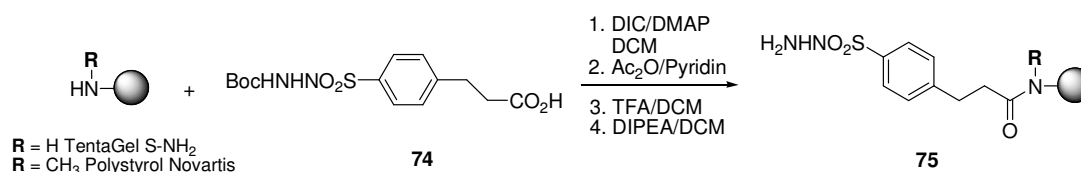
In einer Peptidsynthese ist diese Nebenreaktion äußerst nachteilig, weshalb wirksame Abfangreagenzien für diesen Zweck gefunden werden mußten.

In der Literatur werden festphasengebundene Hydrazinosulfonylverbindungen^{75,78} (**68**) und Semicarbazid-Hydrochlorid⁴² (**69**) als nucleophile Aldehydfänger beschrieben. Sie binden Aldehyde in Form der Tosylhydrazone (**70**) bzw. Semicarbazone (**71**). Es sollte auch möglich sein, eine Konkurrenzkinetik in der Bildung Schiffscher Basen (**73**) mit einem überschüssig zugesetzten primären Amin wie Ethanolamin (**72**) einzurichten (Schema 22).



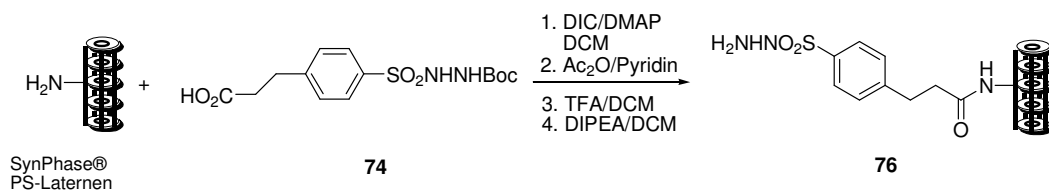
Schema 22: Aldehydscavenger und ihre Abfangprodukte.

Das polystyrolgebundene Tosylhydrazin **68** ist mit der sehr kleinen Körngröße von 38 μm (400 mesh) käuflich. Es wurden zusätzlich Tentagel S-NH₂ (200 μm , 70 mesh) und methylamino-methyliertes Polystyrol (200 μm , 70 mesh, Novartis) mit dem Aldehydfänger **74** nach DIC/DMAP-Aktivierung beladen (**75**) (Schema 23).



Schema 23: Scavenger-Funktionalisierung von Tentagel S-NH₂ und methylamino-derivatisiertem Polystyrol.

SynPhase[®]-Laternen aus Polystyrol sollten ebenfalls als polymere Scavengerträger geprüft werden (Schema 24), da sie unmittelbar in eine Festphasenreaktion mit *Beads* gegeben und am Reaktionsende herausgefischt werden können.



Schema 24: Scavenger-Funktionalisierung von SynPhase®-Laternen.

Der parallele Einsatz zweier Festphasenreaktanden im gleichen Gefäß wird in Abbildung 9 skizziert.

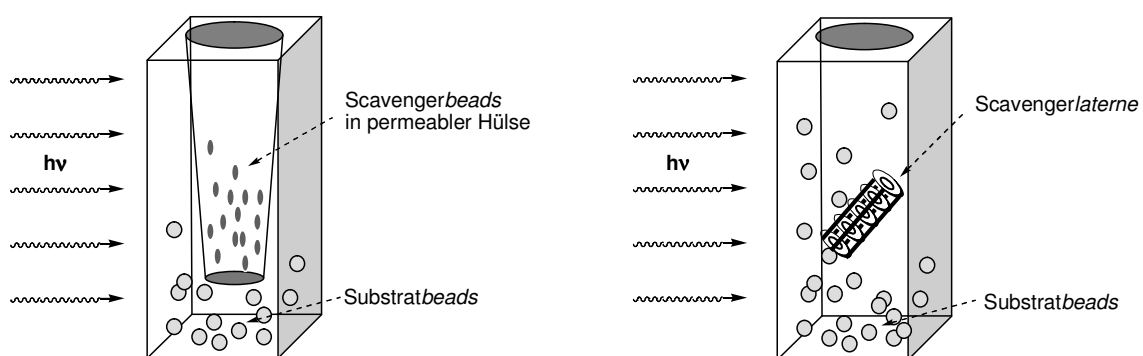
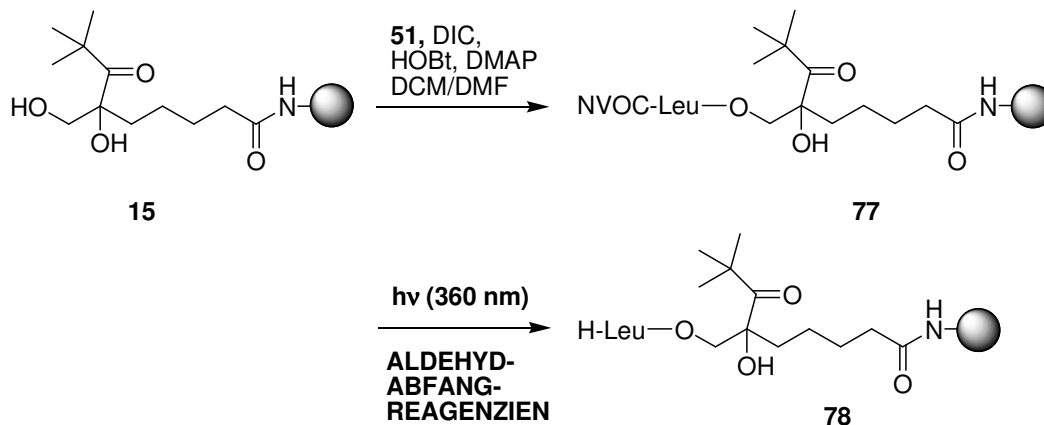


Abbildung 9: Prinzip des Einsatzes polymer gebundener Abfangreagenzien bei der Photolyse von Festphasensubstraten.

6.3.2 Effizienz der Abfangreagenzien und Nachweis der vollständigen NVOC-Entschützung

Die Wirksamkeit der oben beschriebenen Aldehydabfangreagenzien wurde zunächst am Photolinkerharz nach der Kupplung⁷⁵ von NVOC-Leu-OH (**51**), der ersten Aminosäure der Leu-Enkephalin-Sequenz, geprüft (Schema 25).



Schema 25: Kupplung von NVOC-Leucin (**51**) an den Pivaloyllinker **15** und anschließende Belichtung in Gegenwart von Aldehydscavengern.

6.3.2.1 Wirksamkeit der Abfangreagenzien

Lösliche Scavenger

Das erhaltene NVOC-Leu-O-Photolinker-Tentagel (**77**) wurde in einer 10 mm-Quarzglasküvette in entgasten Lösemitteln suspendiert und bei 16 °C in Intervallen von 20 min bei einer Wellenlänge von 360 nm (Lichtquelle 1) belichtet. Die Lösung färbte sich dabei rötlich-braun. Der Fortschritt der NVOC-Entschützung wurde UV-spektrophotometrisch verfolgt, indem die Absorption der gelösten Spaltprodukte in der überstehenden Lösung bei 350 nm nach jedem Belichtungsintervall bestimmt wurde (Abbildung 10). Die Lösungen mit den Spaltprodukten wurden dekantiert und durch frische Lösungen der Abfangreagenzien ersetzt. Die Belichtung wurde so lange fortgesetzt, bis eine konstante minimale Absorption festgestellt werden konnte.

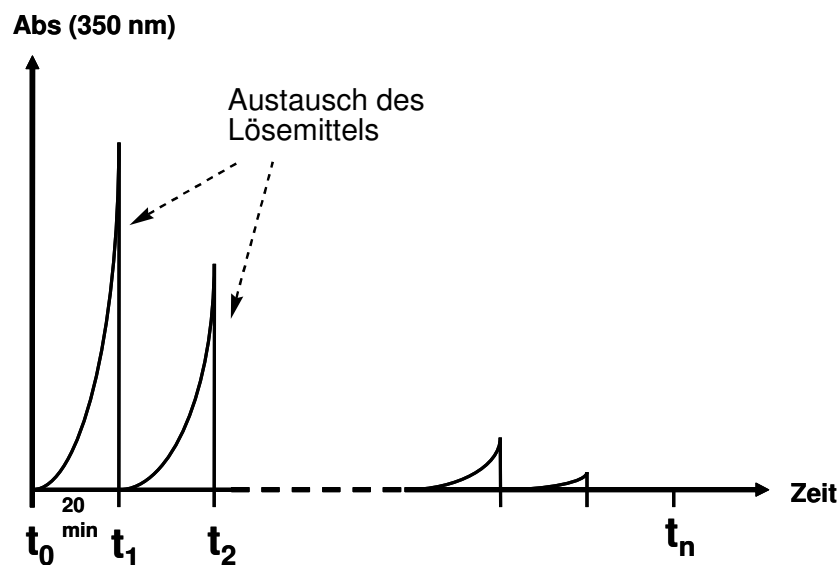


Abbildung 10: Prinzip der Reaktionskontrolle bei der photolytischen Entschützung. Zunahme der Absorption der gelösten NVOC-Spaltprodukte innerhalb der Belichtungsintervalle t . Abnahme der Absorption mit steigender Anzahl Belichtungsintervalle t_n und Lösemittelaustausch.

Die Beladung mit freien Aminogruppen wurde mittels Pikrattest¹⁹ bestimmt.

Tabelle 2 zeigt die Wiederfindung von primären Aminogruppen des festphasengebundenen Leucins **78** beim Zusatz löslicher Abfangreagenzien.

Tabelle 2: Wirksamkeit löslicher Aldehydabfangreagenzien.

Lösemittel Zusatz Abfangreagens (Massen-%)	Photolysendauer (min.)	Gefundene Beladung NH ₂ % (mmol/g)
MeOH kein Zusatz	60	5% (0.02)
MeOH Semicarbazid-HCl (0.1%)	120	53% (0.21)
MeOH 2-Aminoethanol (0.1%)	60	18% (0.07)

6.3.2.2 Polymer gebundene Scavenger

NVOC-Leu-O-Photolinker-Tentagel (**77**) (0.4 mmol/g, jeweils 23.0 mg, 9 μ mol) wurde ebenfalls unter Argonatmosphäre in einer 10 mm-Quarzglasküvette in entgasten Lösungsmitteln (jeweils 3.0 ml) suspendiert und bei 16 °C belichtet. Es erfolgte eine kontinuierliche Belichtung und kein Lösungsmittelaustausch. Die Scavengerharze wurden in der Apparatur in einer Weise angebracht, daß sie sich außerhalb des fokussierten Lichtstrahls befanden.

In Tabelle 3 sind die Wiederfindungsraten der Aminogruppen beim Einsatz von Festphasenscavengern zusammengefaßt.

Tabelle 3: Wirksamkeit polymer gebundener Aldehydabfangreagenzien.

Lösungsmittel Scavengerharz (> 10 eq.)	Photolysendauer (min.)	gefundene Beladung NH ₂ % (mmol/g)
THF Polystyrol-Scav. 70 (400 mesh)	120	55% (0.22)
THF TentaGel S-NH-Scav. TG-75 (70 mesh)	120	24% (0.10)
THF Polystyrol-N(Me)-Scav. 75 (70 mesh)	120	32% (0.13)
THF SynPhase-NH-Scav. 76	120	8% (0.03)

6.3.3 Ergebnisse

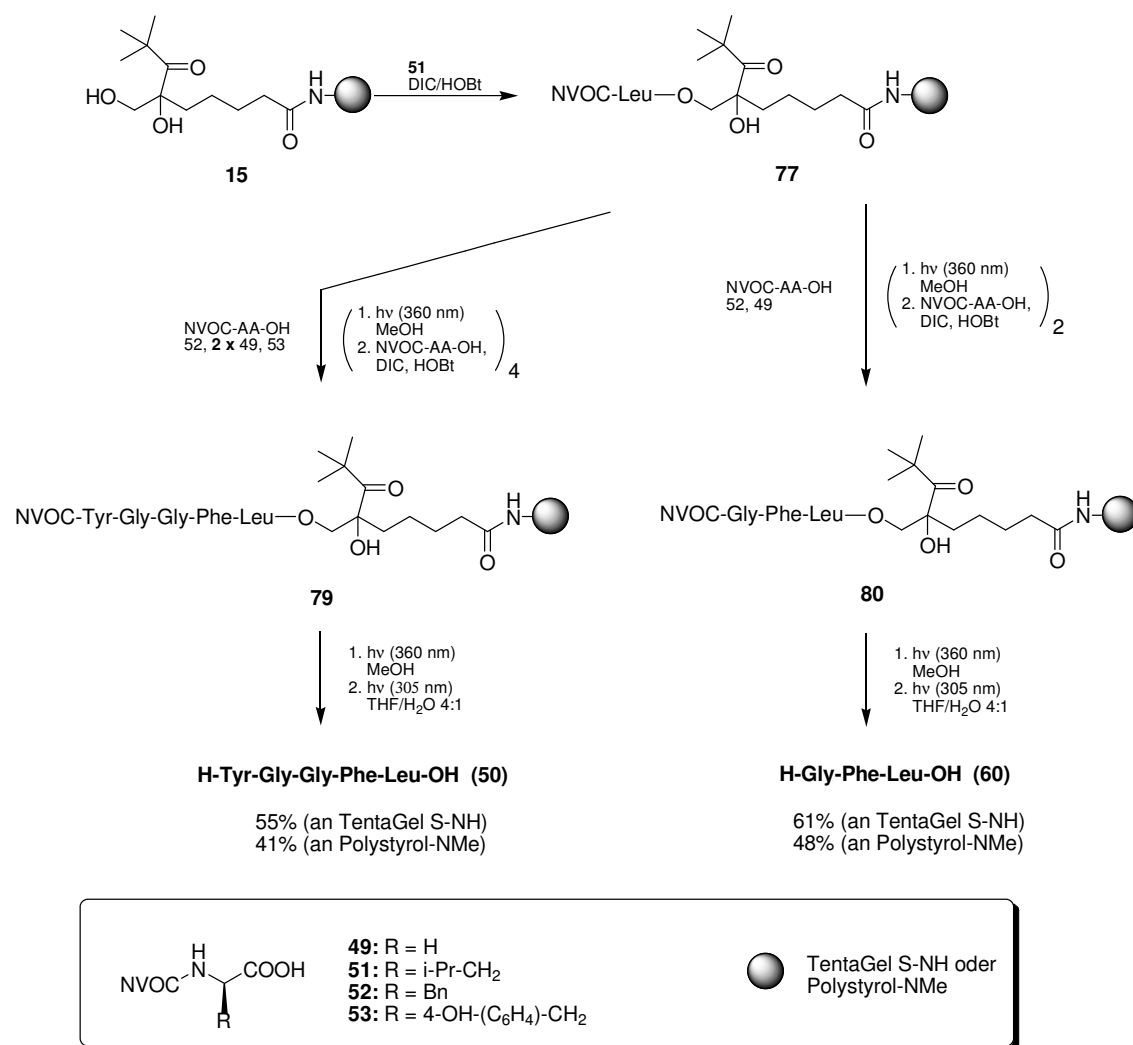
In Methanol konnten ohne Zusatz eines Abfangreagens nur 5 % der aus der Anfangsbeladung mit NVOC-Leucin zu erwartenden Aminofunktionen nach photochemischer NVOC-Entschützung nachgewiesen werden. Diese Beobachtung bestätigt die eingangs befürchtete Substratschädigung durch den freigesetzten Nitrosoaldehyd.

Die beste Wirksamkeit als lösliches Abfangreagens zeigte Semicarbazid-Hydrochlorid (**69**) vor Ethanolamin (**72**) in methanolischer Lösung. Es konnten 53 % der ursprünglichen Beladung an primären Aminogruppen wiedergefunden werden, mit Ethanolamin nur 18%. Eine Erklärung für die geringe Wirksamkeit des Amins kann zum einen die langsamere Bildung der entsprechenden Schiffschen Base im Vergleich zur Bildung des Semicarbazons liefern, zum anderen auch der Substratverlust durch eine mögliche, von der Photolyse unabhängige Aminolyse der Esterbindung.

Verglichen mit der guten Wiederfindungsrate an Aminofunktionen bei der Anwendung von Semicarbazid-Hydrochlorid, zeigte das feinkörnige (400 mesh), festphasengebundene Tosylhydrazin **68** eine erstaunlich gute Absorptionsfähigkeit für Nitrosoaldehyde. Es wurden 55 % der ursprünglich zu erwartenden primären Aminogruppen wiedergefunden. Diese Beobachtung erstaunt umso mehr, als das Scavengerharz während der Photolyse des Nitroveratrylcarbamats in seinem permeablen Behältnis kaum durchwirbelt wurde. Die feine Körnung bietet vermutlich eine genügend große reaktive Oberfläche. Der Vergleich mit den grobkörnigeren und weniger effizienten TentaGel- (**TG-75**) und Polystyrol-N(Me)-Scavengern (**PS-75**) (70 mesh) bestärkt diese Einschätzung. Wenig wirksam mit 8 % Wiederfindung war der Einsatz des SynPhase-laternengebundenen Scavengers **76**. Die Diffusionsgeschwindigkeiten an dieser Festphasengeometrie mit ihrer geringeren Oberfläche scheinen verglichen mit Festphasenbeads zu gering für den beabsichtigten Verwendungszweck zu sein.

6.4 Photochemisch orthogonale Leu-Enkephalinsynthese

Die gesamte photochemisch orthogonale Leu-Enkephalinsynthese ist als Übersicht in Schema 26 dargestellt. Die Photolinkerharze **14**, bzw. **15** wurden in Festphasenreaktoren mit eingesetzter PE-Fritte von *MultiSynTech* mit NVOC-Leucin (**51**) unter HOBt-DIC-DMAP-Aktivierung⁷⁵ geschüttelt und nach quantitativer Beladung in eine 10 mm-Quarzküvette überführt.



Schema 26: Photochemisch orthogonale Synthese von Leu-Enkephalin (**50**) und der kürzeren Tripeptidsequenz **60** als Vergleich.

Alle weiteren Operationen wie Photolysen *und* Peptidkupplungen wurden *ausschließlich* in dieser Küvette durchgeführt (Abbildung 11).

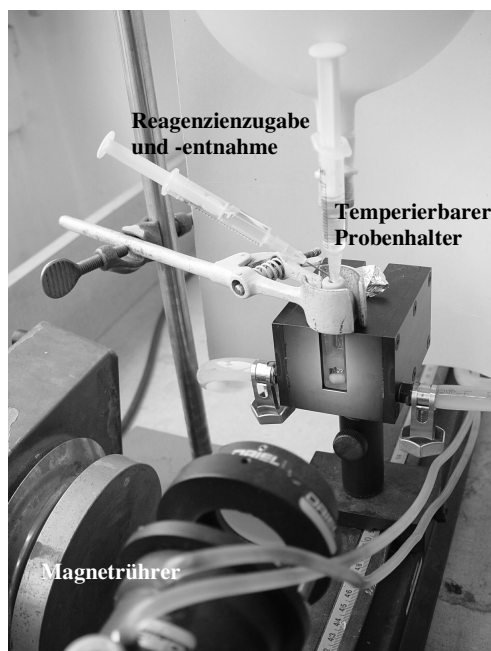


Abbildung 11: Reaktionsküvette mit Septum und Druckausgleich im thermostatisierbaren Probenhalter. Reagenzienzugabe und Spülung erfolgen über Injektionsspritzen.

Die geschützten Harze (25-60 μmol) wurden unter Argonatmosphäre in entgaster methanolischer Semicarbazid-Hydrochloridlösung⁴⁰ (**69**) (0.5 %, 3 ml) suspendiert und unter Rühren belichtet (Tabelle 4). Der Fortschritt der NVOC-Abspaltungen wurde UV-spektrophotometrisch verfolgt, indem die Absorptionen der gelösten Spaltprodukte in den überstehenden Lösungen bei 350 nm nach jedem Belichtungsintervall bestimmt wurden (siehe Abbildung 10). Die Lösungen wurden dekantiert und durch frische methanolische Semicarbazid-Hydrochloridlösungen ersetzt. Man setzte die Photolysen so lange fort, bis konstante minimale Absorptionen festgestellt werden konnten.

Die Harze wurden nach vollständigen NVOC-Entschützungen nacheinander mit Methanol und Dichlormethan (jeweils 5x3 ml) gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Die Beladungen mit freien Aminofunktionen wurden mit Hilfe des Pikrattests bestimmt.¹⁹

Tabelle 4: Experimentelle Bedingungen für die NVOC-Spaltungen an TentaGel S-NH- und Polystyrol-NMe-Harzen.

NVOC-Entschützung (Lichtquelle 1, 360 nm Kantenfilter)		
Bedingungen	TentaGel S-NH	Polystyrol-NMe
entschützte Amin-Äquivalente	max. 25 μmol	max. 60 μmol
Lösemittel	Methanol (3 ml)	Methanol-THF 4:3 (3 ml)
Temperatur	16 °C	16 °C
Abfangreagens	0.5 % Semicarbazid-HCl	0.5 % Semicarbazid-HCl
Belichtungsintervall	20 min	20 min
Belichtungszeiten je Stufe	3-4 h	8-12 h

Die Peptidkupplungen erfolgten innerhalb von 4h unter HOBt- und DIC-Aktivierung.⁷⁵ Der qualitative Kaisertest¹⁸ auf freie Aminogruppen zeigte nach jedem Kupplungsschritt vollständige Acylierungen an, welche durch die fast quantitativen Endbeladungen (94-95 %) bestätigt wurden (Tabelle 5).

Tabelle 5: Peptidbeladungen der photolabilen Harze vor der Abspaltung des Leu-Enkephalins.

Edukte	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-Polystyrol
H-Leu-O-Photolinker-TentaGel S-NH (TG-77)	119.0 mg, 25 μmol (0.21 mmol/g)	
H-Leu-O-Photolinker-Polystyrol-NMe (PS-77)		70.0 mg, 60 μmol (0.85 mmol/g)
Gefundene Beladung (Pikrattest)	0.20 mmol/g (95 %)	0.80 mmol/g (94 %)

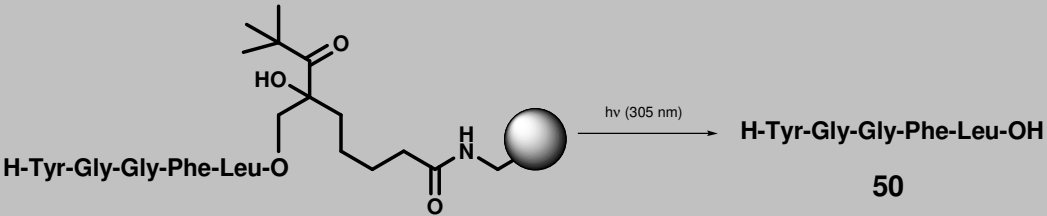
6.4.1 Abspaltung der Peptide Leu-Enkephalin (50) und H-Gly-Phe-Leu-OH (60) von den photolabilen Harzen

Die N-terminal entschützten Peptide an den Photolinkerharzen wurden in unterschiedlichen Medien suspendiert und nach einer Quellzeit von mindestens 10 Minuten bei 305 nm und 16 °C belichtet. Während der Photolysen wurden die Proben kräftig gerührt. Die entstandenen Peptidlösungen wurden vom Harz dekantiert und im Hochvakuum eingengt. Man erhielt die Photolyseprodukte als farblose Feststoffe die massenspektrometrisch und mit authentischen Referenzen identifiziert wurden. Die Quantifizierung erfolgte mittels RP-HPLC und einem Phenylalaninstandard nach Kalibrierung mit den Referenzsubstanzen.

Leu-Enkephalin (50)

Die Ergebnisse der photolytischen Freisetzungen von Leu-Enkephalin (50) unter verschiedenen Bedingungen sind in Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle 6: Ausbeuten der Leu-Enkephalinabspaltungen.

			
Lösemittel	Photolysedauer (min.)	Ausbeuten (RP-HPLC)	
		TentaGel-S-NH	Polystyrol-NMe
THF/H ₂ O 4:1	20	53 %	38 %
THF/H ₂ O 4:1	30	55 %	40 %
THF/H ₂ O 4:1	60	55 %	41 %
THF/H ₂ O 4:1 + 50 eq. Decanthiol	60	44 %	-
MeOH	60	24 %	-
H ₂ O	60	18 %	-
DMSO	60	3 %	-

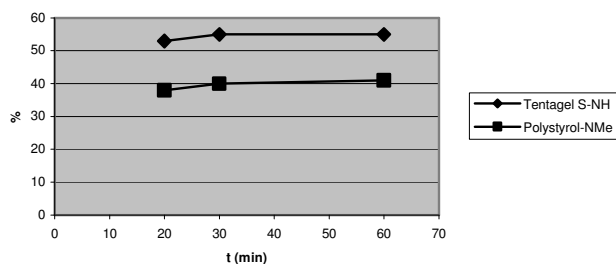


Abbildung 12: Vergleich der Leu-Enkephalinspaltung an Tentagel- und Polystyrol-Harz.

Die besten Ausbeuten mit 55 % an TentaGel und 41 % an Polystyrolharz erhielt man bei der Photolyse in einem 4:1-THF-Wasser-Gemisch (v/v). Beide Harze zeigten in Tetrahydrofuran ihr größtes Quellvolumen (Tabelle 1) und damit das beste Diffusionsvermögen im Polymer. Der Zusatz von Wasser verbesserte zugleich die Löslichkeit des Leu-Enkephalins, wie an einer authentischen Probe des Pentapeptids im Vorversuch gezeigt werden konnte.

Bereits nach 30 minütiger Belichtungszeit war die Photolyse an beiden Harzsystemen bei Ansatzgrößen zwischen 25-60 μmol vollständig. Das erhaltene rohe Leu-Enkephalin zeigte eine sehr hohe Reinheit von 92 %, wobei sich die Konzentrationen kürzerer Peptide aus Fehlsequenzen unter 1 % beliefen. Dieses Resultat war umso beachtlicher, als es sich um ein Rohprodukt nach zehn Reaktionsschritten handelte. Somit konnte gezeigt werden, daß jeder Reaktionsschritt des Syntheseprotokolls annähernd quantitativ verlaufen war. Abbildung 13 zeigt ein typisches RP-HPLC-Rohspektrum der Photolyselösungen.

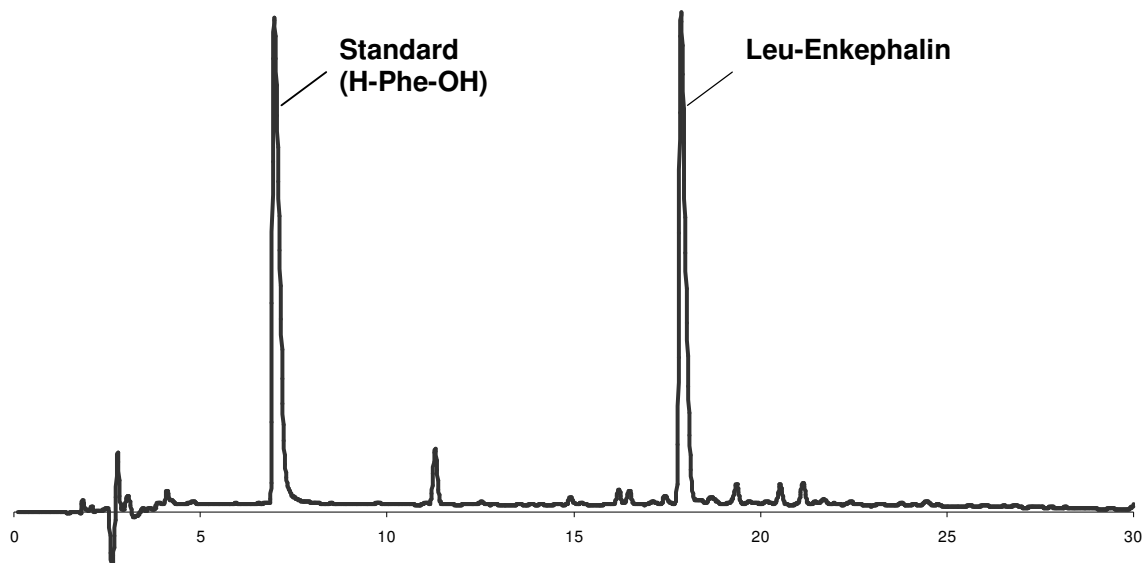


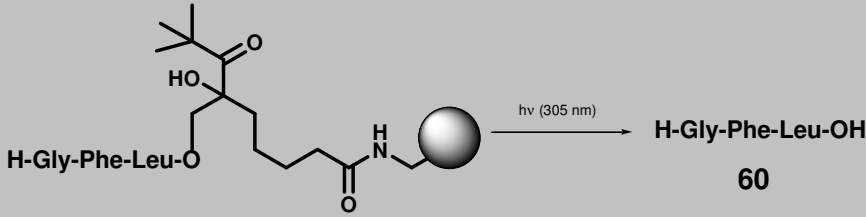
Abbildung 13: Photolytisch abgespaltenes Leu-Enkephalin (**50**) (Rohprodukt, RP-HPLC-Chromatogramm).

Durch den Zusatz eines Radikalfängers (Decanthiol) zur Bestrahlungsprobe konnte die Peptidausbeute nicht erhöht werden, sondern wurde sogar verringert, was Nebenreaktionen mit dem Additiv zuzuschreiben war.

Zum Vergleich wurden weitere gängige Lösemittel für die Photospaltung geprüft. Methanol und Wasser zeigten in der Vorprobe zwar ein gutes Lösungsvermögen für Leu-Enkephalin, die Harzquellung war aber geringer, was einerseits die etwas längeren Belichtungszeiten, andererseits die schlechteren Ausbeuten (18-24 %) erklärte. Dimethylsulfoxid war für diesen Verwendungszweck völlig unbrauchbar, da nur 3 % des erwarteten Leu-Enkephalins nachgewiesen werden konnten.

H-Gly-Phe-Leu-OH (**60**)

Das aus dem Leu-Enkephalin-Syntheseprotokoll abgezweigte Tripeptid H-Phe-Gly-Leu-OH (**60**) wurde unter den für das Pentapeptid optimierten Spaltbedingungen gewonnen (Tabelle 7).

Tabelle 7: Photolytische Freisetzung von H-Phe-Gly-Leu-OH (**60**).


Lösemittel	Photolysedauer (min.)	Ausbeuten (RP-HPLC)	
		TentaGel-S-NH	Polystyrol-NMe
THF/H ₂ O 4:1	30	60 %	47 %
THF/H ₂ O 4:1	60	61 %	48 %

Mit dem TentaGel-Photolinker konnten auch in diesem Experiment etwas höhere Ausbeuten als mit dem Polystyrol-Photolinker erzielt werden. Die Gesamtausbeuten an **60** sind mit 61 %, bzw. 48 % aber nur geringfügig höher als diejenigen aus der Pentapeptidsequenz. Diese Beobachtungen bestätigten die Tatsache, daß sowohl die N-terminale NVOC-Photolyse, als auch die Peptidkupplungen sehr sauber und annähernd quantitativ verlaufen sind.

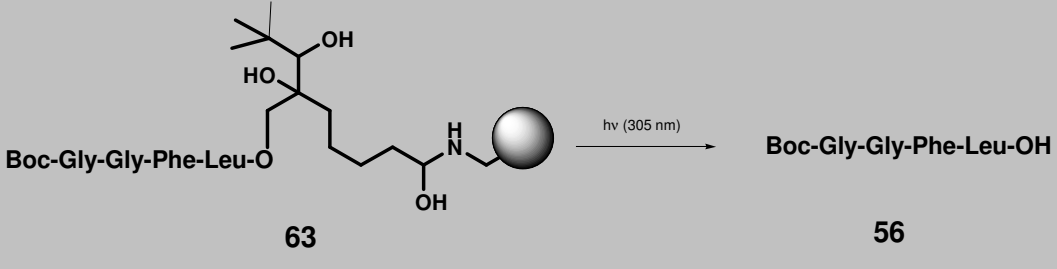
Damit konnte ebenfalls gezeigt werden, daß bei Abwesenheit von Tyrosin keine bedeutenden Unterschiede in den Spaltausbeuten auftraten. Entschütztes Tyrosin ist offensichtlich durchweg kompatibel zur photochemischen Schutzgruppenstrategie.

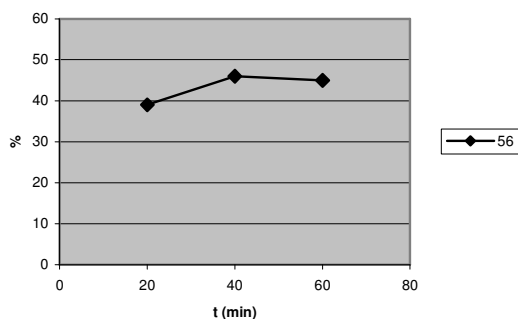
6.4.2 Photolytische Freisetzung der nach konventionellen Protokollen hergestellten Peptide

Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (56)

Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-Tentagel (**63**) (5.0 µmol) wurde unter den bei Leu-Enkephalin angewandten Bedingungen belichtet. Man erhielt Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**) als hellgelbes Öl, das mittels RP-HPLC und einem Phenylalaninmethylester-Hydrochlorid-Standard analysiert wurde. Die Ausbeuten sind in Tabelle 8 zusammengefaßt.

Tabelle 8: Freisetzung des Referenzpeptids **56**.

		
Lösemittel	Photolysedauer (min.)	Ausbeute (RP-HPLC)
THF/H ₂ O 4:1	20	39 %
	40	46 %
	60	45 %

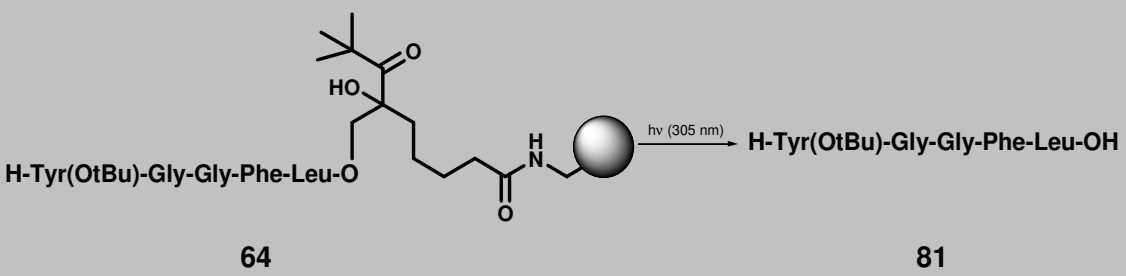
**Abbildung 14:** Photolyse des Substrats **63** mit Freisetzung des Peptides **56**.

Nach 40 minütiger Belichtung wurden 46 % des Peptids erhalten. Dieses Ergebnis stand im Einklang mit den bei der Leu-Enkephalinfreisetzung gefundenen Resultaten. Der geringfügige Ausbeuteverlust bei längerer Belichtung (60 min) kann als Meßwertstreuung angesehen werden, dennoch ist eine Anregung und allmähliche Zersetzung der BOC-Schutzgruppe bei 305 nm nicht auszuschließen. Sie kann aber als stabil unter den hier angewandten Photolysebedingungen angesehen werden.

H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (81)

Seitenkettengeschütztes Leu-Enkephalin H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (**64**) (2.3 μmol) wurde wegen der (im Vorversuch bestimmten) besseren Löslichkeit in dem weniger polaren 9:1-Gemisch aus THF/Wasser (v/v) suspendiert und belichtet. Die gewonnenen Lösungen von H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**81**) wurden vom Harz dekantiert und das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhielt ein farbloses Öl, das mittels RP-HPLC und einem Phenylalaninmethylester-Hydrochlorid-Standard quantifiziert wurde. Die gefundenen Ausbeuten sind in Tabelle 9 angegeben.

Tabelle 9: Freisetzung des Referenzpeptids **81**.

		
Lösemittel	Photolysendauer (min.)	Ausbeute (RP-HPLC)
THF/H ₂ O 9:1	20	34 %
	40	40 %
	60	42 %

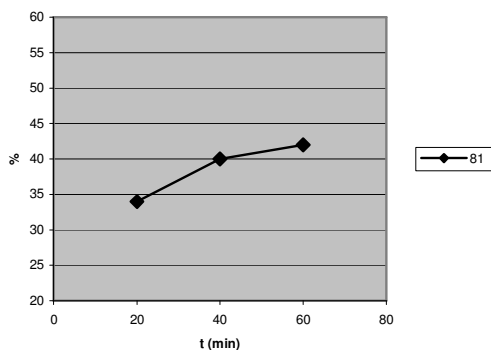


Abbildung 15: Photolyse des Substrats **64** mit Freisetzung des Peptids **81**. Das beschriebene Experiment lieferte 42 % des *t*-butylgeschützten Pentapeptids **81**. Diese Beobachtung läßt sich mit der unvollständigen Herauslösung des verhältnismäßig apolaren Spaltprodukts aus dem polymeren Träger erklären. Es wurde aber nochmals ein Indiz für die photochemische Neutralität des Tyrosins unter den gewählten Photolysebedingungen gefunden.

6.4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Durch die Kombination von Nitroveratrylschutzgruppe und Pivaloyllinker konnte ein Verfahren für die photochemisch orthogonale Peptidsynthese entwickelt werden, welches in ähnlicher Form bisher noch nicht beschrieben worden war.

Das Schutzgruppenprotokoll wurde für die Synthese des Neuropeptids Leu-Enkephalin (**50**) an der Festphase vorgestellt. Der C-Terminus des Peptids wurde an einer photolabilen Pivaloyleinheit als Ester immobilisiert. Durch eine Abfolge von N-terminalen photolytischen NVOC-Entschützungen (360 nm) und darauffolgenden Peptidkupplungen wurde das Pentapeptid Leu-Enkephalin aufgebaut. Die abschließende Freisetzung des Leu-Enkephalins mit höherer Energie (305 nm) lieferte das Produkt in einer Reinheit von 92 % und einer Gesamtausbeute von 55 %. Die wichtigste Neuerung des gefundenen Verfahrens ist die Durchführung in neutralen Medien, das heißt, für die Entfernung der Schutzgruppen in den verwendeten Lösemitteln Methanol und Tetrahydrofuran wurde ausschließlich ultraviolettes Licht im Bereich 360-305 nm eingesetzt. Während der NVOC-Spaltungen wurde der Einsatz des Abfangreagens Semicarbazid-Hydrochlorid (**69**) notwendig, um den intermediär entstehenden Nitrosoaldehyd zu binden, der anderenfalls eine Schädigung der ungeschützten Aminssubstrate bewirkte.

Andere Abfangreagenzien (sog. *Scavenger*) wie Ethanolamin (**72**) zeigten entweder eine geringere Wirksamkeit oder waren verhältnismäßig umständlich in ihrer Handhabung. Das festphasengebundene Tosylhydrazin (**70**) zeigte zwar eine dem Semicarbazid-Hydrochlorid (**69**) vergleichbare Absorptionsfähigkeit für aldehydische Spaltprodukte, erforderte aber einen erhöhten apparativen Aufwand für den parallelen Einsatz zweier Festphasensysteme in einem Reaktionsgefäß, weshalb die Wahl auf das billige lösliche Reagens für die weiteren Untersuchungen fiel. Die Lösemittel zeigten einen erheblichen Einfluß auf die Geschwindigkeit, die Qualität und die Ausbeuten der Photolysen, da zum einen die Quelleigenschaft des Polymers entscheidend war, zum anderen auch die Löslichkeit der Spaltprodukte in Erwägung gezogen werden mußte. Besonders günstig erwies sich für die Nitroveratrylentschützung Methanol, da Semicarbazid-Hydrochlorid (**69**) darin gut löslich ist und die gängigen Festphasenharze auf Polystyrolbasis genügend gut quellen. Die besten Quelleigenschaften der Polymere zeigten sich in Tetrahydrofuran. Durch den Zusatz von 10-20% Wasser konnte eine gute Löslichkeit der abgespaltenen Peptide gewährleistet werden, weshalb für die abschließende Freisetzung der Peptide auf diese Lösemittelkombinationen zurückgegriffen wurde.

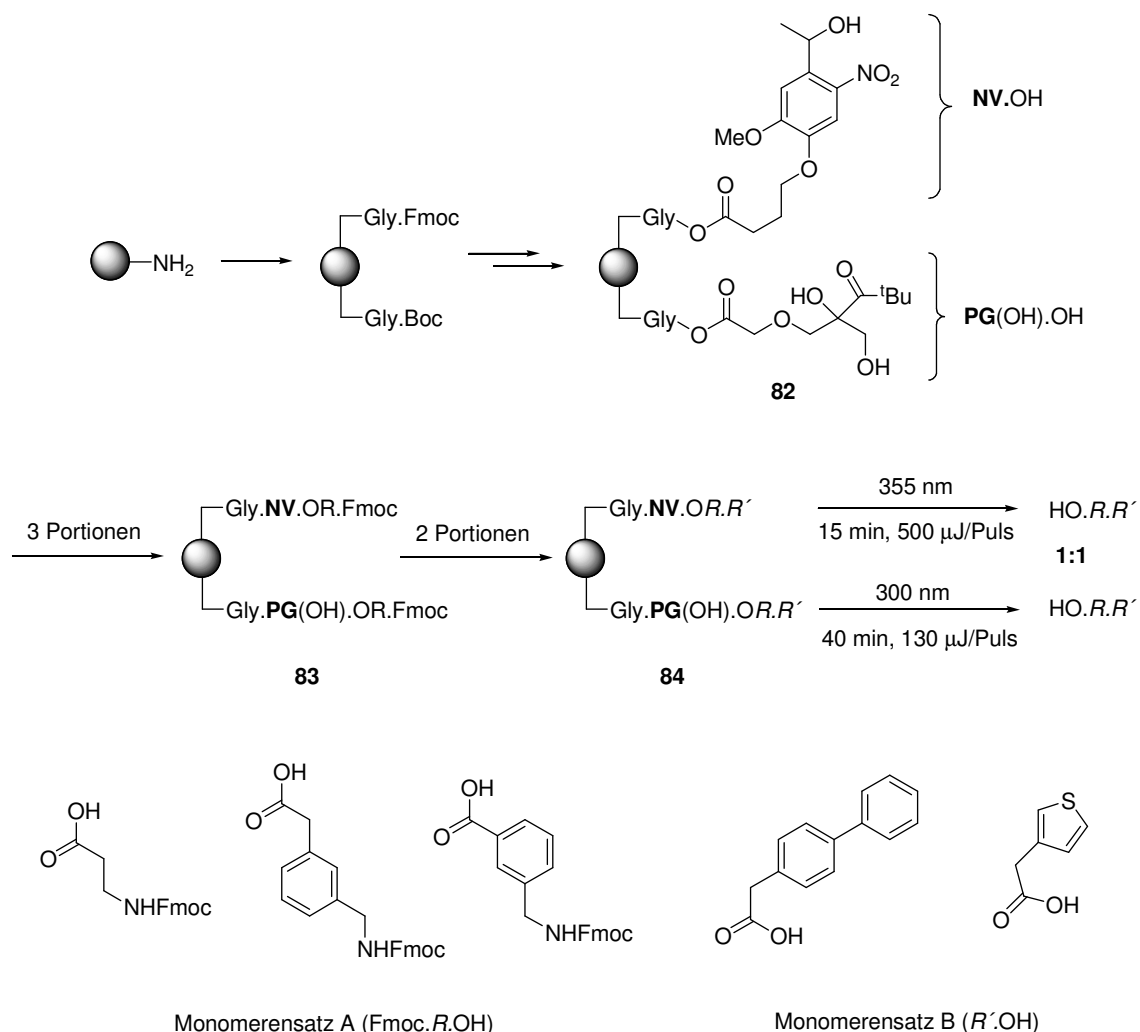
Das Vorhandensein der ungeschützten Aminosäure Tyrosin weckte im Vorfeld der Syntheseplanung zum Modellpeptid Leu-Enkephalin Zweifel über die Kompatibilität mit den angewandten Photolysebedingungen. Die Stabilität der Tyrosineinheit konnte aber durch die parallele Belichtung unabhängig hergestellter Referenzpeptide (**63**, **64**) an der Festphase nachgewiesen werden.

6.5 Aktuelle Entwicklungen und Ausblick

Orthogonale Photoschutzgruppentechniken stellen interessante Alternativen zu konventionellen Methoden dar und sind weiterhin Gegenstand der Forschung. Kurz nach der Veröffentlichung unserer Ergebnisse⁶⁹ im Jahr 2003 erschien eine unabhängige Publikation über die wellenlängenselektive Spaltung einer Kombination unseres Pivaloylglycerollinkers⁵¹ (**14**) mit der α -Methyl-Nitroveratrylankergruppe unter Einsatz monochromatischen Lichts.⁷⁹ Die Autoren beschreiben die laserinduzierte Entschützung eines automatisierten *one-bead-two-compound*-Carbonsäurenarrays, welches im High-Throughput-Screening (HTS) Anwendung finden könnte.

Amino-TentaGel wurde zuerst bifunktionell äquimolar über einen Glycin-*Spacer* mit dem Pivaloylglycerol- und dem α -Methyl-Nitroveratryllinker in Form ihrer Carboxylate nach Standardmethoden^{75,64} beladen, wobei man das Harz **82** erhielt (Schema 27).

Das zweifach photolabil funktionalisierte Harz **82** wurde in drei Portionen aufgeteilt und mit den Aminocarbonsäuren aus dem Monomerensatz A zu den photolabilen Estern (**83**) gekuppelt. Die erhaltenen Proben wurden nochmals halbiert, Fmoc-entschützt und mit den Carbonsäuren aus dem Monomerensatz B als Amid gekuppelt. Die erhaltenen sechs Harzproben wurden zuerst 355 nm Laserlicht (NV-Spaltung) ausgesetzt und die Spaltprodukte abgetrennt, schließlich mit 300 nm (PG-Spaltung) bestrahlt und die Produkte wieder gesammelt. Jede der sechs kombinatorisch hergestellten Carbonsäuren HO.R.R' konnte bei der individuellen Adressierung der beiden Photolinker von jeder Harzprobe quantitativ im Verhältnis 1:1 abgespalten werden. Die Reinheit der abgespaltenen Carbonsäuren war in jedem der Fälle größer als 90 %.

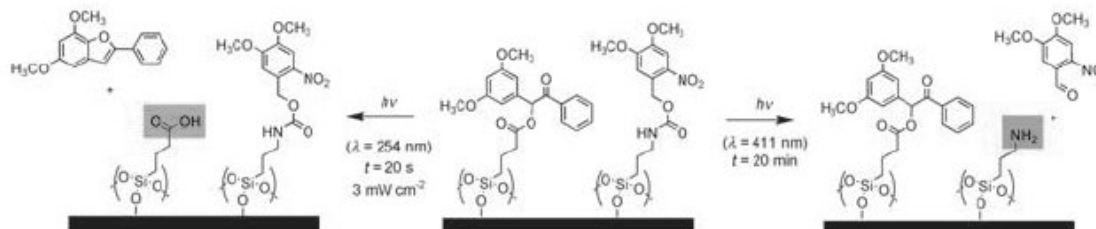


Schema 27: Wellenlängenselektive Freisetzung kombinatorisch hergestellter Carbonsäuren von einem zweifach photolabil funktionalisierten Festphasenträger mit monochromatischem Licht (Nd : YAG Laser).

Das beschriebene Experiment ist ein weiterer Beweis dafür, daß sich photochemisch orthogonale Synthesestrategien unter gut kontrollierbaren Bedingungen durchführen lassen und Produkte von hoher Reinheit liefern können.

Photolithographische Verfahren zur Modifizierung von reaktiven Oberflächen sind weitere Anwendungsmöglichkeiten für wellenlängenabhängige Entschützungsstechniken. Als ein Beispiel soll die photolithographische Aufbereitung einer bifunktionell photoempfindlichen, silanisierten Oberfläche genannt werden.⁸⁰ In diesem Experiment wurden über Silylanker immobilisierte Benzoinester und Nitroveratrylcarbamate auf einer Oberfläche angeordnet. Durch selektive monochromatische Kurzzeitbelichtungen (20 s) konnten entweder die Benzoinester bei 254 nm zu den entsprechenden Carbonsäuren gespalten, oder unter längerer

Belichtung (20 min) bei 411 nm die NVOC-Gruppen entfernt werden, wobei die freien Amine erhalten wurden.



Schema 28: Links: Selektive Carbonsäureentschützung. Rechts: Aminfreisetzung in einer photolithographischen Oberflächenmodifizierung (entnommen aus [80]).

Damit können beispielsweise DNA-Chips⁸¹ oder andere Biochipanwendungen realisiert werden.

Die Einsatzmöglichkeiten photochemischer Schutzgruppentechniken sind noch lange nicht erschöpft. Fortschritte in der Anwendung sind zum einen in der synthetischen Chemie, zum anderen in analytischen Verfahren mit chemo- und biosensitiven Sonden zu erwarten.

7 Weitere Anwendungen des Pivaloyllinkers in Peptidsynthesen

7.1 Photolyse an *SynPhase*[®]-Laternen

7.1.1 Einleitung

Der Pivaloyllinker (**15**) und sein Pivaloylglycerol-Vorgänger (**14**) konnten ihre Effizienz in der Immobilisierung und photolytischen Freisetzung von Carbonsäuren und Peptiden an polymeren Trägern mehrfach unter Beweis stellen. Die besten Spaltausbeuten wurden durchweg an Polystyrol- bzw. PEG-modifizierten Polystyrolharzen (bspw. TentaGel) in der Form kleiner suspendierter Kügelchen (*Beads*) gefunden, die während der Belichtung heftig durchmischt wurden.^{51,69,79}

Vorversuche mit *Kronen* in *Multipin*[®]-Systemen,⁵² die ebenfalls aus einer Polystyrolmatrix aufgebaut sind und eine starre Geometrie mit vergleichsweise kleiner Oberfläche aufweisen, zeigten dagegen nur geringe (max. 20 %) Photolyseausbeuten an Carbonsäuren. Ein Grund dafür ist sicher in der unzureichenden Belichtungsmöglichkeit der Kronen an ihren Stifthaltern und der eingeschränkten Durchmischung der geschüttelten Reaktionsgefäße zu suchen. Die vollständige Durchdringung mit ultraviolettem Licht ist auch wegen der Eigenabsorption des Polystyrols und der damit einhergehenden Abschattung nicht gewährleistet, so daß die im Kern der Kronen gebundenen Substratmoleküle nicht photolysiert werden können.

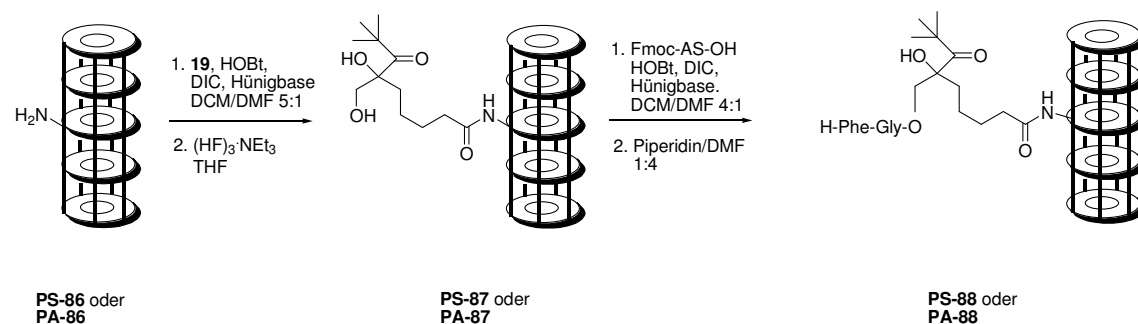
Seit wenigen Jahren sind sogenannte Festphasen-*Laternen* (Chiron, *SynPhase*-Mimotopes) erhältlich, die für den Einsatz in Syntheseautomaten entwickelt wurden. Aus diesem Grund ist die Überprüfung des Einsatzes der Laternengeometrie bei Photolysen sinnvoll, da diese in einem Festphasenreaktor wesentlich effizienter belichtet werden könnten, als die oben erwähnten Kronen. Der Träger besteht entweder aus quervernetztem Polystyrol (PS) oder aus einem nichtaromatischen Polyamid (PA).

7.1.2 Synthese des Dipeptids H-Phe-Gly-OH (**85**) an PS- und PA-Laternen

Das Peptid H-Phe-Gly-OH (**85**) wurde als Modellverbindung gewählt, weil es im Wellenlängenbereich um 300 nm über längere Zeit stabil ist und durch die aromatische Aminosäure eine ausreichend gute UV-Absorption für die HPLC-Analytik besitzt.

Beladung mit dem Photolinker

Die aminfunktionalisierten PS- und PA-Laternen (**86**) wurden nach Standardmethoden unter HOBt/DIC-Aktivierung der Linkercarbonsäure **19** in *MultiSynTech*-Reaktoren quantitativ beladen. Nach der Desilylierung (**87**) wurde das Dipeptid mit dem üblichen Fmoc-Protokoll aufgebaut.



Schema 29: Beladung der Festphasenlaternen.

Die Beladung mit Aminogruppen wurde mittels Fmoc-Test²⁰ bestimmt und war über alle Reaktionsschritte für beide Trägermaterialien quantitativ.

Photolysen

Die peptidbeladenen Laternen (**88**) wurden in 10 mm-Quarzküvetten in einem 4:1-THF/Wasser-Gemisch (v/v) unter Argonatmosphäre nach einer Quellzeit von 30 min mit Lichtquelle 2 (drehbarer Probenhalter, Fluoreszenzlampen, 300 nm) belichtet (Tabelle 10). Während der Belichtung wurde das Lösemittel gerührt.

Tabelle 10: Photolytische Freisetzung des Dipeptids **85** von PS- und PA-Laternen (**88**). Bei den angegebenen Zeiten war keine Konzentrationszunahme von **85** in der Lösung mehr zu beobachten.

Polymer (Lösungsmittel)	Photolysedauer (min.)	Ausbeute (RP-HPLC) H-Gly-Phe-OH (85)
Polystyrol (38 μmol , THF/H ₂ O 4:1)	240	26 %
Polyamid (17 μmol , THF/H ₂ O 4:1)	200	18 %

Die Belichtungen wurden so lange fortgesetzt, bis keine der entnommenen Zwischenproben eine Konzentrationszunahme des Dipeptids mehr zeigte. Die Polystyrollaternen mußten dafür 240 min, die Polyamidlaternen 200 min lang belichtet werden. Die Lösungen mit den Spaltprodukten wurden dekantiert und die Laternen nochmals gespült. Die Quantifizierung erfolgte mittels RP-HPLC gegen den Standard Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**), wobei nur sehr mäßige Peptidausbeuten von 26 % bei den Polystyrolträgern und 18 % bei den Polyamidlaternen gefunden wurden.

7.1.3 Zusammenfassung und Deutung der Ergebnisse

Die photolytische Freisetzung des Modellpeptids H-Gly-Phe-OH (**85**) von Polystyrol- und Polyamidlaternen mit 17-38 μmol are Beladung lieferte bei 3-4 stündigen Belichtungszeiten lediglich Ausbeuten von weniger als 30 %. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit den eingangs erwähnten Resultaten aus Carbonsäurefreisetzungen (höchstens 20 %) an Kronen,

obwohl durch den rotierenden Probenhalter eine allseitige, gleichmäßige Belichtung der Probe gewährleistet war. Es liegen bei den beiden untersuchten starren Festphasengeometrien offensichtlich ähnliche Abschattungsphänomene und Diffusionsprobleme in der polymeren Matrix vor. Überraschenderweise sind die Ausbeuten an den für ultraviolettes Licht transparenteren Polyamidlaternen am schlechtesten, was sich vielleicht mit einer gegenüber Polystyrol verstärkten Peptidadsorption an diesem Material deuten läßt.

Der Einsatz von Festphasen in Laternengeometrie bei photochemischen Operationen scheint aufgrund der beobachteten unzureichenden Spaltausbeuten wenig günstig.

8 Synthese größerer Peptidsequenzen am Photolinker

8.1 Hintergrund

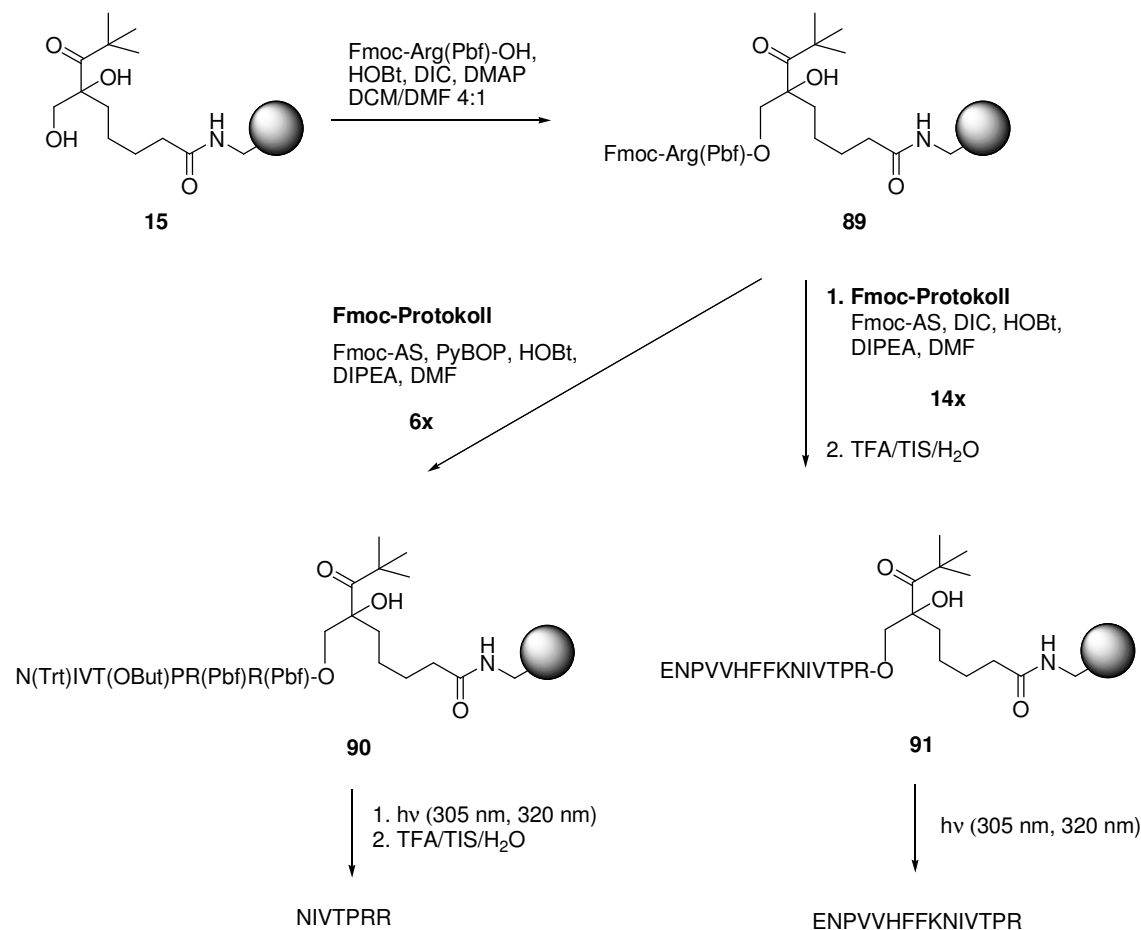
Multiple Sklerose (MS) wird als zellgesteuerte Autoimmunkrankheit angesehen, bei der das Myelin des Zentralen Nervensystems (ZNS) das Ziel eines Immunangriffs ist, der zur Entzündung und anschließenden Demyelinierung im ZNS führt. Eine experimentelle Autoimmun-Encephalomyelitis (entzündliche Hirn- oder Rückenmarkerkrankung) dient als Modell, das viele der MS-Faktoren repräsentiert. Sie kann bei entsprechend präparierten Versuchstieren durch Immunisierung mit einer Anzahl Antigene, wie myelinbasischem Protein (MBP), Proteolipidprotein (PLP) und Myelin-Oligodendrocytglycoprotein (MOG) induziert werden.

8.1.1 T-Zellen und Major Histocompatibility Complexes (MHC)

T-Helferzellen (T_H -Zellen) sind die Schaltstellen des Immunsystems und regeln mit den Cytokinen als Mediatoren zwischen den Zellen die Immunantwort, d.h. die Differenzierung, Aktivierung und effektorischen Leistungen der Zellen des Immunsystems.⁸² Die cytotoxischen T_C -Zellen töten infizierte oder entartete Zellen ab. T_H -Zellen können keine cytotoxischen Funktionen ausüben. Sie erkennen Fremdartigene in Kombination mit endogenen *Major Histocompatibility Complex* (MHC)-Proteinen der Klasse (*class*) II. T_C -Zellen hingegen erkennen Antigene der Klasse I. Histokompatibilitätsproteine sind Glycoproteine an der Zelloberfläche, die Peptide im Zellinneren binden und sie an der Oberfläche zur Wechselwirkung mit T-Zellen exprimieren.⁸³ Das Aufeinandertreffen eines Histokompatibilitätsproteins mit seinem gebundenen Peptid und dem Antigenrezeptor einer T-Zelle bewirkt eine Stimulation der T-Zelle mit der entsprechenden Immunantwort. Die Histokompatibilitätsproteine der Klassen I und II haben ähnliche Strukturen, sind aber an unterschiedlichen Stellen in der Zelle aktiv. *Class I* Histokompatibilitätsproteine binden sehr spezifisch Peptide mit einer Länge von 8-10 Aminosäureeinheiten⁸⁴ und bestehen aus einem Transmembran-Protein und einem löslichen β 2-Mikroglobulin.⁸⁵ *Class II* Histokompatibilitätsproteine komplexieren dagegen längere Peptide ohne Einschränkung in der Kettenlänge.⁸⁶ Sie sind Heterodimere zweier Transmembran-Glycoproteine.⁸⁷

8.1.2 MBP-Peptide NIVTPRR und ENPVVHFFKNIVTPR

Die Synthese der Peptide NIVTPRR und ENPVVHFFKNIVTPR zeigt Schema 30 in der Übersicht. Ausgehend vom arginin-beladenen Photolinkerharz **89** führen Standard-Peptidprotokolle zum Heptapeptid NIVTPRR und zum 15mer ENPVVHFFKNIVTPR.



Schema 30: Syntheschema für das Heptapeptid NIVTPRR und das 15mer ENPVVHFFKNIVTPR.

8.1.2.1 Syntheseprotokoll für NIVTPRR

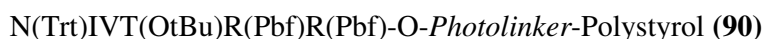
a) Beladung des Photolinkerharzes **PS-15** mit Fmoc-Arg(Pbf)-OH zu **89**

Polystyrol-Photolinkerharz **15** wurde nach Standardmethoden mit Fmoc-Arg(Pbf)-OH unter Aktivierung mit HOBt, DIC und DMAP beladen. Die erhaltene maximale Arginin-Beladung des Harzes Fmoc-Arg(Pbf)-O-Photolinker-PS (**89**) betrug 67 %.

b) Synthese des Heptapeptids NIVTPRR am photolabilen Harz

Zum Aufbau der vollständig geschützten Peptidsequenz wurde ein *Advanced ChemTech 440 Automated Synthesizer* eingesetzt. Die Kupplungs- und Entschützungs-schritte mit den entsprechenden Aminosäurebausteinen wurden unter HOBt/PyBOP/Hünigbase-Aktivierung in DMF gemäß Herstellervorgaben durchgeführt.

Die abschließende Fmoc-Entschützung wurde erst kurz vor der Photolyse mit 25 % Piperidin in DMF innerhalb von 2h vorgenommen, wobei man das immobilisierte Peptid



erhielt.

8.1.2.2 Syntheseprotokoll für ENPVVHFFKNIIVTPR

Das 15er-Peptid wurde ebenfalls am *Advanced ChemTech 440 Automated Synthesizer* aufgebaut, wobei in diesem Fall die Aktivierung mit HOBt/DIC/Hünigbase in DMF erfolgte. Das Ausgangsprodukt war das oben beschriebene Fmoc-Arg(Pbf)-O-Photolinker-PS (**89**).

Die abschließende Fmoc-Entschützung mit Piperidin/DMF und die Entfernung der Seitenketten mit TFA/TIS/Wasser⁶³ zu ENPVVHFFKNIIVTPR-O-Photolinker-PS (**91**) wurden erst kurz vor der Photolyse vorgenommen.

8.2 Qualitative Untersuchungen zur Einsetzbarkeit

Die Synthese des Pentapeptids Leu-Enkephalin an den Photolinkerharzen **15** lieferte sowohl mit der vorgehend beschriebenen photochemisch orthogonalen NVOC-Schutzgruppenstrategie als auch nach dem konventionellen Fmoc-Protokoll⁵¹ sehr reine Produkte mit guten Ausbeuten.

Die positiven Ergebnisse in der lichtinduzierten Entschützung von Peptiden weckten auch das Interesse von Immunologen, welche eine milde Freisetzungsmethode physiologisch aktiver Peptide in T-Zellenassays zur Epitopkartierung (*epitope mapping*) MHC-relevanter Peptide

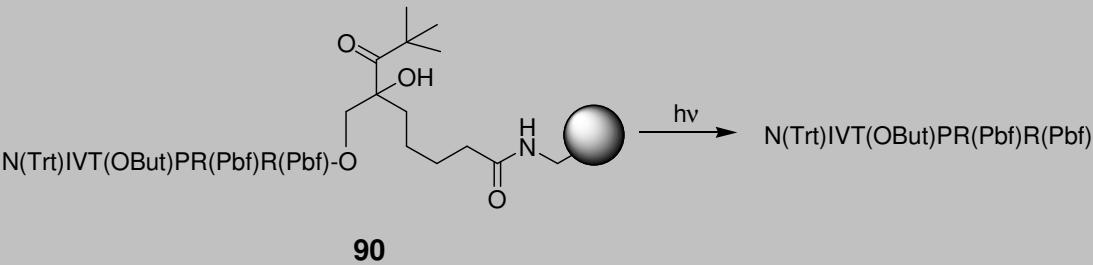
suchten. Das im folgenden beschriebene Peptidsyntheseprojekt entstand als teilweise Zusammenarbeit auf Anregung von Benedikt Kessler, *Harvard Medical School*, Boston.

8.3 Photolysen der MBP-Peptide

Photolyse von N(Trt)IVT(OBu^t)R(Pbf)R(Pbf)-O-Photolinker-Polystyrol (**90**)

Teilentschütztes N(Trt)IVT(OtBu)R(Pbf)R(Pbf)-O-Photolinker-Polystyrol (**90**) wurde in 5- μ molaren Ansätzen in 4:1-THF/Wasser (v/v) suspendiert und nach einer Quellzeit von 20 min mit Lichtquelle 1 in einer 10 mm-Quarzküvette bei 16 °C unter ständigem Rühren belichtet (Tabelle 11). Die Lösungen der Photolyseprodukte wurden vom Harz dekantiert, lyophilisiert und mittels LC-MS *qualitativ* analysiert.

Tabelle 11: Photolytische Freisetzung von teilentschütztem N(Trt)IVT(OtBu)R(Pbf)R(Pbf) bei 305 und 320 nm.

			
Lösemittel	h ν	Photolysezeit (min)	Gefundene Produkte [ESI-MS, m/e]
THF/H ₂ O 4:1	305 nm	15	N(Trt)IVT(OtBu)PR(Pbf)R(Pbf): [1657(1+); 829 (2+)], Fmoc-N(Trt)IVT(OtBu)PR(Pbf)R(Pbf): [1880(1+); 940 (2+)]
THF/H ₂ O 4:1	320 nm	15	N(Trt)IVT(OtBu)PR(Pbf)R(Pbf): [1657(1+); 829 (2+)], Fmoc-N(Trt)IVT(OtBu)PR(Pbf)R(Pbf): [1880(1+); 940 (2+)]

In beiden Bestrahlungsansätzen (305 nm und 320 nm) wurden die gleichen Produktverteilungen an N(Trt)IVT(OBu^t)PR(Pbf)R(Pbf) gefunden. Die geringe Wellenlängenänderung hatte somit keinen Einfluß auf die Zusammensetzung der Spaltprodukte. Erstaunlicherweise konnte auch das ursprüngliche, vollgeschützte Heptapeptid Fmoc-N(Trt)IVT(OtBu)PR(Pbf)R(Pbf) wiedergefunden werden, obwohl eine zweistündige Fmoc-Entschützung vorausgegangen war.

Vollständige Entschützung zu NIVTPRR in homogener Phase

Die lyophilisierten Photolyseprodukte wurden 2h lang mit Trifluoressigsäure-Triisopropylsilan-Wasser (190:5:5) bei 25 °C geschüttelt.⁶³ Die Entschützensreagenzien wurden im Hochvakuum abgezogen und die erhaltenen Produkte wiederum mittels LC-MS analysiert (Tabelle 12 und Abbildung 16).

Tabelle 12: Produktverteilung nach der Seitenkettenentschützung mit TFA/TIS/Wasser.

N(Trt)IVT(OBu ^t)PR(Pbf)R(Pbf) $\xrightarrow{\text{TFA, TIS, H}_2\text{O}}$ NIVTPRR			
Photolyseprodukte	Reagenzien	Reaktionszeit (min)	Gefundene Produkte [HPLC-MS, m/e]
N(Trt)IVT(OBu ^t)PR(Pbf)R(Pbf) Fmoc-N(Trt)IVT(OBu ^t)PR(Pbf)R(Pbf)	TFA/TIS/H ₂ O 190:5:5	120	NIVTPRR (40%): [854(1+); 428(2+)], Fmoc-NIVTPRR (60%): [1078(1+); 539 (2+)]

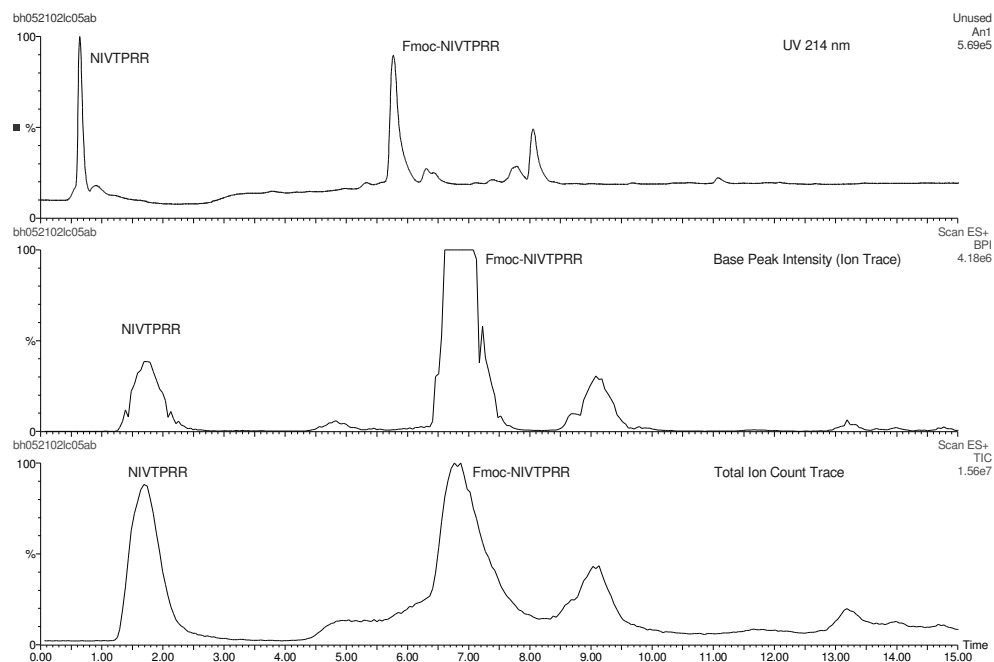


Abbildung 16: UV-Spektren (oben) und TIC-Spur der Photolyseprodukte nach der Seitenkettenentschützung mit TFA/TIS/H₂O. Die UV- und TIC-Signale erscheinen wegen der seriellen Anordnung der Detektoren zeitlich versetzt.

Man erhielt das vollständig entschützte Heptapeptid NIVTPRR in einer relativen Ausbeute von 40 % neben Fmoc-NIVTPRR (60 %). Außer einer nicht identifizierten Nebenkomponente erhielt man über sieben Kupplungsschritte ein gut definiertes Photolyseprodukt. Hier konnte indirekt auch gezeigt werden, daß die Schutzgruppen an den Seitenketten (Trt, tBu, Pbf) mit den angewandten Photolysebedingungen kompatibel waren.

Photolyse von ENPVVHFFKNIVTPR-O-Photolinker-PS (91)

ENPVVHFFKNIVTPR-O-Photolinker-PS (**91**) wurde in 10- μ molaren Ansätzen in einem 4:1-THF/WasserGemisch (v/v) suspendiert und nach einer Quellzeit von 20 min mit Lichtquelle 1 in einer 10 mm-Quarzküvette bei 16 °C unter ständigem Rühren bei 305 nm bzw. bei 320 nm belichtet (Tabelle 13). Die gelösten Photolyseprodukte wurden mittels ESI-MS *qualitativ* analysiert.

Tabelle 13: Experimentelle Bedingungen bei der Photolyse von ENPVVHFFKNIVTPR-O-Photolinker-PS (**91**).

91

Edukt (μmol) Löemittel	hν	Photolyse- zeiten (min)	Produkte [ESI-MS, m/e]
jeweils 10 μmol THF/H ₂ O 4:1	305 nm	2	ENPVVHFFKNIVTPR [1796] und kürzere Sequenzen nicht nachweisbar
		5	
		10	
		20	
jeweils 10 μmol THF/H ₂ O 4:1	320 nm	2	ENPVVHFFKNIVTPR [1796] und kürzere Sequenzen nicht nachweisbar
		5	
		10	
		20	

Die gemessenen Massenspektren zeigten keinen Hinweis auf das erwartete 15mer-Peptid und mögliche Abbruchsequenzen.

Das 15mer-Peptid ENPVVHFFKNIVTPR ließ sich am Photolinkerharz nicht synthetisieren. Die Gründe dafür können zum einen schwierige Kupplungsschritte (Arg), zum anderen Substratschädigungen bei den Seitenkettenentschützungen mit TFA sein. Eine intermediäre Photoschädigung kann ebenfalls nicht ausgeschlossen werden.

Die verhältnismäßig hohe Ausgangsbeladung des eingesetzten Polystyrolharzes mit 0.9 mmol/g könnte die Synthese längererkettiger Peptide erschwert haben, da eine allmähliche Überladung der Harzoberflächen auftreten kann, die auch das Diffusionsverhalten beeinträchtigt.

8.3.1 Perspektive

Das MHC class II Peptid ENPVVHFFKNIVTPR wurde als ein prominentes Peptidepitop zu synthetisieren versucht. Es bestehen aber Variationsmöglichkeiten an den C- und N-terminalen Aminosäuren, da Komplexierungen an class II Proteinen nicht von der Kettenlänge abhängig sind und gewisse Änderungen in der Sequenz der Epitope erlauben. Das hier vorgestellte 15-mer Peptid sollte beispielsweise N-terminal mit Glutaminsäure (E) ausgestattet werden, um eine bessere Wasserlöslichkeit zu erreichen.⁹⁵

8.4 Weitere MHC class I und MHC class II Peptide

8.4.1 Einleitung

Im folgenden Abschnitt werden Syntheseexperimente verschiedener literaturbekannter MHC class I und MHC class II Peptidepitope am photolabilen Linker beschrieben. Das Ziel besteht darin, eine Abschätzung zur Praktikabilität der photolytischen Freisetzung von Peptiden unter physiologisch vorgegebenen Bedingungen (wäßrige Medien, Gegenwart von Sauerstoff und Kohlendioxid, erhöhte Temperaturen > 30 °C) zu erhalten.

8.4.2 Ausgewählte MHC class I Peptide

SLYNTVATL ist ein immunodominantes cytotoxisches T-Lymphozytenepitop (CTL-Epitop), das entscheidend bei der immunologischen Kontrolle von menschlichen Immunschwächeviren (HIV) mitwirkt.⁸⁸ HIV-Infektionen zeichnen sich durch die Entwicklung enormer genetischer Variationen in den Virenstämmen, sowie einer ständigen Fortentwicklung und andauernden Anpassung an den Wirt aus.⁸⁹

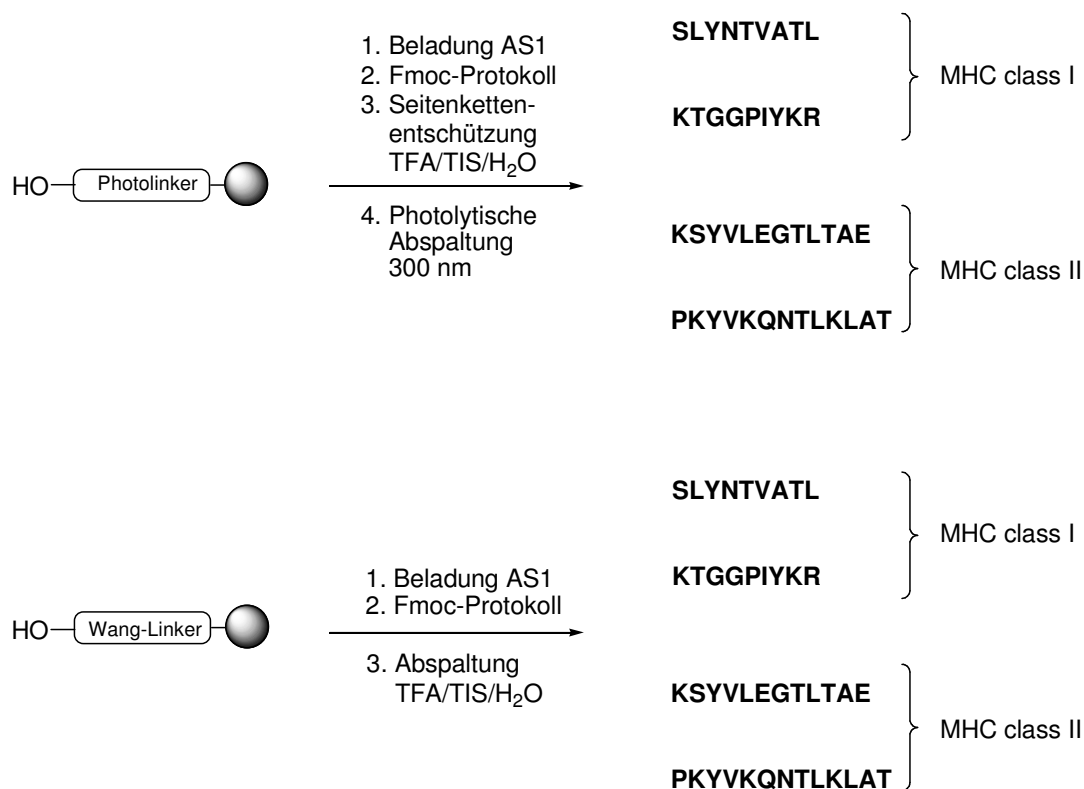
Damit entkommen die Viren immer wieder der Immunabwehr durch die virenspezifische CTL-Reaktion. Eine stark verminderte Immunogenität und Fähigkeit zur Erkennung durch CTLs haben ihre Ursache in Mutationen der Bindungsstellen des *Human Leukocyte Antigen* (HLA), die eine Komplexierung durch das zuständige *class I* Protein vermindern oder ganz verhindern.⁹⁰

KTGGPIYKR ist ein Influenzavirus-Peptid, das bereits synthetisch hergestellt wurde.⁹¹ Die Struktur des MHC-Peptidkomplexes wurde durch eine Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt.⁹²

8.4.3 Ausgewählte MHC class II Peptide

KSYVLEGTLTAE stammt aus einem Epitop-Kartierungsansatz des MHC class II Proteins mit kovalent gebundenem *outer surface protein A* (OspA) von *Borrelia burgdorferi*, einer Spirochäte, die durch Zecken übertragen wird und die Lyme-Erkrankung (*Lyme disease*) auslöst.⁹³ Die Krankheit kann in den meisten Fällen durch Antibiotikagaben geheilt werden, dennoch entwickelt eine geringe Anzahl Patienten eine chronische Arthritis, obwohl der Erreger nicht mehr nachweisbar ist. Diese sogenannte *behandlungsresistente Lyme-Erkrankung* wird als Autoimmunreaktion angesehen, die als Modell für andere menschliche Autoimmunerkrankungen herangezogen wird.⁹⁴ Beispiele dafür wären Multiple Sklerose (MS), rheumatoide Arthritis und Diabetes Typ-I, wo keine pathogenen Mikroben aufgefunden werden konnten. Es wird vermutet, daß durch *B. burgdorferi*-antigenspezifische T-Zellen Kreuzreaktionen eingehen und zu einer Antigen-Überlappung beispielsweise mit MS-Autoantigenen führen können. Die Bestimmung der kritischen Bindungsstellen an MHC oder T-Zellrezeptoren (TCR) für das immunodominante Epitop von OspA ist ein erster Schritt zum Design von Peptidbibliotheken, die zur Findung potentieller kreuzreaktiver Antigene mit diesem Peptid führen. Die Kenntnis der Kontaktstellen eines Peptids ist wichtig, wenn man Peptide herstellen will, welche die TCR-Aktivierung unterbinden sollen. Dies kann durch MHC-Blockade oder TCR-Antagonismus erreicht werden. Solche antagonistischen Peptide könnten dann therapeutisch gegen Autoimmunkrankheiten eingesetzt werden.

PKYVKQNTLKLAT ist ein synthetisches Peptid, das einem Ausschnitt des Influenza-Hämagglutinins entspricht und dessen Komplexstruktur mit dem menschlichen MHC class II Protein HLA-DR1 aufgeklärt wurde.⁸³



Schema 31: **Oben:** Synthese der MHC class I und II Peptide am photolabilen Pivaloyllinker-Harz.
Unten: Referenzsynthesen am Wang-Harz.

Die Peptide wurden gleichzeitig sowohl am TentaGel-Photolinkerharz **27**, als auch an kommerziell erhältlichem PS-Wang-Harz unter identischen experimentellen Bedingungen synthetisiert. Mit der Referenzsynthese am Wang-Harz sollten mögliche Unterschiede bei den Peptidkupplungen festgestellt werden, die sich aufgrund der verschiedenen Harze ergeben könnten. Die TentaGel-Variante des Photolinkers wurde gewählt, um auch die Photospaltung in reinem Wasser zu untersuchen.

a) *Manuelle Beladung des Photolinkerharzes 27 und des PS-Wang-Harzes nach Standardmethoden*⁶³

Das Photolinkerharz **27** und das PS-Wang-Harz wurden nach Standardmethoden mit Fmoc-Glu(OtBu)-OH und Fmoc-Leu-OH unter Aktivierung mit HOBt, DIC und DMAP beladen. Die Beladung mit Fmoc-Arg(OPbf)-OH und Fmoc-Thr(OtBu)-OH erfolgt durch TBTU/DMAP/Hünigbase-Aktivierung.

b) Aufbau der Peptide an den Harzen

Zum Aufbau der vollständig geschützten Peptidsequenzen wurde der *MultiSynTech* Peptidsynthesizer *Syro I* eingesetzt. Die Kupplungs- und Entschützungs-schritte mit den entsprechenden Fmoc-Aminosäurebausteinen wurden für alle Sequenzen unter HOBt-HCTU-DIPEA-Aktivierung in NMP gemäß Herstellervorgaben durchgeführt.

c) Entschützung der Peptide

Peptide am Photolinker

Die Fmoc-Schutzgruppen der immobilisierten Peptide wurden zuerst mit Piperidin/DMF entfernt. Die säurelabilen Gruppen an den Seitenketten wurden mit TFA/TIS/Wasser abgespalten.

Peptide am Wang-Harz

Nach der Abspaltung der Fmoc-Gruppen mit Piperidin/DMF wurden die Wang-Harz-Substrate mit TFA/TIS/Wasser behandelt, wobei die Peptide gleichzeitig vom Harz abgespalten und die Seitenketten-Schutzgruppen entfernt wurden. Die gelösten Peptide wurden aufkonzentriert und zu Reinigung mit Diethylether gefällt.

8.4.4 Photolytische Abspaltung der Peptide

Die Harze wurden sowohl in reinem Wasser (*Nanopure*), als auch in 1:1-Wasser/Tetrahydrofuran (v/v) belichtet.

Die Belichtung erfolgte in Quarzröhrchen mit Lichtquelle 2 (*RAYONET RPR-100*), welche mit 6 Fluoreszenzlampen (300 nm, Maximalleistung 120 W) bestückt war. Mit Hilfe des eingesetzten drehbaren Probenhalters und Magnetrührers konnten alle Proben gleichzeitig unter identischen Bedingungen belichtet werden.

Nach der Belichtung wurden die Probenlösungen vom Harz dekantiert und lyophilisiert. Man erhielt die freigesetzten Peptide jeweils als farblose Feststoffe, die in Wasser (*Nanopure*) gelöst wurden. Die Bestimmung der Produkte erfolgte mittels RP-HPLC-MS-Kopplung.

Die Chromatogramme der konventionell am Wang-Harz synthetisierten Referenzpeptide wurden unter identischen Bedingungen aufgenommen. Die TIC-Spektren der MHC class I Peptide sind in Abbildung 17, die der MHC class II Peptide sind in Abbildung 18 gezeigt.

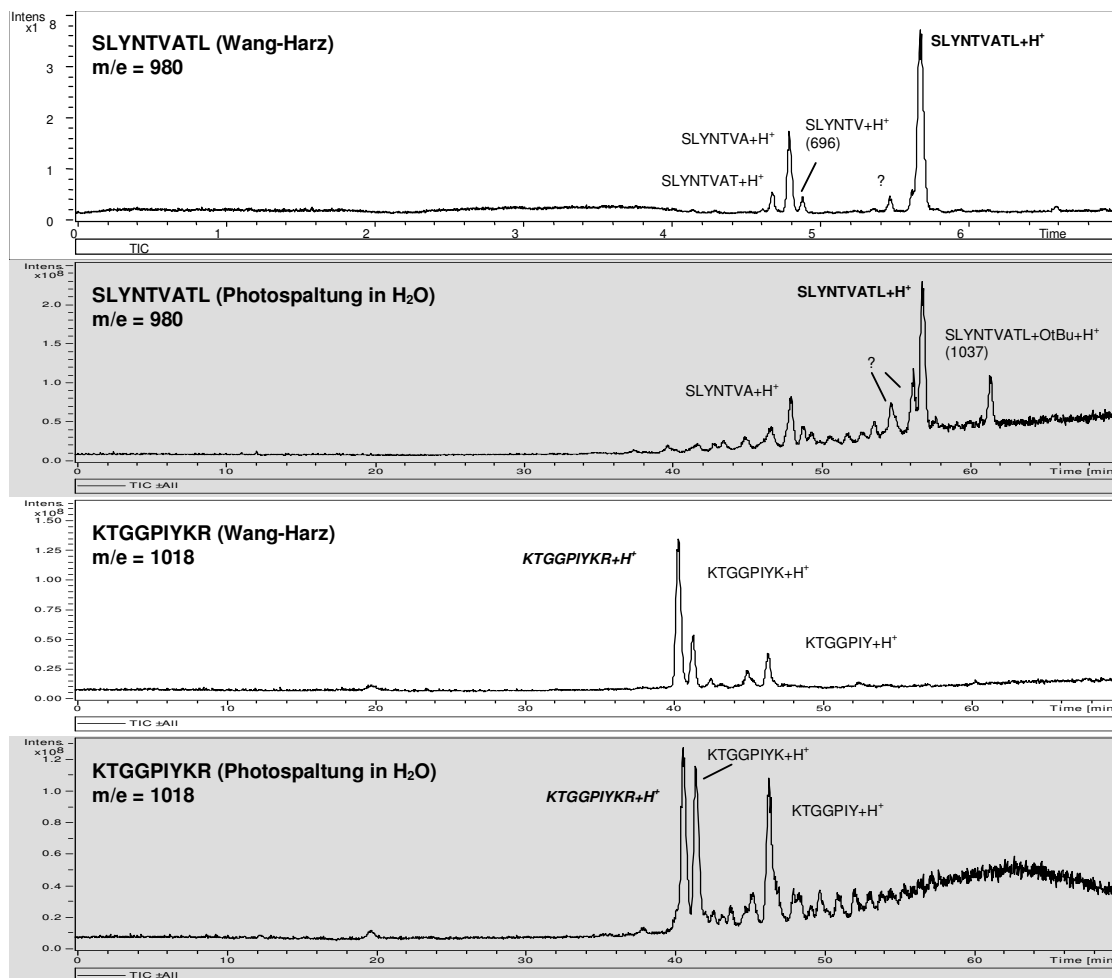


Abbildung 17: TIC-Spuren der MHC-class I Peptide. Referenzpeptide und Photolyseprodukte (unterlegt).

Die Zusammensetzungen der erhaltenen Photolyseprodukte von SLYNTVATL und KTGGPIYKR ähnelten denen der Referenzprodukte sehr. Die erwarteten Peptide waren in allen Proben die Hauptkomponenten und die Anzahl der Nebenprodukte blieb niedrig. Sowohl am Wang- als auch am photolabilen Harz konnten die gleichen Fehlsequenzen beobachtet werden. Die Unzulänglichkeiten waren somit nicht den eingesetzten Linkern oder Festphasenträgern zuzuschreiben, sondern den unvollständigen Kupplungsschritten. Diese Tatsache wurde besonders im Falle des KTGGPIYKR deutlich, wo bereits die Knüpfung des sterisch anspruchsvollen Fmoc-Arg(OPbf)-OH an die Linker unvollständig war, was auch die identifizierten Nebenprodukte ohne Arginin zeigten. Es handelte sich hierbei um ein

bekanntes Problem mit dieser Aminosäure, welches auch durch umfassende Kupplungsreagens-Screenings noch nicht befriedigend gelöst werden konnte.⁹⁵

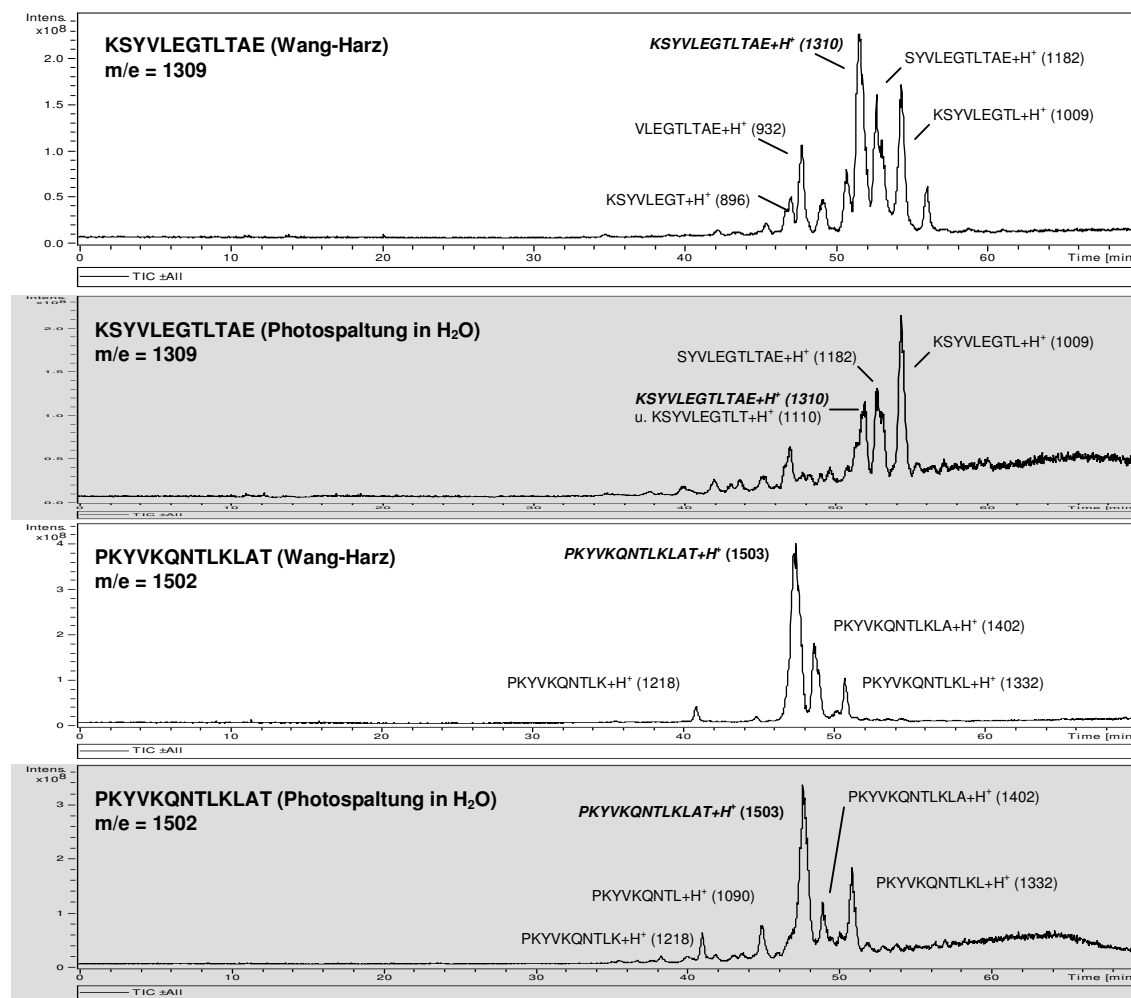


Abbildung 18: TIC-Spuren der MHC-class II Peptide. Referenzpeptide und Photolyseprodukte (unterlegt).

Ein ähnliches Muster zeigten die Chromatogramme von KSYVLEGLTLAE und PKYVKQNTLKLAT (Abbildung 18). Die Schwierigkeit bestand bei der Synthese von KSYVLEGLTLAE an beiden Trägern in der Beladung mit Glutaminsäure,⁹⁶ die am Photolinker das gewünschte Peptid nur in geringer relativer Konzentration zu den Fehlsequenzen lieferte. PKYVKQNTLKLAT konnte dagegen als verhältnismäßig einheitliches Produkt von beiden Linkern abgespalten werden, da die Knüpfung des Threonin als erste Aminosäure an die Linker effizienter war.

Alle hier vorgestellten Peptidprotokolle lieferten sowohl am konventionellen Wang-Linker, als auch am Pivaloyllinker die selben definierten Haupt- und Nebenprodukte mit ähnlichen

Konzentrationsverteilungen. Durch den Vergleich der beiden Linkersysteme konnte gezeigt werden, daß offenbar keine nennenswerte Photoschädigung der Peptide eintrat, während sie für 10 min UV-Licht mit einem Intensitätsmaximum von 300 nm ausgesetzt waren. In den Abbildungen 17 und 18 werden exemplarisch neben den Referenzverbindungen nur die Chromatogramme der Photolyseprodukte in wäßriger Harzsuspension gezeigt. Die Photolysen im THF/Wasser-Gemisch ergaben die Spaltprodukte in genau den gleichen Konzentrationsverhältnissen.

8.4.5 Belichtungen in der Tüpfelplatte

Proben der photolabil an TentaGel gebundenen Peptide wurden in den Vertiefungen einer herkömmlichen Tüpfelplatte aus Porzellan mit Wasser (*Nanopure*) gequollen und unter Rühren (Magnetrührer) mit einer 254-nm-UV-Handlampe (10 W) zur Dünnschichtchromatogrammbetrachtung 30 min lang belichtet.

Von den wäßrigen Lösungen der Spaltprodukte wurden umgehend ohne weitere Aufarbeitung qualitative ESI-Massenspektren aufgenommen.

Die Peptide SLYNTVATL, PKYVKQNTLKLAT und KTGGPIYKR konnten als Hauptkomponenten der Photospaltungen gefunden werden. Lediglich die KSYVLEGLTAE-Probe zeigte vollständige Zersetzung unter den beschriebenen Bedingungen. Das 12er-Peptid konnte auch nicht in Spuren nachgewiesen werden.

Tabelle 14: Spaltprodukte bei Belichtung in der offenen Tüpfelplatte mit Wasser als Lösemittel.

Freigesetztes Peptid	m/e	Gefundene Massen (m/e)
SLYNTVATL	980	981 (M+H ⁺ , 100); 995; 1037
KTGGPIYKR	1018	1019 (M+H ⁺ , 100); 1041 (M+Na ⁺ , 15)
KSYVLEGLTAE	1309	1023 (100); 1195; 1338
PKYVKQNTLKLAT	1502	752 (100); 1331; 1503 (M+H ⁺ , 20)

8.4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse und Ausblick

Es wurden sechs verschiedene Peptidprotokolle am photolabilen Pivaloyllinker vorgestellt. Die Auswahl der Synthesebeispiele orientierte sich an peptidbezogenen Fragestellungen aktueller immunologischer Veröffentlichungen. Es handelte sich um Peptide mit 7-15 Aminosäurebausteinen. In automatisierten Synthesen wurden die Peptide NIVTPRR und ENPVVHFFKNIVTPR am Photolinkerharz über ein Fmoc-Protokoll aufgebaut. NIVTPRR wurde nach N-terminaler Fmoc-Spaltung am Harz seitenkettengeschützt und photolytisch bei 320 nm vom Linker abgespalten. Nach der Entfernung der säurelabilen Seitenkettenschutzgruppen erhielt man ein sehr einheitliches Spaltprodukt, welches lediglich das voll entschützte NIVTPRR und Fmoc-NIVTPRR enthielt.

ENPVVHFFKNIVTPR konnte dagegen nicht synthetisiert werden, was aber auf nicht optimierte Kupplungsbedingungen zurückzuführen ist.

SLYNTVATL, KTG GPIYKR, KSYVLEGLTAE und PKYYVKQNTLKLAT wurden in parallelen, automatisierten Synthesen am Photolinkerharz **27** angesetzt. Gleichzeitig wurden die selben Sequenzen an Wang-Harz als Referenzen aufgebaut. Die photolabil immobilisierten Peptide wurden in wässriger Harzsuspension bei 300 nm freigesetzt. Die gewonnenen Spaltprodukte wurden mit den konventionell erhaltenen Referenzpeptiden verglichen. Dabei zeigten sich weitgehende Übereinstimmungen sowohl in den erwarteten Hauptprodukten, als auch in der Art der erhaltenen Fehlsequenzen. Die relativen Konzentrationsverhältnisse waren ebenfalls vergleichbar.

Wässrige Suspensionen von Harzproben, die in der Tüpfelplatte mit einer 254 nm-UV-Handlampe belichtet wurden, zeigten die erwarteten Peptide als Hauptkomponenten. Die einzige Ausnahme war KSYVLEGLTAE, welches offensichtlich bei dieser Wellenlänge eine Photoschädigung erfuhr und nicht mehr nachgewiesen werden konnte.

Es bleibt anzumerken, daß es sich hierbei um qualitative Syntheseansätze handelte, die nach Standardvorschriften ohne Optimierung der Kupplungsmethoden durchgeführt wurden, was das Auftreten von Fehlsequenzen an beiden betrachteten Linkersystemen erklärt.

In den untersuchten Peptiden wurden 16 der 20 natürlichen Aminosäuren mit Ausnahme von Met, Trp, Cys und Asp eingesetzt und ihre Kompatibilitäten mit der photolytischen Entschützungs-methode nachgewiesen. Im Falle des NIVTPRR konnte auch die Verträglichkeit der säurelabilen Trt-, Pbf- und OtBu-Schutzgruppen mit den Photolysebedingungen gezeigt werden.

Die biologische Verträglichkeit des zur Linkerspaltung nötigen UV-Lichts (bis 335 nm) in angestrebten *in-vivo* Assys müsste noch im einzelnen geprüft werden.

Der TentaGel-Pivaloyl-Photolinker **27** erlaubt eine effiziente Freisetzung von Peptiden in Wasser. Es darf daher erwartet werden, daß die Pivaloyl-*caging group* nützliche Dienste in der Handhabung pharmakologisch aktiver Peptide leisten wird.

9 Der Pivaloyllinker – Weitere Anwendungen

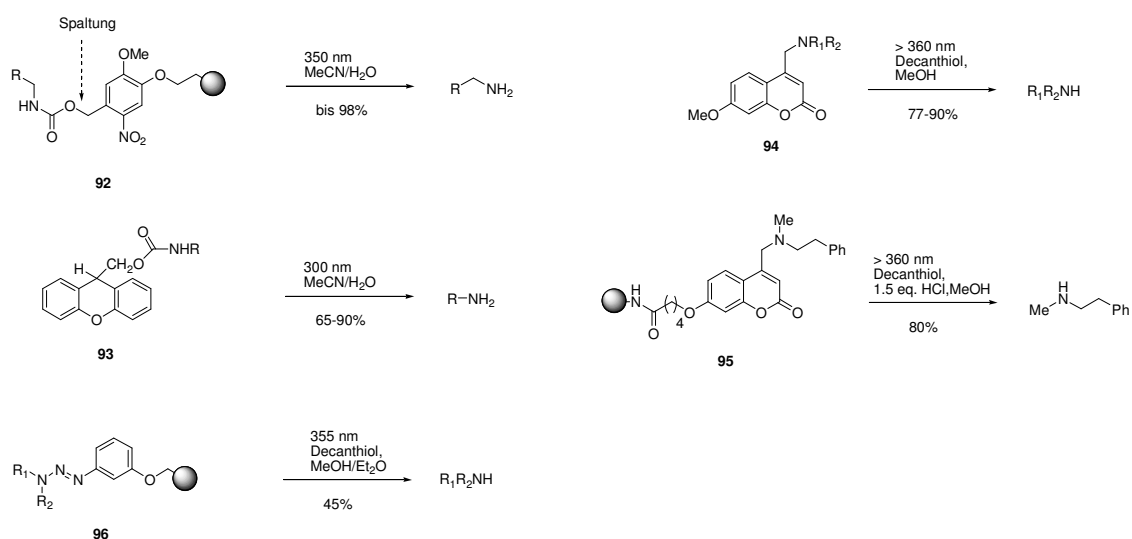
Nachdem der Pivaloyllinker als aussichtsreiches Hilfsmittel für Carbonsäure- und Peptidsynthesen vorgestellt wurde, sollte seine Brauchbarkeit im Zusammenhang mit weiteren Funktionalitäten geprüft werden. Die Freisetzung von Alkoholen, die als Photolinker-Ether immobilisiert wurden, konnte erfolgreich durchgeführt werden.⁵³

Weitere interessante Substanzklassen zur photolabilen Schützung mit dem Pivaloyllinker sind Amide, Amine und Kohlenhydrate.

Der folgende Abschnitt beschäftigt sich mit der Synthese von pivaloyl etherschutzten Modellverbindungen und ihren Photolysen.

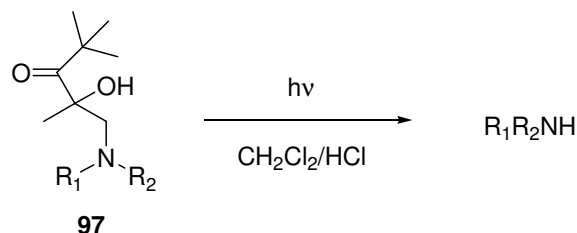
9.1 Amine

Einige photolabile Aminlinker und Schutzgruppen sind in Schema 32 gezeigt. Der bekannteste und am meisten verwendete photolabile Linker für Amine ist die Nitroveratrylgruppe in Form des entsprechenden Carbamats **92**.⁴⁴ In neuerer Zeit wurde die 9-Xanthenylmethyl-oxycarbonylgruppe **93** zur Aminschtzung beschrieben.⁹⁷ Die Coumarinsysteme **94** und **95** wurden von Schönleber zur Aminschtzung entwickelt.⁹⁸ Ein Triazenlinker **96** wurde in der Entschützung von sekundären Aminen eingesetzt.⁹⁹



Schema 32: Zusammenstellung einiger literaturbekannter photolabiler Aminlinker und Schutzgruppen.

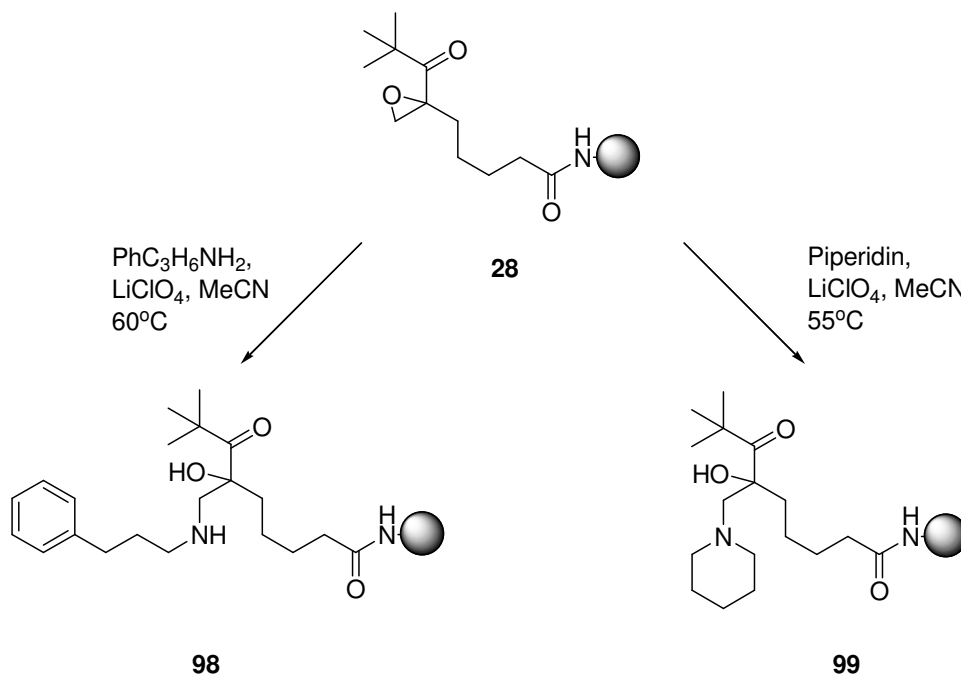
Durch Belichtung eines Pivaloyllinker-Modells **97** (Schema 33) in neutralem Dichlormethan konnten in homogener Phase Amine mit mäßigen Ausbeuten von 25-33 % erhalten werden. In Gegenwart geringer Mengen Chlorwasserstoff während der Photolyse konnten die Aminausbauten auf 90 % gesteigert werden.⁵⁴



Schema 33: Linkermodell **97** zur Aminospaltung.

9.1.1 Herstellung der Festphasen-Aminmodelle

Für die Untersuchung der lichtinduzierten Abspaltung von Aminen wurde zum einen das sekundäre Amin **98** durch nucleophile Epoxidöffnung des Festphasenlinkers **28** mit 3-Phenylpropylamin unter Lewisäure-Katalyse hergestellt, zum anderen das tertiäre Amin **99** unter identischen Bedingungen mit Piperidin.¹⁰⁰



Schema 34: Synthese der Festphasen-Photolysevorläufer **98** und **99** mit dem Epoxidlinker **28**.

9.1.2 Photolyse der Festphasen-Amine **98** und **99**

In Quarzglasküvetten wurden 4- μ molare Mengen **98** und **99** in entgasten Lösemitteln suspendiert und wie in Tabelle 15 angegeben, mit Lichtquelle 1 und vorgeschaltetem Kantenfilter ($h\nu > 305$ nm) bei 5 °C belichtet.

Die Produktbestimmung erfolgte mittels RP-HPLC und GC.

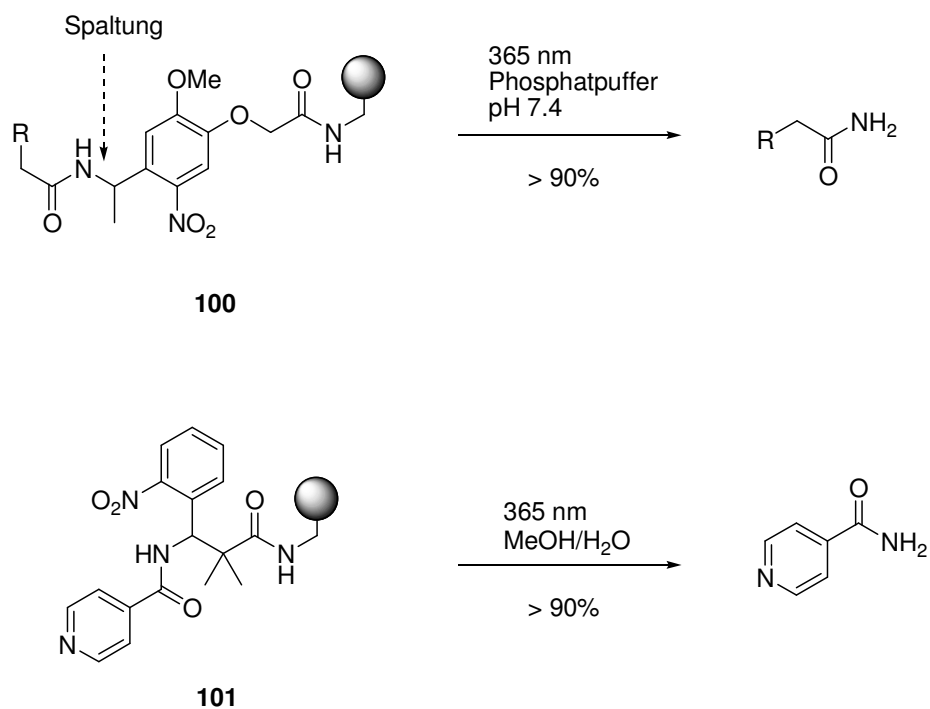
Tabelle 15: Photolyse der festphasengebundenen Amine **98** und **99**.

<p>98: R = N-(3-Phenylpropylaminyl) 99: R = N-Piperidiny</p>				
Substrat (Lösemittel)	Zusatz	$h\nu$	Photolyse- zeit	Ausbeute
98 (H ₂ O/CH ₃ CN 1:1)	-	305 nm	30 min	0 %
98 (H ₂ O/CH ₃ CN 1:1)	0.1 % TFA			2 %
99 (CH ₂ Cl ₂)	-	305 nm	30 min	6 %
99 (CH ₂ Cl ₂)	10 eq. HCl			8 %

Die geschützten, festphasengebundenen Amine **98** und **99** konnten durch nucleophile Öffnung des Epoxidlinkers **28** sehr leicht hergestellt werden, ließen sich aber photolytisch kaum mehr freisetzen. **98** lieferte unter neutralen Photolysebedingungen kein 3-Phenylpropylamin. Mit Säurezusatz konnte das primäre Amin lediglich zu 2 % nachgewiesen werden. Die Entschützung von Piperidin an **99** war ebenfalls äußerst uneffizient mit einer größten Wiederfindung von 8 %. Die Photolysenlösungen waren gelblich verfärbt und enthielten viele Nebenprodukte die aus Zersetzungsreaktionen stammten.

9.2 Amide

Zur photolabilen Schützung von Amiden sind bisher nur Nitroveratryl-¹⁰¹ und Nitrophenylsysteme¹⁰² vom Typ **100** bzw. **101** bekannt, die mit gutem Erfolg eingesetzt werden konnten (Schema 35).



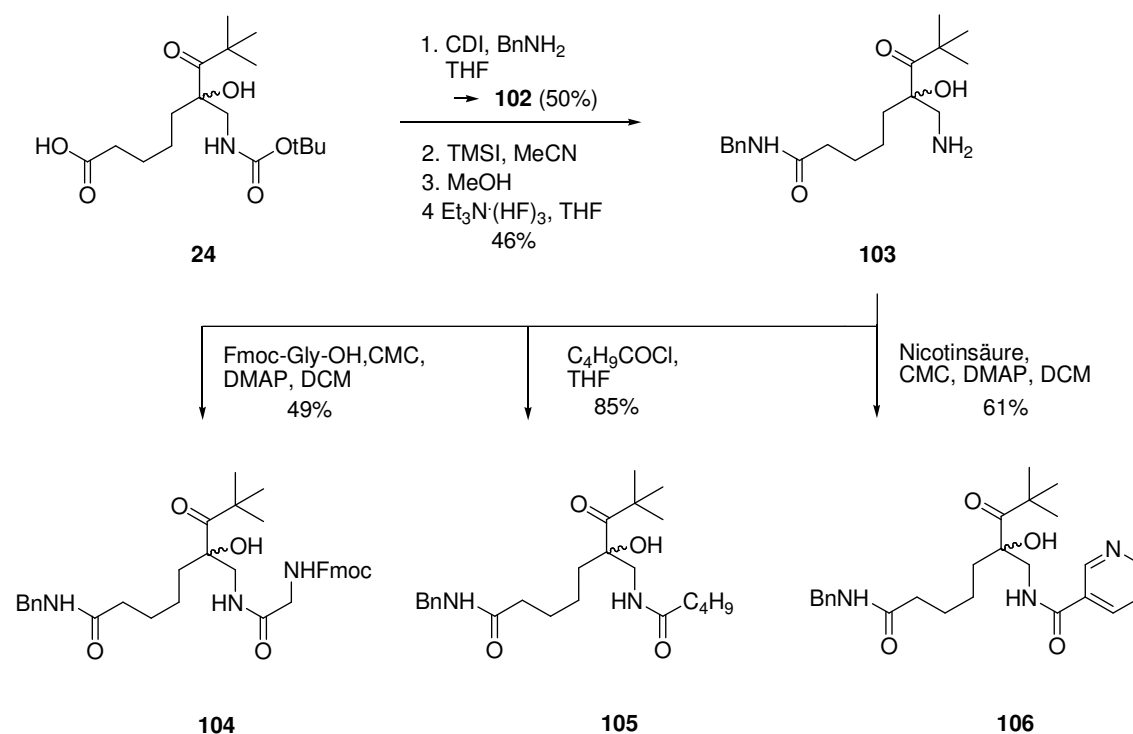
Schema 35: Nitroveratryl- und Nitrophenyl-Festphasenlinker für Amide.

9.2.1 Herstellung der Amidsubstrate

9.2.1.1 Für Photolysen in Lösungen (Schema 36).

Die Aminlinker-Carbonsäure **24** wurde mit Benzylamin unter Aktivierung mit CDI zum Benzylamid **102** umgesetzt.⁷⁵ Die Carbamatgruppe wurde mit Trimethylsilyliodid gespalten, was zum freien Amin **103** führte.⁵²

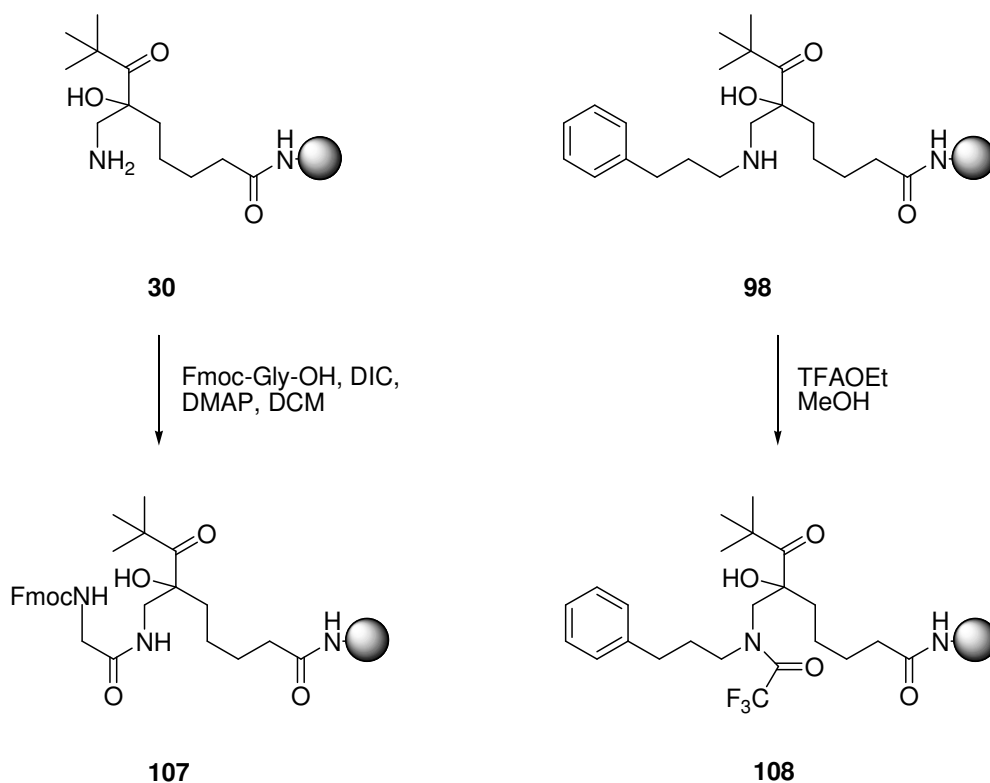
Durch Kupplung mit Fmoc-Glycin nach CMC/DMAP-Aktivierung⁷⁵ erhielt man das Glycinamid **104** in einer Ausbeute von 49 %. Das Valerianamid **27** erhielt man durch die einfache Acylierung von **103** mit Valeroylchlorid in einer Ausbeute von 85 %.¹⁰³ Das Nicotinamid **106** wurde aus Nicotinsäure unter CMC-DMAP-Aktivierung hergestellt (61 %).



Schema 36: Photolabile Amidsubstrate für Belichtungen in homogener Phase.

9.2.1.2 Für Photolysen an Festphasen

Das Glycinamid **107** wurde durch Kupplung von DIC-aktiviertem Fmoc-Glycin an den Photolinker **30** erhalten.¹⁰⁴ Trifluoracetamid **108** erhielt man nach Acylierung des Amins **98** mit Trifluoressigsäureethylester in Methanol.¹⁰⁵



Schema 37: Photolabile Amidsubstrate **107** und **108** für Belichtungen an Festphasen.

9.2.2 Synthesen der Referenzverbindungen

Die benötigten Referenzamide (Abbildung 19) zu den Amidphotolysen konnten in einstufigen Synthesen sehr einfach hergestellt werden.

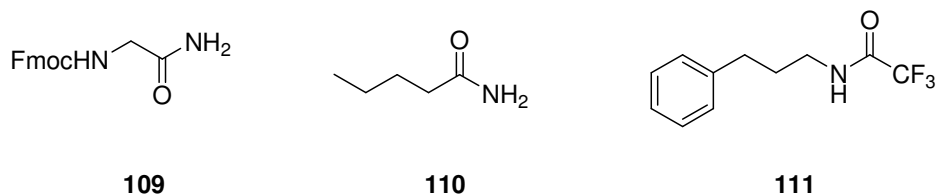


Abbildung 19: Kommerziell nicht erhältliche Amidreferenzen.

Glycinamid-Hydrochlorid wurde mit Natriumhydrogencarbonat versetzt und mit Fluorenylmethyloxycarbonylchlorid (Fmoc-Cl) zu Fmoc-Glycinamid (**109**) umgesetzt, wobei die Ausbeute mit 20 % sehr mäßig war.¹⁰⁶ Valeriansäureamid (**110**) erhielt man durch Ammonolyse von Valeroylchlorid in 50 %-iger Ausbeute.¹⁰³ Durch Trifluoracetylierung von 3-Phenylpropylamin mit Trifluoressigsäureethylester war das Trifluoracetamid **111** quantitativ zugänglich.

9.2.3 Photolysen

9.2.3.1 Lösliche Amidsubstrate **104**, **105** und **106**

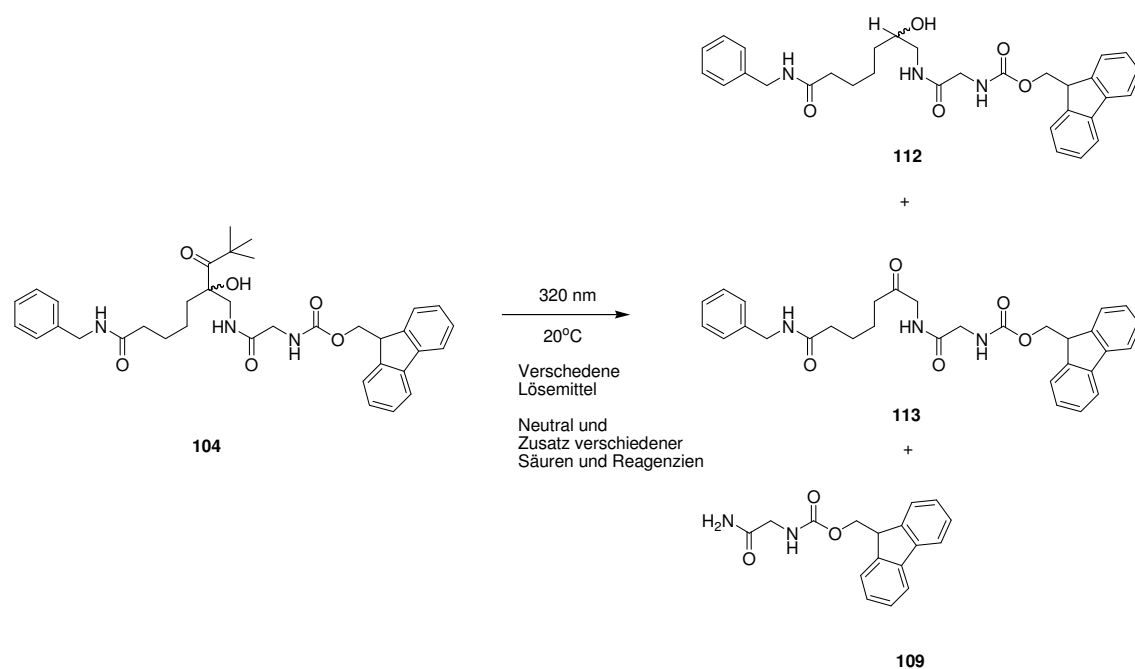
Allgemeine Photolysebedingungen

In Quarzglasküvetten wurden die löslichen Amidsubstrate Lösungsmittel mit der Hg-Hochdrucklampe-Lampe (Lichtquelle 1) und 320 nm-Steilkantenfilter bei 20 °C belichtet. Die Auswertung der Photolysen erfolgte mittels RP-HPLC, sowie GC.

Photolinker-Glycinamid **104**

Das Glycinamid **104** wurde in verschiedenen protischen (Methanol) und aprotischen Medien (Dichlormethan, Tetrahydrofuran) belichtet (Schema 38). Die Belichtungen erfolgten sowohl unter neutralen Bedingungen, als auch unter Zusatz von unterschiedlich starken Protonensäuren wie Salzsäure, p-Toluolsulfonsäure und Essigsäure und des Wasserstoffdonors 1,4-Cyclohexadien.

Die identifizierten Hauptprodukte waren stets der Alkohol **112** und das Keton **113**. Fmoc-Glycinamid (**109**) konnte nur im Belichtungsansatz mit Methanol unter Zusatz von p-Toluolsulfonsäure in einer Ausbeute von weniger als 8% nachgewiesen werden.



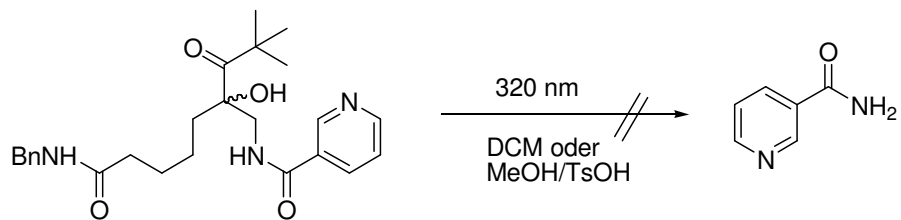
Schema 38: Photolysen des Amidsubstrats **104**.

Die eindeutige Charakterisierung der Reaktionsprodukte **112** und **113** erfolgte in einer präparativen Photolyse (100 min) des Glycinamids **104**, nach der die Produkte mit präparativer RP-HPLC isoliert wurden. Die Strukturen wurden NMR-spektroskopisch mit ^1H -COSY und ^1H - ^{13}C -HMQC-Messungen aufgeklärt.

Der Nachweis von Fmoc-Glycinamid (**109**) erfolgte einerseits durch Koinjektion der Referenzverbindung und andererseits durch präparative Photolyse (100 min) in Methanol unter Zusatz von *p*-Toluolsulfonsäure und nachfolgender chromatographischer Isolierung von **109** für NMR-Messungen.

Valeriansäureamid-Vorläufer **105** und Nicotinsäureamid-Vorläufer **106**

Valerianamid und Nicotinamid konnten durch Belichtung der Vorläufer **105** und **106** in Dichlormethan und Methanol/*p*-TsOH nicht freigesetzt werden (Schema 39).

**105****106**

Schema 39: Belichtung der Amidvorläufer **105** und **106**.

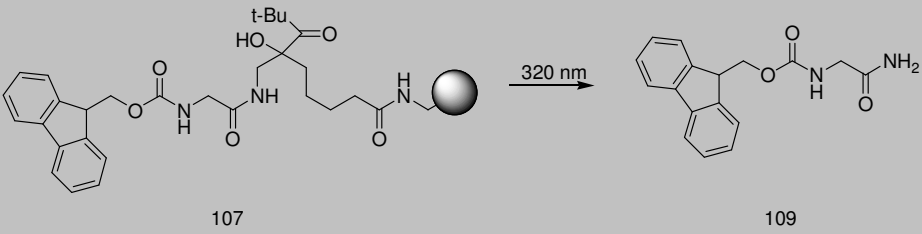
Es wurden lediglich uneinheitliche Reaktionsgemische gefunden, die nicht identifiziert werden konnten.

9.2.3.2 Festphasengebundene Amidsubstrate **107** und **108**

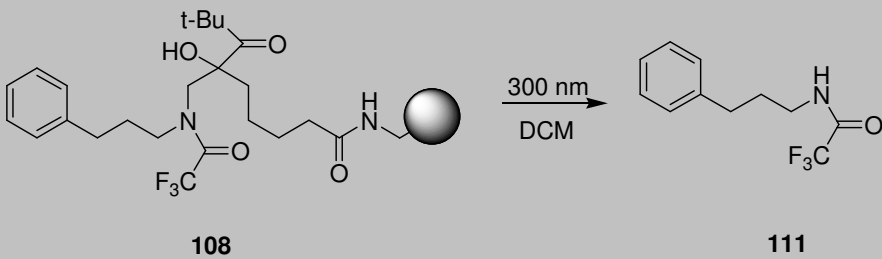
Der polymere Amidvorläufer **107** (10 μmol) wurde zu den in Tabelle 16 angegebenen Bedingungen bei 16 °C mit Lichtquelle 1 belichtet.

Die Produktbestimmung erfolgte mittels RP-HPLC unter Verwendung der Referenzverbindungen und Kalibriergeraden.

Tabelle 16: Photospaltung von **107** mit unterschiedlichen Säureäquivalenten.

				
Lösemittel	Zusatz	hv	Photolyse-dauer	Ausbeute
MeOH	-	320 nm	90 min	0 %
	10 eq. p-TsOH			< 8 %
	150 eq. p-TsOH			< 8 %

Der polymere Amidvorläufer **108** (5 μmol) in Dichlormethan wie in Tabelle 17 angegeben, mit Lichtquelle 2 in einem Quarzglasröhrchen bei 25 °C belichtet. Die Lösung der Photolyseprodukte wurde vom Harz dekantiert und lyophilisiert. Das Spaltprodukt wurde mittels ESI-MS und RP-HPLC identifiziert und quantifiziert.

Tabelle 17: Photospaltung von **108** in neutralem und stark saurem Medium.


Edukt (mg/ μ mol) Lösemittel	Zusatz	$h\nu_{\max}$	Photolyse- dauer	Ausbeute (RP-HPLC) [ESI-MS, %]
Dichlormethan	-	300 nm	100 min	< 1 %
	10 eq. HCl		100 min	8 % [232 M+H ⁺ , (100)]

9.2.4 Zusammenfassung

Zur Untersuchung der photochemischen Abspaltung von Aminen wurden 3-Phenylpropylamin und Piperidin über den Epoxidlinker **28** durch Epoxidöffnung unter Lewisäurekatalyse am polymeren Träger immobilisiert (**98**, **99**). Die Photolysen bei 305 nm lieferten die entsprechenden Amine in neutralen oder stark sauren Medien zu höchstens 8 % der erwarteten Menge. Die erhaltenen Photolyseproben bestanden mehrheitlich aus nicht definierbaren Zersetzungsprodukten.

Zur Untersuchung der photochemischen Entschützung von Amidin in homogener Phase wurden die Amidvorläufer **104**, **105** und **106** des Fmoc-Glycinamids, des Valeriansäureamids und Nicotinsäureamids durch Kupplung der aktivierten Carbonsäuren oder der Säurechloride an den Aminlinker **103** erhalten. Zur Photolyse an der Festphase wurden das immobilisierte Fmoc-Glycinamid **107** aus dem Aminlinker **30** und aktiviertem Fmoc-Glycin, sowie aus Amin **98** durch Trifluoracetylierung das Trifluoracetamid **108** erhalten.

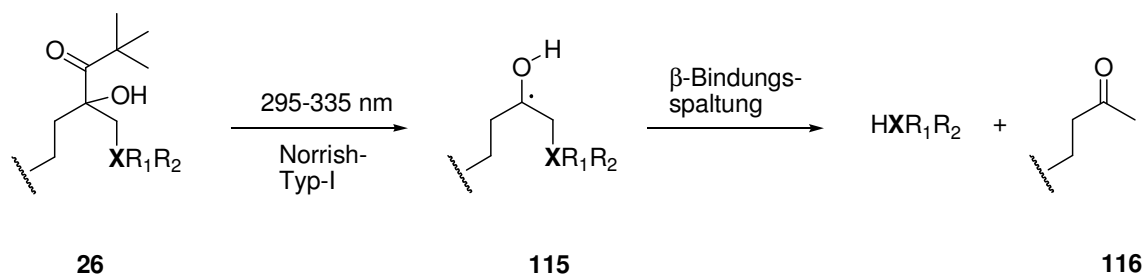
Die Belichtung des löslichen Glycinamidderivats **104** lieferte in neutralen protischen und aprotischen Medien, sowie bei Zusatz von Protonensäuren und H-Donoren (1,4-Cyclohexadien) fast ausschließlich das H-Einfangprodukt **112** und das Keton **113** in ähnlichen Konzentrationen. Die Identität dieser Produkte wurde durch präparative Photolysen und NMR-Untersuchungen gesichert. Fmoc-Glycinamid (**114**) konnte lediglich in Methanol mit *p*-TsOH als Zusatz in Spuren nachgewiesen werden.

Die Entschützungsversuche an den polymeren Trägern zeigten ein ähnlich ernüchterndes Ergebnis. Sowohl Fmoc-Glycinamid (**114**) als auch das Trifluoracetamid **111** konnten unter neutralen Bedingungen nicht erhalten werden. Bei mehr als zehnfachem Überschuß an Säure konnten die erwarteten Amide zu höchstens 8 % wiedergewonnen werden.

Der Pivaloyllinker läßt sich zur Entschützung von Aminen und Amiden an der Festphase nicht einsetzen, wie zusammenfassend festgestellt werden kann.

9.2.5 Diskussion

Carbonsäuren^{51,69} und Alkohole⁵³ lassen sich in sehr guten Ausbeuten vom Festphasen-Pivaloyllinker abspalten. Amine und Amide lassen sich nur in Spuren freisetzen, wie die vorgehend beschriebenen Experimente bestätigen. Der in Schema 40 gezeigte Mechanismus wird dabei in Betracht gezogen



Schema 40: Pivaloyllinker **26**. Bildung des Primärradikals **115** und β-Bindungsspaltung mit Bildung des Ketons **116**.

Die rasche Eliminierung der Carboxylate wird einerseits über ihre Abgangsgruppenqualität bestimmt, die im Zusammenhang mit den pK_s-Werten steht, zum anderen in der Mesomeriestabilisierung des Anions. Im Falle der Carbonsäureester-Primärradikale (**115**) liegt insofern eine Besonderheit vor, als der H-Transfer von der Hydroxylgruppe zum Carbonylsauerstoff nach Ausbildung eines thermodynamisch günstigen siebengliedrigen Übergangszustands **117** erfolgt (Abbildung 20).

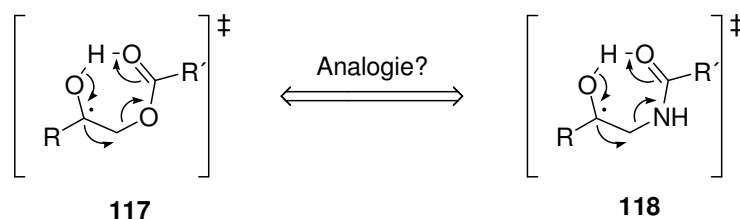


Abbildung 20: Siebengliedriger Übergangszustand **117** bei der radikalinduzierten Esterspaltung. Denkbare analoge Übergangszustand **118** während der Amidspaltung.

In dieser Konformation überlappen sich die σ^* -Orbitale der β -C-O-Bindung mit denen des Radikalzentrums. Dieser Effekt des H-Transfers reduziert sich drastisch bis um einen Faktor von 10^{-3} , wenn die Hydroxygruppe methyliert wird.¹⁰⁷ Es handelt sich dabei um einen konzertierten Mechanismus, der auch durch das Lösungsmittel bestimmt wird. Die Eliminationen verlaufen in protischen Medien langsamer als in aprotischen, da die Ausbildung von Wasserstoffbrücken in letzteren begünstigt wird.⁵² Ein ähnlicher Übergangszustand **118** wäre auch für Amide denkbar gewesen. Diese Hypothese ist aber nach den Ergebnissen der Produktstudie eher unwahrscheinlich.

Wenig Aufschluß über den Photolysenablauf bringt auch die Betrachtung der pK_s -Werte der erwarteten Spaltprodukte. Sowohl aliphatische Alkohole, die gut eliminieren, als auch Amide zeigen identische pK_s -Wertebereiche um 15 in den Neutralformen und etwa -2 bei den protonierten Spezies (Tabelle 18).¹⁰⁸ Man würde aufgrund dieser Analogie ein vergleichbares Eliminationsverhalten erwarten. Der Unterschied in den Reaktivitäten erstaunt umso mehr, als die stärker basischen Amine nach Protonierung nachweislich besser eliminieren, obwohl die korrespondierenden Ammonium-Säuren lediglich pK_s -Werte von 10-11 haben.⁵⁴

Tabelle 18: pK_s -Werte von O- und N-Basen und ihrer korrespondierenden Säuren.

O-/N-Base	pK_s (H ₂ O)	Korrespondierende Säure pK_s (in H ₂ O)	Korrespondierende Säure pK_s (H ₂ SO ₄)
Carbonsäuren	0.1 - 5	-7	-7.5 bis -6.5
aliphatische Alkohole	12 - 18	-2	-4 bis -2
Amide	≈ 15	-1.5	-
Amine	≈ 35	10 - 11	-

Der β -Bindungsbruch läuft im Amidsystem lediglich als Nebenreaktion ab. Sekundäre Linker-Amide (**104**) und tertiäre Linker-Amide (**108**) unterscheiden sich dabei in ihrer Reaktivität nicht. Die bevorzugt ablaufenden Reaktionen nach der Norrish-Typ-I-Spaltung sind der H-Abfang des Primärradikals durch einen H-Donor unter Bildung des hydroxylierten Produktes **112** und die Bildung der Ketofunktion in Verbindung **113**, welche sich durch die Oxidation des Primärradikals zum tertiären Kation erklären läßt. Dieses Kation stabilisiert sich unter Abgabe des Hydroxylprotons schließlich zum Keton **113**.

Die Präsenz des H-Donors 1,4-Cyclohexadien oder des Lösungsmittels Tetrahydrofuran begünstigen die Bildung des Produktes **112** geringfügig. Dichlormethan ist ein schwacher H-Donor, was die leicht bevorzugte Bildung des Produktes **113** erklären kann. Der Nachweis von Fmoc-Glycinamid (**109**) unter ausschließlich sauren Bedingungen läßt auf einen bevorzugt säurekatalysierten, von der Primärradikalbildung unabhängigen β -Bindungsbruch schließen.

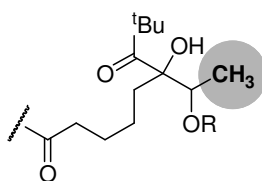
10 Ein modifizierter Pivaloyllinker

10.1 Einleitung

Der Pivaloyllinker kann zur effizienten Freisetzung von Carbonsäuren unter pH-neutralen Bedingungen eingesetzt werden. Die Abspaltung von immobilisierten Alkoholen verläuft in neutralen Medien wie Methanol mit geringen Ausbeuten von 10-20%, annähernd quantitativ jedoch bei Zugabe von 1-2 Äquivalenten Säure. Dieser Effekt läßt sich besonders bei der Verwendung von Dichlormethan oder Chloroform als Lösungsmittel beobachten. Während der Belichtung werden durch Zersetzung aus ihnen Spuren von Chlorwasserstoff freigesetzt, der durch Protonierung des Ether-Sauerstoffs die photochemisch induzierte Elimination stark begünstigt.

Wünschenswert ist auch für die Alkoholabspaltung die Photolyse unter neutralen Bedingungen, um die Anwendungsbreite des Photolinkers auch für säurelabile Substrate zu erweitern. Eine Annäherung an die Lösung dieses Problems kann die strukturelle Änderung des Linkers am β -Kohlenstoffatom der β -C-O-Bindung sein. Durch geeignete induktiv wirkende Substituenten könnte die intermediäre Radikalstufe stabilisiert und der Austritt des Alkoholats begünstigt werden.

Am Beispiel des β -methylmodifizierten Linkersystems **119** (Abbildung 21) sollte untersucht werden, ob der stabilisierende Einfluß der Methylgruppe auf das intermediäre Radikal die Spaltausbeuten unter neutralen Bedingungen erhöht.

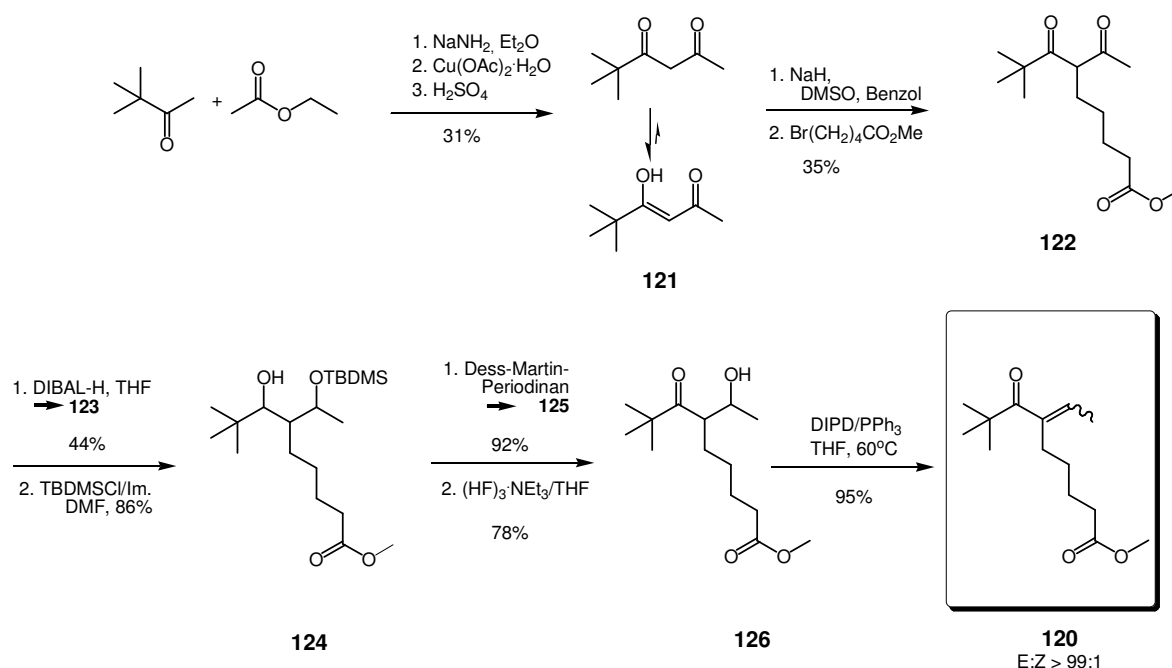


119

Abbildung 21: β -methylmodifiziertes Linkersystem **119**.

10.2 Synthese des Linkergerüsts

Das α,β -ungesättigte Keton **120** konnte in einer racemisch geführten siebenstufigen Synthese erhalten werden (Schema 41). Ausgehend vom enolisierten Diketon **121**, welches durch basische Kondensation von Ethylacetat mit Pinakolin¹⁰⁹ gewonnen wurde, erhielt man in einer S_N2 -reaktion mit dem Enolat und 5-Brompentansäuremethylester das 1,3-Diketon (*rac*)-6-Acetyl-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-methylester (**122**).¹¹⁰ Nach der vollständigen Reduktion¹¹¹ des Diketons zum 1,3-Diol **123** und selektiver TBDMS-Schützung⁵⁸ zu **124** wurde mit Dess-Martin-Periodinan zum Keton **125** oxidiert¹¹² und nach der Desilylierung der β -Ketoalkohol **126** erhalten.⁶⁴ Elimination von Wasser unter Mitsunobu-Bedingungen¹¹³ mit Di-*iso*-propylazodicarboxylat und Triphenylphosphin lieferte schließlich den Vorläufer **120** in einer Gesamtausbeute von 3 % über sieben Stufen.



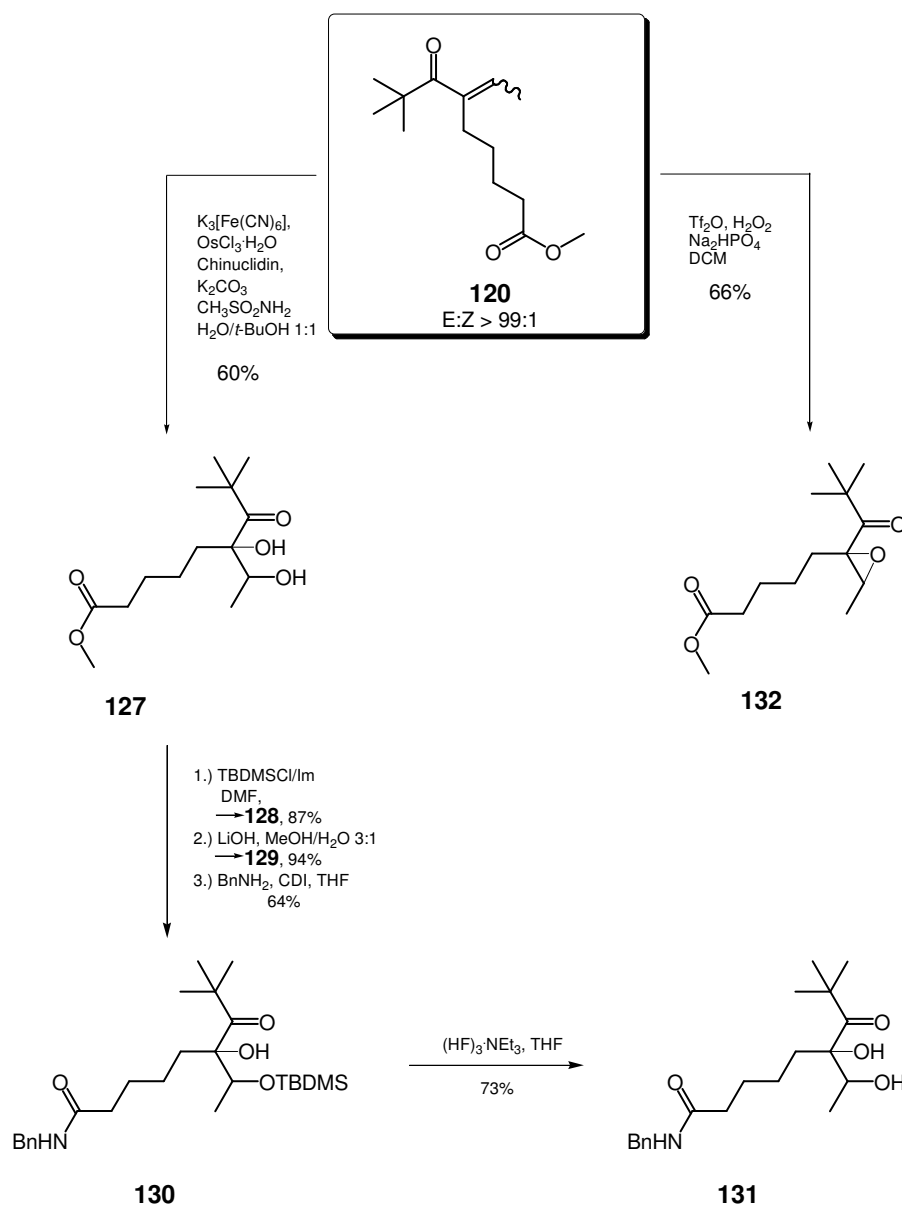
Schema 41: Aufbau des modifizierten Linkergerüsts **120**.

10.2.1 Funktionalisierung des Linkers

Das Keton **120** wurde durch Dihydroxylierung in Gegenwart von Osmium(III)-chlorid in das Diol **127** überführt.¹¹⁴ Nach selektiver TBDMS-Schützung⁵⁸ der sekundären Hydroxylgruppe zu **128**, anschließender Verseifung des Methylesters mit Lithiumhydroxid⁵⁹ zu **129**,

Aktivierung der Carbonsäure mit Di-isopropylcarbodiimid und Kupplung mit Benzylamin erhielt man das Benzylamid **130**.¹¹⁵ Die Silylschutzgruppe wurde mit Triethylamin-tris-hydrofluorid entfernt.⁶⁴ Der Diollinker **131** konnte auf diese Weise in einer Ausbeute von 23% hergestellt werden.

Das Epoxidid **132** wurde durch Oxidation des α,β -ungesättigten Ketons **120** mit Trifluorperessigsäure gewonnen, welche *in situ* aus Trifluoressigsäureanhydrid und Wasserstoffperoxid (87%, *Propulse*[®] Degussa) hergestellt wurde.¹¹⁶ Die Epoxidierung verlief mit einer Ausbeute von 66%.

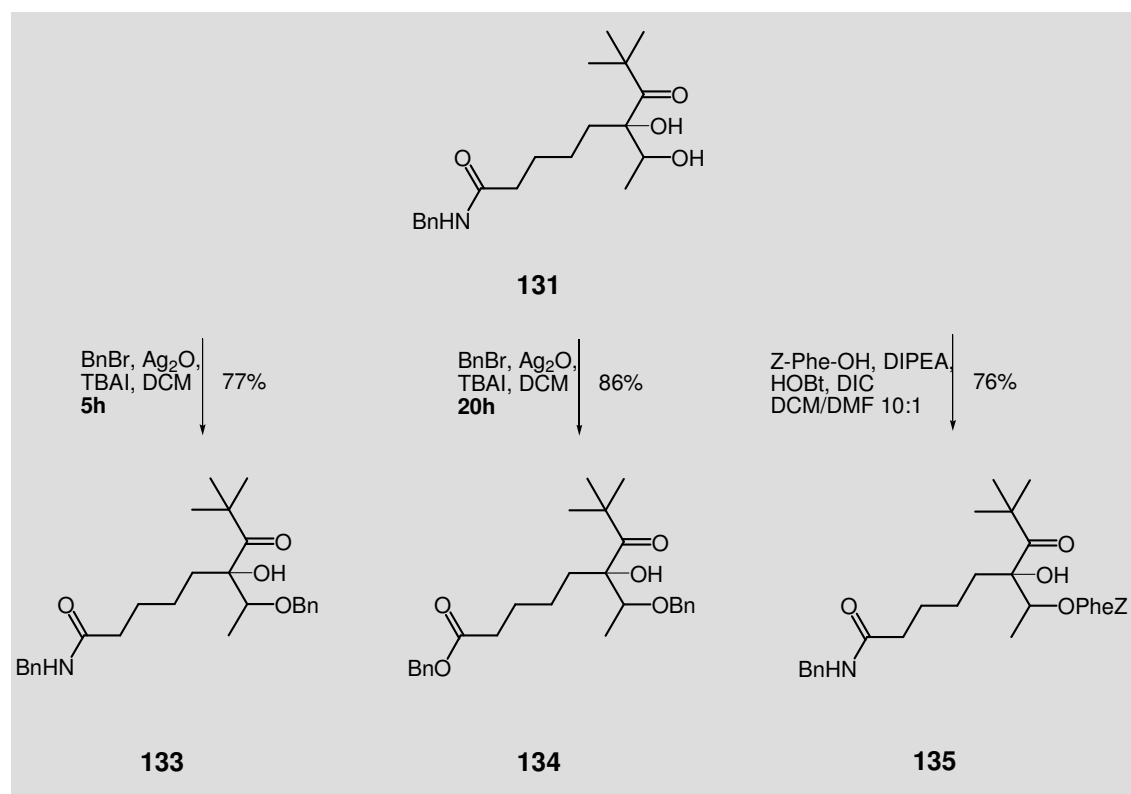


Schema 42: Dihydroxylierung und Epoxidierung des α,β -ungesättigten Ketons **120**.

10.2.2 Synthese der Photolysesubstrate (Schema 42)

Der Benzylether **133** wurde durch Benzylierung von Diol **131** mit Benzylbromid in Gegenwart von frisch gefälltem Silberoxid¹¹⁷ gewonnen.¹¹⁸ Bei einer Reaktionszeit von 20 h wurde zudem überraschenderweise das Benzylamid vollständig in den Benzylester **134** umgewandelt.

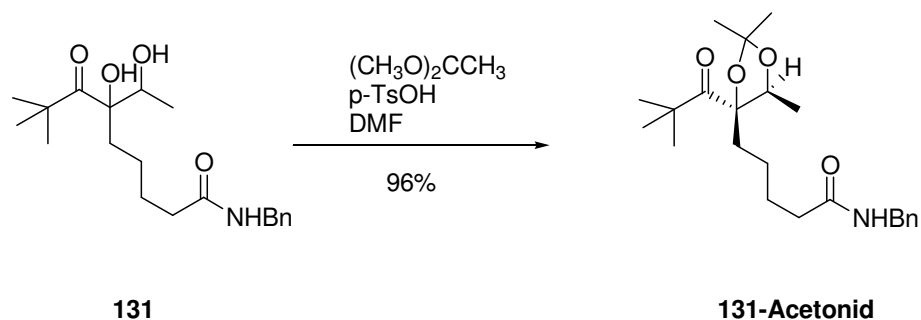
Der Ester **135** war nach DIC/HOBt-Aktivierung von Z-Phenylalanin zugänglich.⁷⁵



Schema 43: Herstellung der Photolysesubstrate **133**, **134** und **135**.

10.2.3 Bestimmung der relativen Stereochemie am Diol 131

Das Diol **131** wurde mit Acetondimethylacetal unter Toluolsulfonsäurekatalyse zum **131-Acetonid** geschützt (Schema 44).¹¹⁹ Die Zuordnung der Konfiguration erfolgte NMR-spektroskopisch durch NOEDIF, $^1\text{H-COSY}$ - und $^1\text{H-}^{13}\text{C-HMBC}$ -Messungen.¹²⁰



Schema 44: Herstellung von **131-Acetonid** zur Bestimmung der relativen Stereochemie des Diols **131**.

10.3 Photolysen

Die Substratmodelle **133** und **135** wurden als Lösungen in verschiedenen protischen und aprotischen Lösungsmitteln belichtet. Die Photolysen erfolgten aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit in neutralen und angesäuerten Ansätzen, sowie auch im direkten Vergleich mit dem bereits bekannten, nichtmodifizierten Pivaloyllinkermodell **136**.

10.3.1 Photolyse des Benzylethers **133** unter verschiedenen Bedingungen

Bereits in den qualitativen Vorversuchen konnte bei der Spaltung der Photolinker-Benzylether neben dem erwarteten Benzylalkohol (**137**) auch Benzaldehyd (**138**) nachgewiesen werden. Zur Umsatzbestimmung wurde deshalb auch auf Benzaldehyd kalibriert.

10.3.2 Photolyse des Benzylethers **133** in verschiedenen Lösungsmitteln *ohne Säurezusatz*

Die ersten Belichtungen des Benzylethers **133** erfolgten in Analogie zu den vorhergehenden Experimenten in verschiedenartigen Medien, um die geeignetsten Lösemittel für weitere Untersuchungen zu finden (Tabelle 19).

Tabelle 19: Photolytische Freisetzungen von Benzylalkohol (**137**) aus **133** in neutralen Lösemitteln.

CC(C)(O)C(OCC1=CC=CC=C1)CCCC(=O)NC2=CC=CC=C2
→^{305 nm}
OCC1=CC=CC=C1
+ Linker-Spaltprodukte

133 **137**

Lösemittel	Wellenlänge	Photolysedauer	Ausbeute BnOH
Dichlormethan	305 nm	30 min	64 %
Chloroform	305 nm	30 min	65 %
Benzol	305 nm	60 min	26 %
Methanol	305 nm	60 min	7 %
DMSO	305 nm	60 min	3 %

Die besten Spaltausbeuten fanden sich beim Einsatz halogener Lösungsmittel. Hier zeichnete sich bereits im Vorfeld ein dem unmodifizierten Linker ähnliches Reaktionsverhalten ab. In benzolischer Lösung wurde mehr Benzylalkohol gefunden als in Methanol und DMSO, die vor allem nicht zur Elimination führende Nebenreaktionen begünstigen.

10.3.3 Photolyse des Benzylethers **133** in verschiedenen Lösungsmitteln *mit Säurezusatz*

Wegen ihres in neutralem Zustand auffälligen Einflusses auf die Produktverteilung wurde den Photolyseproben in Dichlormethan und Methanol vor der Belichtung geringe Mengen (2 Äquivalente) Chlorwasserstoff zugesetzt (Tabelle 20).

Tabelle 20: Photolytische Freisetzung von Benzylalkohol (**137**) aus **133** in Gegenwart von Chlorwasserstoff.

CC(C)(C)C(O)(OCc1ccccc1)C(=O)NCCc2ccccc2 $\xrightarrow{305\text{ nm}}$ OCCc1ccccc1 $\xrightarrow{\text{teilweise Oxidation}}$ O=Cc1ccccc1

133 **137** **138**

+ Linker-Spaltprodukte

Lösemittel (Zusatz)	Wellenlänge	Photolyse- dauer	Ausbeute BnOH	Ausbeute PhCHO
Dichlormethan	305 nm	5 min	36 %	1 %
		10 min	54 %	< 2 %
		15 min	58 %	< 2 %
		20 min	64 %	2 %
		30 min	64 %	2 %
Dichlormethan (2 eq. HCl)	305 nm	0 min	5 %	n. n.
		1 min	17 %	< 1 %
		2 min	35 %	2 %
		3 min	45 %	2 %
		4 min	51 %	2 %
		5 min	53 %	4 %
		10 min	72 %	6 %
		20 min	76 %	4 %
		30 min	82 %	7 %
		40 min	76 %	10 %
		50 min	73 %	8 %
60 min	73 %	12 %		
Methanol	305 nm	60 min	7 % <i>viele Nebenprod.</i>	< 1 %
Methanol (2eq. HCl)	305 nm	30 min	66 %	2 %
	305 nm	60 min	72 %	2 %

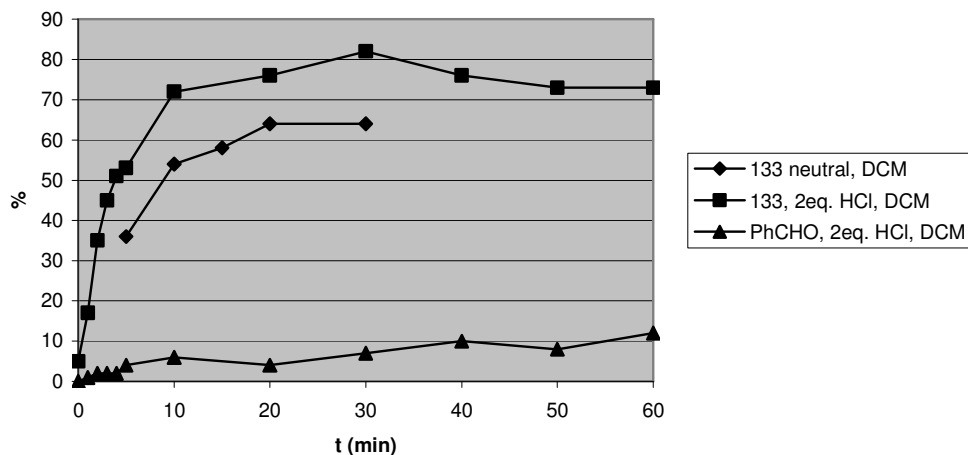


Abbildung 22: Obere und mittlere Kurve: Photolyse des Substrats **133** mit Freisetzung von Benzylalkohol in neutralem Dichlormethan und unter Säurezusatz. Untere Kurve: Konzentration von Benzaldehyd aus einer Nebenreaktion.

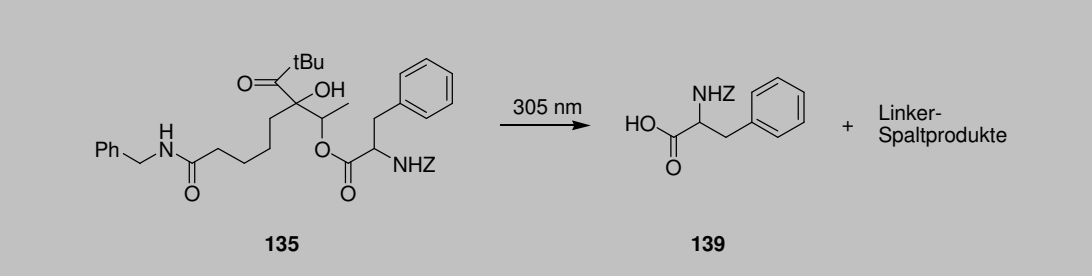
In *neutrale*m Dichlormethan lag der Photolyseumsatz unter Berücksichtigung des Oxidationsprodukts Benzaldehyd bei 66 %, nach Säurezugabe bei maximal 89 %. Es wurde bereits in der unbelichteten Probe 5 % Benzylalkohol (**137**) gefunden, was auf partielle Esterhydrolyse oder den Einfluß von Tageslicht, bzw. künstliche Raumbeleuchtung zurückgeführt werden kann.

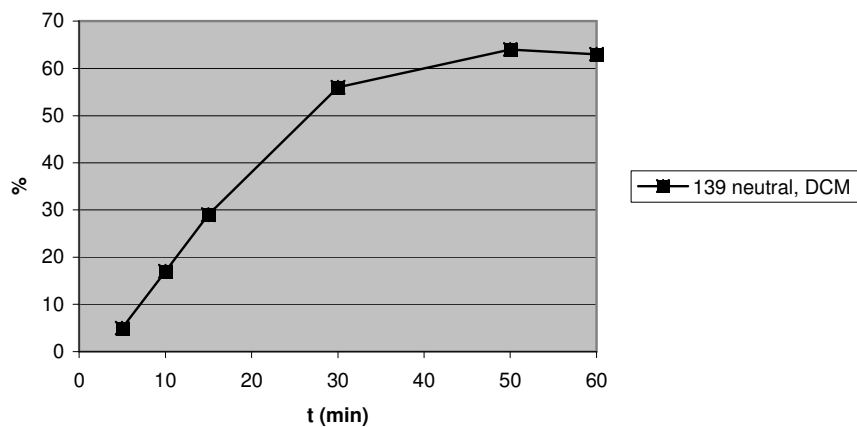
Viel auffälliger war der Säureeffekt in Methanol. Konnten in neutraler Lösung weniger als 10 % Benzylalkohol (**137**) gefunden werden, steigerte sich die Ausbeute bei Zugabe von 2 Äquivalenten Salzsäure auf insgesamt 74 %.

10.3.4 Photolyse des *Z*-Phenylalaninesters **135**

Interessant schien auch die Spaltung des photolabilen Phenylalaninesters **135** im Vergleich zu den Ergebnissen, die mit dem bekannten Pivaloyllinker im Zusammenhang mit den Carbonsäure- und Peptidfreisetzungen erhalten wurden.

Tabelle 21: Photolytische Freisetzung von Z-Phenylalanin (**139**) aus **135**.

			
Lösemittel	Wellenlänge	Photolysedauer	Ausbeute 139 (RP-HPLC)
Dichlormethan	305 nm	5 min	5 %
		10 min	17 %
		15 min	29 %
		30 min	56 %
		50 min	64 % viele Nebenprodukte
		60 min	63 % viele Nebenprodukte

**Abbildung 23:** Photolyse des Substrats **133** mit Freisetzung der Aminosäure **139** in neutralem Dichlormethan.

Die höchste erreichte Phenylalaninmenge lag bei 64 % (Tabelle 21), wobei ein sehr inhomogenes Produktgemisch mit vielen nichtidentifizierbaren Nebenprodukten vorgefunden wurde. Es ist nicht auszuschließen, daß bei Belichtungszeiten von mehr als 30 min die Z-Schutzgruppe des Phenylalanins zersetzt wird.

10.3.5 Vergleichende Photolysen der Linker-Benzylether **133** und **136**⁵⁴

Es zeigte sich bereits, daß auch der modifizierte Linker die besten Spaltausbeuten unter Zusatz von geringen Säuremengen (2 Äquivalente) liefert. Die β -Methylderivatisierung bewirkt somit keine graduelle Änderung der Reaktivität im Vergleich zum unsubstituierten Pivaloyllinker.

Die Benzylether beider Linkersysteme (**133** und **136**) wurden unter identischen experimentellen Bedingungen gleichzeitig mit Licht von 305 nm bestrahlt (Tabelle 22).

Tabelle 22: Gegenüberstellung der beobachteten Photolyseausbeuten von Benzylalkohol (**137**) und Benzaldehyd (**138**) beim Einsatz von **136** und **133**.

136: R = H
 133: R = CH_3

137
 + Linker-Spaltprodukte

138

			133 (R = CH₃)		136 (R = H)	
Lösemittel (Zusatz)	Wellen- länge	Photolyse- dauer	Ausbeuten		Ausbeuten	
			BnOH	PhCHO	BnOH	PhCHO
Dichlormethan (2 eq. HCl)	305 nm	0 min	5 %	n.n.	12 %	<1 %
		1 min	17 %	1 %	22 %	2 %
		2 min	35 %	2 %	33 %	3 %
		3 min	45 %	2 %	34 %	3 %
		4 min	51 %	2 %	45 %	4 %
		5 min	53 %	4 %	48 %	4 %
		10 min	72 %	6 %	70 %	7 %
		20 min	76 %	4 %	71 %	7 %
		30 min	82 %	7 %	72 %	10 %
		40 min	76 %	10 %	72 %	16 %
		60 min	73 %	12 %	59 %	22 %

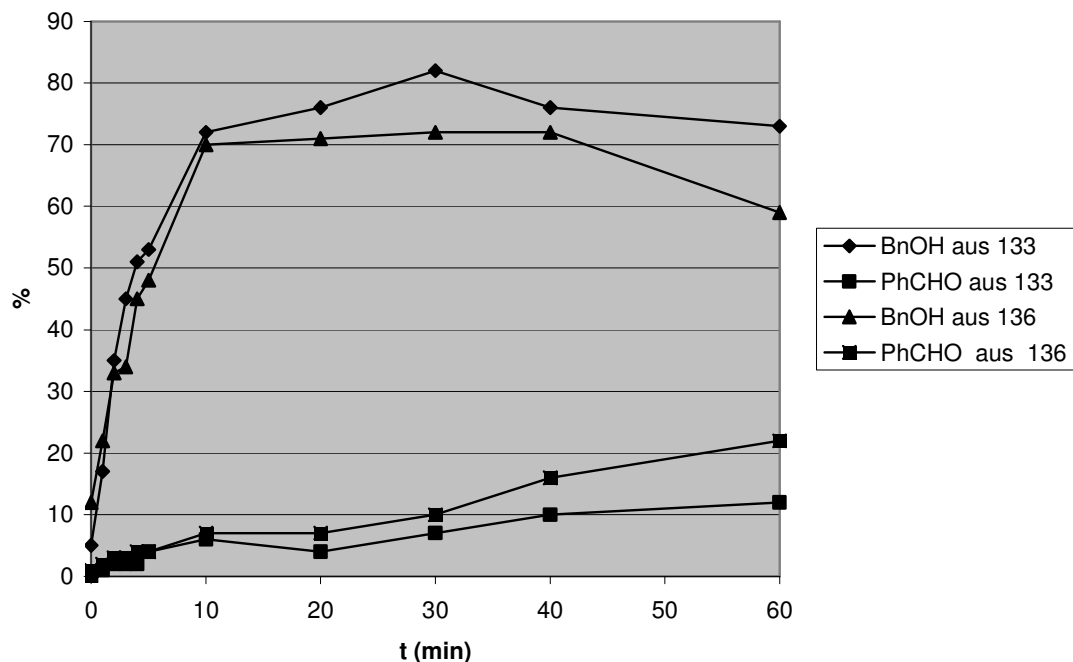


Abbildung 24: Obere Kurven: Photolysen des Substrate **133** und **136** mit Freisetzung von Benzylalkohol in Dichlormethan unter Säurezusatz. Untere Kurven: Konzentrationen von Benzaldehyd aus einer Nebenreaktion.

Beide Linker setzten Benzylalkohol (**137**) während der 60 minütigen Photolyse in ähnlichem Maße frei. Dabei korrelierten auch die gefundenen Produktmengen mit den jeweiligen Zeitintervallen. Beide Systeme setzten den Alkohol bereits nach 5 Minuten zu mehr als 50 % frei. Nach 40 Minuten war die höchste Produktgesamtausbeute mit 86 % für den methylderivatisierten Linker **133** und 88 % für den unsubstituierten **136** erreicht. Das Oxidationsfolgeprodukt **138** konnte in erheblichen Mengen von 12 % nach der Belichtung von **133** und zu 22 % bei der Belichtung des Vorläufers **136** nachgewiesen werden. Beachtlich sind die gefundenen Mengen **137** von 5 % und 12 % in der *Dunkelreaktion* vor dem Beginn der Bestrahlung mit der UV-Lampe.

10.4 Zusammenfassung

Es wurde ein strukturell leicht modifiziertes Pivaloyllinker-Modell **131** hergestellt und seine Reaktivität bei der Belichtung im Vergleich mit dem bereits etablierten Pivaloyllinker **136** untersucht. Der strukturelle Unterschied des neuen Linkers besteht in einer zusätzlichen Methylgruppe am β -Kohlenstoffatom der β -C-O-Bindung.

Der Linker **131** wurde in einer 12-stufigen, nichtoptimierten Synthese unter Isolierung und Charakterisierung aller Zwischenstufen mit einer Gesamtausbeute von 1% erhalten.

Zur Prüfung der Spaltungseffizienz des neuen Linkers wurden der Benzylether **133** und der Phenylalaninester **135** gewählt. Die Photolysen bei 305 nm in verschiedenen protischen und aprotischen Lösungsmitteln lieferten jeweils die höchsten Spaltausbeuten an Benzylalkohol in Dichlormethan (89 %) und Methanol (74 %) unter Zusatz von 2 Äquivalenten Chlorwasserstoff. Ein vergleichendes Photolysenexperiment mit den Vorläufern **133** und **136** zeigte sehr ähnliche Produktausbeuten für beide Linker.

Nach der Spaltung des Esters **135** konnte Z-Phe-OH (**139**) zu 64 % gefunden werden, was keine Verbesserung gegenüber dem bereits vorhandenen Linker darstellt.

Der strukturell veränderte Linker unterscheidet sich in seiner Spaltungseffizienz nicht von seinen Vorgängern.

10.5 Diskussion

Der stabilisierende Effekt der neu eingeführten Methylgruppe führte nicht zur gewünschten Effizienzsteigerung bei der Eliminierung von Alkoholaten aus dem Primärradikal. Die experimentell bestimmten Stabilisierungseffekte auf Radikale betragen bei Alkylsubstituenten 2.0 - 3.5 kcal/mol.¹²¹ Dieser Wert ist verglichen mit anderen Kohlenstoff-Substituenten, die Mehrfachbindungen oder konjugierte Systeme besitzen (Phenyl-: 11 kcal/mol; Ethenyl- und Ethinyl-: 12 - 13 kcal/mol), verhältnismäßig klein. Ein photolabiler Linker mit diesen Substituenten könnte eine beschleunigte Alkoholatelimination ohne Säurekatalyse begünstigen.

Die Abschätzung der Molekülgeometrien des Pivaloyllinkers und des β -methylsubstituierten Linkers zeigen ebenfalls keine wesentlichen Unterschiede (Abbildung 25).¹²²

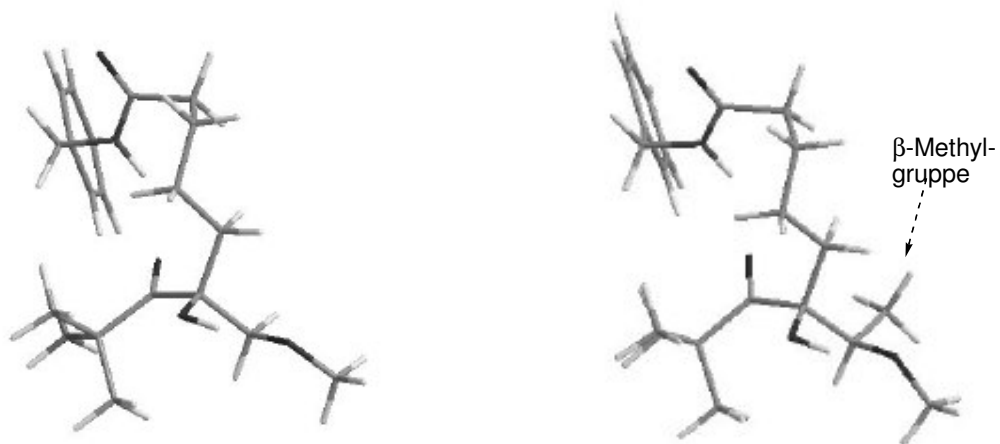
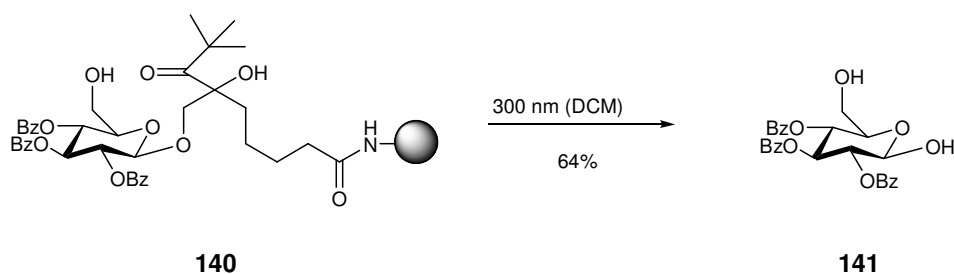


Abbildung 25: Abgeschätzte Geometrien des Pivaloyllinkers (links) und des neuen β -methylsubstituierten Linkers (rechts).

11 Photolabil geschützte Kohlenhydrate

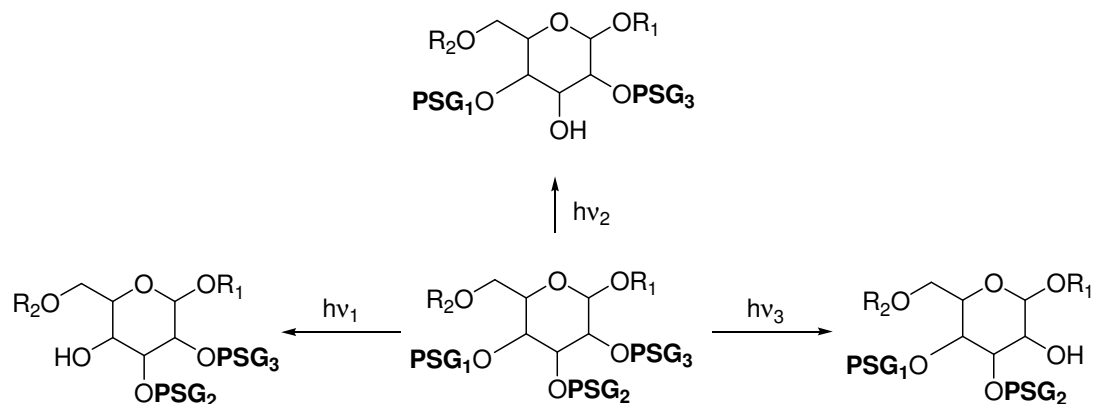
11.1 Hintergrund

Photolabile Schutzgruppen und Festphasenlinker werden schon seit längerer Zeit in der Synthese von Oligosacchariden eingesetzt. Am häufigsten finden Nitrobenzylschutzgruppen Verwendung, die in vielen Fällen eine quantitative Entschützung gewährleisten.¹²³ Das geschützte Glucosederivat **140** wurde als Modellverbindung vorgestellt, um abzuklären, ob die Pivaloylschutzgruppe in gleicher Weise für die Synthese von Glycosiden eingesetzt werden kann (Schema 45).⁵⁴ Die Benzoyl-Glucose **141** konnte dabei durch Belichtung bei 300 nm in einer Ausbeute von 64% erhalten werden.



Schema 45: Photolytische Spaltung der pivaloyllinkergeschützten Glucose **140** zu **141**.

Es sollte möglich sein, Glycoside in ähnlicher Weise photochemisch orthogonal zu schützen, wie dies in den vorangehenden Ausführungen über Peptide bereits gezeigt wurde (Schema 46).¹²⁴



Schema 46: Photochemisch orthogonale Schutzgruppenstrategie an Glycosiden (nach [124]).

Zu diesem Projekt sollen hier lediglich einige vorläufige Syntheseversuche verschiedener pivaloylgeschützter Glycoside beschrieben werden. Die Etablierung einer photochemisch orthogonalen Synthesestrategie unter Einbeziehung zweier oder mehrerer unterschiedlicher Photoschutzgruppen ist Gegenstand weiterer Untersuchungen und soll hier nicht näher ausgeführt werden.

Für geplante Photolyseexperimente waren die in Abbildung 26 gezeigten pivaloylgeschützten Mannosederivate **142** und **143**, sowie das Altrosederivat **144** vorgesehen.

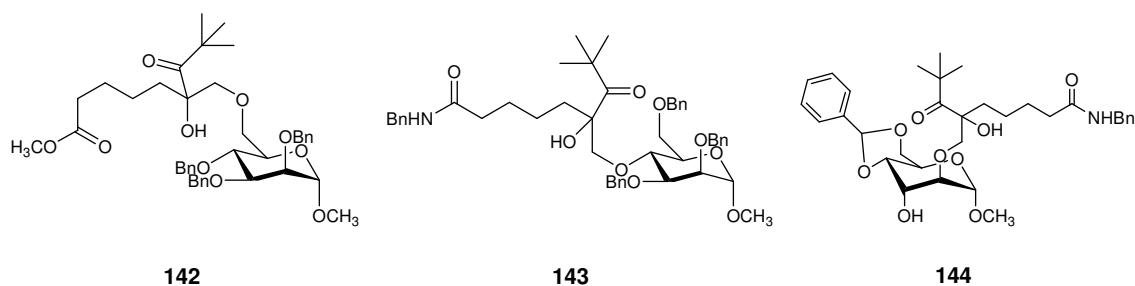


Abbildung 26: Photolabil geschützte Mannopyranoside **142**, **143**, und Altropyranosid **144**.

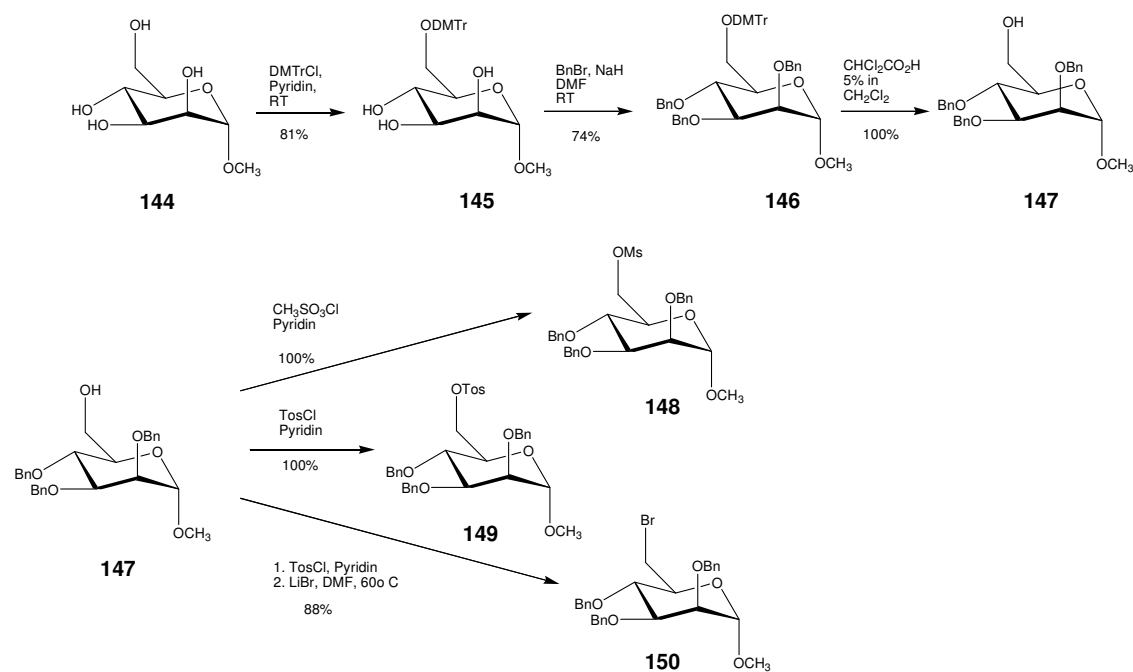
11.2 Synthesewege

Zur Synthese der pivaloylgeschützten Mannosen **142** und **143** wurden zunächst die Zuckerbausteine nach gängigen Methoden geschützt, bevor sie der Kupplung mit dem photolabilen Linker durch nucleophile Substitutionsreaktionen unterzogen wurden.

11.2.1 Mannopyranoside mit nucleofugen Gruppen an C-6

Ausgehend von Methyl- α -D-mannopyranosid (**144**) wurde zunächst der DMT-geschützte Zucker **145** hergestellt,¹²⁵ der nach vollständiger Benzylierung **146** lieferte.¹²⁶ Die DMT-Schutzgruppe wurde durch Behandlung mit Dichloressigsäure entfernt und lieferte das 6-O-entschützte Mannopyranosid **147** in einer Ausbeute von 60%.¹²⁷ Durch Mesylierung¹²⁸ mit Methansulfonsäurechlorid bzw. Tosylierung¹²⁹ mit Tosylchlorid konnten in quantitativen Reaktionen das Mesylat **148** und das Tosylat **149** erhalten werden. Das Bromid **150** wurde in

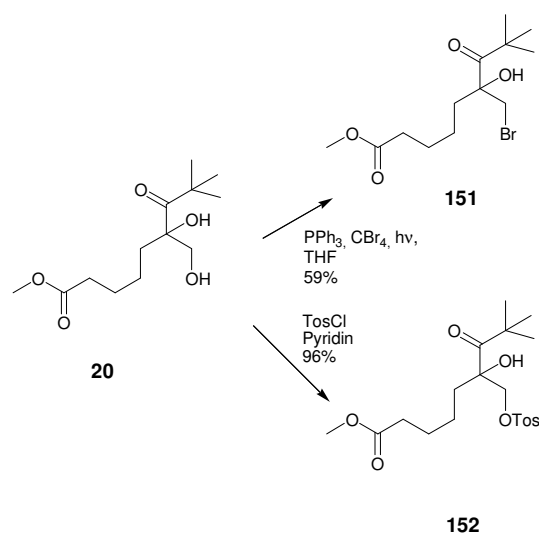
zwei Stufen über die Tosylierung von **147** und anschließende Bromierung mit Lithiumbromid in einer Ausbeute von 88 % erhalten (Schema 47).¹³⁰



Schema 47: Mannopyranoside **148**, **149**, **150** mit Nucleofugen an C-6.

11.2.2 Pivaloyllinker mit β -ständigen nucleofugen Gruppen

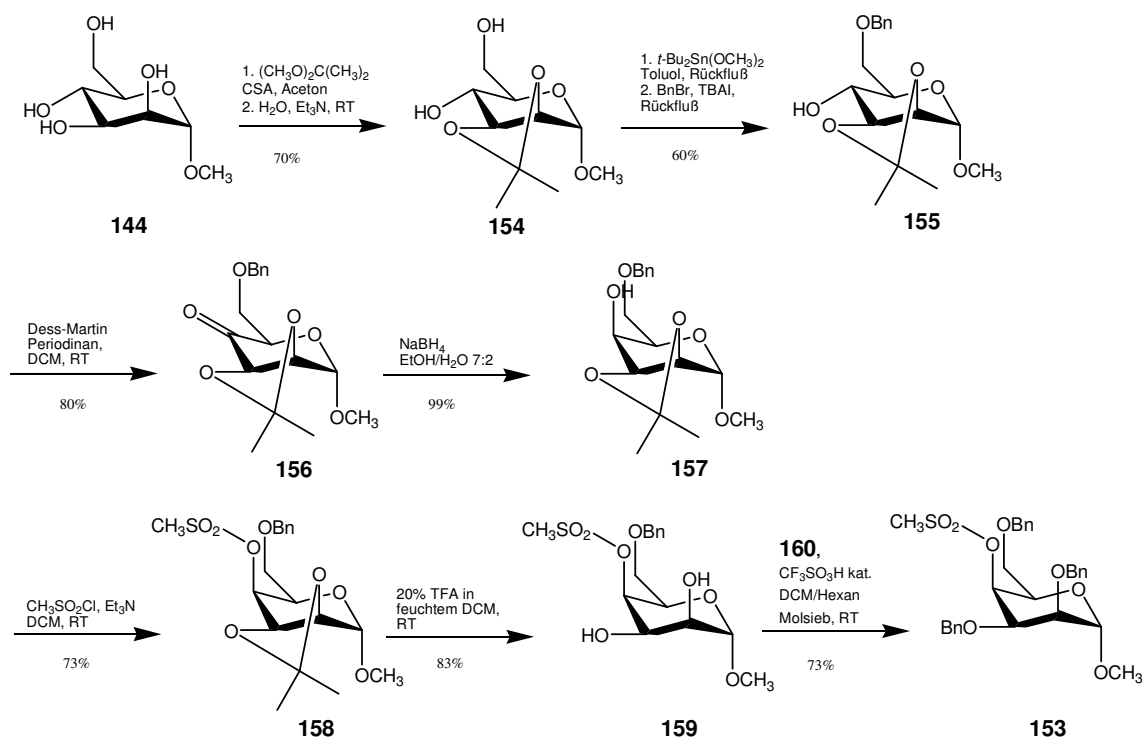
Der Diollinker **20** wurde durch lichtinduzierte radikalische Bromierung mit Tetrabrommethan und Triphenylphosphin zum Bromid **151** umgewandelt (59 %).¹³¹ Das Tosylat **152** wurde durch Schützung des Diols mit Tosylchlorid in Pyridin in einer Ausbeute von 96 % erhalten (Schema 48).¹²⁹



Schema 48: Pivaloyllinker-Derivate **151** und **152** mit β -ständigen Nucleofugen.

11.2.3 Talopyranosid **153** mit nucleofuger Gruppe an C-4

Ausgehend von Methyl- α -D-mannopyranosid (**144**) wurde das Acetonid **154** in 70 %-iger Ausbeute hergestellt,¹³² welches mit Di-*tert.*-butylzinndimethoxid und Benzylbromid selektiv zu **155** 6-O-benzyliert wurde (60 %).¹³³ Dess-Martin-Oxidation lieferte Methyl-6-O-benzyl-2,3-O-isopropyliden- α -D-lyxo-hexopyranosid-4-ulose (**156**) (80 %),¹³⁴ welche mit Natriumborhydrid zum Talopyranosid **157** reduziert wurde (99 %).¹³⁵ Mesylierung mit Methansulfonsäurechlorid lieferte das Mesylat **158**,¹³⁵ an welchem anschließend die acetalische Schutzgruppe durch saure Hydrolyse entfernt wurde, wobei man **159** erhielt.¹³⁶ Das 2,3-O-entschützte Talopyranosid **159** wurde anschließend mit Benzyltrichloracetimidat (**161**) benzyliert (Schema 49).¹³⁷



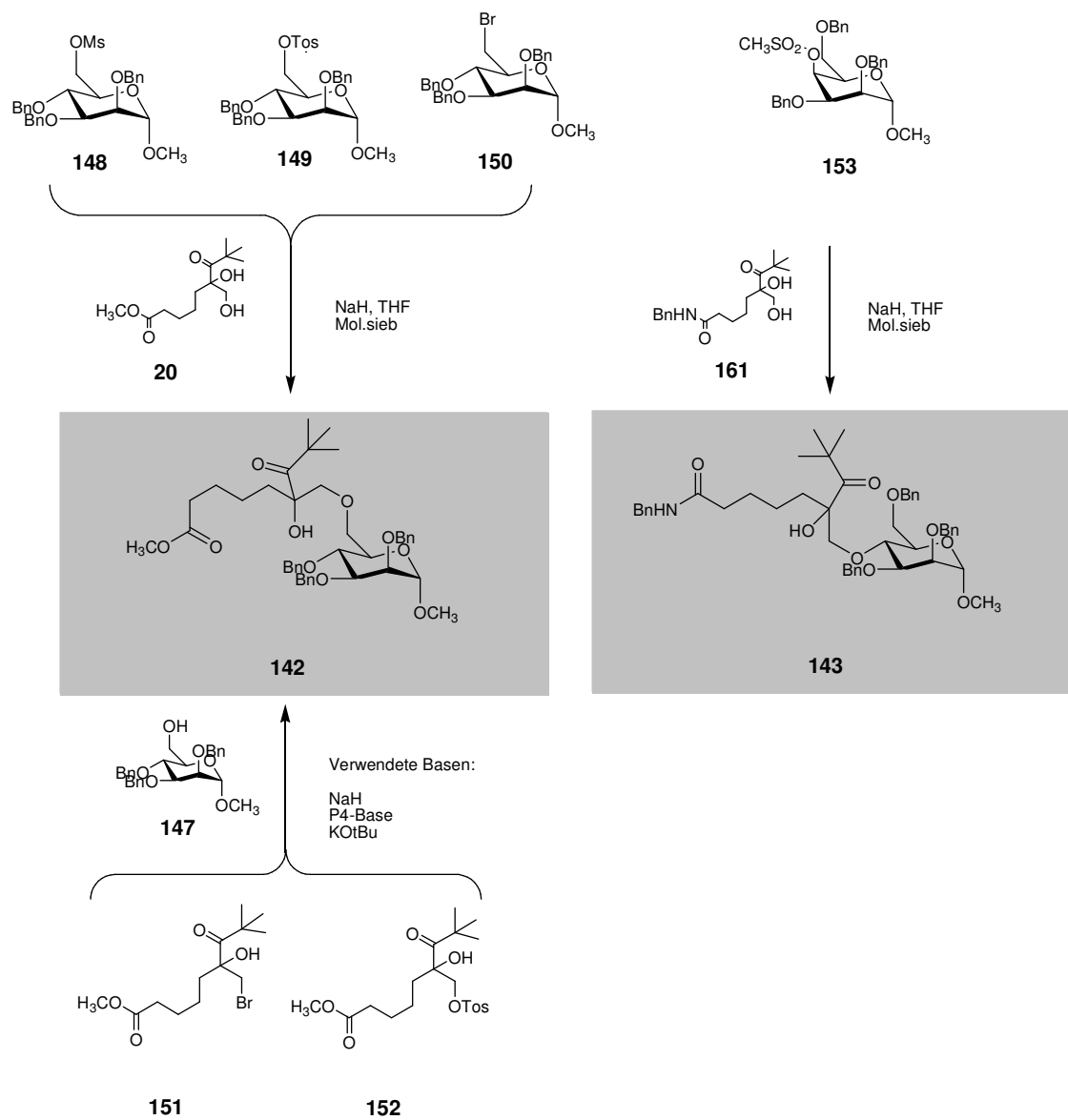
Schema 49: Synthese des 4-O-mesylierten Talopyranosids **153**.

11.3 Kupplungsversuche der Pyranoside mit dem Pivaloyllinker

Zur Darstellung der 6-O-pivaloylgeschützte Mannopyranosen **142** und **143** (Schema 50) durch nucleophile Substitutionsreaktionen wurden nucleofug funktionalisierte Verbindungen (Schemata 47, 48 und 49) mit den entsprechenden Sauerstoffnucleophilen und verschiedenen Basen zur Deprotonierung der Hydroxylfunktionen verwendet (Schema 50, links und Tabelle 23).

Die Mannopyranoside **148**, **149** und **150** mit ihren Abgangsgruppen an der primären C-6 wurden mit dem Diollinker **20** nach dessen Deprotonierung mit Natriumhydrid unter $\text{S}_{\text{N}}2$ -Bedingungen umgesetzt. Die Photolinker-Derivate **151** und **152** wurden in gleicher Weise mit deprotoniertem Mannopyranosid **147** umgesetzt.

Das sekundäre Mesylat **153** wurde mit deprotoniertem Photolinker **161**⁵⁴ umgesetzt (Schema 50, rechts).



Schema 50: Nucleophile Substitutionsreaktionen zur Darstellung der Mannopyranosen **142** und **143**.

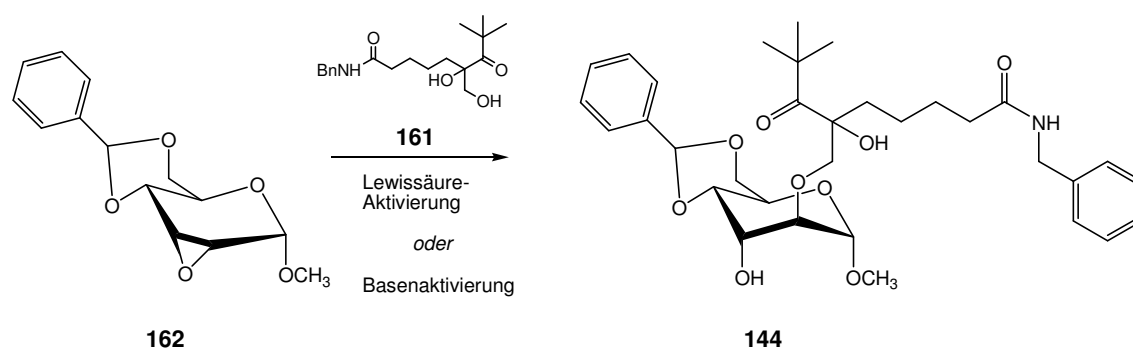
Tabelle 23: Bedingungen der nucleophilen Substitutionsreaktionen zur Darstellung der pivaloylgeschützten Mannopyranoside **142** und **143**.

Substrat	Nucleophil	Base zur Deprotonierung	Löse-mittel	Produkt 142 (ESI-LCQ)
148	20	NaH	THF	nein
148	20	P4-Base ¹³⁸	THF	nein
149	20	NaH	THF	nein
150	20	NaH	THF	nein
152	147	NaH	THF	nein
152	147	P4-Base	THF	nein
152	147	K- <i>Or</i> Bu	THF	nein
151	147	NaH	THF	nein
151	147	P4-Base ¹³⁸	THF	nein
151	147	K- <i>Or</i> Bu	THF	nein
153	161	NaH	THF	nein

In keinem der Reaktionsansätze konnten massenspektrometrisch (ESI-LCQ) die gewünschten Produkte **142** und **143** nachgewiesen werden.

11.4 Epoxidöffnungen an Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**)

Es wurde versucht, das Epoxid Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**) mit dem Diollinker **161** unter Lewissäuren- und Lewisbasenaktivierung nucleophil zu öffnen, um das pivaloylgeschützte Altopyranosid **144** zu erhalten (Schema 51).



Schema 51: Nucleophile Öffnung des Epoxids **162** zu **144** unter Lewissäuren- und Lewisbasenaktivierung.

Tabelle 24: Verwendete Lewisbasen und -säuren zur nucleophilen Epoxidöffnung am Allopyranosid **162**.

Nucleophil	Aktivierung	Lösemittel	Bedingungen	Produkt 144 (ESI-LCQ)
161	BF ₃ -Diethyletherat	Benzol/DMSO	Mol.sieb, RT, 72 h	nein
161	BF ₃ -Diethyletherat	DMF	Mol.sieb, 60 °C, 20 h	nein
161	ZnCl ₂	DMSO	Mol.sieb, 80 °C, 18 h	nein
161	AlCl ₃	Benzol/1,2-Dichlorethan ¹³⁹	Mol.sieb, 50 °C, 2h	nein
161	NaH	THF/DMSO	Mol.sieb, RT, 2h	nein
161	K-O ^t Bu	THF/DMSO	Mol.sieb, RT, 2h	nein
161	NaH	DMF	Mol.sieb, 80 °C, 16 h	nein
161	P4-Base	DMSO	Mol.sieb, 80 °C, 2 h	nein
161	KOH	DMF	RT	nein

In keinem der Ansätze konnte das gewünschte Produkt **144** massenspektrometrisch (ESI-LCQ) nachgewiesen werden.

11.5 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde das Konzept der photochemisch orthogonalen Schützung von Glycosiden mit zwei oder mehreren photolabilen Schutzgruppen vorgestellt.¹²⁴ Vorversuche zeigten, daß die am Pivaloyllinker glycosidisch immobilisierte Glucopyranose **140** mit einer Ausbeute von 64 % die Glucopyranose **141** bei der Belichtung (300 nm) freisetzt.⁵⁴

Es wurde angestrebt, Pyranosen an C-2 (**144**), C-4 (**143**) und C-6 (**142**) photolabil mit dem Pivaloyllinker zu schützen. Dafür wurden für die C-6-Schützung nach literaturbekannten Verfahren die nucleofug funktionalisierten Bausteine **148**, **149**, **150**, sowie **151** und **152** synthetisiert, die unter S_N2-Bedingungen mit den Nucleophilen **147** bzw. **20** gekuppelt werden sollten. Das C-4-Mesylat **153** sollte mit dem Diollinker **161** substituiert werden, um eine C-4-Schützung zu erreichen. Das Epoxid **162** sollte nach nucleophiler Epoxidöffnung das an C-2 photolabil geschützte Altropyranosid **144** liefern.

Die gewünschten photolabil geschützten Pyranosen konnten jedoch unter den angewandten Bedingungen nicht hergestellt werden. Eine Optimierung der Reaktionsbedingungen wäre Gegenstand weiterer Untersuchungen.

12 Zusammenfassung der Ergebnisse

Schutzgruppenstrategien, in denen Licht als "Abspaltungsreagens" eingesetzt werden kann, sind eine interessante Erweiterung des chemischen Methodenarsenals, da unter milden, substratschonenden Bedingungen und ohne Kontamination der Substrate mit Entschützungsreagentien gearbeitet werden kann.

Auf den grundlegenden Untersuchungen zur Immobilisierung und nachfolgenden lichtinduzierten Freisetzung von Carbonsäuren mit Pivaloyllinkern aufbauend,^{51, 54} wurde eine *photochemisch orthogonale* Schutzgruppenstrategie für die Festphasen-Peptidsynthese entwickelt. Die photochemisch orthogonale Methode erlaubt die wellenlängenselektive Anregung verschiedener photolabiler Schutzgruppen. Die Kombination von Pivaloyl- und NVOC-Gruppen wurde zu diesem Zweck eingehend untersucht.

N-NVOC-geschützte Aminosäuren wurden C-terminal als Ester **77** mit dem Pivaloyl-Festphasenlinker immobilisiert. Die NVOC-Schutzgruppen wurden mit 360 nm-Licht entfernt und die entschützten Aminofunktionen Peptidsyntheseprotokollen unterzogen. Das Pentapeptid Leu-Enkephalin (**50**) diente als Modellsystem für die Anwendung dieses neuen Verfahrens und konnte in einer Gesamtausbeute von 55 % mit einer hohen Reinheit von 92 % gewonnen werden (Abbildung 27).

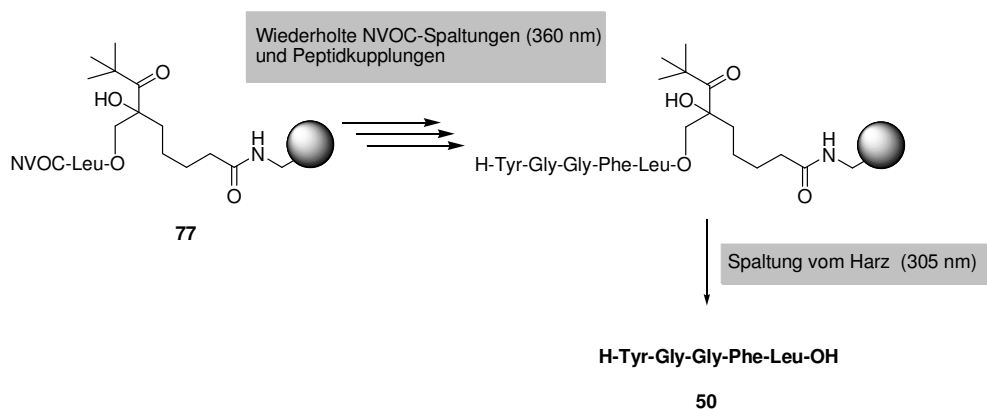


Abbildung 27: Leu-Enkephalin (**50**) als Modellverbindung in der Peptidsynthese mit photochemisch orthogonalen NVOC- und Pivaloylschutzgruppen.

Die Übertragung dieses photochemisch orthogonalen Schutzgruppenkonzepts auf Zucker gelang aufgrund synthetischer Schwierigkeiten nicht.

Die Brauchbarkeit des photolabilen Pivaloyllinkers zur Synthese größerer Peptide (7 - 15 Aminosäuren) nach konventionellen Peptidsyntheseprotokollen und abschließender photolytischer Freisetzung der C-terminal gebundenen Peptide wurde untersucht. Einige literaturbekannte MHC class I- und MHC class II-Peptide, SLYNTVATL, KTG GPIYKR, KSYVLEGLTAE, PKYVKQNTLKLAT, NIVTPRR und ENPVVHFFKNIVTPR, wurden im Peptidsynthesizer am Pivaloyllinker aufgebaut. Die Photolyselösungen wurden mit LC-MS-Kopplung untersucht und lieferten die gewünschten Peptide mit Ausnahme von ENPVVHFFKNIVTPR als einheitliche, sehr gut charakterisierbare Produkte.

Die vielversprechenden Ergebnisse, die der Pivaloyllinker bei der Immobilisierung und lichtinduzierten Freisetzung von *Alkoholen* in schwach saurem Milieu zeigte,⁵³ ließen sich auf *Amine* und *Amide* nicht übertragen. Amine konnten von der Festphase durch Photolyse nicht erhalten werden. Amide wurden nur unter stark sauren Bedingungen während der Photospaltung mit Ausbeuten unter 10 % erhalten.

Die weitere Erhöhung der Spalteffizienz bei der Freisetzung von *Alkoholen* in *neutralem* Milieu durch den β -methylmodifizierte Pivaloyllinker **119** (Abbildung 28) konnte nicht erreicht werden.

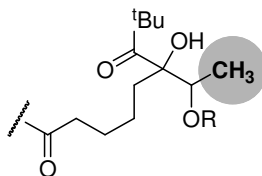
**119**

Abbildung 28: Der β -methylmodifizierte Pivaloyllinker **119**.

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß der Pivaloyllinker ein gutes Werkzeug zur Festphasensynthese von Carbonsäuren ist. In der Synthese kleiner und mittlerer Peptide konnte seine besondere Brauchbarkeit in der schonenden Freisetzung der Zielmoleküle von der Festphase gezeigt werden.

Zur photolytischen Abspaltung von Aminen und Amidn ist der Linker nicht geeignet.

Experimenteller Teil

13 Vorbemerkungen

13.1 Physikalische Daten

¹H-NMR-Spektroskopie

Geräte: *Bruker DPX400* (400 MHz), *Varian Gemini 300* (300 MHz). Die chemischen Verschiebungen (δ) sind in ppm, bezogen auf zugesetztes Tetramethylsilan ($\delta = 0.00$ ppm) in Chloroform-d₁ (CDCl₃) oder auf die teildeutierten Methylgruppen von Dimethylsulfoxid-d₆ (DMSO-d₆, $\delta = 2.49$ ppm), angegeben. Wenn kein Lösemittel angegeben ist, handelt es sich grundsätzlich um Chloroform-d₁. Die chemische Verschiebung entspricht bei Signalen mit definierter Multiplizität dem arithmetischen Mittel der Signallinien, bei Multipletten ist der Bereich angegeben. Die Spektren sind nach erster Ordnung interpretiert, Kopplungskonstanten (J) sind in Hertz (Hz) angegeben. Die Signallinien sind wie folgt charakterisiert: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, br = breit. Bei einigen Verbindungen wurden zur eindeutigen Zuordnung der Signale zusätzlich Korrelationsmessungen wie COSY, HMQC und HMBC durchgeführt.

¹³C-NMR-Spektroskopie

Geräte: *Bruker DRX500* (125 MHz), *Bruker DPX400* (101 MHz), *Varian Gemini 300* (75.5 MHz). Die chemischen Verschiebungen (δ) sind in ppm in bezug auf die Lösemittelsignale von Chloroform-d₁ (CDCl₃, $\delta = 77.0$ ppm) oder Dimethylsulfoxid-d₆ (DMSO-d₆, $\delta = 39.5$ ppm) angegeben. Die Spektren sind ¹H-breitbandentkoppelt. Die Signale wurden mittels *attached proton test* (APT) zugeordnet und werden wie folgt gekennzeichnet: C_p = primäres, C_s = sekundäres, C_t = tertiäres, C_q = quaternäres, ArC = aromatisches C-Atom. In der Regel entspricht jedes Signal einem C-Atom, wenn nicht anders angegeben.

¹H-¹H-COSY

Bruker DRX500 (500MHz).

¹H-¹³C-Korrelation mit HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence)

Bruker DRX500 (125.5 MHz und 500MHz).

Massenspektrometrie (MS)

Geräte: Doppelfokussierende Massenspektrometer *VG70-250* und *Finnigan MAT 312*. Die Massenspektren wurden von Herrn Dr. H. Nadig am Institut für Organische Chemie der Universität Basel durchgeführt. Die Erzeugung der Ionen erfolgte mittels Elektronenstoßionisation (*electron impact*, EI) oder durch Beschuß mit schnellen Xenonatomen (*fast atom bombardment*, FAB) unter Verwendung von Nitrobenzylalkohol (NBA) als Matrix und Kaliumchlorid (KCl) als Zusatz. Die Signale sind in Masse pro Ladung (m/z) angegeben. In Klammern ist die relative Intensität des Signals in Prozenten bezogen auf das Basision angegeben. Die Molekülionen sind wie folgt gekennzeichnet: MK^+ = Molekülion mit Kalium, MH^+ = protoniertes Molekülion, M^+ = Molekülion.

Elektrospray-Massenspektrometrie (ESI-LCQ)

Geräte: - *Finnigan MAT LCQ*, achtpoliges Massenspektrometer,
- *Bruker esquire 3000plus*.

Die Analysenproben wurden als Lösungen direkt eingespritzt. Die Ionenerzeugung erfolgte mittels *electron spray ionization* (ESI). Die Angaben beziehen sich auf atomare Masseneinheiten pro Elementarladung (m/z , Intensität).

GC/MS-Kopplung

Geräte: Gaschromatograph *Hewlett Packard 5890 Series II*. Massenspektrometer Hewlett Packard 5970A Series und 5971 Series. Die Ionenerzeugung erfolgte durch Elektronenstoßionisation (EI). Es wurden Hewlett-Packard Kapillarsäulen HP-1 und HP-5 (jeweils 25m x 0.32mm, Beschichtung 25 μ m) mit folgendem Temperaturprogramm verwendet:

60°C (5 min isotherm), 10°C/min bis 270°C, 270°C (10 min isotherm).

Sonstige Einstellungen: Injektortemperatur: 250°C, Detektortemperatur: 270°C, Trägergasdruck: 140 kPa (Helium).

Infrarotspektroskopie (IR)

Gerät: *Perkin-Elmer-1600 Series FT-IR*. Feststoffe wurden mit Kaliumbromid (KBr) im Verhältnis 1:100 (bei harzgebundenen Verbindungen bis 3:100) verrieben und zu einer homogenen Pille gepresst. Bei harzigen und öligen Verbindungen liess man 2 Tropfen der in Methylenchlorid oder Chloroform gelösten Substanz auf eine Natriumchlorid-Platte (NaCl)

tropfen und das Lösemittel verdunsten. Die Signale sind durch Wellenzahlen in cm^{-1} angegeben. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur die charakteristischen und eindeutigen Valenzschwingungen aufgeführt.

UV/VIS-Spektroskopie

Gerät: *Perkin-Elmer UV/VIS-Spektrometer Lambda 2*. Die Absorptionsmaxima sind mit ihrer Wellenlänge (λ) in nm angegeben, ihre Extinktionskoeffizienten (ϵ) in $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

Elementaranalysen

Geräte: *Leco CHN-900* (C-, H-, N-Nachweis), *Leco RO-478* (O-Nachweis). Die Analysen wurden von Herrn W. Kirsch im Mikrolabor des Instituts für Organische Chemie der Universität Basel durchgeführt. Die Angaben für berechnete (ber.) und gefundene (gef.) Werte erfolgen in Massenprozenten.

Schmelzpunkte (Smp)

Geräte: *Büchi 510* und Koflerblock des Instituts für Organische Chemie mit Mikroskop. Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

13.2 Chromatographische Methoden

Dünnschichtchromatographie (DC)

Kieselgel 60 F₂₅₄-Aluminiumfolien von *MERCK*, Schichtdicke 0.2 mm. Die Detektion erfolgte in der UV-Kammer ($\lambda = 254 \text{ nm}$). Nicht UV-aktive Verbindungen wurden entweder durch Eintauchen in eine alkalische Kaliumpermanganatlösung (3 g Kaliumpermanganat, 5 ml 5 %ige Natronlauge und 20 g Kaliumcarbonat in 300 ml Wasser) oder 15 %ige methanolische Schwefelsäure und anschließendes Erhitzen sichtbar gemacht.

Säulenchromatographie

Flash-Chromatographie wurde unter erhöhtem Druck (ca. 1.5 bar, Aquariummembranpumpe) durchgeführt. Es wurde Kieselgel C 560 KV (35 – 70 μm) der Firma *Chemie Uetikon* sowie Kieselgel 60 (40 – 63 μm) von *MERCK* verwendet. Die verwendeten Lösemittel sind in Volumenanteilen angegeben und wurden vor Gebrauch destilliert.

RP-HPLC

Gerät: *Waters Alliance 2690* mit *Photodiode Array Detector (PDA) 996*.

Es wurden *LiChrospher RP18e*-Säulen (Umkehrphase 5 µm, 250 x 4 mm) von *MERCK* und folgendes Gradientenprogramm bei einem Fluß von 1ml/min und einer konstanten Temperatur von 30°C verwendet:

A = Acetonitril, B = Wasser; A/B 10:90 (0 min) bis A/B 50:50 (30 min), A/B 10:90 (35 min).

Den Fließmitteln wurde jeweils 0.1 % Trifluoressigsäure zugesetzt.

Das Injektionsvolumen betrug 20 µl.

Weitere Geräte:

- a) *Hewlett Packard 1050 Series* (analytische Trennungen),
- b) *Waters 600E/490E* (präparative Trennungen).

Säulen:

- a) *Merck LiChrospher 100, RP 18* (5 µm), 250 mm x 4 mm, Fluß: 1 ml/min.
- b) *Knauer LiChrospher 100, RP 18* (5 µm), 250 mm x 16mm, Fluß: 12 ml/min.

Detektion: 220 nm bzw. 254 nm.

Laufmittel: Komponente A Acetonitril
Komponente B Wasser (*NANOpure*)

Gradient: 60 % B (0 min) → 100 % A (7 min) in 15 min.

Die Zuordnung der Reaktionsprodukte erfolgte durch Vergleich mit den Retentionszeiten von Referenzverbindungen sowie Koinjektion.

LC-MS-Kopplung

RP-HPLC-System: *AGILENT 1100 Series* mit Photodiodenarraydetektor.

ESI-MS-Detektion: *Bruker esquire 3000plus*.

Detektion: UV (210 nm) kontinuierlich,
ESI-MS.

Es wurden *LiChrospher RP18e*-Säulen (Umkehrphase 5 µm, 250 x 4 mm) von *MERCK* und folgendes Gradientenprogramm bei einem Fluß von 0.2 ml/min und einer konstanten Temperatur von 30°C verwendet:

A = Acetonitril, B = Wasser; A/B 10:90 (0 min) bis A/B 50:50 (30 min), A/B 10:90 (35 min).

Den Fließmitteln wurde jeweils 0.1 % Trifluoressigsäure zugesetzt.

Das Injektionsvolumen betrug 20 µl.

13.3 Belichtungsapparaturen

Lichtquelle 1

ORIEL Bestrahlungsstand *68810* mit einer Quecksilberhochdrucklampe von *OSRAM* (500 W), Fokussiereinrichtung, Infrarot-Wasserfilter, sowie *cut-off* Filtern (2 x 50 x 50 mm) von *SCHOTT* (bei der angegebenen Wellenlänge beträgt die Lichtdurchlässigkeit ca. 50 %, 10 nm oberhalb ca. 90 %, 10 nm unterhalb noch ca. 10 %). Die Apparatur besitzt einen thermostatisierbaren Probenhalter.

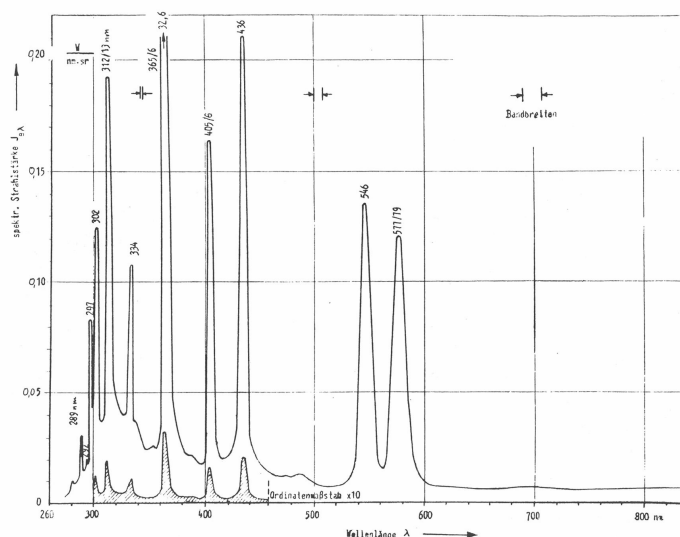


Abbildung 29: Lampenspektrum der Hg-Hochdrucklampe.

Lichtquelle 2

Photochemischer Reaktor *RAYONET RPR-100* mit 16 Fluoreszenzlampen (jeweils 21W), deren spektrale Energieverteilung von 370 bis 250 nm bei einem Maximum von 300 nm reicht. Mit Hilfe des eingesetzten drehbaren Probenhalters und preßluftbetriebenen Magnetrührers können bis zu 8 Proben gleichzeitig unter identischen Bedingungen bestrahlt werden.

Die Proben können nicht thermostatisiert werden.

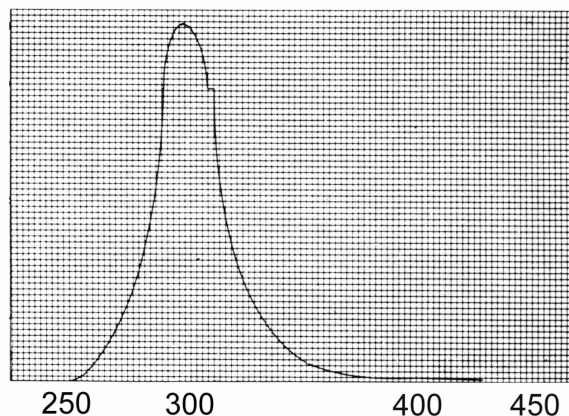


Abbildung 30: Lampenspektrum der 21W-Fluoreszenzlampe.

13.4 Peptidsynthesizer/Software

- a) Advanced ChemTech 440 Automated Synthesizer.
- b) Peptidsynthesizer *Syro I*, MultiSynTech GmbH,
Synthesis Software for Syro Version 2.0.48.

13.5 Materialien für Experimente an der Festphase

Harze: *TentaGel*[®] *S-NH₂* (150-200 μm , 0.45 mmol/g) von *RAPP Polymere* und *Polystyrol-NH₂* (100 – 200 mesh, 1 % DVB, 0.90 mmol/g) von *NOVABIOCHEM*.

SynPhase[®] *Lanterns* auf Polystyrol- und Polyamidbasis von *MIMOTOPES*.

Schüttler: *KÜHNER Lab-Shaker*. Reaktionsgefäße: Glaskolben mit Absaugvorrichtung über eine Glasfritte, sowie gewöhnliche Kunststoffspritzen (5 oder 10 ml) von *Becton Dickinson* mit eingesetzter PE-Fritte von *MultiSynTech*.

13.6 Verwendete Reagenzien und Lösemittel

Die absoluten Lösemittel wurden von *FLUKA* bezogen und direkt eingesetzt. Lösemittel für alle anderen Zwecke wie HPLC, chromatographische Reinigungen und Extraktionen wurden in der entsprechenden Qualität von *ROMIL Chemicals*, *MACHLER*, *J. T. BAKER* und *BIOSOLVE* bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt.

Chemikalien wurden von *FLUKA*, *ALDRICH*, *SIGMA*, *ACROS* und *LANCASTER* bezogen.

13.7 Charakterisierung von Verbindungen

Werden für geminale Wasserstoffatome zwei getrennte Signale im NMR-Spektrum beobachtet, so wird das tieffeldverschobene Wasserstoffatom mit einem ‚a‘ und das hochfeldverschobene mit einem ‚b‘ als Index gekennzeichnet.

Die Numerierung der beschriebenen Strukturen wird in Abbildung gezeigt.

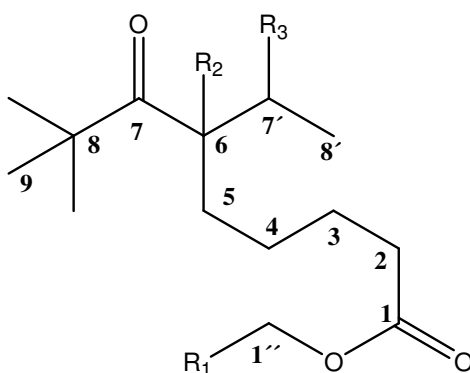
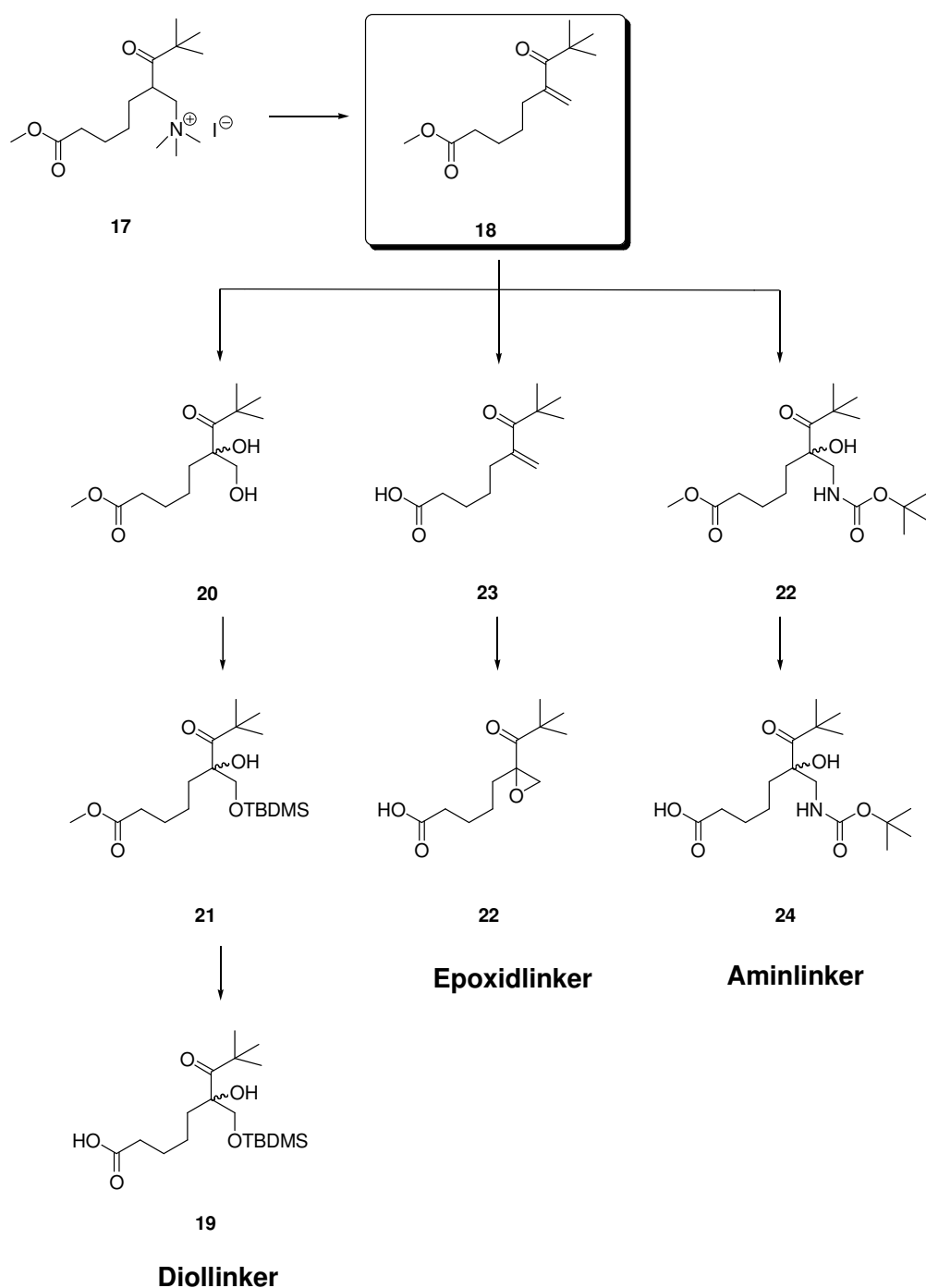


Abbildung 31: Numerierung der Kohlenstoff- und Wasserstoffatome.

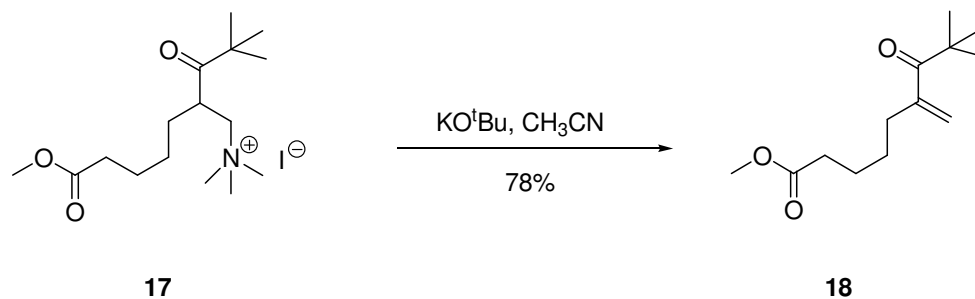
Falls nicht anders vermerkt, wurden chirale Verbindungen in racemischer Form erhalten.

14 Synthese der funktionalisierten Photolinker



Schema 52: Übersicht über die verschiedenen funktionalisierten Photolinkerbausteine.

14.1.1 8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxo-nonansäuremethylester (**18**)^{53,56}



8,8-Dimethyl-7-oxo-6-(methyl-N,N,N-trimethylammoniumiodid)-nonansäuremethylester (**17**) (23.0 g, 55.6 mmol) wurde in Acetonitril (250 ml) gelöst. Der gelben Lösung wurde Kalium-*tert.*-butylat (7.0 g, 62.5 mmol, 1.1 eq.) zugesetzt und die Suspension während 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde 1N Salzsäure (250 ml) zugesetzt. Die wäßrige Phase wurde abgetrennt und zweimal mit Diethylether (je 200 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 10 %iger Natriumthiosulfatlösung (200 ml) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer eingengt. Das erhaltene gelbbraune Öl wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (Uetikon, 8 x 20 cm, Pentan:Diethylether 9:1). Man erhielt 9.8 g (43.3 mmol, 78 %) 8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxo-nonansäuremethylester (**18**) als hellgelbes Öl.

$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_3$ (226.32).

berechnet: C 68.99, H 9.80, O 21.21;

gefunden: C 68.89, H 9.72, O 21.01.

R_f (Pentan:Diethylether = 10:1) = 0.25.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):

5.39 (d, $J = 11.5$ Hz, 2H, H-7'), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 2.32 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, H-2), 2.25 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H-5), 1.70-1.60 (m, 2H, H-3), 1.49-1.40 (m, 2H, H-4), 1.23 (s, 9H, H-9).

^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3):

211.6 (Cq, 1C, C-7), 174.0 (Cq, 1C, C-1), 148.1 (Cq, 1C, C-6), 117.0 (Cs, 1C, C-7'), 51.4 (Cp, 1C, OCH_3), 44.0 (Cq, 1C, C-8), 33.9 und 33.7 (2·Cs, 2C, C-2 und C-5), 27.7 (Cp, 3C, C-9), 27.5 (Cs, 1C, C-4), 24.4 (Cs, 1C, C-3).

IR (NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 2953, 2870, 1740, 1685, 1670, 1478, 1462, 1436, 1366, 1206, 1174, 1079, 995, 921 cm^{-1} .

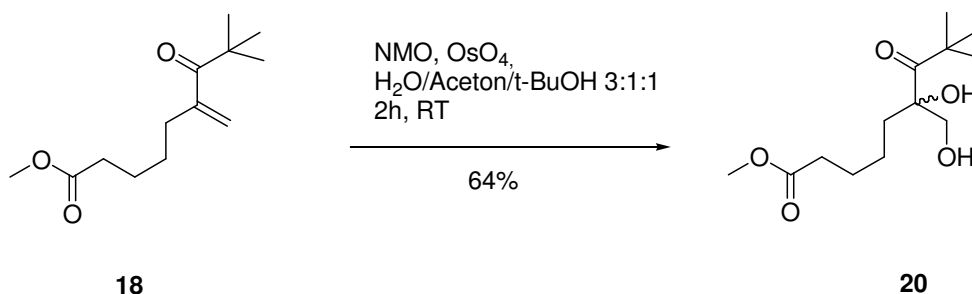
GC-MS: $t_{\text{R}} = 17.7$ min.

MS (EI):

226 (2) M^+ , 195 (1), 169 (83), 137 (64), 109 (94), 95 (17), 81 (87), 67 (39), 57 (100), 41 (76).

14.2 Diollinker

14.2.1 8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**20**)⁵⁷



8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxo-nonansäuremethylester (**18**) (9.80 g, 43.3 mmol) wurde in einem Wasser/Aceton/t-Butanol-Gemisch (3:1:1, 200 ml) gelöst, mit N-Methylmorpholin-N-oxid (11.70 g, 86.6 mmol, 2.0 eq.) und Osmiumtetroxidlösung (4 % in Wasser, 1.0 ml, 0.2 mmol, 0.005 eq.) versetzt und 2 h gerührt. Die grün-braune Reaktionslösung wurde mit Diethylether (300 ml) verdünnt und nacheinander mit Natriumhydrogensulfatlösung (10 %, 100 ml) und gesättigter Natriumchloridlösung (100 ml) geschüttelt. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer eingengt. Das erhaltene grüne Öl wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (Uetikon, 5 x 20 cm, Pentan:Diethylether 1:1→Diethylether). Man erhielt (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-

hydroxy-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**20**) (7.21 g, 27.5 mmol, 64 %) als gelbes Öl.

$C_{13}H_{24}O_5$ (260.33).

berechnet: C 59.98, H 9.29, O 30.73;

gefunden: C 59.90, H 9.37, O 31.10.

R_f (Pentan:Diethylether 1:1) = 0.13.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

3.99 (d, $J=11.4$, 1H, H-7'a); 3.66 (s, 3H, OCH_3); 3.60 (d, $J=11.4$, 1H, H-7'b); 2.30 (t, $J=7.5$, 2H, H-2); 1.80 (td, $J=12.0, 5.0$, 1H, H-5a); 1.71-1.56 (m, 3H, H-3, H-5b); 1.40-1.36 (m, 1H, H-4a); 1.27 (s, 9H, H-9); 1.18-1.09 (m, 1H, H-4b).

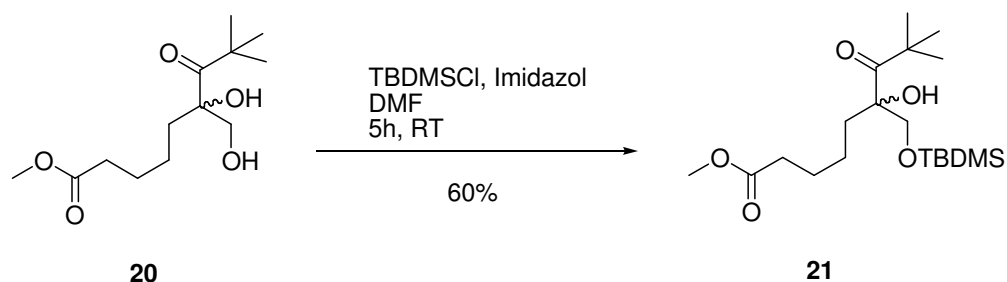
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

218.0 (Cq, 1C, C-7); 173.8 (Cq, 1C, C-1); 84.3 (Cq, 1C, C-6); 67.5 (Cs, 1C, C-7'); 51.4 (Cp, 1C, OCH_3); 44.2 (Cq, 1C, C-8); 35.6, 33.6, 27.5, 23.1 (Cs, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 25.0 (Cp, 3C, C-9).

IR (NaCl, $\tilde{\nu}/cm^{-1}$): 2957, 2869, 1736, 1700, 1483, 1173, 885.

MS (ESI-LCQ, m/z): 283 ($M+Na^+$, 100).

14.2.2 8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-*t*-butyldimethylsilyloxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**21**)⁵⁸



8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**20**) (7.21 g, 27.5 mmol) wurde in absolutem *N,N*-Dimethylformamid (150 ml) gelöst und mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (10.00 g, 66.0 mmol, 2.4 eq.) sowie Imidazol (2.30 g, 33.0 mmol, 1.2 eq.) bei Raumtemperatur unter Rühren versetzt. Nach 5 h wurde Wasser (500 ml) zugegeben und im Scheidetrichter mit Diethylether (3 x 100 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Toluol:Aceton 60:1) erhielt man 8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-*t*-butyldimethylsilyloxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**21**) (6.20 g, 16.5 mmol, 60 %) als hellgelbes Öl.

$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_5\text{Si}$ (374.60).

berechnet: C 60.92, H 10.23;

gefunden: C 60.87, H 10.20.

$R_f(\text{Toluol:Aceton } 60:1) = 0.38$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

3.91 (d, $J=9.5$, 1H, H-7'a); 3.65 (s, 3H, OCH_3); 3.45 (s, 1H, OH); 3.44 (d, $J=9.5$, 1H, H-7'b); 2.30 (t, $J=7.5$, 2H, H-2); 1.73 (ddd, $J=13.6, 12.3, 4.5$, 1H, H-5a); 1.62-1.52 (m, 3H, H-3, H-5b); 1.43-1.33 (m, 1H, H-4a); 1.25 (s, 9H, H-9); 1.24-1.15 (m, 1H, H-4b); 0.87 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$); 0.04, 0.03 (2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

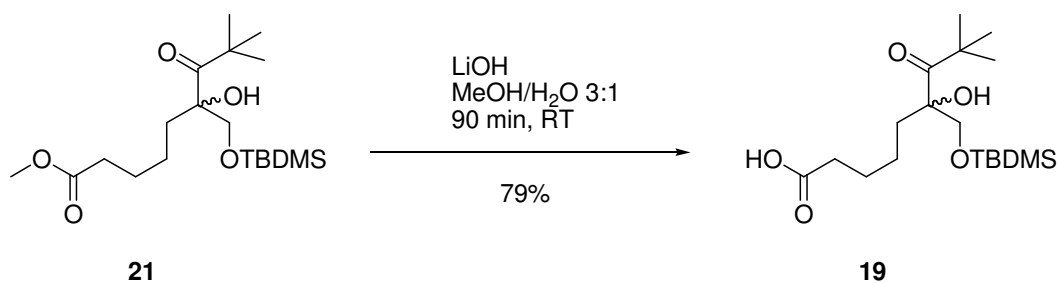
^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

218.1 (Cq, 1C, C-7); 173.9 (Cq, 1C, C-1); 84.4 (Cq, 1C, C-6); 68.6 (Cs, 1C, C-7'); 51.5 (Cp, 1C, OCH_3); 44.6 (Cq, 1C, C-8); 36.5, 33.9, 25.3, 23.3 (Cs, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 27.0 (Cp, 3C, C-9); 25.8 (Cp, 3C, C-9, $\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 18.2 (Cq, 1C, $\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); -5.5 (Cp, 2C, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$).

IR (NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3540, 2954, 2931, 2858, 1742, 1694, 1470, 1362, 1092, 1006, 780.

MS (ESI-LCQ, m/z): 397 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

14.2.3 8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-t-butyl-dimethylsilyloxymethyl-7-oxo-nonansäure (19)⁵⁹



Dimethyl-6-hydroxy-6-t-butyl-dimethylsilyloxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**21**)

(6.20 g, 16.5 mmol) wurde in einem Methanol-Wasser-Gemisch (3:1, 80 ml) mit Lithiumhydroxid-Monohydrat (3.27 g, 78.0 mmol, 4.7 eq.) versetzt und 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Die farblose Reaktionslösung wurde mit gesättigter Ammoniumchloridlösung (250 ml) angesäuert und mit Diethylether (3 x 100 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Uetikon, Pentan:Diethylether 2:1→Diethylether) erhielt man 8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-t-butyl-dimethylsilyloxymethyl-7-oxo-nonansäure (**19**) (5.21 g, 13.1 mmol, 79 %) als blaßgelbes Öl.

$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{Si}$ (360.57).

berechnet: C 59.96, H 10.06;

gefunden: C 60.23, H 10.12.

$R_f(\text{Pentan:Diethylether } 1:2) = 0.38.$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

3.92 (d, $J=9.6$, 1H, H-7'a); 3.44 (d, $J=9.6$, 1H, H-7'b); 2.28 (t, $J=7.6$, 2H, H-2); 1.73 (td, $J=12.8, 4.7$, 1H, H-5a); 1.62-1.34 (m, 4H, H-3, H-4); 1.30-1.21 (m, 1H, H-5b); 1.24 (s, 9H, H-9); 0.87 (s, 9H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 0.05, 0.04 (2s, 6H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

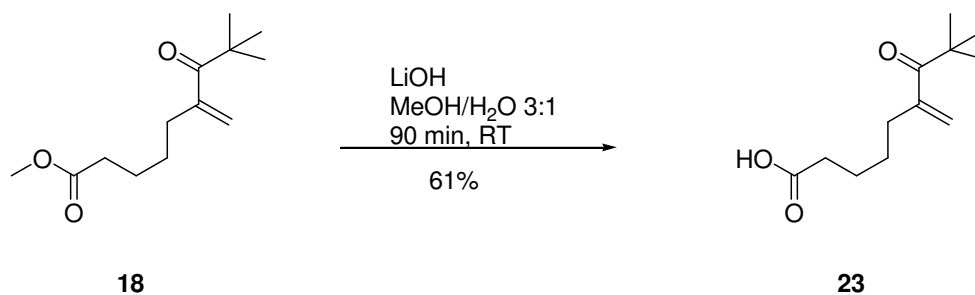
218.1 (Cq, 1C, C-7); 179.2 (Cq, 1C, C-1); 84.5 (Cq, 1C, C-6); 68.7 (Cs, 1C, C-7'); 44.6 (Cq, 1C, C-8); 36.5, 33.9, 25.0, 23.2 (Cs, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 27.0 (Cp, 3C, C-9); 25.8 (Cp, 3C, C-9, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 18.2 (Cq, 1C, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); -5.5 (Cp, 2C, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$).

IR (NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3441, 2953, 2871, 1730, 1640, 1477, 1366, 908, 732.

MS (ESI-LCQ, m/z): 359 (M-H⁻, 100).

14.3 Epoxidlinker

14.3.1 8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxo-nonansäure (**23**)⁵⁹



8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxo-nonansäuremethylester (**18**) (1.16 g, 5.1 mmol) wurde in einem Methanol-Wasser-Gemisch (3:1, 15 ml) mit Lithiumhydroxid-Monohydrat (0.91 g, 21.7 mmol, 4.3 eq.) versetzt und 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Die farblose Reaktionslösung wurde mit Wasser (30 ml) versetzt, mit konz. Salzsäure unter Eiskühlung tropfenweise auf $\text{pH}=3$ angesäuert und mit Diethylether (3 x 20 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer

entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Uetikon, Pentan:Diethylether:Essigsäure 100:100:1) erhielt man 8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxo-nonangonsäure (**23**) (0.65, 3.1 mmol, 61 %) als gelbes Öl.

$C_{12}H_{20}O_3$ (212.29).

berechnet: C 67.89, H 9.50, O 22.61;

gefunden: C 67.67, H 9.66, O 22.76.

R_f (Pentan:Diethylether=1:2) = 0.20.

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$):

11.14 (s, br, 1H, OH), 5.40 (d, $J = 12.1$ Hz, 2H, H-7'), 2.37 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, H-2), 2.26 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H-5), 1.71-1.61 (m, 2H, H-3), 1.51-1.40 (m, 2H, H-4), 1.24 (s, 9H, H-9).

^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$):

211.7 (Cq, 1C, C-7), 179.9 (Cq, 1C, C-1), 148.0 (Cq, 1C, C-6), 117.2 (Cs, 1C, C-7'), 44.0 (Cq, 1C, C-8), 33.9 und 33.8 (2·Cs, 2C, C-2 und C-5), 27.7 (Cp, 3C, C-9), 27.4 (Cs, 1C, C-4), 24.1 (Cs, 1C, C-3).

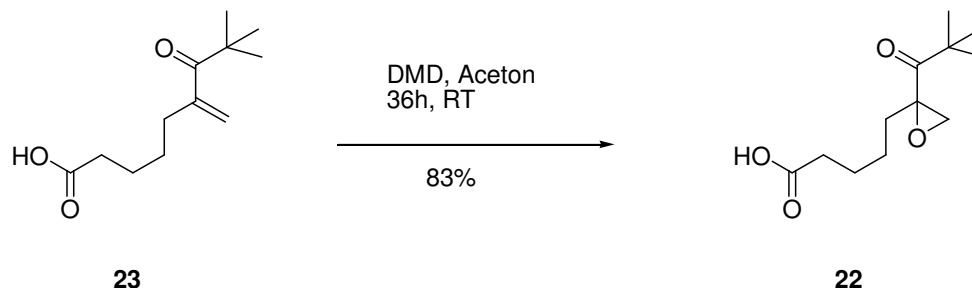
IR (NaCl, $\bar{\nu}/cm^{-1}$): 3500-2500, 2955, 2871, 1710, 1685, 1670, 1483, 1479, 1414, 1395, 1366, 1288, 1221, 1062, 995, 932 cm^{-1} .

GC-MS: $t_R = 17.9$ min.

MS (EI):

212 (1) [M^+], 194 (1), 155 (93), 137 (39), 127 (5), 109 (86), 95 (8), 85 (13), 81 (55), 69 (19), 57 (100), 41 (38).

14.3.2 8,8-Dimethyl-6-methylenoxid-7-oxo-nonansäure (**22**)⁶⁰



8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxo-nonansäure (**23**) (650 mg, 3.0 mmol) wurde bei Raumtemperatur mit Dimethyldioxiranlösung (ca. 0.05M in Aceton, 150 ml, Herstellung s. Anhang) 24 h gerührt. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand nochmals mit Dimethyldioxiranlösung (150 ml) während 12 h gerührt. Nach Entfernen des Lösemittels wurde Wasser (30 ml) zugesetzt und mit Diethylether (3x20 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Uetikon, Pentan:t-Butylmethylether 3:1) erhielt man 8,8-Dimethyl-6-methylenoxid-7-oxo-nonansäure (**22**) (570 mg, 2.5 mmol, 83 %) als blaßgelbes Öl.

$C_{12}H_{20}O_4$ (228.29).

berechnet: C 63.13, H 8.83, O 28.03;

gefunden: C 63.19, H 8.70, O 27.95.

R_f (Pentan: t-Butylmethylether 3:1) = 0.25.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ/ppm):

2.77 (s, 2H, H-7'), 2.35 (t, J=7.5, 2H, H-2); 2.27-2.17 (m, 1H, H-5a); 1.64 (quint, 2H, H-3); 1.53-1.41 (m, 1H, H-5b); 1.18 (s, 9H, H-9).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, δ/ppm):

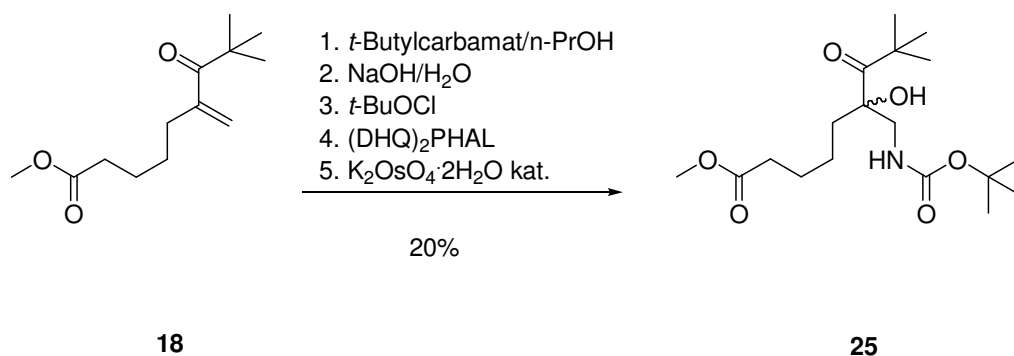
213.1 (Cq, 1C, C-7); 178.9 (Cq, 1C, C-1); 64.1 (Cq, 1C, C-6); 51.1 (Cs, 1C, C-7'); 44.4 (Cq, 1C, C-8); 33.6, 33.5, 24.6, 24.3 (Cs, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 25.7 (Cp, 3C, C-9).

IR (NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 2954, 2871, 1739, 1697, 1481, 1461, 1392, 1365, 1241, 1198, 1174, 1066, 978, 919.

MS (ESI-LCQ, m/z): 227 (M-H⁺, 100).

14.4 Aminlinker

14.4.1 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(*tert.*-butyloxycarbonyl)-aminomethyl]-nonansäuremethylester (**25**)^{61, 62}



Eine Lösung von *tert.*-Butylcarbamate (487 mg, 4.07 mmol, 3.1 eq.) in 1-Propanol (4 ml) wurde unter Wasserkühlung und Rühren nacheinander mit einer Lösung von Natriumhydroxid (181 mg, 4.53 mmol, 4.4 eq.) in Wasser (4 ml), *tert.*-Butylhypochlorit (**40**) (448 mg, 4.51 mmol, 3.1 eq., Herstellung s. Anhang) und einer Lösung des Liganden Hydrochinon-1,4-phthalazindiyl-diether (55 mg, 5 mol-%) in 1-Propanol (0.7 ml) versetzt. Zu der gebildeten farblosen Lösung wurde nach dreiminütigem Rühren 8,8-Dimethyl-6-methylen-7-oxo-nonansäuremethylester (**18**) (302 mg, 1.33 mmol, 1.0 eq.) zugegeben und der Katalysator Kaliumosmat-Dihydrat (55 mg, 10 mol-%) zugegeben. Die gebildete dunkelgrüne Lösung wurde 40 h bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch in Ethylacetat (20 ml) und gesättigter Ammoniumchloridlösung (40 ml) aufgenommen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat (je 30 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingedunstet. Der erhaltene dunkelgrüne Rückstand wurde an Kieselgel (Uetikon, 3 x 15 cm, Pentan:Diethylether im Gradienten 7:1 bis 2:1) gereinigt. Man erhielt 96 mg (0.27 mmol, 20 %) reines 8,8-Dimethyl-

7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(*tert.*-butyloxycarbonyl)-aminomethyl]-pelargonsäure-methylester
(**25**) als farblosen Feststoff.

C₁₈H₃₃NO₆ (359.45):

berechnet: C 60.14, H 9.25, N 3.90, O 26.71;

gefunden: C 59.93, H 9.31, N 3.77, O 26.51.

R_f (Pentan:Diethylether = 10:1) = 0.30.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

4.97 (s, br, 1H, NH), 3.66 (s, 3H, H-2''), 3.52-3.45 (dd, J = 14.3, 6.8 Hz, 1H, H-7a'), 3.39-3.32 (dd, J = 14.3, 5.7 Hz, 1H, H-7b'), 2.30 (t, J = 7.6 Hz, 2H, H-2), 1.77-1.65 (m, 1H, H-5a), 1.62-1.52 (m, 3H, H-3 und H-5b), 1.42 (s, 9H, H-10'), 1.39-1.28 (m, 2H, H-4), 1.25 (s, 9H, H-9).

¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃):

219.8 (Cq, 1C, C-7), 173.9 (Cq, 1C, C-1), 158.3 (Cq, 1C, C-8'), 86.1 (Cq, 1C, C-6), 80.5 (Cq, 1C, C-9'), 51.5 (Cp, 1C, C-2''), 48.9 (Cs, 1C, C-7'), 45.0 (Cs, 1C, C-8), 38.2 (Cs, 1C, C-2), 33.8 (Cs, 1C, C-5), 28.2 (Cp, 3C, C-10'), 26.8 (Cp, 3C, C-9), 25.2 (Cs, 1C, C-3), 23.0 (Cs, 1C, C-4).

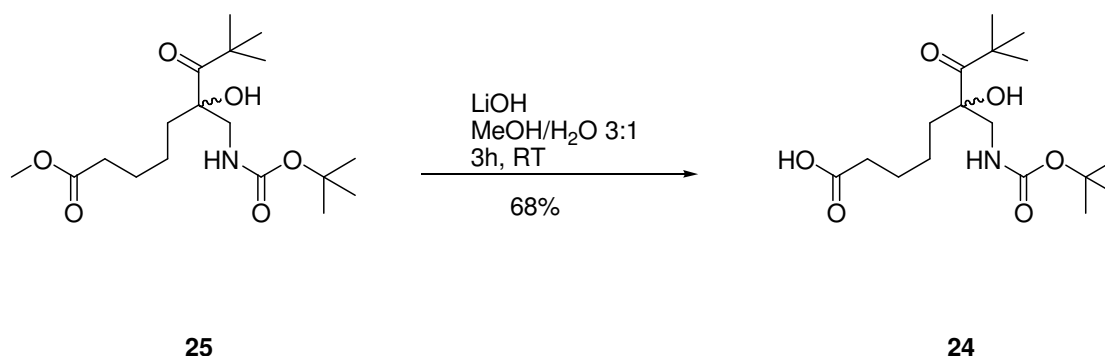
IR (KBr):

3327, 3064, 2977, 2870, 1732, 1690, 1672, 1547, 1482, 1459, 1438, 1366, 1297, 1259, 1232, 1174, 1110, 1088, 1060, 668 cm⁻¹.

MS (FAB):

398 (42) [M+K]⁺, 360 (17) [M+H]⁺, 304 (21), 260 (66), 218 (7), 174 (30), 85 (6), 57 (100), 41 (20).

14.4.2 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(*tert.*-butyloxycarbonyl)-aminomethyl]-nonansäure (**24**)⁵⁹



Eine Lösung aus 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(*tert.*-butyloxy-carbonyl)-aminomethyl]-nonansäuremethylester (**25**) (390 mg, 1.08 mmol) in einem 3:1-Gemisch aus Methanol und Wasser (10 ml) wurde mit Lithiumhydroxid-Monohydrat (178 mg, 4.24 mmol, 3.9 eq.) versetzt und 3 h bei Raumtemperatur gerührt.

Das farblose Reaktionsgemisch wurde mit gesättigter Ammoniumchloridlösung (30 ml) versetzt und dreimal mit Diethylether (je 30 ml) extrahiert. Die vereinigten Etherphasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und anschließend am Rotationsverdampfer eingeeengt.

Zur Abtrennung von *tert.*-Butylcarbamat, welches noch in Spuren im Edukt vorhanden war, wurde der erhaltene farblose Rückstand in Diethylether (20 ml) gelöst und dreimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (je 10 ml) extrahiert. Diese wäßrige Phase wurde mit konzentrierter Salzsäure tropfenweise auf pH=3 eingestellt und dreimal mit Diethylether (je 20 ml) extrahiert. Die vereinigten sauren Etherextrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Vakuum entfernt.

Nach Filtration über Kieselgel (Uetikon, 3 x 5 cm, Diethylether) erhielt man 253 mg (0.73 mmol, 68 %) 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(*tert.*-butyloxycarbonyl)-amino-methyl]-nonansäure (**24**) als farblosen Feststoff.

$\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{NO}_6$ (345.44):

berechnet: C 59.11, H 9.05, N 4.05;

gefunden: C 59.34, H 9.02, N 3.95.

R_f (Diethylether:Pentan = 2:1) = 0.13.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):

5.81 (s, br, 1H, NH), 3.52-3.45 (dd, $J = 14.2, 6.7$ Hz, 1H, H-7a'), 3.39-3.33 (dd, $J = 14.2, 5.7$ Hz, 1H, H-7b'), 2.36 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, H-2), 1.75-1.63 (m, 1H, H-5a), 1.63-1.53 (m, 3H, H-3, H-5b), 1.42 (s, 9H, H-10'), 1.39-1.28 (m, 2H, H-4), 1.25 (s, 9H, H-9).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3):

219.9 (Cq, 1C, C-7), 179.1 (Cq, 1C, C-1), 158.3 (Cq, 1C, C-8'), 86.1 (Cq, 1C, C-6), 80.5 (Cq, 1C, C-9'), 48.9 (Cs, 1C, C-7'), 45.0 (Cq, 1C, C-8), 38.2 (Cs, 1C, C-2), 33.8 (Cs, 1C, C-5), 28.2 (Cp, 3C, C-10'), 26.8 (Cp, 3C, C-9), 25.0 (Cs, 1C, C-3), 22.9 (Cs, 1C, C-4).

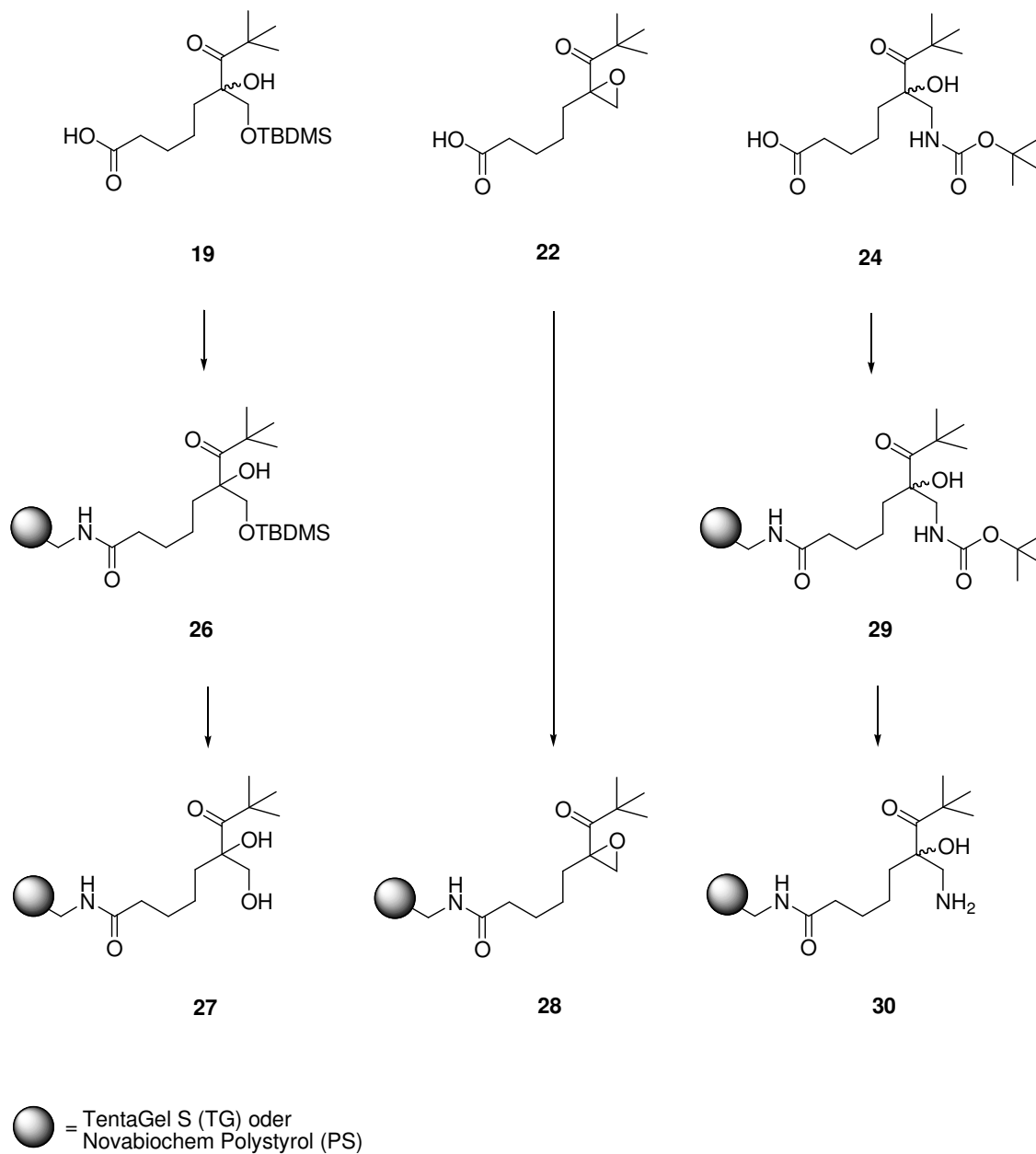
IR (KBr):

3327, 3265, 2973, 2935, 2870, 2677, 1703, 1688, 1669, 1541, 1483, 1446, 1414, 1366, 1298, 1168, 1110, 1053, 992, 945 cm^{-1} .

MS (FAB):

384 (33) $[\text{M}+\text{K}]^+$, 346 (10) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 290 (26), 246 (33), 204 (6), 150 (17), 57 (100), 41 (24), 39 (61).

15 Beladung von TentaGel S-NH₂ und Novabiochem-Polystyrol-NH₂ mit den photolabilen Linkern



Schema 53: Herstellung der photolabilen Festphasenharze **27**, **28** und **30**.

15.1 Tentagel-Diollinker (TG-27) und Polystyrol-Diollinker (PS-27)

Allgemeine Vorschrift

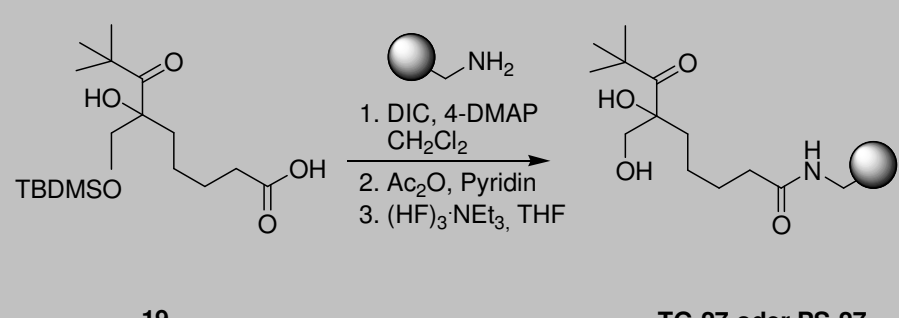
a) Kupplung

Das aminfunktionalisierte Harz wurde in einer 10ml-Spritze mit eingesetzter PE-Fritte von *MultiSynTech* in Dichlormethan (4 ml) suspendiert und 30 min gequollen. Anschließend wurde eine Lösung von **19**, DIC und 4-DMAP in Dichlormethan (1 ml) zugesetzt und der Ansatz 48 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz nacheinander mit N,N-Dimethylformamid und Dichlormethan gewaschen (jeweils 3 x 5 ml). Die Beladung wurde mit dem Pikrattest bestimmt.¹⁹

Das Harz wurde abschließend 3h mit Pyridin-Acetanhydrid (1:1, 5 ml) geschüttelt, mit Dichlormethan gewaschen (jeweils 3 x 5 ml) und im Hochvakuum getrocknet.

Der qualitative *Kaisertest* auf freie Aminogruppen zeigte vollständige Acylierung des Trägerharzes.¹⁸

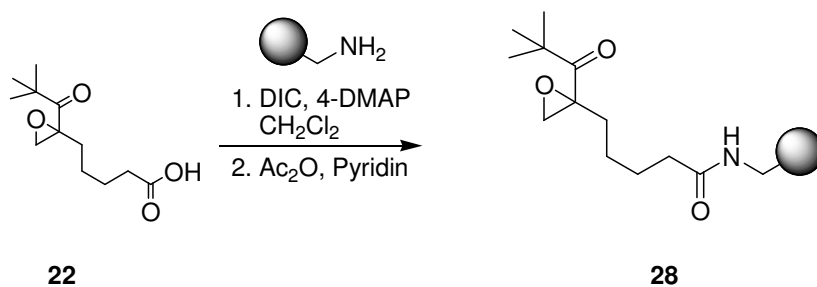
Tabelle 25: Bedingungen zur Beladung der aminofunktionalisierten Harze mit dem Diollinker **19**.

		
Reagenzien	TentaGel-O-Photolinker	Polystyrol-O-Photolinker
Aminofunktionalisiertes Harz	106 mg <i>TentaGel S-NH₂</i> (0.45 mmol/g, 106 μmol)	233 mg <i>Novabiochem-PS-NH₂</i> (0.9 mmol/g, 210 μmol)
MK55	24 mg (70 μmol, 1.4 eq.)	126 mg (350 μmol, 1.7 eq.)
<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid	20 μl (130 μmol, 2.6 eq.)	100 μl (650 μmol, 3.1 eq.)
4-Dimethylaminopyridin	7 mg (57 μmol, 1.1 eq.)	11 mg (90 μmol, 0.4 eq.)
Dichlormethan	5 ml	5 ml
Gefundene Beladung (Pikrattest)	0.4 mmol/g, 89 %	0.9 mmol/g, 100 %

c) Abspaltung der TBDMS-Gruppe

Das TBDMS-geschütztes Photolinkerharz wurde in Tetrahydrofuran-Triethylamin-tris-Hydrofluorid (1:1, 5 ml) suspendiert und 24h geschüttelt. Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und das Harz nacheinander mit Tetrahydrofuran, *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan gewaschen (jeweils 3 x 5 ml) und im Hochvakuum getrocknet.

15.2 Tentagel-Epoxidlinker (28)



Tentagel-S NH₂ (1.00 g, 0.26 mmol) wurde in Dichlormethan (6 ml) suspendiert und nach einer Quellzeit von 30 min mit einer Lösung von **22** (95 mg, 0.42 mmol, 1.6 eq.) in Dichlormethan (3 ml) versetzt. Nacheinander wurden 4-DMAP (19 mg, 0.16 mmol, 0.6 eq.) und DIC (110 μl, 0.71 μmol, 2.7 eq.) zugegeben und der Ansatz 72h bei Raumtemperatur geschüttelt.

Die Reaktionslösung wurde abfiltriert und nacheinander mit Dimethylformamid (5 x 5 ml) und Dichlormethan (5 x 5 ml) gewaschen. Der qualitative *Kaisertest* auf freie Aminogruppen zeigte vollständige Acylierung des Trägerharzes.¹⁸

Das Harz wurde abschließend mit Pyridin-Acetanhydrid (1:1, 10 ml) 3h bei Raumtemperatur geschüttelt, abfiltriert und nacheinander mit Dichlormethan (5 x 5 ml), Dimethylformamid (5 x 5 ml) und Dichlormethan (5 x 5 ml) gewaschen. Nach der Trocknung im Hochvakuum erhielt man **28** als blaßgelbe Beads (1.07 g).

Tentagel S NH · C₁₂H₁₉O₃.

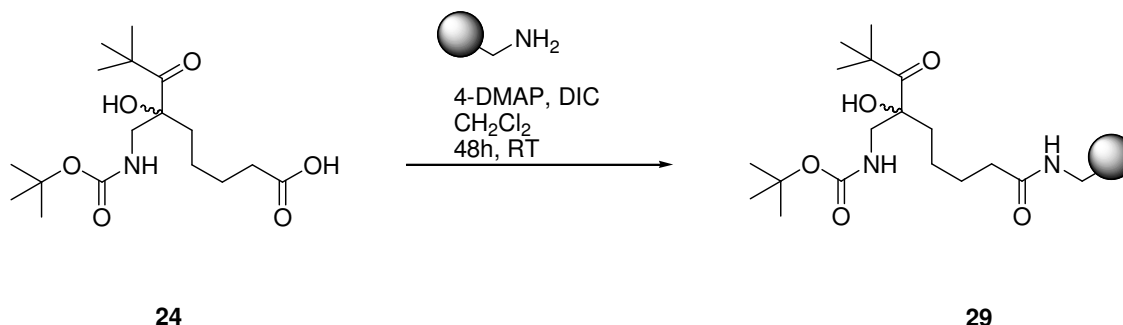
¹³C-Gel phase NMR (100.1 MHz, CDCl₃, δ/ppm):

213.1 (C_q, 1C, C-7), 172.7 (C_q, 1C, C-1), 64.1 (C_q, 1C, C-6), 51.1 (C_s, 1C, C-7'), 44.5 (C_q, 1C, C-8), 36.2, 36.1, 25.6, 24.6 (C_s, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5), 25.8 (C_p, 3C, C-9).

IR (KBr, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 1734, 1695.

15.3 Tentagel-Aminoalkohollinker

Photolinker(Boc)-TentaGel (**29**)⁶³

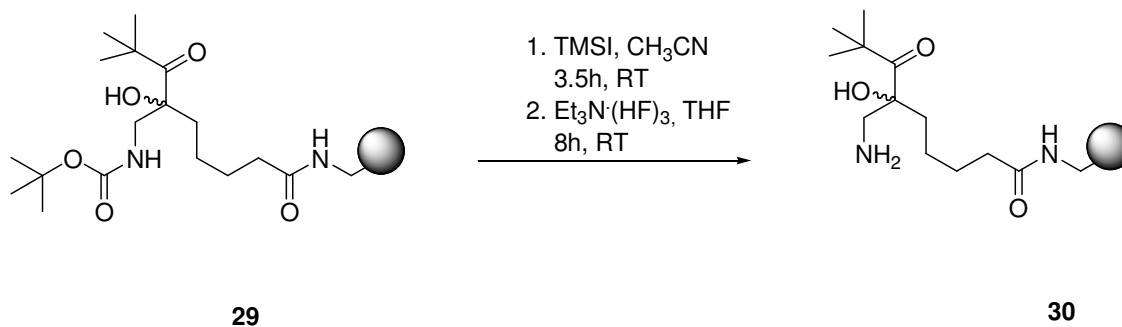


TentaGel S NH₂ (926 mg, 0.28 mmol/g; 0.26 mmol, *Rapp Polymere*) wurde in absolutem Dichlormethan (10 ml) suspendiert und nach 30 min mit einer Lösung von (*rac*)-8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(*tert.*-butyloxy-carbonyl)-aminomethyl]-pelargonsäure (**24**) (114 mg, 0.33 mmol, 1.2 eq.) in absolutem Dichlormethan (4 ml) versetzt. Nacheinander wurden 4-Dimethylaminopyridin (13 mg, 0.16 mmol, 0.41 eq.) und Diisopropylcarbodiimid (103 μ l, 0.67 mmol, 2.5 eq.) zugesetzt und das Reaktionsgemisch während 48 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wurde mit Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen. Das so erhaltene Harz wurde in absolutem Dichlormethan (10 ml) suspendiert, absolutes Pyridin (1.5 ml) und Acetanhydrid (1.5ml) zugesetzt und weitere 2h bei Raumtemperatur geschüttelt. Das gebildete Linkerharz wurde mit Dichlormethan (3 x 5 ml), Dimethylformamid (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen und am Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 988 mg des Harzes **29**. Der Kaisertest³² auf freie Aminogruppen am Harz fiel negativ aus.

Tentagel S NH · C₁₇H₃₀NO₅.

¹³C-Gel phase-NMR (101 MHz, CDCl₃):

219.9 (Cq, 1C, C-7), 172.8 (Cq, 1C, C-1), 158.4 (Cq, 1C, C-8'), 86.1 (Cq, 1C, C-6), 80.3 (Cq, 1C, C-9'), 49.1 (Cs, 1C, C-7'), 45.0 (Cs, 1C, C-8), 39.2 (Cs, 1C, C-2), 38.3 (Cs, 1C, C-5), 28.4 (Cp, 3C, C-10'), 26.9 (Cp, 3C, C-9), 26.0 (Cs, 1C, C-3), 23.2 (Cs, 1C, C-4).

Photolinker-TentaGel (30)^{52, 65}

Das Boc-geschützte Linkerharz **29** (140 mg, max. 40 μ mol) wurde in absolutem Acetonitril (2 ml) suspendiert, mit Trimethylsilyliodid (13 μ l, 90 μ mol, 2.3 eq.) versetzt und 4h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wurde Methanol (3 ml) zugegeben und weitere 20 min geschüttelt. Das rötlichgelbe Harz wurde mit Dimethylformamid (1 x 5 ml), 10 %iger Natriumhydrogen-sulfitlösung (2 x 5 ml), Wasser (3 x 5 ml), Methanol (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen.

Das farblose Harz wurde in absolutem Tetrahydrofuran (5 ml) suspendiert, mit Triethylamin-tris-Hydrofluorid (0.3 ml) versetzt und 8 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Es wurde mit Tetrahydrofuran (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen und am Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 144 mg farbloses Harz **30**.

Tentagel S NH \cdot C₁₂H₂₂NO₃.

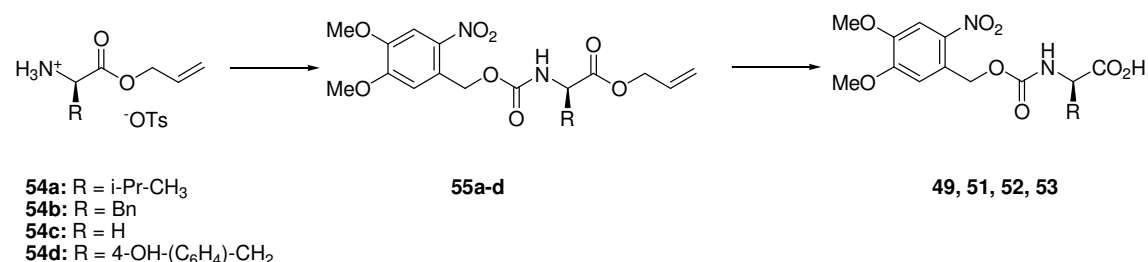
¹³C-Gel phase-NMR (125.5 MHz, CDCl₃):

216.2 (Cq, 1C, C-7), 173.5 (Cq, 1C, C-1), 81.9 (Cq, 1C, C-6), 47.3 (Cs, 1C, C-7'), 45.1 (Cq, 1C, C-8), 38.5 (Cs, 1C, C-2), 37.0 (Cs, 1C, C-5), 27.0 (Cp, 3C, C-9), 25.1 (Cs, 1C, C-3), 23.0 (Cs, 1C, C-4).

IR (KBr, $\tilde{\nu}$ /cm⁻¹): 1686 (C=O), 1654 (C=O) cm⁻¹.

16 Synthese des Pentapeptids Leu-Enkephalin an der Festphase

16.1 Synthese der NVOC-geschützten α -Aminosäuren 49, 51, 52, 53

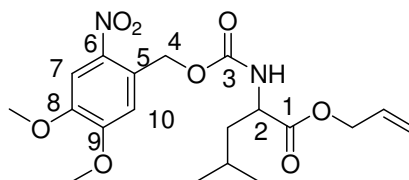


Schema 54: Synthese der NVOC-Aminosäuren 49, 51, 52, 53.

16.1.1 AAV1: Synthese der NVOC-geschützten α -Aminosäureallylester 55a-d⁷³

N,N'-Carbonyldiimidazol (330 mg, 2.00 mmol) wird in Dichlormethan (4 ml) suspendiert und mit 2-Nitroveratrol (426 mg, 2.00 mmol) bei 20°C versetzt. Nach einstündigem Rühren bei dieser Temperatur wird eine Suspension des Aminosäureallylesters (2.00mmol), der durch 30 min Rühren des entsprechenden Hydrotosylats (2.00 mmol) mit Natriumhydrid (2.00 mmol) in absolutem Dichlormethan (3 ml) erhalten wird, zugesetzt und 18 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 1N Salzsäure (10 ml) angesäuert und mit Ethylacetat (3 x 5 ml) extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das erhaltene Carbamat wird ohne zusätzliche Reinigung weiter nach **AAV 2** umgesetzt.

NVOC-Leu-O-All (55a):



C₁₉H₂₆N₂O₈ (410.42).

$R_f(\text{Diethylether:Essigsäure } 99:1) = 0.63.$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

7.72 (s, 1H, H-7); 7.01 (s, 1H, H-10); 5.90 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.60 (d, $J=15.5$, 1H, H-4_a); 5.48 (d, $J=15.5$, 1H, H-4_b); 5.32 (d, $J=17.0$, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_a\text{H}_b$); 5.29 (d, $J=10.4$, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_a\text{H}_b$); 4.63 (d, $J=5.6$, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 4.41 (m, 1H, H-2); 3.99, 3.96 (2*s, 6H, OCH_3); 1.90-1.50 (m, 3H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, $i\text{PrCH}_2$); 0.97 (d, $J=6.4$, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$).

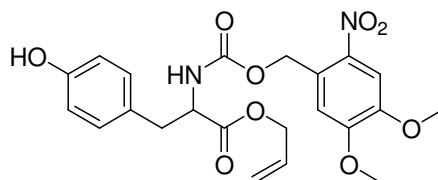
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

172.8, 155.5, 153.7, 147.9, 139.4, 131.4, 128.3, 118.8, 109.4, 108.0, 65.9, 63.7, 56.4, 56.3, 52.6, 41.5, 24.8, 22.8, 21.6.

IR (KBr, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3313, 2960, 1749, 1698, 1584, 1521, 1467, 1382, 1330, 1280, 1220, 1071, 981, 870.

MS (ESI-LCQ, m/z): 433 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

NVOC-Tyr-O-All (55d):



$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9$ (460.44).

$R_f(\text{Diethylether:Essigsäure } 99:1) = 0.50.$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

7.76 (s, 1H, H-7); 7.02 (d, $J=8.5$, 2H, H-6'); 6.97 (s, 1H, H-10); 6.77 (d, $J=8.5$, 2H, H-5'); 5.90 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.58 (d, $J=15.4$, 1H, H-4_a); 5.50 (d, $J=15.4$, 1H, H-4_b); 5.34 (d, $J=16.6$, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_a\text{H}_b$); 5.29 (d, $J=11.0$, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_a\text{H}_b$); 4.70-4.60 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 4.10-4.00 (m, 1H, H-2); 3.97 (s, 6H, OCH_3); 3.14 (dd, $J=13.6$, 5.3, 1H, H-3_a); 3.07 (dd, $J=13.6$, 6.3, 1H, H-3_b).

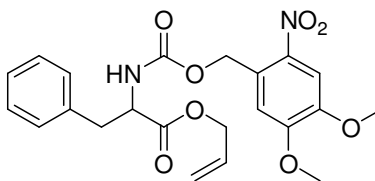
^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

171.3; 155.2; 154.7; 153.6; 148.0; 147.0; 131.3; 130.5; 128.1; 119.2; 115.5; 109.7; 108.1; 66.2; 63.8; 56.5; 56.4; 54.9; 37.2.

IR (KBr, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3404; 2940; 1737; 1708, 1617; 1579; 1524; 1459; 1440; 1325; 1276; 1219; 1068; 987.

MS (ESI-LCQ, m/z): 483 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

NVOC-Phe-O-AlI (54b):



$\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8$ (444.44).

$R_f(\text{Diethylether}:\text{Essigsäure } 99:1) = 0.63$.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

7.73 (s, 1H, H-7); 7.35-7.20 (m, 3H, H-6', H-7'); 7.16 (d, $J=6.3$, 2H, H-5'); 6.96 (s, 1H, H-10); 5.88 (tdd; $J=16.6$, 11.0, 5.0, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.58 (d, $J=15.0$, 1H, H-4_a); 5.50 (d, $J=15.0$, 1H, H-4_b); 5.33 (d, $J=16.6$, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_a\text{H}_b$); 5.28 (d, $J=11.0$, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_a\text{H}_b$); 4.72-4.65 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 4.64 (m, H-2); 3.97, 3.95 (2*s, 6H, OCH_3); 3.21 (dd, $J=14.0$, 5.6, 1H, H-3_a); 3.13 (dd, $J=14.0$, 6.3, 1H, H-3_b).

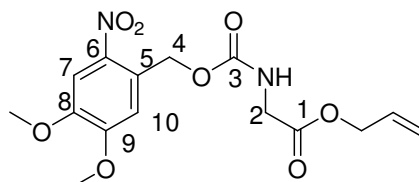
^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

171.2; 155.2; 153.6; 148.6; 148.0; 139.5; 135.5, 131.3; 129.2; 128.6; 128.2; 127.2; 126.1; 119.2; 111.0; 110.5; 109.6; 108.3; 108.1; 66.9; 66.2; 63.8; 62.8; 56.6; 56.4; 56.3; 54.8; 38.0.

IR (KBr, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3363; 2935; 2850; 1728; 1581; 1521; 1455; 1381; 1329; 1278; 1220; 1070; 987; 873; 796.

MS (ESI-LCQ, m/z): 467 (M+Na⁺).

NVOC-Gly-O-All (54c):



C₁₅H₁₈N₂O₈ (354.32).

R_f(Diethylether:Essigsäure 99:1) = 0.50.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ/ppm):

7.75 (s, 1H, H-7); 7.08 (s, 1H, H-10); 5.96 (dtt; *J*= 17.2, 10.4, 5.8, 1H, CH=CH₂); 5.62 (s, 2H, H-4); 5.58 (s, 1H, NH); 5.53 (dd, *J*=10.4, 1.2, 1H, CH=CH_aH_b); 5.42 (dd, *J*=17.2, 1.2, 1H, CH=CH_aH_b); 4.70 (d, *J*=5.8, 2H, CH₂CH=CH₂); 4.10-3.90 (m, 8H, H-2, OCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, δ/ppm):

154.5 (C_q, 1C, C-3); 154.3 (C_q, 1C, C-9); 153.7; 131.3; 126.8; 126.1; 119.3; 108.2; 68.8; 66.3; 56.4, 56.3 (C_p, 2C, OCH₃); 29.7.

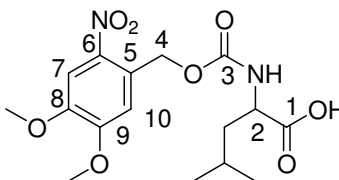
IR (KBr, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3311; 2924; 2853; 1751; 1707; 1582; 1523; 1459; 1388; 1331; 1276; 1221; 1173; 1066; 962; 873; 796; 756; 603.

MS (ESI-LCQ, m/z): 377 (M+Na⁺).

16.1.2 AAV2: Spaltung der NVOC-geschützten α -Aminosäureallylester 55a-d zu den NVOC-geschützten α -Aminosäuren 49, 51, 52, 53⁷⁴

Der NVOC-geschützte Allylester wird mit Tris-(triphenylphosphin)-rhodium-(I)-chlorid (10 mol-%) in 25 ml eines Ethanol-Wasser-Gemisches (9:1) pro 1.5 mmol Allylester 24 h unter Rühren auf 70° C erwärmt. Das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und die Lösung filtriert. Die organische Phase wird mit 1N Natronlauge extrahiert. Die Aminosäure wird durch Ansäuern der Wasserphase mit 1N Salzsäure freigesetzt und mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Nach der Trocknung mit Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer erhält man die NVOC-geschützte Aminosäure ohne weitere Reinigung.

NVOC-Leu-OH (51):



C₁₆H₂₂N₂O₈ (370.36).

R_f(Ethylacetat:Essigsäure 99:1) = 0.45.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

12.61 (br s, 1H, COOH $\underline{\text{H}}$); 7.85 (d, $J=8.3$, 1H, NH); 7.71 (s, 1 H, H-7); 7.18 (s, 1 H, H-10); 5.40 (d, $J=15.1$, 1 H, H_a-4); 5.33 (d, $J=15.1$, 1 H, H_b-4); 4.02-3.96 (m, 1 H, H-2); 3.92, 3.87 (2*s, 6 H, OCH $\underline{\text{H}}$ ₃); 1.71-1.64 (m, 1 H, H-2); 1.61-1.46 (m, 2H, *i*PrCH $\underline{\text{H}}$ ₂); 0.90 (d, $J=6.5$, 3H, (CH $\underline{\text{H}}$ ₃)_{2a}CH); 0.86 (d, $J=6.5$, 3H, (CH $\underline{\text{H}}$ ₃)_{2b}CH).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ /ppm):

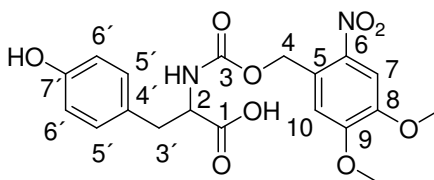
174.2 (C_q, 1C, C-1); 155.7 (C_q, 1C, C-3); 153.4, 147.5 (C_q, 2C, C-8, C-9); 138.9 (C_q, 1C, C-6); 128.2 (C_q, 1C-C-5); 109.8, 108.0 (C_t, 2C, C-7, C-10); 62.3 (C_s, 1C, C-4); 56.1 56.0 (C_s,

2C, OCH_3); 52.1 (Cs, 1C, C-2); 39.5 (Cs, 1C, $i\text{PrCH}_2$); 24.3 (Ct, 1C, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 22.8, 21.0 (Cp, 2C, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$).

IR (KBr, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3373, 3327, 2961, 1756, 1696, 1583, 1522, 1460, 1327, 1276, 1220, 1142, 1070, 879.

MS (ESI-LCQ, m/z): 393 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 53).

NVOC-Tyr-OH (53):



$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_9$ (420.37).

$R_f(\text{Ethylacetat:Essigsäure } 99:1) = 0.30$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , δ/ppm):

12.90 (br s, 1H, COOH); 9.20 (br s, 1H, OH); 7.86 (d, $J=8.2$, 1H, NH); 7.68 (s, 1H, H-7); 7.08 (s, 1H, H-10); 7.02 (s, 1H); 7.04 (d, $J=8.5$, 2H, H-6'), 6.64 (d, $J=8.4$, 2H, H-5'); 5.35 (d, $J=15.0$, 1H, H-4_a); 5.26 (d, $J=15.0$, 1H, H-4_b); 4.09 (ddd, $J=10.4, 8.5, 4.5$, 1H, H-2); 3.85 (s, 6H); 2.95 (dd, $J=13.9, 4.5$, 1H, H-3_a); 2.75 (dd, $J=13.9, 10.4$, 1H, H-3_b).

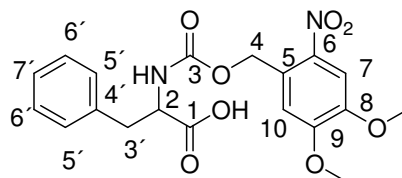
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , δ/ppm):

173.4(Cq, 1C, C-1); 155.8; 155.6 (Cq, 2C, C-3, C-9); 153.4 (Cq, 1C, C-7'); 147.5 (Cq, 1C, C-8); 138.8 (Cq, 1C, C-6); 129.9 (Ct, 2C, C-5'); 128.3, 127.7 (Cq, 2C, C-5, C-4'); 114.9 (Ct, 1C, C-10); 109.6, 108.0 (Ct, 3C, C-6', C-7); 62.2 (Cs, 1C, C-4); 56.1, 56.0, 55.9 (2*Cp, 1*Ct, 3C, C-2, OCH_3); 35.6 (Cs, 1C, C-3').

IR (KBr, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3412; 3331; 2942; 1702; 1617; 1584; 1517; 1441; 1331; 1275; 1216; 1068; 980.

MS (ESI-LCQ, m/z): 419 (M-H, 13).

NVOC-Phe-OH (52):



C₁₉H₂₀N₂O₈ (404.38).

R_f(Ethylacetat:Essigsäure 99:1) = 0.30.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ/ppm):

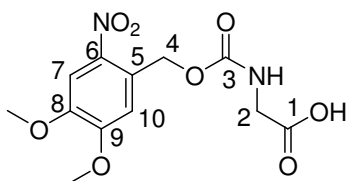
12.8 (br s, 1H, COOHH); 7.93 (d, *J*=8.4, 1H, NH); 7.68 (s, 1H, H-7); 7.28-7.16 (m, 5H, H-5', H-6', H-7'); 7.08 (s, 1H, H-10); 5.34 (d, *J*=15.1, 1H, H-4_a); 5.24 (d, *J*=15.1, 1H, H-4_b); 4.18 (ddd, *J*=10.4, 8.5, 4.3, 1H, H-2); 3.84, 3.83 (2*s, 6H, OCHH₃); 3.07 (dd, *J*=13.8, 4.3, 1H, H-3_a); 2.84 (dd, *J*=13.8, 10.7, 1H, H-3_b).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ/ppm):

173.2 (Cq, 1C, C-1); 155.6; (Cq, 1C, C-3); 153.4 (Cq, 1C, C-9); 147.5 (Cq, 1C, C-8); 138.8, 137.8 (Cq, 2C, C-4', C-6); 129.0, 128.2, 128.1 (Ct, 5C, C-5', C-6', C-7'); 126.3 (Cq, 1C, C-5); 109.7, 108.0 (Ct, 3C, C-6', C-7); 62.2 (Cs, 1C, C-4); 56.1, 56.0, 55.5 (2*Cp, 1*Ct, 3C, C-2, OCHC₃); 36.3 (Cs, 1C, C-3').

IR (KBr, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3331; 2030;2967; 1755; 1693; 1586; 1522; 1465; 1430; 1382; 1329; 1277; 1220; 1142; 1069; 977; 879; 798; 756; 703.

MS (ESI-LCQ, m/z): 403 (M-H, 66).

NVOC-Gly-OH (49):

$C_{12}H_{14}N_2O_8$ (314.25).

R_f (Ethylacetat:Essigsäure 99:1) = 0.13.

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , δ /ppm):

12.53 (br s, 1H, COOHH); 7.84 (t, $J=6.1$, 1H, NH); 7.71 (s, 1H, H-7); 7.12 (s, 1H, H-10); 5.37 (s, 2H, H-4); 3.93, 3.87 (2*s, 6H, OCHH3); 3.71 (d, $J=6.1$, 2H, H-2).

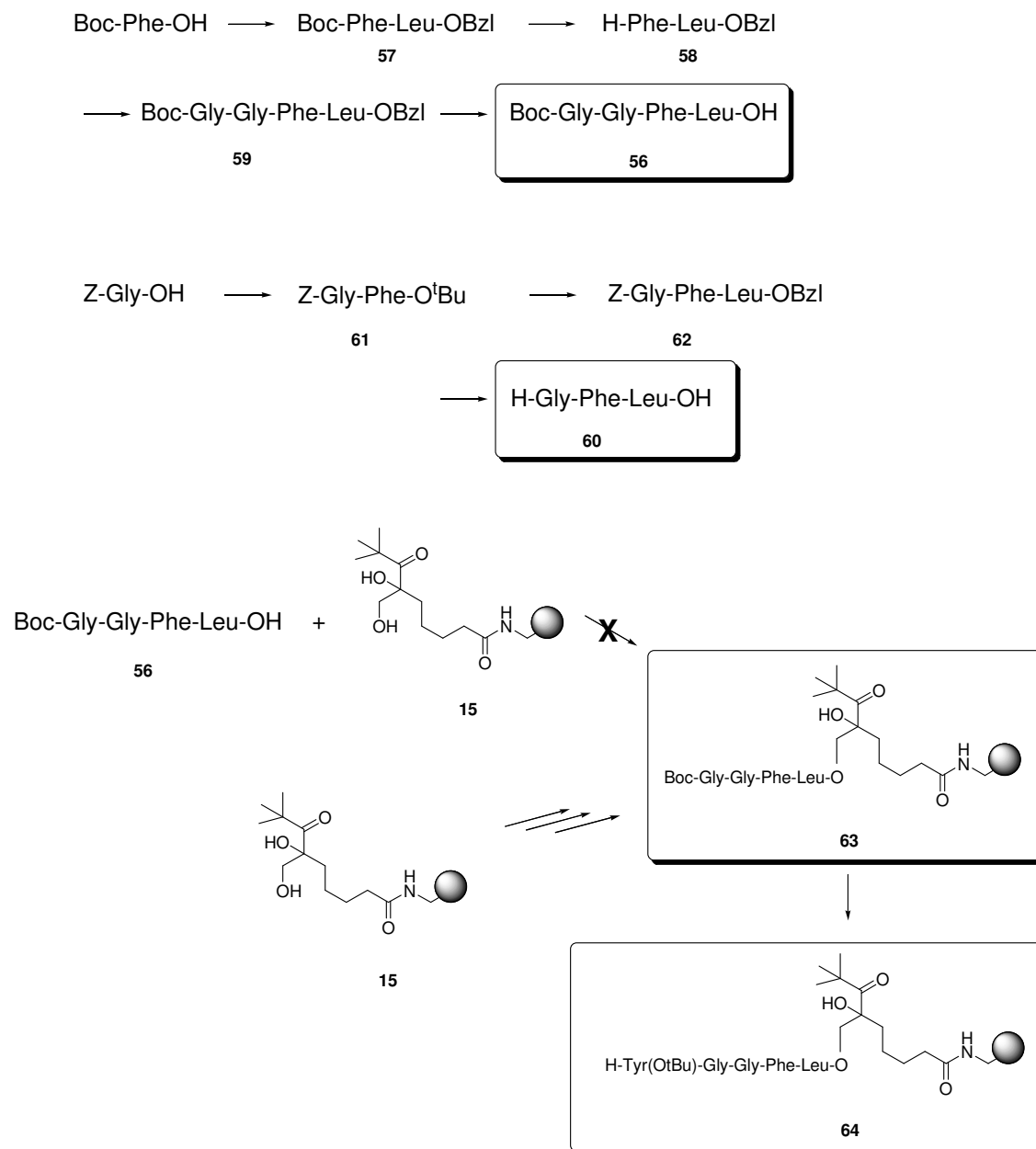
^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , δ /ppm):

171.9 (Cq, 1C, C-1); 156.6 (Cq, 1C, C-3); 153.8, 148.0 (Cq, 2C, C-8, C-9); 139.4 (Cq, 1C, C-6); 128.4 (Cq, 1C-C-5); 110.5, 108.4 (Ct, 2C, C-7, C-10); 62.9 (Cs, 1C, C-4); 56.5 56.4 (Cs, 2C, OCHH3); 42.4 (Cs, 1C, C-2).

IR (KBr, $\tilde{\nu}/cm^{-1}$): 3373; 3327; 2960; 1756; 1698; 1583; 1522; 1460; 1382; 1328; 1277; 1220; 1142; 1071; 976; 879; 797; 756; 605.

MS (ESI-LCQ, m/z): 313 (M-H⁻, 10).

16.1.3 Synthese der Referenzpeptide



Schema 55: Synthese der Referenzpeptide in Lösung und an der Festphase.

16.1.3.1 Synthese des Referenzpeptids Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (56) in homogener Phase.

1.) Boc-Phe-Leu-OBzl (57).

Boc-Phe-OH (1.00 g, 3.78 mmol) wurde in Dichlormethan (50 ml) gelöst und bei 0°C mit 1-Hydroxybenzotriazol-Hydrat (2.06 g, 15.25 mmol, 4.0 eq.) und N,N-Diisopropylcarbodiimid

(2.3 ml, 15.0 mmol, 4.0 eq.) versetzt und 30 min gerührt. Dann wurden H-Leu-OBzl-4-Tosylat (1.77 g, 4.51 mmol, 1.2 eq.) und N-Ethyldiisopropylamin (1.5 ml, 8.8 mmol, 2.3 eq.) zugesetzt und das Gemisch während 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in Ethylacetat (100 ml) gelöst. Die organische Phase wurde nacheinander mit wässriger Zitronensäurelösung (100 ml, 10 %) und Natriumcarbonatlösung (100 ml, 10 %) extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösemittels am Rotationsverdampfer und chromatographischer Reinigung (Uetikon, Hexan:Ethylacetat 4:1) erhielt man Boc-Phe-Leu-OBzl (**57**) (1.67 g, 3.56 mmol, 94 %) als farbloses Öl.

$C_{27}H_{36}N_2O_5$ (468.59).

MS (ESI-LCQ, m/z): 491 (M+Na⁺, 100).

2.) H-Phe-Leu-OBzl (**58**).

Boc-Phe-Leu-OBzl (**57**) (1.70g, 3.56 mmol) wurde in Dichlormethan (15 ml) gelöst, bei 0°C mit Trifluoressigsäure (15 ml) versetzt und 20 min bei dieser Temperatur und anschließend 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde am Rotationsverdampfer eingengt und das H-Phe-Leu-OBzl (**58**) enthaltende zurückbleibende rote Öl (1.30g, 3.52 mmol, 99 %) ohne weitere Reinigung direkt zu **59** umgesetzt.

$C_{22}H_{28}N_2O_3$ (368.48).

MS (ESI-LCQ, m/z): 369 (M+H⁺, 100).

3.) Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OBzl (**59**).

Boc-Gly-Gly-OH (0.77g, 3.33 mmol) wurde in Dichlormethan:N,N-Dimethylformamid 50:1 (51 ml) gelöst, bei 0°C nacheinander mit Diisopropylcarbodiimid (1.50 ml, 9.82 mmol, 2.9 eq.) und 4-Dimethylaminopyridin (84 mg, 0.69 mmol, 0.2eq.) versetzt und 20 min gerührt. Dieser Reaktionslösung wurde eine Lösung des rohen H-Phe-Leu-OBzl (**58**) (1.30g, 3.52 mmol, 1.1 eq.) in Dichlormethan (20 ml) und N-Ethyldiisopropylamin (2.0 ml, 11.7 mmol, 3.5 eq.) zugesetzt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wurde am

Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in Ethylacetat (100 ml) gelöst. Die organische Phase wurde nacheinander mit wäßriger Zitronensäurelösung (2x100 ml, 10 %) und Natriumhydrogencarbonatlösung (2x50 ml, 10 %) extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösemittels am Rotationsverdampfer und chromatographischer Reinigung (Uetikon, Hexan:Ethylacetat 4:1) erhielt man Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OBzl (**59**) (1.37 g, 2.33 mmol, 70 %) als farblosen Feststoff.

$C_{31}H_{42}N_4O_7$ (582.70).

R_f (Hexan:Ethylacetat 3:1) = 0.25.

MS (ESI-LCQ, m/z): 583 (M+H⁺, 100).

4.) Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**).⁷⁶

Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OBzl (**59**) (105 mg, 172 μ mol) wurde in abs. Ethanol (8 ml) gelöst, mit Palladium-Aktivkohle (10 %, 204 mg, 188 μ mol, 1.1 eq.) und 1,4-Cyclohexadien (230 μ l, 3.50 μ mol, 20.0 eq.) versetzt und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celite filtriert. Nach Entfernung des Lösemittels am Rotationsverdampfer und Trocknung im Hochvakuum erhielt man Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**) (85 mg, 172 μ mol, 100 %) als farblosen Feststoff.

$C_{24}H_{38}N_4O_7$ (492.57).

R_f (Ethylacetat) = 0.05.

MS (ESI-LCQ, m/z): 515 (M+Na⁺, 100), 491 (M-H, 100).

16.1.3.2 Synthese Referenzpeptid H-Gly-Phe-Leu-OH (60) in homogener Phase.

1.) Z-Gly-Phe-O^tBu (61).

Z-Gly-OH (100 mg, 480 μmol , 1.2 eq.) wurde in Dichlormethan (15 ml) gelöst und bei Raumtemperatur mit Diisopropylcarbodiimid (250 μl , 1.61 mmol, 3.4 eq.) versetzt und 30 min gerührt. Anschließend wurden nacheinander H-Phe-O^tBu (86 mg, 390 μmol , 1.0 eq.), gelöst in einem Dichlormethan-Dimethylformamidgemisch (1:1, 2 ml), N-Diisopropylethylamin (75.0 μl , 440 μmol , 1.1 eq.) und 4-Dimethylaminopyrimidin (10 mg, 90 μmol , 0.2 eq.) zugesetzt. Das Gemisch wurde 90 min gerührt und das Lösemittel schließlich am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde mit Natriumcarbonatlösung (10 %, 30 ml) versetzt, mit Diethylether (3x20 ml) extrahiert und die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösemittels am Rotationsverdampfer und chromatographischer Reinigung (Uetikon, Hexan:Ethylacetat 2:1) erhielt man Z-Gly-Phe-O^tBu (61) (154 mg, 370 μmol , 95 %) als farbloses Öl.

$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5$ (412.49).

$R_f(\text{Ethylacetat:Hexan } 1:1) = 0.43$.

MS (ESI-LCQ, m/z): 413 (M+H⁺, 100).

2.) Z-Gly-Phe-Leu-OBzl (62).

Z-Gly-Phe-O^tBu (61) (107 mg, 260 μmol) wurde in Dichlormethan (5 ml) gelöst, bei Raumtemperatur mit Trifluoressigsäure (3 ml) versetzt und gerührt. Nach 6 h wurde der Ansatz am Rotationsverdampfer eingengt und mit Toluol (50 ml) und Dichlormethan (50 ml) koevaporiert.

Das verbleibende rötliche Öl wurde in Dichlormethan (5 ml) gelöst und bei 0°C mit 1-Hydroxybenzotriazol-Hydrat (148 mg, 1.00 mmol, 3.6 eq.) und Diisopropylcarbodiimid (150 μl , 1.00 mmol, 3.6 eq.) versetzt und 30 min gerührt. Nacheinander wurden H-Leu-OBzl-4-Tosylat (132 mg, 340 μmol , 1.2 eq.) und N-Diisopropylethylamin (150 μl , 90 μmol , 2.7 eq.), ebenfalls bei 0°C, zugesetzt. Während 4 h wurde das Reaktionsgemisch unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmt. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der

Rückstand in Ethylacetat (30 ml) gelöst. Die organische Phase wurde nacheinander mit Salzsäure (1 N, 50 ml), Natriumcarbonatlösung (10 %, 2x50 ml) und Wasser (50 ml) extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösemittels am Rotationsverdampfer und chromatographischer Reinigung (Uetikon, Hexan:Ethylacetat 1:4) erhielt man Z-Gly-Phe-Leu-OBzl (**62**) (85 mg, 152 μmol , 54 %) als farblosen Feststoff.

$\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_6$ (559.67).

$R_f(\text{Ethylacetat:Hexan } 1:1) = 0.28$.

MS (ESI-LCQ, m/z): 582 (M+Na⁺, 100).

3.) H-Gly-Phe-Leu-OH (**60**).⁷⁶

Z-Gly-Phe-Leu-OBzl (**62**) (85 mg, 152 μmol) wurde in abs. Ethanol (3 ml) gelöst und mit Palladium-Aktivkohle (10 %, 178 mg, 167 μmol , 1.1 eq.) und 1,4-Cyclohexadien (300 μl , 320 μmol , 21.1 eq.) 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wurde anschließend über Celite filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Nach chromatographischer Reinigung (Uetikon, Dichlormethan:Methanol:Essigsäure 50:50:1) erhielt man H-Gly-Phe-Leu-OH (**60**) (20 mg, 60 μmol , 40 %) als farblosen Feststoff.

$\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4$ (335.40).

$R_f(\text{Dichlormethan:Methanol:Essigsäure } 50:50:1) = 0.30$.

MS (ESI-LCQ, m/z): 336 (M+H⁺, 100), 334 (M-H, 100).

16.1.3.3 Synthese von Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (**63**).

*Kupplung von Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**) mit Linkerharz **15**.*

TentaGel-Photolinkerharz **15** (20 mg, 8 μmol) wurde mit Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**) (8 mg, 16 μmol , 2.0 eq.), Diisopropylcarbodiimid (5 μl , 32 μmol , 4.0 eq.) und

4-Dimethylaminopyridin (1 mg, 8 μmol , 1.0 eq.) in Dichlormethan-Dimethylformamid (1:1, 4 ml) 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt und anschließend mit Dimethylformamid (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen. Nach der Trocknung im Hochvakuum erhielt man ein hellgelbes Harz (22 mg).

Die mittels Pikrattest¹⁹ bestimmte Beladung betrug lediglich 0.04 mmol/g Harz (<10 % der größtmöglichen Beladung), die für die weiteren Experimente zu gering erschien.

Sequentieller Aufbau von Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (63)

Beladung mit der ersten Aminosäure Fmoc-Leucin

TentaGel-Photolinkerharz **15** (119 mg, 35 μmol) wurde 24 h bei Raumtemperatur mit Fmoc-Leucin (374 mg, 1.06 mmol, 21 eq.) in einer Lösung von 4-N,N-Dimethylaminopyridin (5 mg, 40 μmol , 1.1 eq.), *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid (80 μl , 520 μmol , 14.9 eq.) in einem Gemisch aus Dichlormethan (5 ml) und N,N-Dimethylformamid (1 ml) geschüttelt. Anschließend wurde die Reaktionslösung dekantiert und das Harz mit N,N-Dimethylformamid (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen.

Die Beladung des Harzes betrug 0.30 mmol/g (103 %).

16.1.4 Syntheseprotokoll für Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (63)

Folgende Reagenzien wurden eingesetzt:

Harz **15** (119 mg, 25 μmol)

N,N-Diisopropylcarbodiimid (DIC, 60 μl , 390 μmol , 15.6 eq.)

Hydroxybenzotriazol-Hydrat (HOBt, 60 mg, 440 μmol , 17.6 eq.)

N-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA, 20 μl , 113 μmol , 4.5 eq.)

Fmoc-Phe-OH (48 mg, 125 μmol , 5.0 eq.)

Fmoc-Gly-OH (37 mg, 125 μmol , 5.0 eq.)

Boc-Gly-OH (22 mg, 125 μmol , 5.0 eq.)

Fmoc-Entschützung

Das Harz wurde 1h mit Piperidin (20 % in DMF, 5 ml) geschüttelt und anschließend mit N,N-Dimethylformamid (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen.

Boc-Entschützung

Das Harz wurde 6h mit Trifluoressigsäure-Dichlormethan (1:1, 5 ml) geschüttelt und anschließend mit Dichlormethan (3 x 5 ml), DIPEA (5 % in Dichlormethan, 3 x 5 ml) und wieder mit Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen und getrocknet.

Kupplung

Das Fmoc-entschützte Harz in Dichlormethan-DMF (2:1, 3 ml) wurde nacheinander mit der entsprechenden Aminosäure, DIC, HOBt und DIPEA versetzt und 4 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Reaktionslösungen wurden dekantiert und das Harz mit N,N-Dimethylformamid (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen. Der Kaisertest auf freie Aminogruppen verlief nach jedem Kupplungsschritt negativ.

Die Beladung des Harzes wurde mit dem Pikrattest (Lit.) an einer Boc-entschützten Probe zu 0.23 mmol/g (79 %) bestimmt.

16.1.5 Syntheseprotokoll für H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (64)

Folgende Reagenzien wurden eingesetzt:

Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (**63**) (29 mg, 7 μ mol)

N,N-Diisopropylcarbodiimid (DIC, 15 μ l, 97 μ mol, 13.9 eq.)

Hydroxybenzotriazol-Hydrat (HOBt, 16 mg, 119 μ mol, 17.0 eq.)

N-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA, 20 μ l, 113 μ mol, 16.1 eq.)

Fmoc-Tyr(OtBu)-OH (41 mg, 92 μ mol, 13.1 eq.)

Boc-Entschützung

Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (**63**) wurde 6h mit Trifluoressigsäure-Dichlormethan (1:1, 5 ml) geschüttelt und anschließend mit Dichlormethan (3 x 5 ml), DIPEA (5 % in Dichlormethan, 3 x 5 ml) und wieder mit Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen und getrocknet.

Kupplung

Das Boc-entschützte Harz in Dichlormethan-DMF (2:1, 3 ml) wurde mit Fmoc-Tyr(OtBu)-OH, DIC, HOBt und DIPEA versetzt und 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Reaktionslösungen wurden dekantiert und das Harz mit N,N-Dimethylformamid (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen. Der Kaisertest auf freie Aminogruppen war negativ.

Fmoc-Entschützung

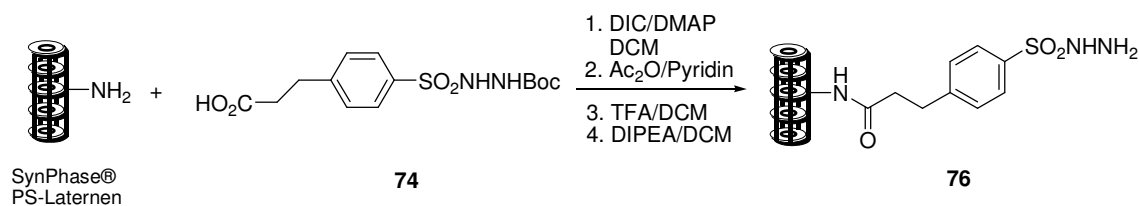
Das Harz wurde 1h mit Piperidin (20 % in DMF, 5 ml) geschüttelt und anschließend mit N,N-Dimethylformamid (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen.

Die Beladung des Harzes **64** wurde spektrophotometrisch durch Fmoc-Abspaltung mit Piperidin-DMF zu 0.24 mmol/g (80 %) bestimmt.⁷⁵

16.2 Scavenger-Harze für Aldehyde

16.2.1 Herstellung der Scavenger-Laternen **76**

16.2.1.1 Anbindung des Scavengers (4-Hydrazinylsulfonylphenyl)-3-propansäure (**74**) an aminofunktionalisierte PS-Synphase[®]-Laternen als Amid



Schema 56: Beladung der SynPhase[®] Laternen mit dem Aldehydscavenger **74**.

1. Anbindung an die aminofunktionalisierten Laternen:

3 PS-Synphase[®]-Laternen (105 μmol) wurden in Dichlormethan (9 ml) gequollen und nacheinander mit *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid (160 μl , 1040 μmol , 9.9 eq.), 3-(4-(2-(*tert*-Butoxycarbonyl)hydrazinylsulfonyl)-phenyl)-propansäure (**74**) (194 mg, 564 μmol , 5.4 eq.) und 4-Dimethylaminopyridin (10 mg, 82 μmol , 0.8 eq) versetzt und 3d bei Raumtemperatur

geschüttelt. Die Reaktionslösung wurde dekantiert und die Laternen mit *N,N*-Dimethylformamid (3 x 10 ml) und Dichlormethan (3 x 10 ml) gewaschen. Der qualitative Kaisertest auf freie Aminogruppen war negativ.

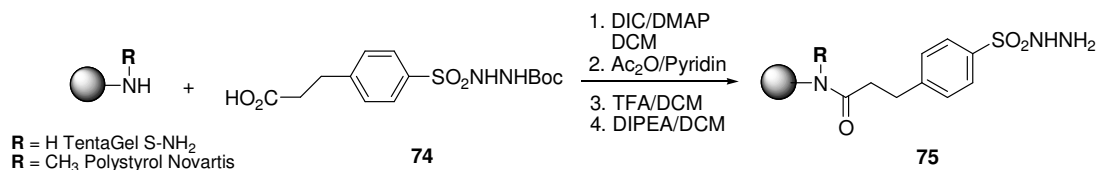
Die Laternen wurden 2h mit Acetanhydrid-Pyridin (1:1, 10 ml) behandelt und anschließend mit Dichlormethan gewaschen (3 x 10 ml).

2. Boc-Entschüttung

Die vollständig beladenen Laternen wurden 18h mit Trifluoressigsäure-Dichlormethan (1:1, 10 ml) geschüttelt und anschließend mit Dichlormethan (3 x 10 ml), DIPEA (5 % in Dichlormethan, 3 x 10 ml) und wieder mit Dichlormethan (3 x 10 ml) gewaschen und getrocknet.

Man erhielt farblose *Scavenger*-Laternen **76** mit einer mittleren Beladung von 0.26 mmol/g.

16.2.2 Anbindung des *Scavengers* (4-Hydrazinylsulfonylphenyl)-3-propansäure (**74**) an aminofunktionalisierte Festphasenharze als Amid



TentaGel S-NH₂ (200 μm , 70 mesh) bzw. Polystyrol-NMe (200 μm , 70 mesh, Novartis) wurden in Dichlormethan (9 ml) gequollen und unter Aktivierung mit *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid und 4-Dimethylaminopyridin mit 3-(4-(2-(*tert*-Butoxycarbonyl)hydrazinylsulfonyl)-phenyl)-propansäure (**74**) 3d bei Raumtemperatur unter Schütteln gekuppelt.⁷⁵ Der qualitative Kaisertest auf freie Aminogruppen war negativ.

Die Harze wurden 2h mit Acetanhydrid-Pyridin (1:1, 10 ml) behandelt und anschließend mit Dichlormethan gewaschen (3 x 10 ml).

2. Boc-Entschüttung

Die vollständig beladenen *Scavenger*-Harze wurden 18h mit Trifluoressigsäure-Dichlormethan (1:1, 10 ml) geschüttelt und anschließend mit Dichlormethan (3 x 10 ml), DIPEA (5 % in Dichlormethan, 3 x 10 ml) und wieder mit Dichlormethan (3 x 10 ml) gewaschen und getrocknet.

Man erhielt farblose *Scavenger*-Harze **PS-75** und **TG-75**.

16.2.3 Effizienz der Aldehydabfangreagenzien bei der NVOC-Entschützung an der Festphase.

16.2.3.1 Lösliche Scavenger

NVOC-Leu-O-Photolinker-Tentagel (**77**) (0.4 mmol/g, jeweils 23.0 mg, 9 μ mol) wurde unter Argonatmosphäre in einer 10mm-Quarzglasküvette in entgastem Lösemittel (jeweils 3.0 ml) suspendiert und bei 16°C in Intervallen von 20 min bei einer Wellenlänge von 360 nm (Lichtquelle 1) unter Rühren belichtet. Der Fortschritt der NVOC-Entschützung wurde UV-spektrophotometrisch verfolgt, indem die Absorption der gelösten Spaltprodukte in der überstehenden Lösung bei 350 nm nach jedem Belichtungsintervall bestimmt wurde. Die Lösungen mit den Spaltprodukten wurden dekantiert und durch frische Lösungen der Abfangreagenzien ersetzt. Die Belichtung wurde so lange fortgesetzt, bis eine konstante minimale Absorption festgestellt werden konnte.

Die Beladung mit freien Aminogruppen wurde mittels Pikrattest bestimmt.¹⁹

Tabelle 26: Einfluß von Aldehydabfangreagenzien während der NVOC-Entschützung an **77**.

Lösemittel Zusatz Abfangreagens (%)	Photolysendauer (min.)	gef. Beladung NH ₂ % (mmol/g) Aspekt des Harzes
MeOH kein Zusatz	60	5 % (0.02) braun
MeOH Semicarbazid-HCl (0.1 %)	120	53 % (0.21) blaßgelb
MeOH 2-Aminoethanol (0.1 %)	60	18 % (0.07) braun

16.2.3.2 Polymer gebundene *Scavenger*

Allgemeine Durchführung

Das NVOC-geschützte Photolinkerharz **77** (2 μmol) wurde in die 10 mm-Belichtungsküvette gegeben und in Tetrahydrofuran (3 ml) gequollen.

a) *Scavenger-Harze*

Das *Scavenger*-Harz **75** bzw. **TG-75** (20 μmol , 10 eq.) wurde in die permeable Hülse gefüllt und in die Küvette gesteckt, so daß der Lichtstrahl nicht unmittelbar auf das *Scavenger*harz traf (Abbildung 32). Während der Belichtung wurde das photolabile Harz gerührt.

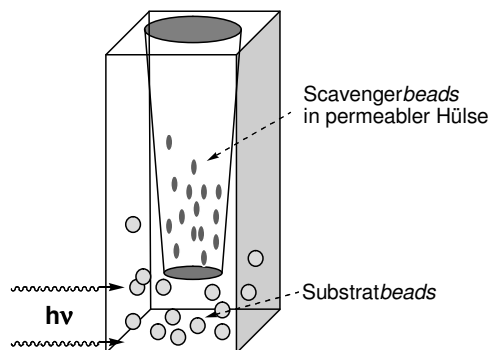


Abbildung 32: Schematischer Aufbau des Photolysegefäßes für den parallelen Einsatz zweier Reaktivharze.

Nach der Belichtung wurde die durchlässige Hülse mit dem Abfangharz entfernt und das entschützte Harz nacheinander mit Tetrahydrofuran und Dichlormethan gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Die Beladung mit freien Aminfunktionen wurde mit dem Pikrattest bestimmt (Tabelle 27).¹⁹

b) *Scavenger-Laternen*

Die *Scavenger*-Laternen wurden auf eine Weise mit feinem Draht in der Küvette befestigt, daß sie nicht unmittelbar dem fokussierten Lichtstrahl ausgesetzt waren (Abbildung 33).

Während der Belichtung wurde das photolabile Harz gerührt.

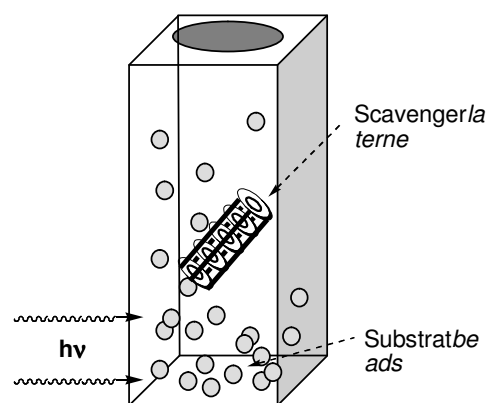


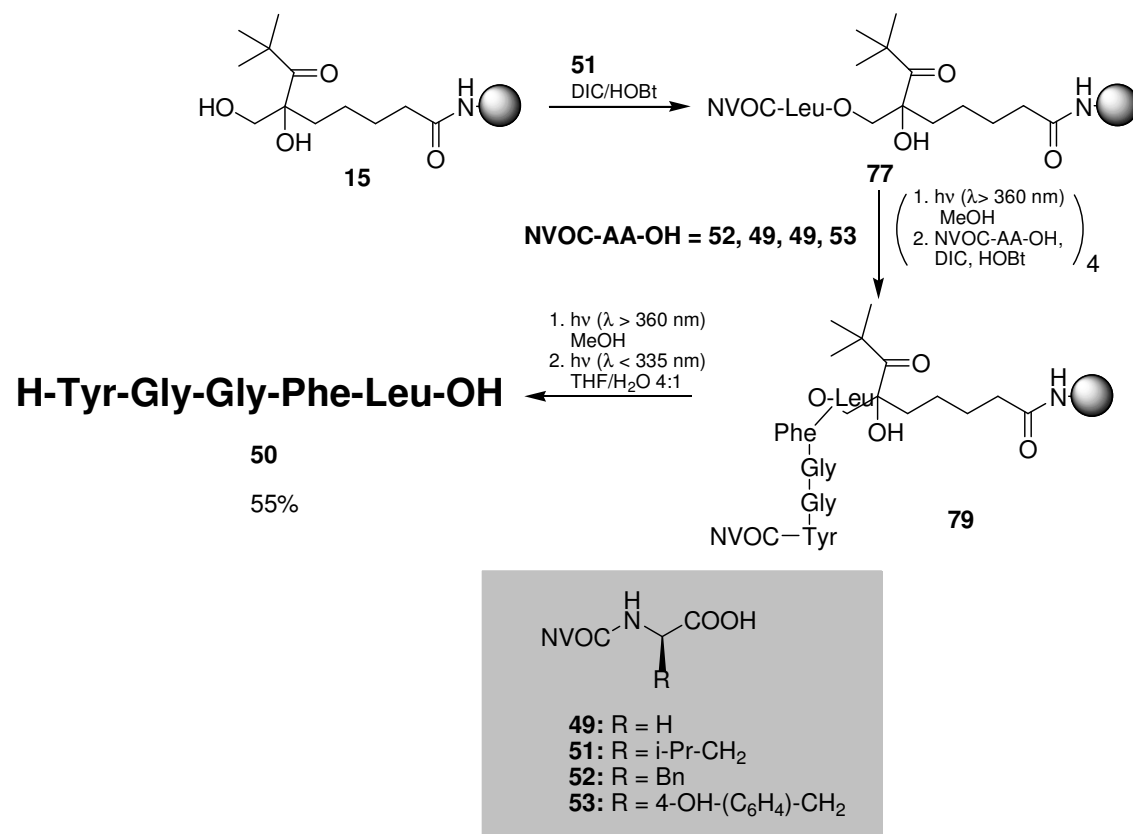
Abbildung 33: Schematischer Aufbau des Photolysegefäßes für den parallelen Einsatz von Beads und Laternen.

Nach der Belichtung wurde die Laterne entfernt und das entschützte Harz nacheinander mit Tetrahydrofuran und Dichlormethan gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Die Beladung mit freien Aminfunktionen wurde mit dem Pikrattest bestimmt (Tabelle 27).¹⁹

Tabelle 27: Wirksamkeit polymer gebundener Aldehydabfangreagenzien.

Lösemittel Scavengerharz (> 10 eq.)	Photolysendauer (min.)	gefundene Beladung NH ₂ % (mmol/g)
THF Polystyrol-Scav. 70 (400 mesh)	120	55 % (0.22)
THF TentaGel S-NH-Scav. TG-75 (70 mesh)	120	24 % (0.10)
THF Polystyrol-N(Me)-Scav. 75 (70 mesh)	120	32 % (0.13)
THF SynPhase-NH-Scav. 76	120	8 % (0.03)

16.3 Peptidsynthesen an der Festphase mit photochemisch orthogonalen Schutzgruppen



Schema 57: Syntheseübersicht Leu-Enkephalin (**50**).

Bemerkung zum Reaktionsgefäß:

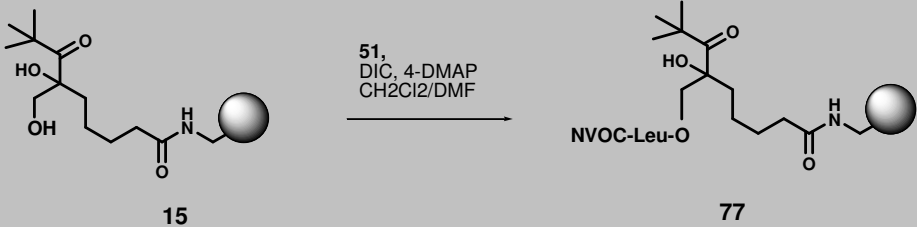
Sämtliche Operationen wie Photolysen und Peptidkupplungsreaktionen wurden in einer *einzelnen* Quarzglasküvette durchgeführt. Die Reaktionslösungen und Spülflüssigkeiten wurden mit Hilfe zweier Kunststoffspritzen und feiner Kanülen zugegeben bzw. dekantiert.

16.4 Syntheseprotokoll für Leu-Enkephalin (50)

Beladung mit der ersten Aminosäure NVOC-Leucin

Die TentaGel-Photolinkerharze **TG-15**, bzw. **PS-15** wurden in Spritzen mit eingesetzter PE-Fritte von *MultiSynTech* bei Raumtemperatur mit NVOC-Leucin (**51**) in einer Lösung von *N*-Hydroxybenzotriazol-Hydrat, *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid und 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin in Dichlormethan-*N,N*-Dimethylformamid 48h geschüttelt. Die Reaktionsbedingungen sind in Tabelle 28 aufgeführt. Die Kupplungslösungen wurden abfiltriert, die beladenen Harze nacheinander mit *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan gewaschen (jeweils 3 x 5 ml) und im Hochvakuum getrocknet.

Tabelle 28: Bedingungen für die Veresterung am photolabilen Diol-Linkerharz **15**.

		
Reagenzien	NVOC-Leu-O- Photolinker- <i>TentaGel</i> (TG-77)	NVOC-Leu-O- Photolinker- <i>Polystyrol</i> (PS-77)
<i>TentaGel</i> -Photolinker (TG-15)	520 mg, 210 μmol	
<i>Polystyrol</i> -Photolinker (PS-15)		66 mg, 59 μmol
<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid (DIC)	125 μl, 810 μmol, 3.9 eq.	70 μl, 450 μmol, 7.6 eq.
<i>N</i> -Hydroxybenzotriazol-Hydrat (HOBt)	111 mg, 810 μmol, 3.9 eq.	66 mg, 480 μmol, 8.2 eq.
4-Dimethylaminopyridin (DMAP)	13 mg, 100 μmol, 0.5 eq.	19 mg, 160 μmol, 2.6 eq.
NVOC-Leu-OH	194 mg, 520 μmol, 2.5 eq.	47 mg, 130 μmol, 2.1 eq.
Dichlormethan/DMF 3:1	12 ml	4 ml

NVOC-Entschützung

Die geschützten Harze (25-60 μmol) wurden unter Argonatmosphäre in einer 10mm-Quarzglasküvette in entgaster methanolischer Semicarbazid-Hydrochloridlösung (0.5 %, 3 ml) suspendiert unter Rühren belichtet.⁴⁰ Der Fortschritt der NVOC-Abspaltung wurde UV-spektrophotometrisch verfolgt, indem die Absorption der gelösten Spaltprodukte in den überstehenden Lösungen bei 350 nm nach jedem Belichtungsintervall bestimmt wurde. Die Lösungen wurden anschließend dekantiert und durch frische methanolische Semicarbazid-Hydrochloridlösung ersetzt. Man setzte die Photolyse so lange fort, bis eine konstante minimale Absorption festgestellt werden konnte.

Das Harz wurde nach der vollständigen NVOC-Entschützung nacheinander mit Methanol und Dichlormethan (jeweils 5x3 ml) gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Die Beladung mit freien Aminofunktionen wurde mit Hilfe des Pikrattests bestimmt.¹⁹

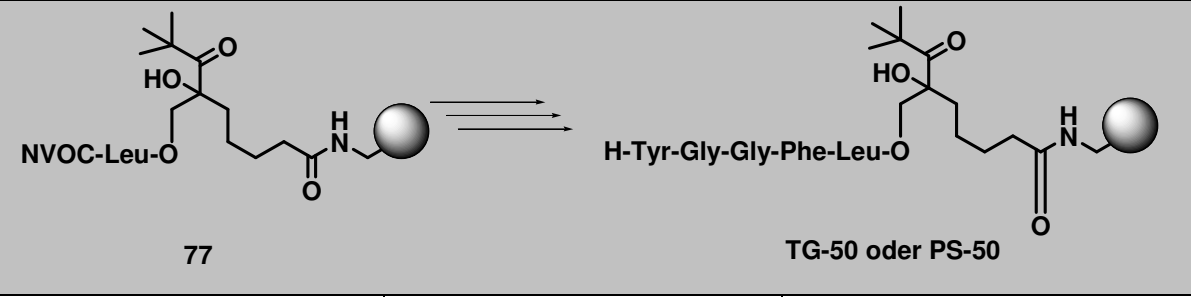
Tabelle 29: Allgemeine Bedingungen zur NVOC-Entschützung an der Festphase.

NVOC-Entschützung (Lichtquelle 1, 360nm Kantenfilter)		
Bedingungen	TentaGel	Polystyrol
entschützte Amin-Äquivalente	max. 25 μmol	max. 60 μmol
Lösemittel	Methanol (3 ml)	Methanol-THF 4:3 (3 ml)
Temperatur	16°C	16°C
Abfangreagens	0.5 % Semicarbazid-HCl	0.5 % Semicarbazid-HCl
Belichtungsintervall	20 min	20 min
Belichtungszeiten je Stufe	3-4 h	8-12 h (!)

Kupplung

Das NVOC-entschützte Harz in Dichlormethan-*N,N*-Dimethylformamid (6:1, 2.5 ml) wurde nacheinander mit der entsprechenden Aminosäure, DIC und HOBt versetzt und 4 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Reaktionslösungen wurden anschließend dekantiert und das Harz mit *N,N*-Dimethylformamid (3 x 3 ml) und Dichlormethan (3 x 3 ml) gewaschen. Der qualitative Kaisertest auf freie Aminogruppen zeigte nach jedem Kupplungsschritt vollständige Acylierung an.¹⁸

Tabelle 30: Syntheseäquivalente im Leu-Enkephalinprotokoll an TentaGel- und Polystyrolharz.

		
Reagenzien	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu- -O-Photolinker- <i>TentaGel</i> (TG- 50)	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu- -O-Photolinker- <i>Polystyrol</i> (PS-50)
H-Leu-O-Photolinker- <i>TentaGel</i> (XY)	119.0 mg, 25 μ mol (0.21 mmol/g)	
H-Leu-O-Photolinker- <i>Polystyrol</i> (XY)		70.0 mg, 60 μ mol (0.85 mmol/g)
<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid (DIC)	13.0 μ l, 81 μ mol, 3.9 eq.	33.0 μ l, 216 μ mol, 3.6 eq.
<i>N</i> -Hydroxybenzotriazol-Hydrat (HOBt)	11.1 mg, 81 μ mol, 3.9 eq.	29 mg, 216 μ mol, 3.6 eq.
NVOC-Phe-OH (52)	21.2 mg, 52 μ mol, 2.5 eq.	36.4 mg, 90 μ mol, 1.5 eq.
NVOC-Gly-OH (49)	16.5 mg, 52 μ mol, 2.5 eq.	28.3 mg, 90 μ mol, 1.5 eq.
NVOC-Tyr-OH (53)	22.1 mg, 52 μ mol, 2.5 eq.	37.8 mg, 90 μ mol, 1.5 eq.
Dichlormethan/DMF 6:1	2.5 ml	2.5 ml
Gefundene Beladung (Pikrattest)	0.20 mmol/g (95 %)	0.80 mmol/g (94 %)

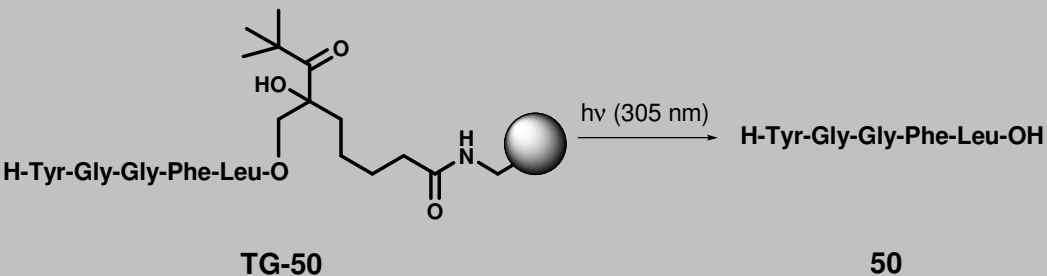
16.5 Freisetzung der immobilisierten Peptide mit der *photochemisch orthogonalen* Schutzgruppenmethode

16.5.1 Leu-Enkephalin (50)

Das NVOC-entschützte *TentaGel-Photolinker*-Leu-Enkephalin (**TG-50**) (jeweils 14.0 mg, 2.8 μmol) wurde im jeweiligen Lösemittel (1 ml, s. Tabellen 31 und 32) suspendiert und nach einer Quellzeit von 10 min mit Lichtquelle 1 bei 305 nm und 16°C unter ständigem Rühren belichtet. Die entstehenden Lösungen von Leu-Enkephalin wurden vom Harz dekantiert und das Lösemittel im Hochvakuum entfernt.

Man erhielt Leu-Enkephalin (**50**) als farblosen Feststoff, der in 400 μl Standardlösung gelöst und mittels RP-HPLC analysiert wurde.

Tabelle 31: Photolytische Abspaltung von Leu-Enkephalin (**50**).

			
Lösemittel	Photolysendauer (min.)	Ausbeuten 50 (RP-HPLC)	
		TentaGel-Harz	Polystyrol-Harz
THF/H ₂ O 4:1	20	53 %	38 %
THF/H ₂ O 4:1	30	55 %	40 %
THF/H ₂ O 4:1	60	55 %	41 %

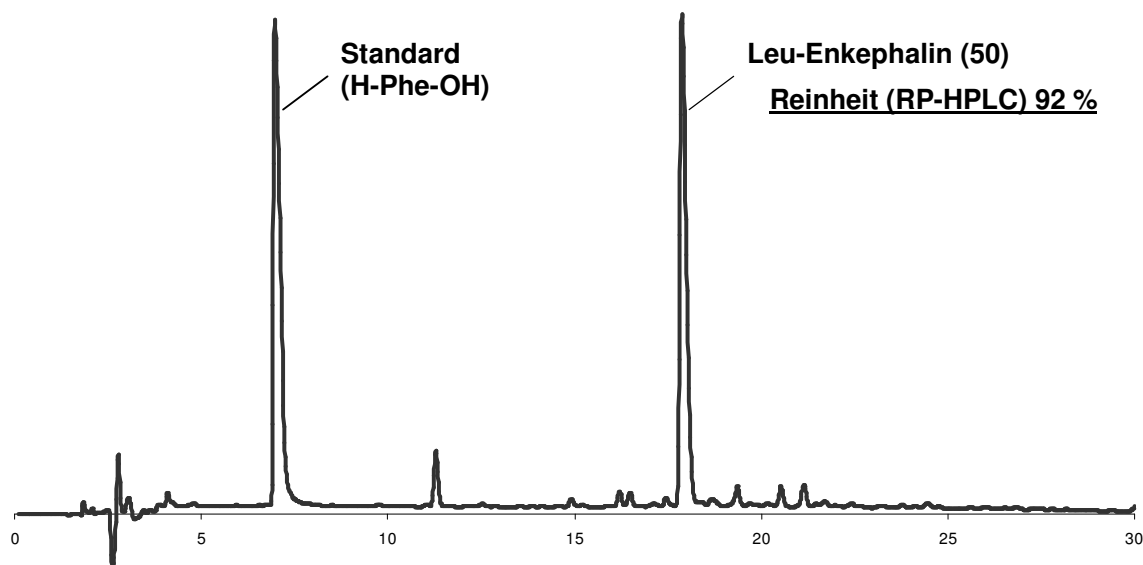


Abbildung 34: Photolytisch abgespaltenes Leu-Enkephalin (**50**), RP-HPLC-Chromatogramm.

Andere Photolysebedingungen

Tabelle 32: Photolytische Freisetzung von Leu-Enkephalin (**50**) in unterschiedlichen Medien.

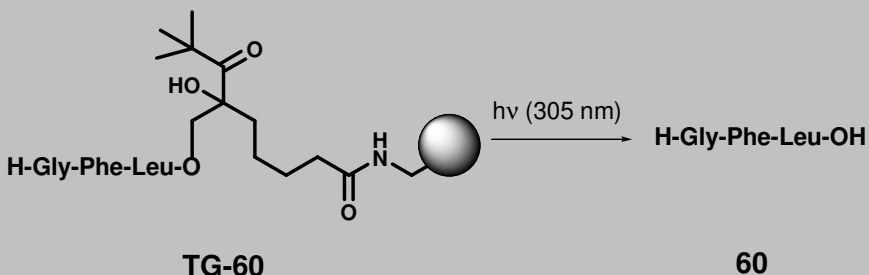
Lösemittel	Photolysendauer (min.)	Ausbeute (%, RP-HPLC)
THF/H ₂ O 4:1 + 50 eq. Decanthiol	60	44
MeOH	60	24
H ₂ O	60	18
DMSO	60	3

16.5.2 H-Gly-Phe-Leu-OH (60)

Das aus der Leu-Enkephalin-Sequenz abgezweigte, NVOC-entschützte harzgebundene Tripeptid H-Gly-Phe-Leu-O-*Photolinker*-TentaGel (**TG-60**) (jeweils 11.0 mg, 4.4 μmol) wurde in Tetrahydrofuran-Wasser (4:1 v/v, 1 ml) suspendiert und nach einer Quellzeit von 10 min mit Lichtquelle 1 bei 305 nm und 16°C unter ständigem Rühren belichtet. Die gebildeten Lösungen von H-Gly-Phe-Leu-OH (**60**) wurden vom Harz dekantiert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Man erhielt H-Gly-Phe-Leu-OH (**60**) als farbloses Öl, das in 400 μl Standardlösung gelöst und mittels RP-HPLC analysiert wurde.

Tabelle 33: Photolytische Freisetzung von H-Phe-Gly-Leu-OH (**60**).

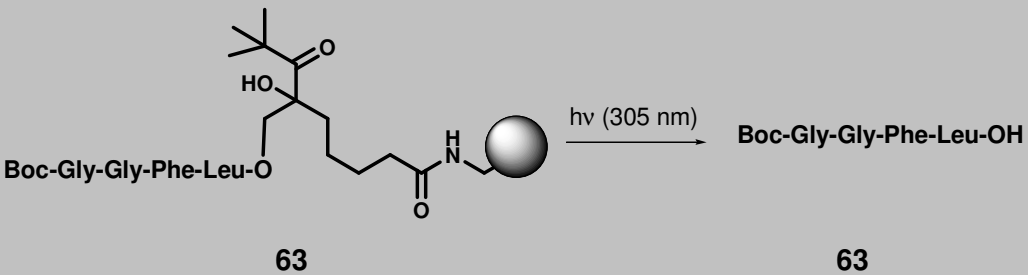
			
Lösemittel	Photolysezeit (min.)	Ausbeuten (RP-HPLC)	
		TentaGel S-NH	Polystyrol-NMe
THF/H ₂ O 4:1	30	60 %	47 %
THF/H ₂ O 4:1	60	61 %	48 %

16.6 Photolytische Freisetzung der nach konventionellem Protokoll synthetisierten Referenzpeptide.

16.6.1 Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (56)

Das Boc-geschützte harzgebundene Tetrapeptid Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-Tentagel (**63**) (20.5 mg, 5.0 μmol) wurde in Tetrahydrofuran-Wasser (4:1 v/v, 1 ml) suspendiert und nach einer Quellzeit von 10 min mit Lichtquelle 1 bei 305 nm und 16°C unter ständigem Rühren belichtet. Die entstandenen Lösungen von Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**) wurden vom Harz dekantiert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhielt Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**56**) als hellgelbes Öl, das in 400 μl Standardlösung gelöst und mittels RP-HPLC analysiert wurde.

Tabelle 34: Photolytische Abspaltung von Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**63**) zum Vergleich mit der Leu-Enkephalin-Abspaltung.

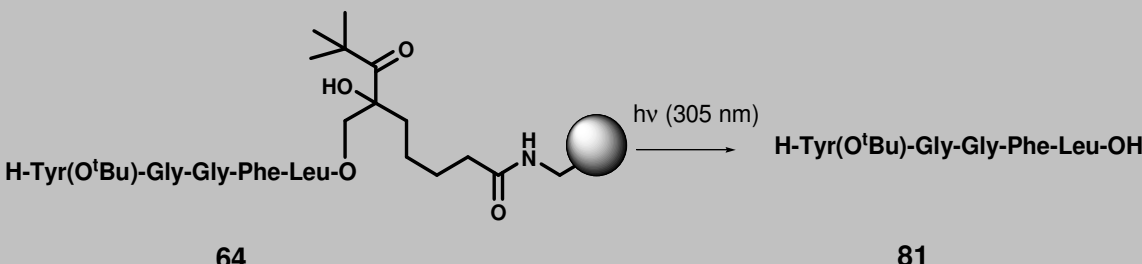
		
Lösemittel	Photolysendauer (min.)	Ausbeute (%, RP-HPLC)
THF/H ₂ O 4:1	20	39
THF/H ₂ O 4:1	40	46
THF/H ₂ O 4:1	60	45

16.6.2 H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (81).

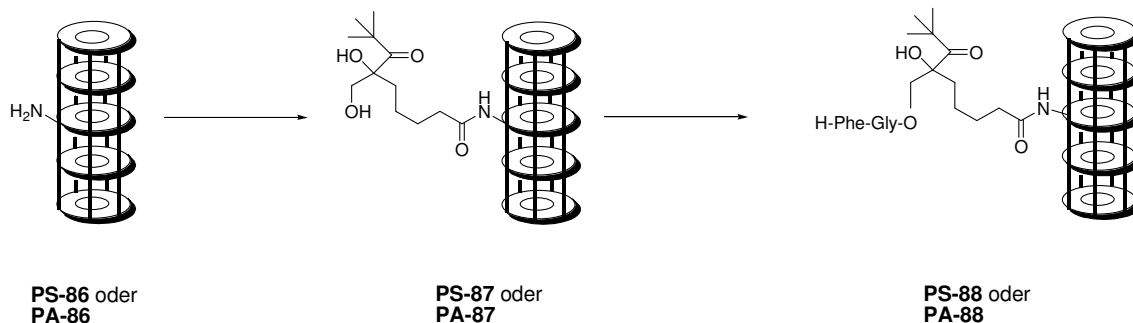
Das immobilisierte geschützte Leu-Enkephalin H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-O-Photolinker-TentaGel (**64**) (10.4 mg, 2.3 μmol) wurde in Tetrahydrofuran-Wasser (9:1 v/v, 1 ml) suspendiert und nach einer Quellzeit von 10 min mit Lichtquelle 1 bei 305 nm und 16°C unter ständigem Rühren belichtet. Die entstandenen Lösungen von H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-

Phe-Leu-OH (**81**) wurden vom Harz dekantiert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhielt H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**81**) als farbloses Öl, das in 400 μ l Standardlösung (PheOMe-HCl) gelöst und mittels RP-HPLC analysiert wurde.

Tabelle 35: Photolytische Abspaltung von H-Tyr(OtBu)-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (**81**) zum Vergleich.

		
Lösemittel	Photolysendauer (min.)	Ausbeute (%, RP-HPLC)
THF/H ₂ O 9:1	20	34
THF/H ₂ O 9:1	40	40
THF/H ₂ O 9:1	60	42

17 Synthese von H-Phe-Gly-OH (85) an Photolinker-PS und -PA „Synphase Lanterns“



Schema 58: Peptidsynthese an SynPhase-Laternen mit Photolinker.

17.1 Beladung der PS- und PA-Laternen mit Photolinker 19

a) Kupplung des Linkers 19 an die aminofunktionalisierten PS- und PA-Laternen

Ansatz:

4 PS-Laternen (140 μmol)

4 PA-Laternen (72 μmol) gemeinsam beladen (212 μmol)

19 (M=360.57):	186 mg (520 μmol , 2.4 eq.)
HOBt (M=135.12):	196 mg (1451 μmol , 6.8 eq.)
DIC (M=126.20, d=0.815):	140 μl (904 μmol , 4.3 eq.)
DIPEA (M=129.25, d=0.755)	100 μl (584 μmol , 2.8 eq.)
DCM/DMF 5:1	6.0 ml

18 h bei RT geschüttelt.

Spülen: 4 x 1 min DMF, 4 x 1 min DCM.

Der Kaiser-Test war negativ.¹⁸

b) Abspaltung der TBDMS-Gruppe

Ansatz:

Triethylamin-*tris*-hydrofluorid (M= 161.21, d=0.99): 5.0 ml (30 mmol, 145 eq.)

THF abs. 5.0 ml

48 h bei RT geschüttelt.

Spülen: 4 x 1 min THF, 4 x 1 min DCM.

17.2 Synthese von H-Phe-Gly-OH (85) an den Photolinker-Laternen

a) H-Gly-O-Photolinker-Laternen

Ansatz:

Linker-Laternen 1	212 μmol insgesamt
Fmoc-Gly-OH (M=297.31):	275 mg (925 μmol , 4.4 eq.)
HOBt (M=135.12):	274 mg (2027 μmol , 9.6 eq.)
DIC (M=126.20, d=0.815):	260 μl (1679 μmol , 7.9 eq.)
DIPEA (M=129.25, d=0.755)	150 μl (876 μmol , 4.1 eq.)
DCM/DMF 4:1	10.0 ml

18h bei RT geschüttelt.

Spülen: 4 x 1 min DMF, 4 x 1 min DCM.

Fmoc-Spaltung:

20 % Piperidin/DMF, 10.0 ml, 2h bei RT.

Spülen: 4 x 1 min DMF, 4 x 1 min DCM.

b) H-Phe-Gly-O-Photolinker-Laternen PA-88 und PS-88

Ansatz:

H-Gly-O-Linker-Laterne	212 μmol insgesamt
Fmoc-Phe-OH (M=387.4):	356 mg (919 μmol , 4.3 eq.)
HOBt (M=135.12):	298 mg (2204 μmol , 10.4 eq.)
DIC (M=126.20, d=0.815):	260 μl (1679 μmol , 7.9 eq.)
DIPEA (M=129.25, d=0.755)	150 μl (876 μmol , 4.1 eq.)
DCM/DMF 4:1	10.0 ml

18h bei RT geschüttelt.

Spülen: 4 x 1 min DMF, 4 x 1 min DCM.

Fmoc-Spaltung:

20 % Piperidin/DMF, 10.0 ml, 2h bei RT.

Spülen: 4 x 1 min DMF, 4 x 1 min DCM.

Gefundene Beladungen (Fmoc) der einzelnen Laternen bezogen auf die Herstellerangaben:

PA-Laternen: 17.4 μmol (97 %)

PS-Laternen: 37.7 μmol (108 %)

17.3 Verwendete Apparaturen

RP-HPLC

Waters Alliance 2690 Separations Module mit Autosampler,

Waters 996 Photodiode Array Detector.

Säule: Merck LiChrospher 100 RP-18

Gradient: 10 % CH_3CN in Wasser bis 50 % CH_3CN in 30 min (30°C) unter Zusatz von 0.1 % Trifluoressigsäure.

Injektionsvolumen: 20 μl .

Standard: Leu-Enkephalin, gelöst in 10 % CH_3CN /Wasser unter Zusatz von 0.1 % Trifluoressigsäure.

Flächenfaktor des Systems H-Phe-Gly-OH/Boc-Gly-Gly-Phe-Leu-OH: $f_A = 1.962$

Retentionszeiten

t_R (H-Phe-Gly-OH) = 6.22 min

t_R (Std.) = 17.70 min

17.4 Photolysen

Probenbereitung

Die Laternen wurden jeweils mit 2.0 ml eines THF/Wasser-4:1-Gemisches versetzt und nach 30 minütiger Quellzeit unter Ar-Atmosphäre direkt belichtet. Der Küvetteninhalt wurde während der Belichtung gerührt.

Ein Teil der Probenlösung wurde während der Bestrahlung entnommen, am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingengt und in der Standardlösung aufgelöst

Bestrahlungszeiten:

PA-Laternen insgesamt 200 min

PS-Laternen insgesamt 240 min

Nach den angegebenen Zeiten konnte kein Konzentrationsanstieg an abgespaltenem H-Phe-Gly-OH mehr beobachtet werden.

Photolyseausbeuten :

Laterne	85 erwartet	85 gefunden
PA-88	3.87 mg (17.4 μ mol, 100 %)	0.71 mg (18 %)
PS-PS	8.38 mg (37.7 μ mol, 100 %)	2.19 mg (26 %)

18 Synthese größerer Peptidsequenzen am Linkerharz PS-15. Qualitative Untersuchungen zur Einsetzbarkeit

(In Zusammenarbeit mit *Benedikt M. Kessler, Brian Hekking*, Harvard Medical School, Boston)

18.1 MBP-Peptide

18.1.1 MBP-Peptid H-Asn-Ile-Val-Thr-Pro-Arg-Arg-OH (NIVTPRR).

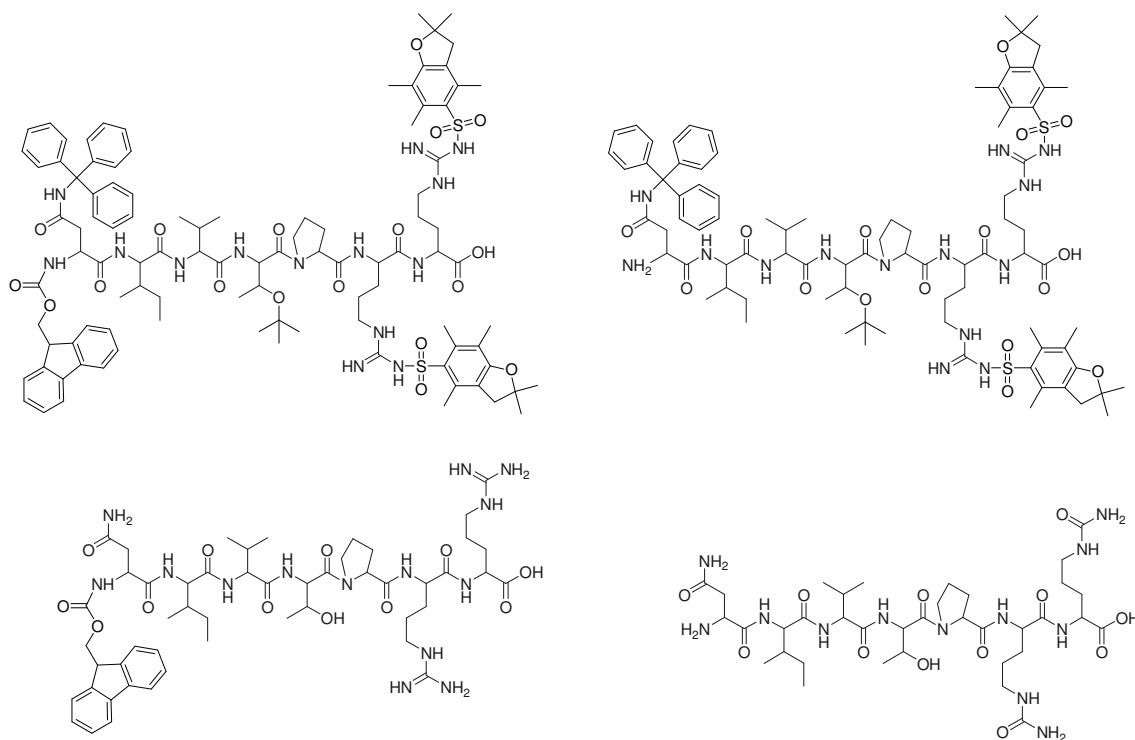


Abbildung 35: Fmoc-N(Trt)IVT(OtBu)R(Pbf)R(Pbf), N(Trt)IVT(OtBu)R(Pbf)R(Pbf), Fmoc-NIVTPRR, NIVTPRR.

18.1.1.1 Syntheseprotokoll für NIVTPRR

a) Fmoc-Arg(Pbf)-O-Photolinker-Polystyrol **89**

Polystyrol-Photolinkerharz **PS-15** wurde in drei Kupplungszyklen jeweils 24 h bei Raumtemperatur mit Fmoc-Arg(Pbf)-OH in einer Lösung von Hydroxybenzotriazol-Hydrat,

4-N,N-Dimethylaminopyridin und *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid in Dichlormethan-Dimethylformamid (5:1, 6 ml) geschüttelt. Anschließend wurde die Reaktionslösung jeweils dekantiert und das Harz mit Dimethylformamid und Dichlormethan (je 3 x 15 ml) gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Folgende Reagenzien wurden eingesetzt:

Harz **PS-15** (0.90 mmol/g, 0.86 g, 0.77 mmol)

N,N-Diisopropylcarbodiimid (DIC, 0.36 ml, 2.33 mmol, 3.0 eq.)

Hydroxybenzotriazol-Hydrat (HOBt, 0.33 g, 2.46 mmol, 3.2 eq.)

4-Dimethylaminopyridin (DMAP, 0.05 g, 0.37 mmol, 0.5 eq.)

Fmoc-Arg(Pbf)-OH (0.79 g, 1.22 mmol, 1.6 eq.)

Beladung des Harzes (Fmoc-Titration) nach drei Beladungszyklen: 0.60 mmol/g (67 %).⁷⁵

b) Synthese von NIVTPRR

Advanced ChemTech 440 Automated Synthesizer.

Ansatzgröße: 100 mg (60 µmol) Fmoc-Arg(Pbf)-O-Photolinker-Polystyrol (**89**).

Reagenzien und Lösemittel:

Aminosäuren, PyBOP, DIPEA, HOBt, DMF, Piperidin und TFA/TIS/Wasser gemäß

Herstellervorgaben für Fmoc-Syntheseprotokolle.

Abschließende manuelle Fmoc-Entschützung

Fmoc-N(Trt)IVT(OtBu)R(Pbf)R(Pbf)-O-Photolinker-Polystyrol (50 mg) wurde 2 x 1h mit Piperidin-DMF (1:3, 3 ml) geschüttelt. Das Harz wurde mit *N,N*-Dimethylformamid (3 x 3 ml) und Dichlormethan (3 x 3 ml) gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

18.1.2 MBP-Peptid H-Glu-Asn-Pro-Val-Val-His-Phe-Phe-Lys-Asn-Ile-Val-Thr-Pro-Arg-OH (ENPVVHFFKNIVTPR)

18.1.2.1 Syntheseprotokoll für ENPVVHFFKNIVTPR

Advanced ChemTech 440 Automated Synthesizer.

Ansatzgröße: 100 mg (60 μ mol) Fmoc-Arg(Pbf)-O-Photolinker-Polystyrol (**89**)

Reagenzien und Lösemittel:

Aminosäuren, DIC, DIPEA, HOBt, DMF, Piperidin und TFA/TIS/Wasser gemäß

Herstellervorgaben für Fmoc-Syntheseprotokolle.

Abschließende manuelle Fmoc-Entschützung

Das erhaltene Harz wurde 2 x 1h mit Piperidin-DMF (1:3, 3 ml) geschüttelt, dann mit *N,N*-Dimethylformamid (3 x 3 ml) und Dichlormethan (3 x 3 ml) gewaschen sowie im Hochvakuum getrocknet.

Entfernung der Seitenkettenschutzgruppen (TFA-Spaltung)

Das Harz mit dem Fmoc-entschützten Peptid (**90**) wurde 2h mit Trifluoressigsäure-Triisopropylsilan-Wasser (190:5:5, 2.0 ml) bei 25°C geschüttelt.⁶³

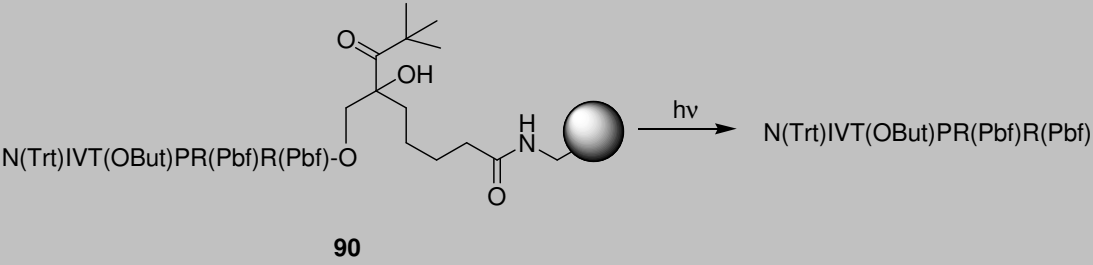
Die Entschützungsreagenzien wurden dekantiert, das Harz mit *N,N*-Dimethylformamid (3 x 3 ml) und Dichlormethan (3 x 3 ml) gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

18.1.3 Photolyse von N(Trt)IVT(OBu^t)R(Pbf)R(Pbf)-O-Photolinker-Polystyrol (**90**).

Photolytische Freisetzung des seitenkettengeschützten, immobilisierten Peptids

N(Trt)IVT(OBu^t)R(Pbf)R(Pbf)-O-Photolinker-Polystyrol (**90**) wurde in THF-Wasser (4:1, 1.0 ml) suspendiert und nach einer Quellzeit von 20 min mit Lichtquelle 1 in einer 10mm-Quarzküvette bei 16°C unter ständigem Rühren belichtet (Tabelle 36). Die Lösungen der Photolyseprodukte wurden vom Harz dekantiert, lyophilisiert und mittels LC-MS qualitativ analysiert (s. Abb. 36).

Tabelle 36: Photolytische Freisetzung von N(Trt)IVT(OtBu)R(Pbf)R(Pbf).

 <p style="text-align: center;">90</p>			
Edukt (mg/ μ mol) Lösemittel	hv	Photolysezeit (min)	Gefundene Produkte [ESI-MS, m/e]
4.0 mg/ 5μ mol THF/H ₂ O 4:1	305 nm	15	N(Trt)IVT(OBu ⁺)PR(Pbf)R(Pbf): [1657(1+); 829 (2+)], Fmoc-N(Trt)IVT(OBu ⁺)PR(Pbf)R(Pbf): [1880(1+); 940 (2+)]
4.4 mg/ 5μ mol THF/H ₂ O 4:1	320 nm	15	N(Trt)IVT(OBu ⁺)PR(Pbf)R(Pbf): [1657(1+); 829 (2+)], Fmoc-N(Trt)IVT(OBu ⁺)PR(Pbf)R(Pbf): [1880(1+); 940 (2+)]

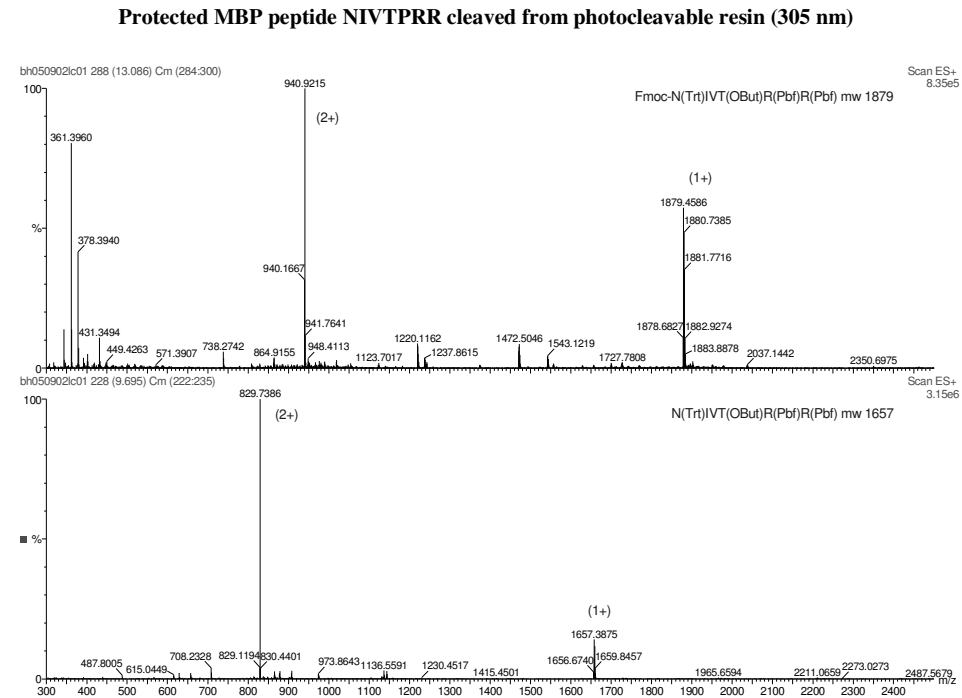
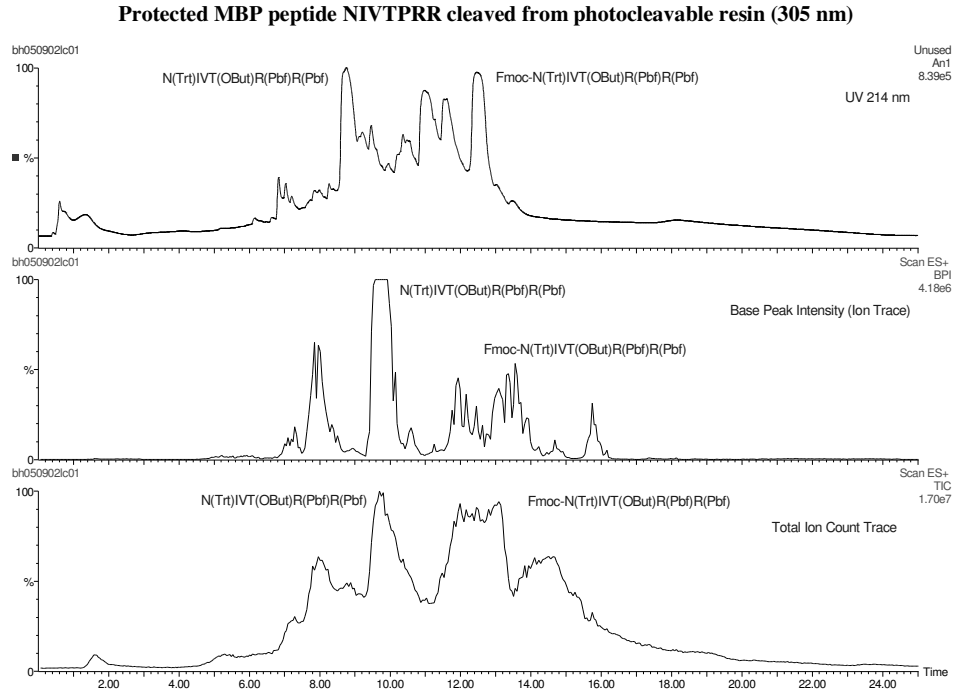


Abbildung 36: LC-MS-Spektren des photolytisch freigesetzten N(Trt)IVT(OBu)PR(Pbf)R(Pbf) und Fmoc-N(Trt)IVT(OBu)PR(Pbf)R(Pbf).

Entfernung der Seitenkettenschutzgruppen in Lösung (TFA-Spaltung)

Das lyophilisierte Photolyseprodukt wurde 2h mit Trifluoressigsäure-Triisopropylsilan-Wasser (190:5:5, 2.0 ml) bei 25°C geschüttelt.⁶³ Die Entschützungsreagenzien wurden im Hochvakuum abgezogen und das erhaltene Produkt wiederum mittels LC-MS analysiert (s. Tabelle 37 und Abb. 37).

Tabelle 37: TFA-Entschützung.

$\text{N(Trt)IVT(OBu)PR(Pbf)R(Pbf)} \xrightarrow{\text{TFA, TIS, H}_2\text{O}} \text{N(Trt)IVT(OBu)PR(Pbf)R(Pbf)}$			
Photolyseprodukte	Reagenzien	Einwirkzeit (min)	Gefundene Produkte [ESI-MS, m/e]
$\text{N(Trt)IVT(OBu')PR(Pbf)R(Pbf)}$ Fmoc- $\text{N(Trt)IVT(OBu')PR(Pbf)R(Pbf)}$	TFA/TIS/H ₂ O 190:5:5	120	NIVTPRR (40 %): [854(1+); 428(2+)], Fmoc-NIVTPRR (60 %): [1078(1+); 539 (2+)]

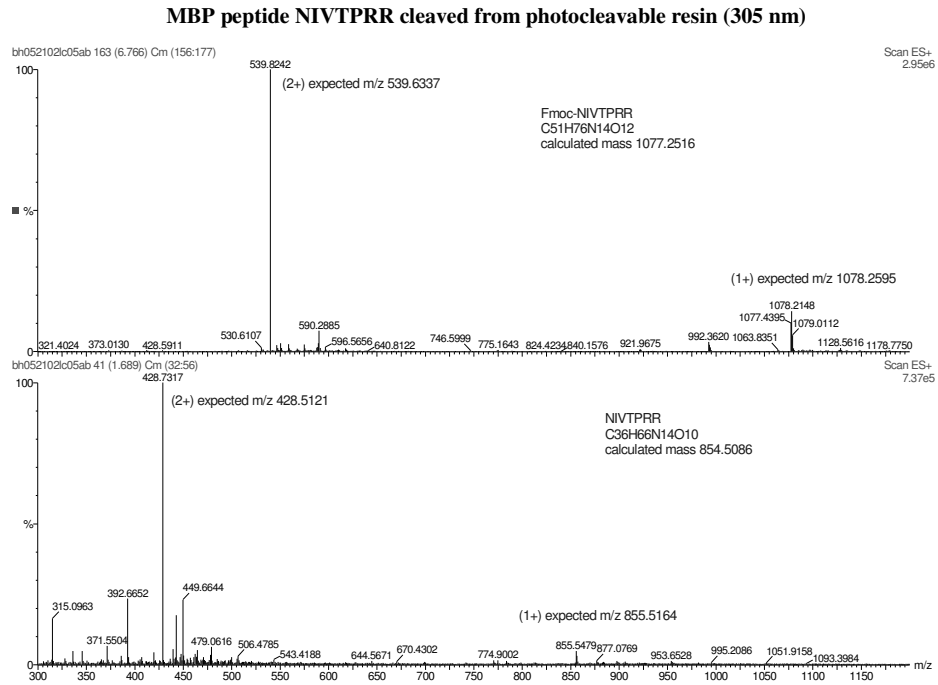
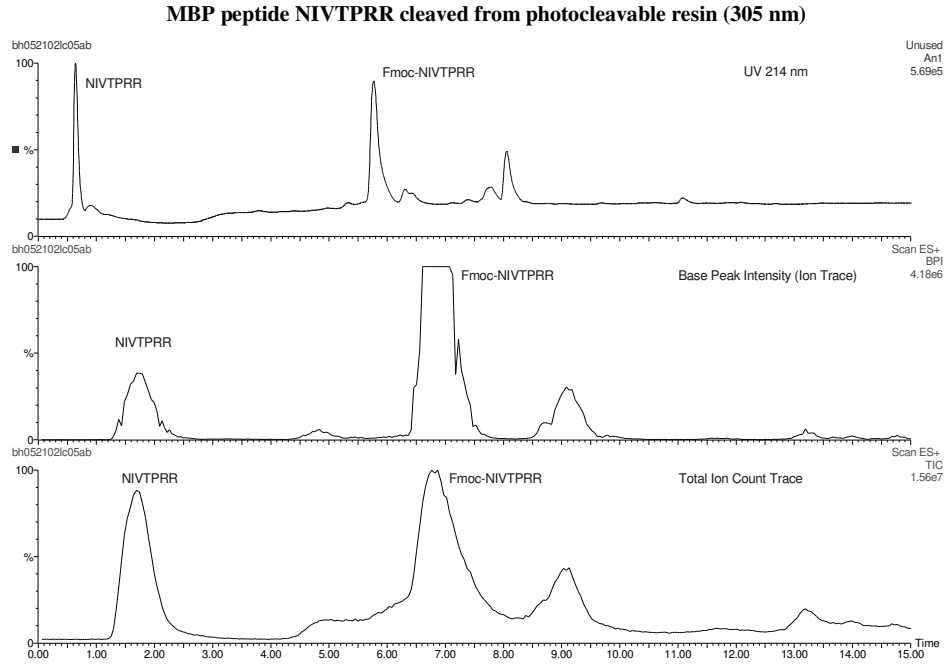


Abbildung 37: LC-MS-Spektren der Photolyseprodukte nach Seitenkettenentschützung mit TFA/TIS/H₂O.

18.1.4 Photolyse von H-Glu-Asn-Pro-Val-Val-His-Phe-Phe-Lys-Asn-Ile-Val-Thr-Pro-Arg-O-Photolinker-Polystyrol (91)

Photolytische Freisetzung des entschützten, immobilisierten Peptids

ENPVVHFFKNIIVTPR-O-Photolinker-Polystyrol (91) wurde in THF/Wasser (4:1, 1.0 ml) suspendiert und nach einer Quellzeit von 20 min wie in Tabelle 3 angegeben, mit Lichtquelle 1 in einer 10mm-Quarzküvette bei 16°C unter ständigem Rühren belichtet. Die Lösungen der Photolyseprodukte wurden vom Harz dekantiert, lyophilisiert und mittels ESI-MS qualitativ analysiert.

Tabelle 38: Photolyse von ENPVVHFFKNIIVTPR-O-Photolinker-Polystyrol (91).

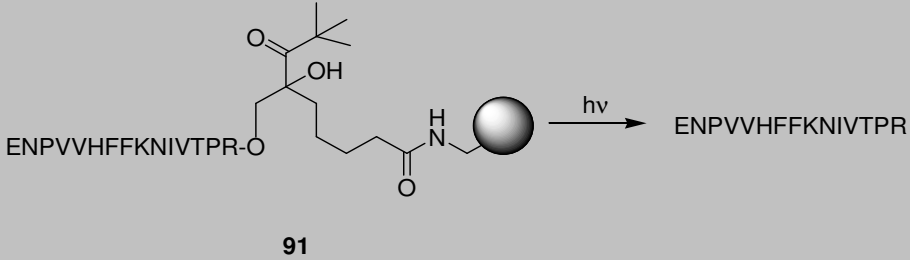
			
Edukt (μmol) Lösemittel	hv	Photolyse- zeiten (min)	Produkte [ESI-MS,m/e]
jeweils 10 μmol THF/H ₂ O 4:1 (1.0 ml)	305 nm	2	ENPVVHFFKNIIVTPR [1796] und kürzere Sequenzen (Tab. 4) nicht nachweisbar!
		5	
		10	
		20	
jeweils 10 μmol THF/H ₂ O 4:1 (1.0 ml)	320 nm	2	ENPVVHFFKNIIVTPR [1796] und kürzere Sequenzen (Tab. 4) nicht nachweisbar!
		5	
		10	
		20	

Tabelle 39: Einige zu erwartende Fehlsequenzen.

Aminosäuresequenz	m/e
ENPVVHFFKNIIVTPR	1796
NPVVHFFKNIIVTPR	1667
PVVHFFKNIIVTPR	1553
VVHFFKNIIVTPR	1456
VHFFKNIIVTPR	1357
HFFKNIIVTPR	1258
FFKNIIVTPR	1121
FKNIIVTPR	974
KNIIVTPR	827
NIIIVTPR	699
IIIVTPR	584
IIIVPR	471
IIIVR	372
IIIV	271

18.2 Weitere MHC class I und II Peptide

18.2.1 Beladung von Wang-Harz und Photolinkerharz TG-15

Tabelle 40: Ansätze zur Beladung von Wang-Harz und Photolinkerharz TG-15

	Fmoc-Glu(OBu^t)-Wangharz	Fmoc-Arg(OPbf)-Wangharz	Fmoc-Leu-Wangharz	Fmoc-Thr(OBu^t)-Wangharz
Wangharz (0.93 mmol/g)	100 mg (93 µmol)	100 mg (93 µmol)	100 mg (93 µmol)	100 mg (93 µmol)
Fmoc-Glu(OBu ^t)-OH	200 mg (5.0 eq.)			
Fmoc-Arg(OPbf)-OH		160 mg (3.0 eq.)		
Fmoc-Leu-OH			160 mg (5.0 eq.)	
Fmoc-Thr(OBu ^t)-OH				100 mg (3.0 eq.)
DIC	30 µl (2.0 eq.)		30 µl (2.0 eq.)	
HOBt	64 mg (5.0 eq.)		64 mg (5.0 eq.)	
DMAP	2 mg (0.2 eq.)	2 mg (0.2 eq.)	2 mg (0.2 eq.)	2 mg (0.2 eq.)
DIPEA		100 µl (6.0 eq.)		100 µl (6.0 eq.)
TBTU		100 mg (4.0 eq.)		100 mg (4.0 eq.)
Fmoc-Beladung	0.47 mmol/g	0.40 mmol/g	0.51 mmol/g	0.55 mmol/g

	Fmoc-Glu(OBu^t)-O-Photol.-TG	Fmoc-Arg(OPbf)-O-Photol.-TG	Fmoc-Leu-O-Photol.-TG	Fmoc-Thr(OBu^t)-O-Photol.-TG
TG-15 (0.4 mmol/g)	230 mg (90 µmol)	230 mg (90 µmol)	230 mg (90 µmol)	230 mg (90 µmol)
Fmoc-Glu(OBu ^t)-OH	200 mg (5.0 eq.)			
Fmoc-Arg(OPbf)-OH		160 mg (3.0 eq.)		
Fmoc-Leu-OH			160 mg (5.0 eq.)	
Fmoc-Thr(OBu ^t)-OH				100 mg (3.0 eq.)
DIC	30 µl (2.0 eq.)		30 µl (2.0 eq.)	
HOBt	64 mg (5.0 eq.)		64 mg (5.0 eq.)	
DMAP	2 mg (0.2 eq.)	2 mg (0.2 eq.)	2 mg (0.2 eq.)	2 mg (0.2 eq.)
DIPEA		100 µl (6.0 eq.)		100 µl (6.0 eq.)
TBTU		100 mg (4.0 eq.)		100 mg (4.0 eq.)
Fmoc-Beladung	0.27 mmol/g	0.20 mmol/g	0.30 mmol/g	0.25 mmol/g

18.2.2 Synthese der Peptide KSYVLEGLTAE, KTGPIYKR, SLYNTVATL und PKYVKQNTLKLAT

Peptidsynthesizer *Syro I*, MultiSynTech GmbH, Synthesis Software for Syro Version 2.0.48.

Ansatzgröße: 100 mg (60 μ mol) Fmoc-Arg(Pbf)-O-Photolinker-Polystyrol (**89**)

Reagenzien und Lösemittel: Aminosäuren, HCTU, DIPEA/NMP, HOBT, Piperidin/DMF gemäß Geräteherstellervorgaben für Fmoc-Syntheseprotokolle.

Endbeladung der Harze

Die Beladung der Harzes wurde spektrophotometrisch durch Fmoc-Abspaltung mit Piperidin-DMF ermittelt (mmol/g):⁷⁵

Fmoc-S(OBut)-LY(OBut)N(OTrt)T(OBut)VAT(OBut)L-O-Wangharz (**0.37 mmol/g**)

Fmoc-S(OBut)-LY(OBut)N(OTrt)T(OBut)VAT(OBut)L-O-*Photolinker*-TG (**0.22 mmol/g**)

Fmoc-PK(Boc)Y(OBut)VK(Boc)Q(OTrt)N(OTrt)T(OBut)LK(Boc)LAT(OBut)-O-Wangharz (**0.27 mmol/g**)

Fmoc-PK(Boc)Y(OBut)VK(Boc)Q(OTrt)N(OTrt)T(OBut)LK(Boc)LAT(OBut)-O-*Photolinker* -TG (**0.22 mmol/g**)

Fmoc-K(Boc)GGPIY(OBut)K(Boc)R(Pbf)-O-Wangharz (**0.36 mmol/g**)

Fmoc-K(Boc)GGPIY(OBut)K(Boc)R(Pbf)-O- *Photolinker* -TG (**0.23 mmol/g**)

Fmoc-K(Boc)S(OBut)Y(OBut)VLE(OBut)GT(OBut)LT(OBut)AE(OBut)-O-Wangharz (**0.28 mmol/g**)

Fmoc-K(Boc)S(OBut)Y(OBut)VLE(OBut)GT(OBut)LT(OBut)AE(OBut)-O- *Photolinker*-TG (**0.25 mmol/g**)

Abschließende manuelle Fmoc-Entschützung

Die erhaltenen Harze wurden nacheinander 30 min und 5 min mit Piperidin-DMF (1:3, 5 ml) geschüttelt, dann mit *N,N*-Dimethylformamid (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen sowie im Hochvakuum getrocknet.

Abspaltung vom Wangharz und Entfernung der Seitenkettenschutzgruppen (TFA-Spaltung)

Die Fmoc-entschützten Peptid-Wangharze wurden nacheinander 90 min und 30 min mit Trifluoressigsäure-Triisopropylsilan-Wasser (190:5:5, 2.0 ml) bei 25°C geschüttelt.⁶³ Die Lösungen wurden jeweils vom Harz abfiltriert, bis zu einem Volumen von 0.2 ml eingengt und mit Diethylether (5 ml) versetzt.

Die entstandenen weißen Niederschläge wurden abfiltriert, jeweils mit Diethylether (3x5 ml) gewaschen und getrocknet.

Entfernung der Seitenkettenschutzgruppen der Peptide an Photolinker-TentaGel

Die Fmoc-entschützten Peptid-Photolinkerharze wurden nacheinander 90 min und 30 min mit Trifluoressigsäure-Dichlormethan-Triisopropylsilan (20:20:1, 2.0 ml) bei 25°C geschüttelt.⁶³ Die Lösungen wurden abfiltriert und die entschützten Harze mit Dichlormethan (3x5 ml) gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

18.2.3 Photolytische Abspaltung der Peptide

Die Belichtung erfolgte mit Lichtquelle 2 (*RAYONET RPR-100*), welche nur mit 6 Fluoreszenzlampen (300 nm, Maximalleistung 120W) bestückt war. Mit Hilfe des eingesetzten drehbaren Probenhalters und Magnetührers konnten alle Proben gleichzeitig unter identischen Bedingungen belichtet werden.

eingewogene Harzmengen:	20-25 mg
Lösemittel:	H ₂ O (<i>Nanopure</i> , nicht entgast), 1.0 ml
	THF/ H ₂ O 1:1 (nicht entgast), 1.0 ml
Reaktionsgefäße:	Quarzröhrchen mit rundem Boden, Septum und Rührmagnet
Belichtungszeit:	10 min
Temperatur:	35°C
Aufquellzeit:	30 min

Nach der Belichtung wurden die Probenlösungen vom Harz dekantiert und lyophilisiert. Man erhielt die freigesetzten Peptide jeweils als farblose Feststoffe, die in 500 µl H₂O (*Nanopure*) gelöst wurden. Die Bestimmung der Produkte erfolgte mittels RP-HPLC-MS-Kopplung.

Die folgenden Abbildungen 38-41 zeigen für jedes photolytisch freigesetzte Peptid die UV- und TIC-Spektren neben den jeweiligen Spektren des Referenzpeptids aus der Synthese am Wangharz.

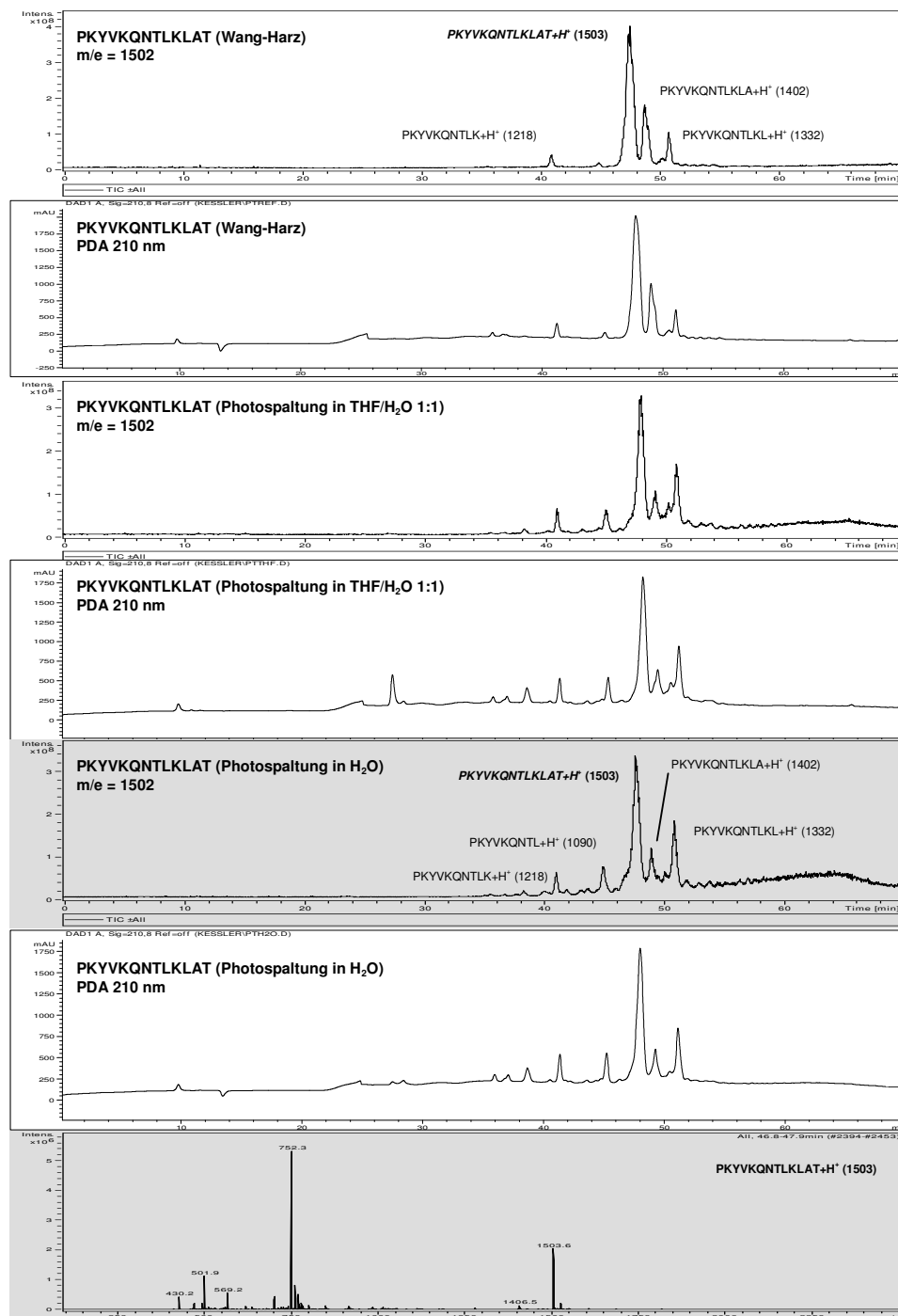


Abbildung 38: PKYVKQNTLKLAT, Chromatogramme der Photolyseprodukte.

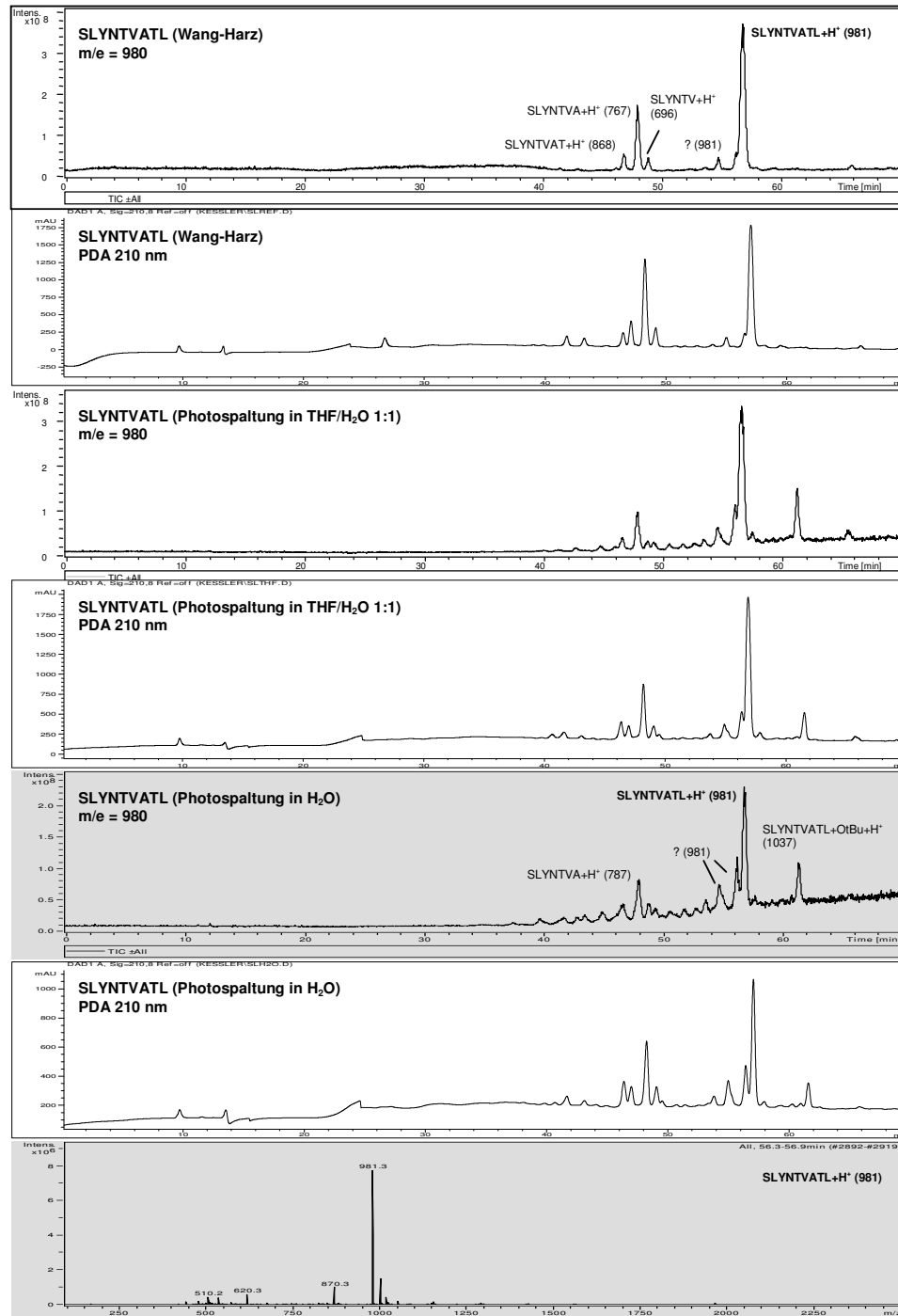


Abbildung 39: SLYNTVATL, Chromatogramme der Photolyseprodukte.

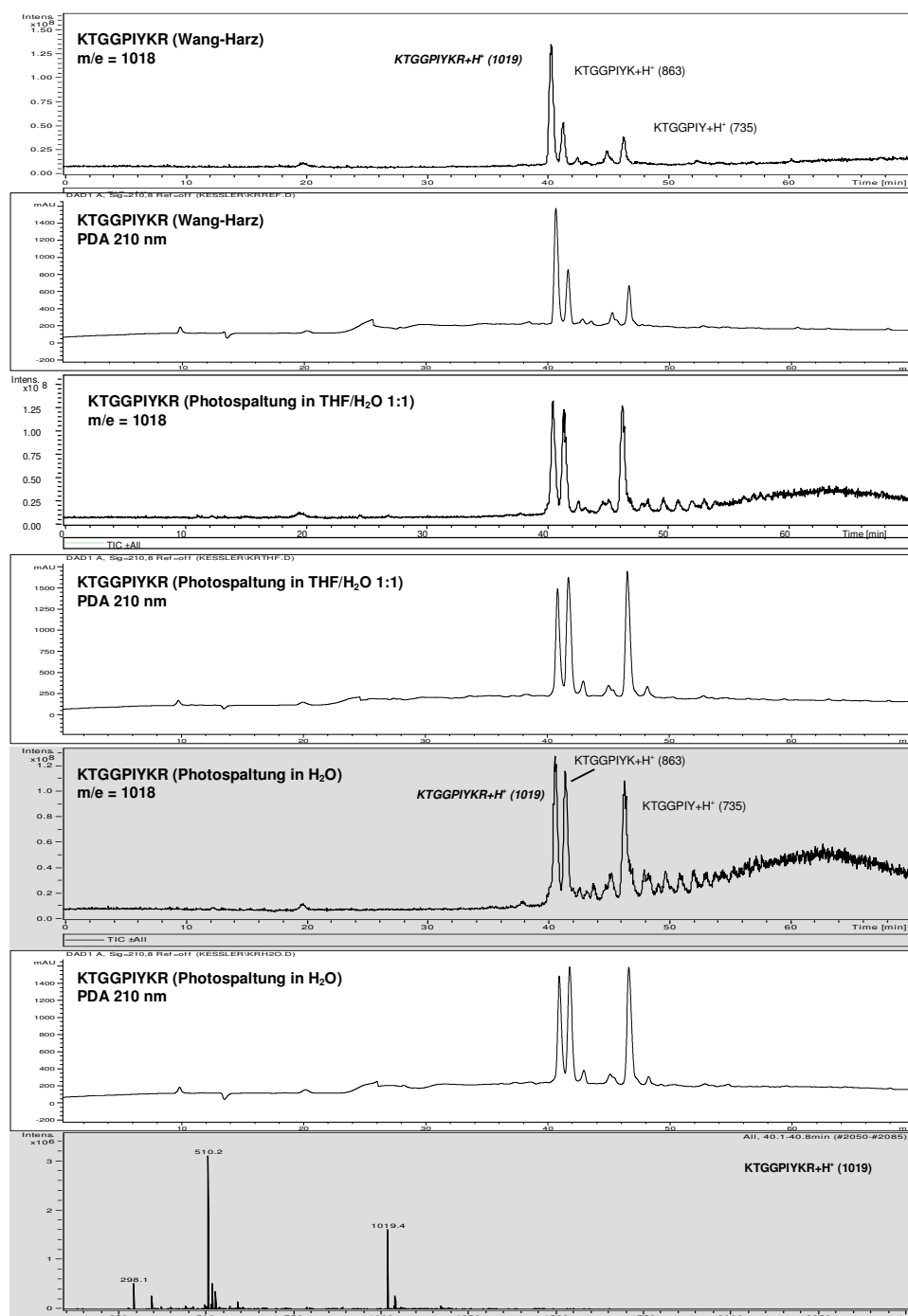


Abbildung 40: KTGGPIYKR, Chromatogramme der Photolyseprodukte.

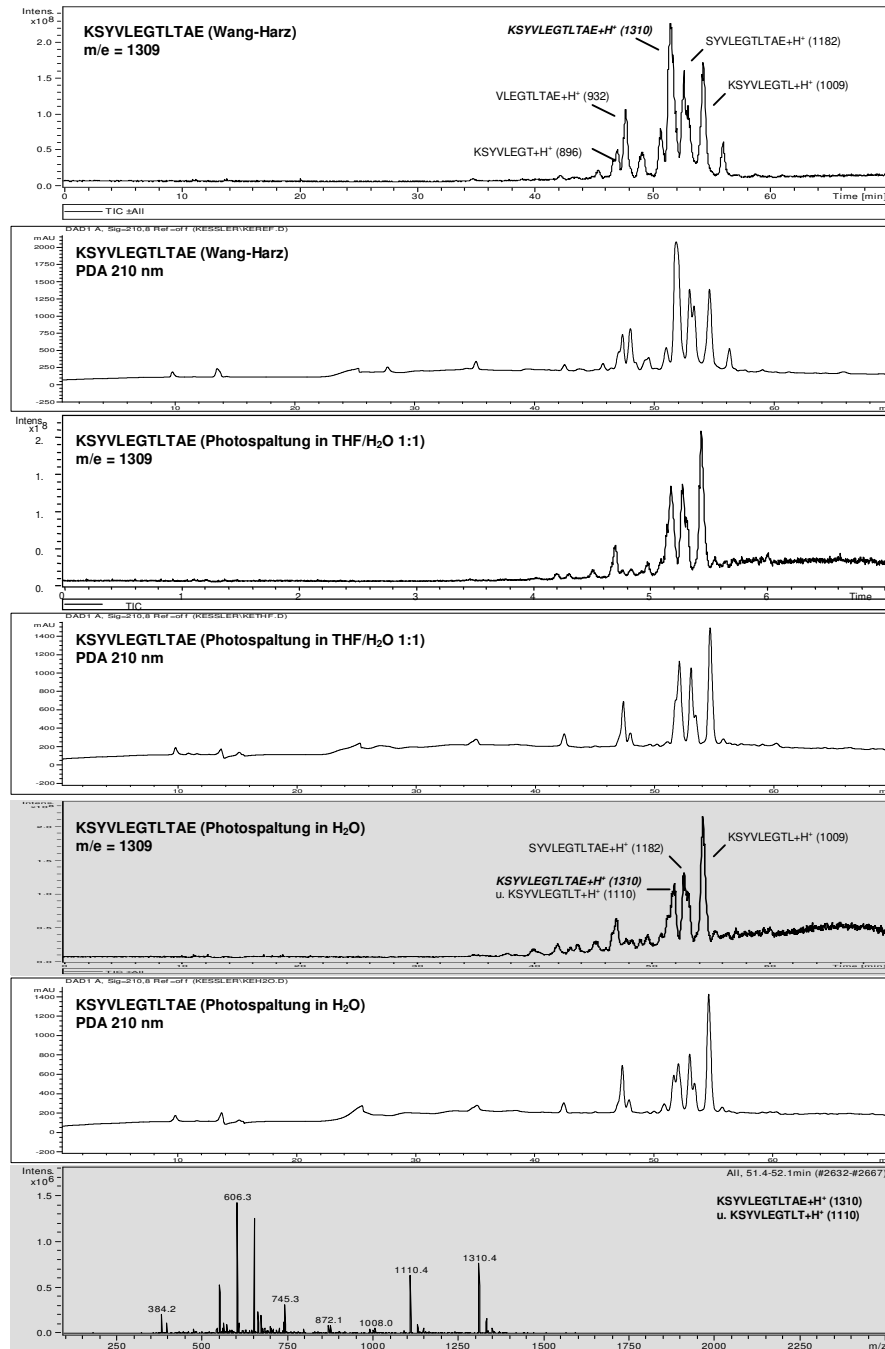


Abbildung 41: KSYVLEGLTLAE, Chromatogramme der Photolyseprodukte.

18.2.4 Photolysen auf der Tüpfelplatte

Die Belichtung erfolgte mit einer 254-nm-UV-Handlampe (10W) zur Dünnschichtchromatogrammbetrachtung. Mit Hilfe des Magnetrührers konnten alle Proben gleichzeitig unter identischen Bedingungen belichtet werden.

Eingewogene Harzmengen: 10 mg

Lösemittel: H₂O (*Nanopure*, nicht entgast), 1.0 ml

Reaktionsgefäß: Tüpfelplatte aus Porzellan und Rührmagnet

Belichtungszeit: 30 min

Temperatur: 35°C

Aufquellzeit: 30 min

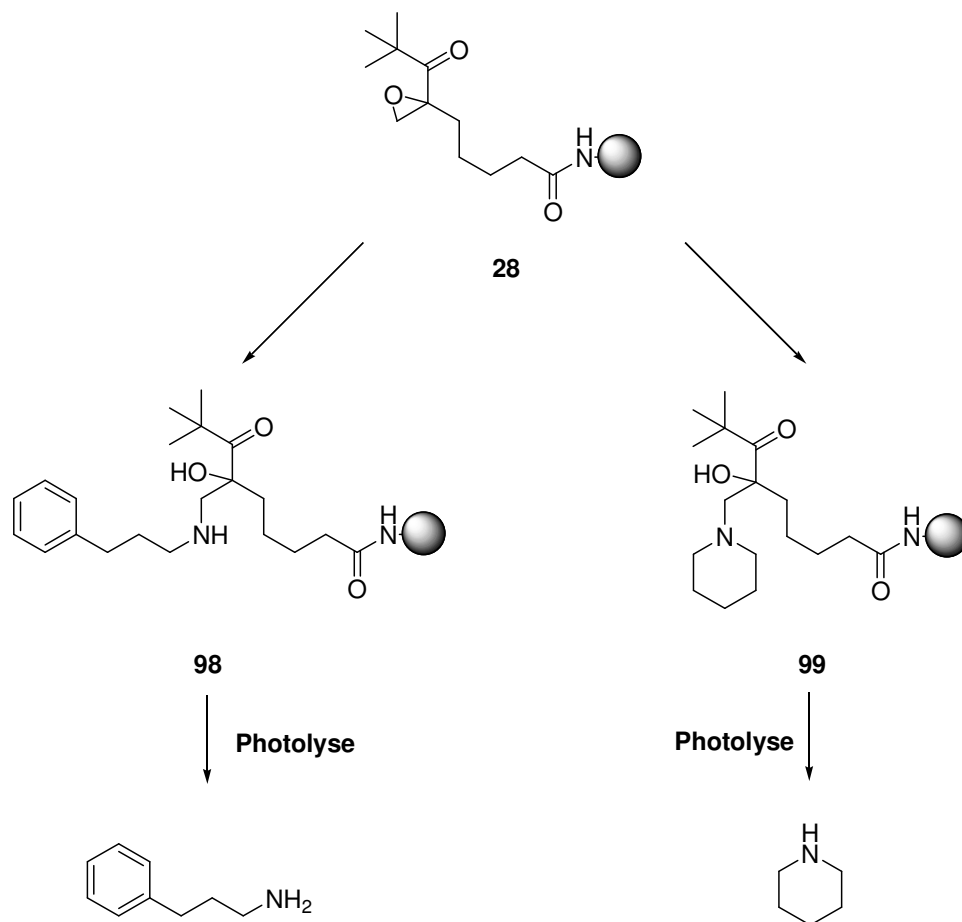
Nach der Belichtung wurden die Peptidlösungen vom Harz dekantiert.

Von den wäßrigen Lösungen der Spaltprodukte wurden umgehend ohne weitere Aufarbeitung qualitative ESI-Massenspektren aufgenommen.

Tabelle 41: Nachgewiesene Peptide bei Belichtungen in der Tüpfelplatte

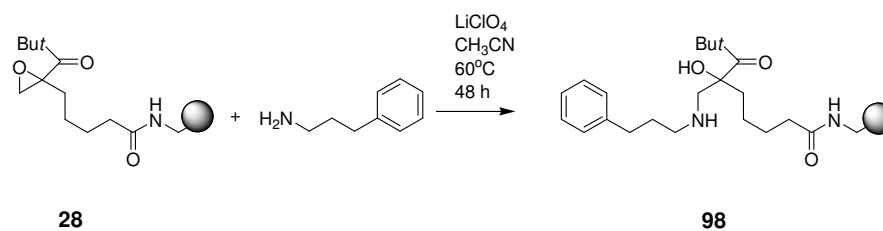
Freigesetztes Peptid	m/e	Gefundene Massen (m/e)
SLYNTVATL	980	981 (M+H ⁺ , 100); 995; 1037
KTGGPIYKR	1018	1019 (M+H ⁺ , 100); 1041 (M+Na ⁺ , 15)
KSYVLEGLTAE	1309	1023 (100); 1195; 1338
PKYVKQNTLKLAT	1502	752 (100); 1331; 1503 (M+H ⁺ , 20)

19 Amine



Schema 59: Synthese und Spaltung der Festphasen-Photolysevorläufer **98** und **99**.

19.1 Synthese der Aminsубstrate an der Festphase

19.1.1 Tentagel-Photolinker-Phenylpropylamin **98**.¹⁰⁰

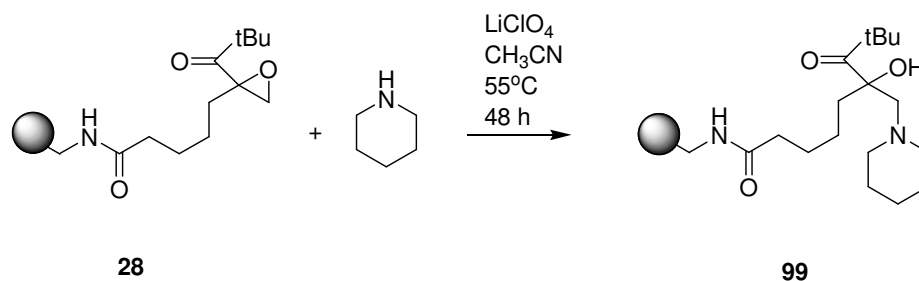
Das harzgebundene Epoxid **28** (120 mg, 50 μmol) wurde in Acetonitril (3 ml) suspendiert, mit 3-Phenylpropylamin (200 μl , 1.41 mmol, 28 eq.) und Lithiumperchlorat (133 mg, 1.25 mmol, 25 eq.) versetzt und während 48h bei 60°C geschüttelt. Es wurde nacheinander mit Dimethylformamid, Dimethylformamid-Wasser (1:1), Methanol, Toluol und Dichlormethan (jeweils 3 x 5 ml) gewaschen und anschließend am Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 135 mg des farblosen Harzes **98**.

Tentagel S $\text{NH} \cdot \text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{NO}_3$.

^{13}C -Gel phase NMR (100.1 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

219.3 (Cq, 1C, C-7), 172.9 (Cq, 1C, C-1), 141.9 (Cq, 1C, arom), 128.4, 125.9 (Ct, 5C, arom), 82.9 (Cq, 1C, C-6), 56.5 (Cs, 1C, C-7'), 49.7 (Cs, 1C, N- CH_2 (n-Propyl)), 44.5 (Cq, 1C, C-8), 39.2, 37.8, 36.3, 33.5, 26.2, 26.0 (Cs, 6C, C-2, C-3, C-4, C-5, N- CH_2 - $(\text{CH}_2)_2$ -Phenyl), 27.3 (Cp, 3C, C-9).

19.1.2 Tentagel-Photolinker-Piperidin **99**.¹⁰⁰



Das harzgebundene Epoxid **28** (0.26 mmol/g, 109 mg, 30 μmol) wurde in Acetonitril (3 ml) suspendiert, mit Piperidin (80 μl , 0.81 mmol, 27 eq.) und Lithiumperchlorat (90 mg, 0.85 mmol, 28 eq.) versetzt und während 48h bei 55°C geschüttelt. Es wurde nacheinander mit Dimethylformamid, Dimethylformamid-Wasser (1:1), Methanol, Toluol und Dichlormethan (jeweils 3 x 5 ml) gewaschen und anschließend am Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 118 mg des farblosen Harzes **99**.

Tentagel S $\text{NH} \cdot \text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{NO}_3$.

^{13}C -Gel phase NMR (100.1 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

219.8 (Cq, 1C, C-7), 172.9 (Cq, 1C, C-1), 81.3 (Cq, 1C, C-6), 65.1 (Cs, 1C, C-7'), 44.9 (Cq, 1C, C-8), 56.1 (Cs, 2C, N- CH_2 Piperidin-Ring), 39.4, 39.2, 26.1, 23.8, 23.4 (Cs, 7C, C-2, C-3, C-4, C-5, CH_2 Piperidin), 26.5 (Cp, 3C, C-9).

19.2 Photolysen der Aminvorläufer

19.2.1 Photolyse von **98**-Trifluoracetat

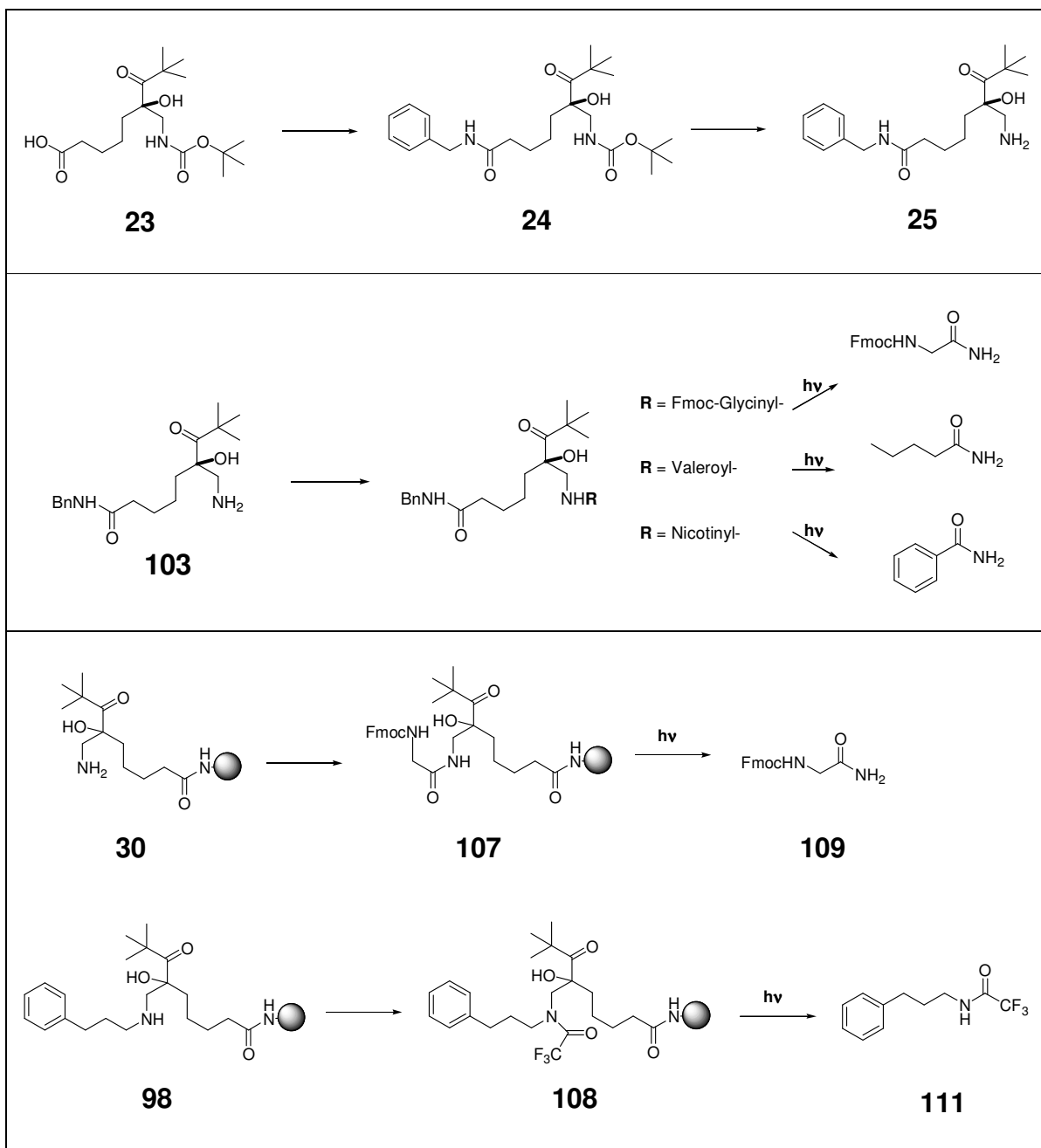
In Quarzglasküvetten (10 mm, 3.0 ml) wurden 10-15 mg **98** in entgastem Lösemittel (1.0 ml) suspendiert und nach einer Quellzeit von 30 min wie in Tabelle xy angegeben, mit Lichtquelle 1 und vorgeschaltetem Kantenfilter ($h\nu > 305 \text{ nm}$) bei 5° C unter ständigem Rühren belichtet.

Die Produktbestimmung erfolgte mittels RP-HPLC (0.1 % TFA, Std. Phenylethanol)

Tabelle 42: Photolyse der festphasengebundenen Amine **98** und **99**.

<p>98: R = N-(3-Phenylpropylaminyl) 99: R = N-Piperidinyll</p>				
Substrat (Lösemittel)	Zusatz	$h\nu$	Photolysen- zeit	Ausbeute
98 ($\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 1:1)	-	305 nm	30 min	0 %
98 ($\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 1:1)	0.1 % TFA			2 %
99 (CH_2Cl_2)	-	305 nm	30 min	6 %
99 (CH_2Cl_2)	10 eq. HCl			8 %

20 Amide

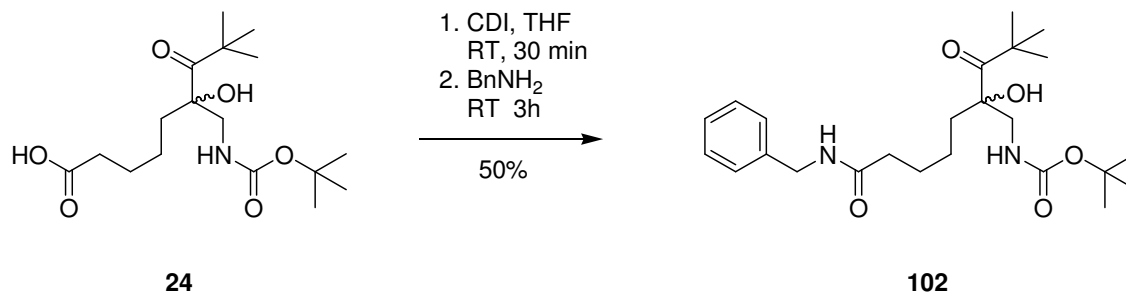


Schema 60: Synthese der Amidvorläufer und Photospaltungen.

20.1 Synthese der Amidvorläufer

20.1.1 Synthese des Aminlinker-Benzylamidmodells (103)

8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(*tert.*-butyloxycarbonyl)-aminomethyl]-nonansäurebenzylamid (102)⁵²



Eine Lösung aus 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(*tert.*-butyloxy-carbonyl)-aminomethyl]-nonansäure (**24**) (123 mg, 0.36 mmol) in absolutem Tetrahydrofuran (5 ml) wurde bei Raumtemperatur unter Argon mit Carbonyldiimidazol (86 mg, 0.52 mmol, 1.5 eq.) versetzt und 30 min gerührt. Der farblosen Lösung wurde anschließend Benzylamin (62 μ l, 0.57 mmol, 1.6 eq.) zugetropft und 3h gerührt.

Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch mit Diethylether (40 ml) versetzt und zweimal mit 1N Salzsäure (je 10 ml) gewaschen. Die Etherphase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und anschließend am Rotationsverdampfer eingengt. Der farblose feste Rückstand wurde an Kieselgel (Uetikon, 3 x 10 cm, Ethylacetat) vorgereinigt. Die Isolierung des Benzylamids **102** erfolgte mittels präparativer HPLC (RP-18, Acetonitril:Wasser 40:60 bis 100:0). Nach Entfernen der Lösemittel am Vakuum und fünfmaliger Koevaporation mit Dichlormethan wurden 67 mg (0.15 mmol, 50 %) 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(*tert.*-butyloxy-carbonyl)-aminomethyl]-nonansäurebenzylamid (**102**) als farbloses Öl erhalten.

C₂₄H₃₈N₂O₅ (434.58).

R_f (Ethylacetat:Pentan = 2:1) = 0.33.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):

7.36-7.24 (m, 5H, H_{ar}), 5.89 (s, br, 1H, NHCO), 5.03 (s, br, 1H, OCONH), 4.42 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H, $\text{H-2}'$), 3.49-3.42 (dd, $J = 14.2, 6.8$ Hz, 1H, $\text{H-7a}'$), 3.35-3.28 (dd, $J = 14.2, 5.7$ Hz, 1H, $\text{H-7b}'$), 2.19 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-2), 1.70-1.65 (m, 1H, H-5a), 1.63-1.45 (m, 3H, H-3, H-5b), 1.41 (s, 9H, $\text{H-10}'$), 1.38-1.28 (m, 2H, H-4), 1.24 (s, 9H, H-9).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3):

219.7 (Cq, 1C, C-7), 172.6 (Cq, 1C, C-1), 158.1 (Cq, 1C, C-8'), 138.3 (Cq, 1C, C-3''), 128.7, 127.8 (4-Ct, C-4'', C-5''), 127.4 (Ct, 1C, C-6''), 86.1 (Cq, 1C, C-6), 80.5 (Cq, 1C, C-9'), 49.0 (Cs, 1C, C-7'), 45.0 (Cq, 1C, C-8), 43.6 (Cs, 1C, C-2''), 38.1 (Cs, 1C, C-2), 36.4 (Cs, 1C, C-5), 28.3 (Cp, 3C, C-10'), 26.8 (Cp, 3C, C-9), 25.8 (Cs, 1C, C-3), 23.0 (Cs, 1C, C-4).

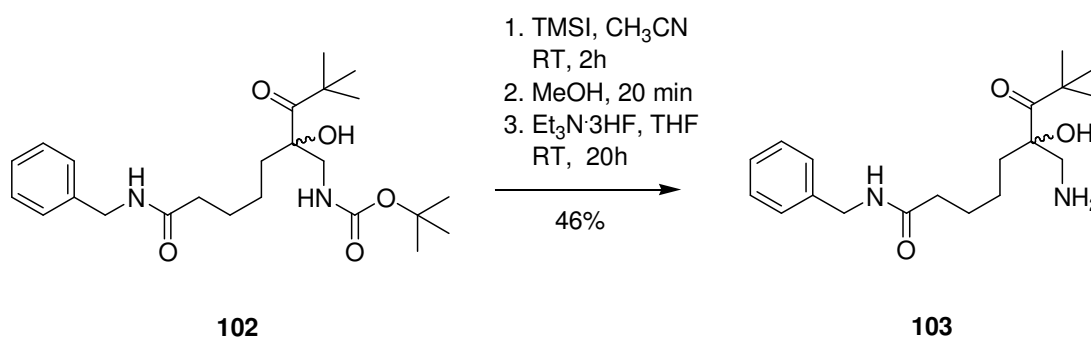
IR (NaCl):

3360, 3064, 2973, 2869, 1690, 1649, 1528, 1452, 1367, 1253, 1170, 1058, 732, 700 cm^{-1} .

MS (FAB):

473 (27) $[\text{M}+\text{K}]^+$, 435 (17) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 335 (37), 306 (12), 249 (15), 241 (22), 106 (19), 91 (76), 57 (100), 41 (15).

8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-aminomethyl-nonansäure-benzylamid (**103**)⁵²



Eine Lösung aus 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-N-(*tert.*-butyloxy-carbonyl)-aminomethyl]-nonansäurebenzylamid (**102**) (458 mg, 1.05 mmol) in absolutem Acetonitril (15 ml) wurde bei Raumtemperatur unter Rühren mit Trimethylsilyliodid (240 μl , 1.73 mmol, 1.7 eq.) versetzt. Die entstandene gelbe Lösung wurde 2h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Methanol (10 ml) versetzt. Nach 20 min wurde das Lösemittel am Vakuum

entfernt. Das zurückgebliebene rotbraune Öl wurde in Diethylether (20 ml) aufgenommen und einmal mit 10 %-iger Natriumhydrogensulfid-Lösung (10 ml) gewaschen. Die farblose Etherphase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das blaßgelbe Öl wurde in absolutem Tetrahydrofuran (5 ml) unter Argon gelöst und mit Triethylamin-Trihydrofluorid (0.50 ml, 3.0 mmol, 3.0 eq.) bei Raumtemperatur während 20 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde bis zur öligen Konsistenz eingeeengt, mit 1N Natriumhydroxid-Lösung (20 ml) versetzt und dreimal mit Diethylether (je 20 ml) extrahiert. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösemittels und des freigesetzten Triethylamins am Rotationsverdampfer erhielt man ohne weitere Reinigung 160 mg (0.48 mmol, 46 %) 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-aminomethyl-nonansäurebenzylamid (**103**) als farbloses Öl.

$C_{19}H_{30}N_2O_3$ (334.36).

R_f (Methanol) = 0.40.

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$):

7.37-7.24 (m, 5H, H_{ar}), 5.80 (s, br, 1H, NHCO), 4.43 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H, H-2'), 3.12 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H, H-7a'), 2.60 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H, H-7b'), 2.19 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H-2), 1.81-1.72 (m, 1H, H-5a), 1.67-1.57 (m, 2H, H-3), 1.56-1.50 (m, 1H, H-5b), 1.39-1.29 (m, 2H, H-4), 1.25 (s, 9H, H-9).

^{13}C -NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$):

219.5 (Cq, 1C, C-7), 172.5 (Cq, 1C, C-1), 138.3 (Cq, 1C, C-3'), 128.7 und 127.8 (4-Ct, C-4'' und C-5'), 127.5 (Ct, 1C, C-6'), 83.6 (Cq, 1C, C-6), 48.7 (Cs, 1C, C-7'), 44.6 (Ct, 1C, C-8), 43.6 (Cs, 1C, C-2'), 37.2 (Cs, 1C, C-2), 36.4 (Cs, 1C, C-5), 27.1 (Cp, 3C, C-9), 26.0 (Cs, 1C, C-3), 23.6 (Cs, 1C, C-4).

IR (NaCl):

3301, 2953, 1654, 1542, 1483, 1456, 1362, 1252, 1080, 912, 732 cm^{-1} .

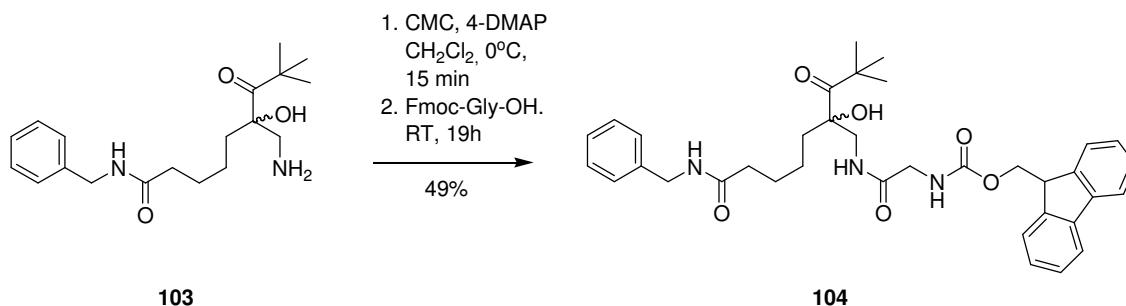
MS (FAB):

373 (3) $[M+K]^+$, 335 (33) $[M+H]^+$, 306 (5), 107 (18), 91 (100), 77 (23), 65 (17), 57 (87), 41 (31).

20.2 Synthese der Amid-Photolysevorläufer

20.2.1 Vorläufer für Photospaltungen in homogener Phase

8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-((carbonylmethyl)-N-(fluorenylmethyl)-oxycarbonyl)]-nonansäurebenzylamid (**104**)⁷⁵



8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-aminomethyl-nonansäurebenzylamid (**103**) (18 mg, 50 μmol) wurde in absolutem Dichlormethan (1 ml) unter Argon gelöst. Bei 0° C wurden N-Cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)-carbodiimid-methyl-*p*-toluolsulfonat (46 mg, 110 μmol , 1.9 eq.), sowie 4-Dimethylaminopyridin (2 mg, 20 μmol , 0.3 eq.) zugesetzt. Es wurde 15 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend Fluorenylmethyloxycarbonylglycin (35 mg, 120 μmol , 2.2 eq.) zugesetzt. Zur vollständigen Auflösung der Suspension wurden 5 Tropfen absolutes Tetrahydrofuran zugesetzt. Es wurde 19 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei ein farbloser Feststoff entstand.

Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch mit Ethylacetat (5 ml) versetzt, einmal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (5 ml) und zweimal mit Wasser (je 5 ml) gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer wurde das farblose kristalline Rohprodukt an Kieselgel (Uetikon, 1.5 x 10 cm, Ethylacetat:Pentan im Gradienten 2:1 bis 1:0) gereinigt. Man erhielt 16 mg (26 μmol , 49 %) 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-((carbonylmethyl)-N-(fluorenylmethyl)-oxy-carbonyl)]-nonansäurebenzylamid (**104**) als farblosen Feststoff.

$\text{C}_{36}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_6$ (613.76).

R_f (Ethylacetat) = 0.35.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

7.76 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, H-14'), 7.75 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-17'), 7.40 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-15'), 7.31-7.23 (m, 7H, H-4'', H-5'', H-6'', H-16'), 6.69, 5.88 und 5.51 (3-s, br, 3H, NH), 4.72 (s, br, 1H, OH), 4.42-4.18 (m, 4H, H-2'', H-11'), 4.20 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-12'), 3.81 (s, br, 2H, H-9'), 3.61-3.56 (dd, $J = 13.9, 6.4$ Hz, 1H, H-7a'), 3.51-3.57 (m, 1H, H-7b'), 2.17 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, H-2), 1.81-1.58 (m, 4H, H-5 und H-3), 1.37-1.33 (m, 1H, H-4a), 1.28-1.18(m, 1H, H-4b), 1.23 (s, 9H, H-9).

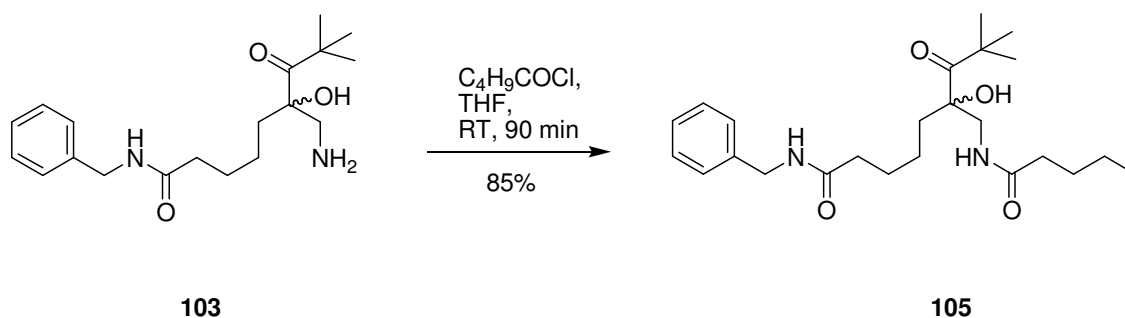
$^{13}\text{C-NMR}$ (100.1 MHz, CDCl_3):

219.3 (Cq, 1C, C-7), 172.7 (Cq, 1C, C-1), 171.3 (Cq, 1C, C-8'), 157.1 (Cq, 1C, C-10'), 143.1 (Cq, 2C, C-13'), 141.3 (Cq, 2C, C-18'), 138.3 (Cq, 1C, C-3'), 128.7, 127.8, 127.5, 127.1 (Ct, 9C, C-17', C-14', C-4'', C-5'', C-6'), 125.0, 120.0 (Ct, 4C, C-15', C-16'), 85.1 (Cq, 1C, C-6), 67.3 (Cs, 1C, C-11'), 60.4 (Cs, 1C, C-7'), 47.9 (Cs, 1C, C-9'), 47.1 (Ct, 1C, C-12'), 45.0 (Cq, 1C, C-8), 43.6 (Cs, 1C, C-2''), 37.5 (Cs, 1C, C-2), 36.0 (Cs, 1C, C-5), 27.0 (Cp, 3C, C-9), 25.7 (Cs, 1C, C-3), 22.9 (Cs, 1C, C-4).

MS (FAB):

652 (32) $[\text{M}+\text{K}]^+$, 614 (33) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 528 (16), 392 (6), 288 (8), 179 (100), 91 (82), 57 (50).

8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(1-butylcarbonyl)-aminomethyl]-nonansäurebenzylamid (105**)¹⁰³**



8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-aminomethyl-nonansäurebenzylamid (**103**) (5 mg, 15 μmol) wurde in absolutem Tetrahydrofuran (1 ml) gelöst und mit Valeroylchlorid (2 μl , 20 μmol , 2.0 eq.) bei Raumtemperatur versetzt und während 1.5 h gerührt.

Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch mit Diethylether (10 ml) versetzt und einmal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (5 ml) gewaschen. Die Etherphase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Das zurückgebliebene blaßgelbe Öl wurde über Kieselgel filtriert (Uetikon, 1 x 5 cm, Ethylacetat). Man erhielt 5 mg (12 μ mol, 85 %) 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(1-butylcarbonyl)-aminomethyl]-nonansäurebenzylamid (**105**) als farbloses Öl.

$C_{24}H_{38}N_2O_4$ (418.58).

R_f (Ethylacetat) = 0.55.

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

7.35-7.26 (m, 5H, H_{ar}), 6.15 (s, br, 1H, CNHCO), 5.82 (s, br, 1H, NHCO), 5.27 (s, 1H, OH), 4.43 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H, H-2'), 3.55 (dd, $J = 14.0, 6.5$ Hz, H-7a'), 3.49 (dd, $J = 14.0, 5.6$ Hz, 1H, H-7b'), 2.21 und 2.16 (2-t, $J = 7.6, 7.4$ Hz, 4H, H-2, H-9'), 1.75-1.25 (m, 12H, H-3, H-4, H-5, H-9', H-10', H-11'), 1.23 (s, 9H, H-9), 0.90 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-12').

^{13}C -NMR (125.5 MHz, $CDCl_3$):

219.8 (Cq, 1C, C-7), 176.2 (Cq, 1C, C-8'), 172.6 (Cq, 1C, C-1), 138.2 (Cq, 1C, C-3'), 128.7, 127.8 (Ct, 4C, C-4', C-5'), 127.5 (Ct, 1C, C-6'), 85.9 (Cq, 1C, C-6), 48.3 (Cs, 1C, C-7'), 45.0 (Cq, 1C, C-8), 43.6 (Cs, 1C, C-2'), 38.1, 36.3, 35.9, 27.5, 25.9, 23.0, 22.3 (Cs, C-2, C-3, C-4, C-5, V-9', C-10', C-11'), 27.5 (Cp, 3C, C-9), 13.7 (Cp, 1C, C-12').

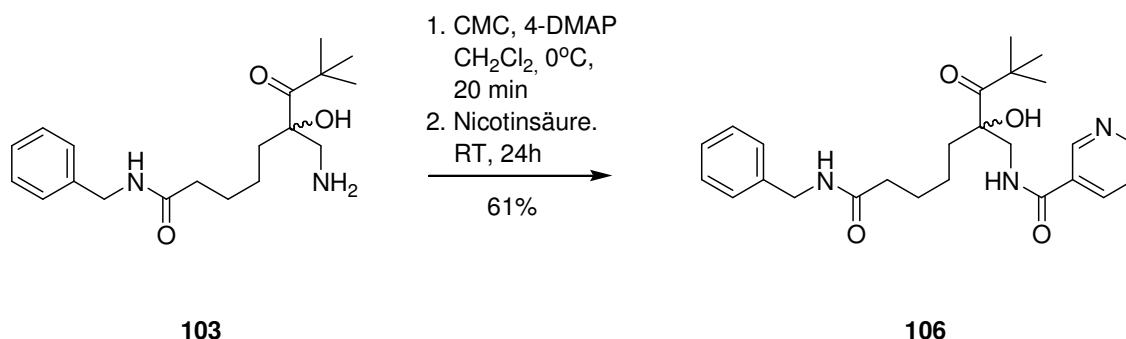
IR (NaCl):

3304, 3066, 2959, 2871, 1691, 1644, 1556, 1455, 1364, 1266, 1169, 1128, 738, 700 cm^{-1} .

MS (FAB):

457 (44) $[M+K]^+$, 419 (94) $[M+H]^+$, 333 (26), 249 (9), 145 (16), 106 (16), 91 (74), 57 (100), 39 (84).

8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(3-pyridylcarbonyl)-aminomethyl]-nonansäurebenzylamid (106)⁵²



8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-aminomethyl-nonansäurebenzylamid (**103**) (40 mg, 120 μmol) wurde in absolutem Dichlormethan (3 ml) unter Argon gelöst. Bei 0° C wurden N-Cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)-carbodiimid-methyl-*p*-toluolsulfonat (128 mg, 290 μmol , 2.4 eq.) sowie 4-Dimethylaminopyridin (8 mg, 60 μmol , 0.5 eq.) zugesetzt. Es wurde 20 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend Nicotinsäure (37 mg, 300 μmol , 2.5 eq.) zugesetzt. Zur vollständigen Auflösung der Suspension wurden 0.5 ml absolutes Tetrahydrofuran zugegeben. Es wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei ein farbloser Feststoff entstand.

Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch mit Ethylacetat (20 ml) versetzt und zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (je 20 ml) gewaschen. Die Wasserphase wurde zweimal mit Ethylacetat (je 20 ml) rückextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Ethylacetats am Rotationsverdampfer blieb ein farbloses Öl zurück, das an Kieselgel (Uetikon, 3 x 5 cm, Ethylacetat) gereinigt wurde. Man erhielt 32 mg (72 μmol , 61 %) 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(3-pyridylcarbonyl)-aminomethyl]-nonansäurebenzylamid (**106**) als farbloses Öl.

$\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_4$ (439.55).

R_f (Ethylacetat) = 0.18.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):

8.99 (s, 1H, H-10'), 8.70 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, H-11'), 8.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-13'), 7.53 (t, $J = 5.7$ Hz, H-12'), 7.38-7.26 (m, 5H, H-4'', H-5'', H-6''), 6.11 (s, br, 1H, NHCOPy), 5.26 (s, br, 1H, C''-NHCO), 4.41 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H, H-2'), 3.84-3.77 (dd, $J = 13.9, 6.5$ Hz, 1H, H-7a'), 3.71-3.65 (dd, $J = 13.8, 5.5$ Hz, 1H, H-7b'), 2.22 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-2), 1.85-1.70 (m, 1H, H-5a), 1.69-1.60 (m, 3H, H-3, H-5b), 1.45-1.26 (m, 2H, H-4), 1.23 (s, 9H, H-9).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3):

219.6 (Cq, 1C, C-7), 172.8 (Cq, 1C, C-1), 168.0 (Cq, 1C, C-8'), 152.5 (Cq, 1C, C-10'), 148.2 (Ct, 1C, C-11'), 138.2 (Cq, 1C, C-3''), 135.3 (Ct, 1C, C-13'), 129.3 (Cq, 1C, C-9'), 128.7, 127.7 (Ct, 4C, C-4'', C-5''), 127.5 (Ct, 1C, C-6''), 123.6 (Ct, 1C, C-12'), 85.7 (Cq, 1C, C-6), 48.6 (Cs, 1C, C-7'), 45.1 (Cq, 1C, C-8), 43.6 (Cs, 1C, C-2''), 39.9 (Cs, 1C, C-2), 36.1 (Cs, 1C, C-5), 26.8 (Cp, 3C, C-9), 25.8 (Cs, 1C, C-3), 23.0 (Cs, 1C, C-4).

IR (NaCl):

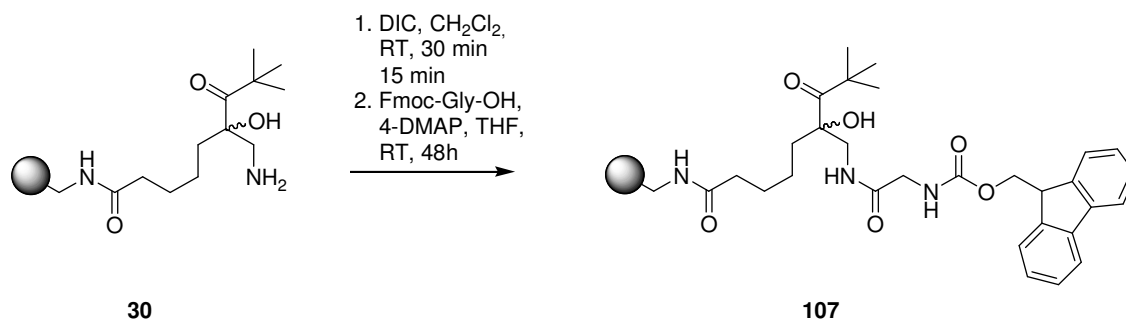
3308, 3065, 2956, 2869, 1689, 1645, 1594, 1547, 1482, 1455, 1420, 1313, 1266, 1123, 736, 702 cm^{-1} .

MS (FAB):

478 (12) $[\text{M}+\text{K}]^+$, 440 (36) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 354 (12), 135 (7), 123 (13), 106 (62), 91 (100), 77 (29), 65 (22), 57 (73), 41 (39).

20.2.2 Vorläufer für Photospaltungen an der Festphase

Fmoc-Glycinamid-Photolinker-Tentagel (107)¹⁰⁴



Fluorenylmethyloxycarbonylglycin (95 mg, 320 μmol , 11 eq.) wurde in absolutem Dichlormethan (15 ml) unter Zusatz von 15 Tropfen absolutem Dimethylformamid gelöst und bei Raumtemperatur mit Diisopropylcarbodiimid (23 μl , 150 μmol , 4.9 eq.) versetzt. Es wurde 30 min gerührt und anschließend das Lösemittel am Vakuum entfernt. Der erhaltene farblose Rückstand wurde in absolutem Dimethylformamid (3 ml) gelöst und zu einer Suspension des Photolinkerharzes **30** (112 mg, max. 30 μmol) in absolutem Dimethylformamid (3 ml) getropft. Nach Zusatz von 4-Dimethylaminopyridin (8 mg, 60 μmol , 2.2 eq.) wurde das Reaktionsgemisch während 48 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Es wurde mit Dimethylformamid (4 x 5 ml), Wasser (3 x 5 ml), Methanol (3 x 5 ml) und Dichlormethan (3 x 5 ml) gewaschen und anschließend am Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 119 mg des farblosen Harzes **107**. Die Beladung mit Fmoc-Glycin betrug 0.20 mmol/g (71 % bezogen auf die Beladung von *TentaGel S NH₂* mit Aminogruppen).

Tentagel S NH · C₂₉H₃₆N₃O₆.

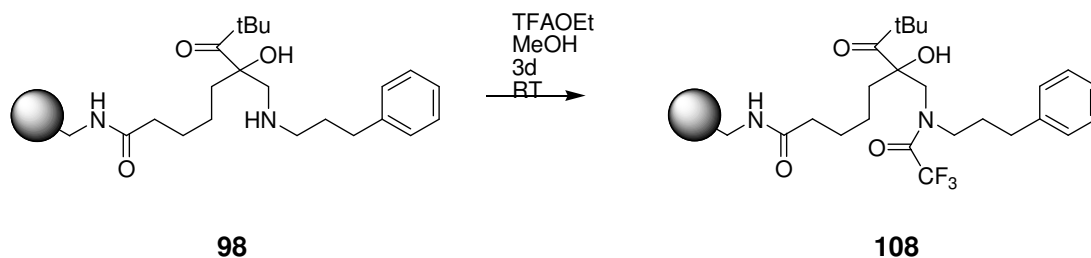
¹³C-Gel phase NMR (100.1 MHz, CDCl₃):

219.0 (Cq, 1C, C-7), 173.1 (Cq, 1C, C-1), 172.5 (Cq, 1C, C-8'), 156.6 (Cq, 1C, C-10'), 143.9 (Cq, 2C, C-13'), 141.4 (Cq, 2C, C-18'), 127.9, 127.8, 127.2 (Ct, 4C, C-17', C-14'), 125.1 und 120.0 (Ct, 4C, C-15' und C-16'), 85.6 (Cq, 1C, C-6), 66.7 (Cs, 1C, C-11'), 48.5 (Cs, 1C, C-7'), 47.2 (Cs, 1C, C-9'), 45.1 (Ct, 1C, C-12'), 44.4 (Cq, 1C, C-8), 39.2 (Cs, 1C, C-2), 38.1 (Cs, 1C, C-5), 26.8 (Cp, 3C, C-9), 25.9 (Cs, 1C, C-3), 23.1 (Cs, 1C, C-4).

IR (KBr):

1718 (C=O), 1684 (C=O), 1653 (C=O) cm⁻¹.

Trifluoracetamid-TentaGel 108¹⁰⁵



Das harzgebundene Amin **98** (100 mg, 30 μ mol) wurde in Methanol (3 ml) suspendiert und mit Trifluoressigsäureethylester (145 μ l, 1.21 mmol, 40 eq.) während 3d geschüttelt. Es wurde mit Dichlormethan (5 x 5 ml) gewaschen und anschließend im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 119 mg des farblosen Harzes **108**.

Tentagel S NH · C₂₃H₃₁NO₄F.

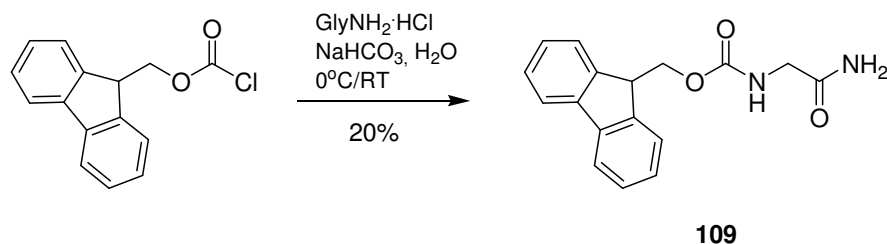
¹³C-Gel phase NMR (100.1 MHz, CDCl₃):

221.0 (Cq, 1C, C-7), 175.6 (Cq, 1C, C-1), 159.0 (Cq, 1C, CO-CF₃), 140.2 (Cq, 1C, arom), 128.8, 128.2, 126.3 (Ct, 5C, arom), 114.1 (Cq, 1C, CF₃), 85.5 (Cq, 1C, C-6), 51.1 (Cs, 1C, C-7'), 44.8, 40.3, 32.6, 30.0, 27.9, 26.3, 24.0 (Cs, 7C, C-2, C-3, C-4, C-5, N-(CH₂)₃-Phenyl), 36.9 (Cq, 1C, C-8), 26.8 (Cp, 3C, C-9).

¹⁹F-Gel phase NMR (376.5 MHz, CDCl₃): -76.42 (s, 3F, CF₃).

20.3 Synthese der Amidreferenzen

Fluorenylmethoxycarbonyl-glycinamid (**109**)¹⁰⁶



Glycinamid-Hydrochlorid (1.06 g, 9.10 mmol) wurde in gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (30 ml) gelöst und bei 0°C mit einer Lösung aus Fluorenylmethoxycarbonylchlorid (2.34 g, 9.00 mmol, 1.0 eq.) in Dioxan (15 ml) versetzt. Diese Reaktionslösung wurde während 2 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei unter starker Schaumbildung ein voluminöser weißer Niederschlag entstand.

Es wurde zweimal mit Dichlormethan (je 30 ml) extrahiert und die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer

wurde der farblose feste Rückstand an Kieselgel gereinigt (Uetikon, 5 x 10 cm, Ethylacetat). Man erhielt 550 mg (1.90 mmol, 20 %) Fluorenylmethyloxycarbonyl-glycinamid (**109**) als farblosen Feststoff.

$C_{17}H_{16}N_2O_3$ (296.33).

1H -NMR (300 MHz, CD_3OD):

7.72 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-7), 7.59 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-10), 7.34-7.21 (m, 4H, H-8, H-9), 4.32-4.30 (m, 2H, H-4), 4.15 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H, H-5), 3.69 (s, 2H, H-2).

^{13}C -NMR (100.1 MHz, CD_3OD):

172.9 (Cq, 1C, C-1), 157.0 (Cq, 1C, C-3), 143.3, 140.6 (Cq, 4C, C-6, C-11), 126.8, 126.1 (Ct, 4C, C-7, C-10), 124.2, 118.9 (Ct, 4C, C-8, C-9), 66.1 (Cs, 1C, C-4), 42.5 (Cs, 1C, C-2).

IR (KBr):

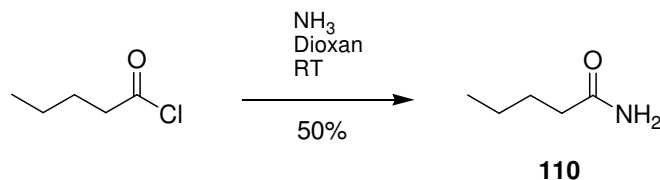
3449, 3351, 3300, 3047, 2949, 1944, 1910, 1697, 1603, 1540, 1447, 1398, 1271, 1156, 1103, 1040, 986, 948, 739 cm^{-1} .

GC-MS: $t_R = 18.8$ min.

MS (EI):

178 (100), 152 (9), 89 (10), 88 (9), 76 (13).

Valeriansäureamid (**110**)¹⁰³



Valeroylchlorid (2.0 ml, 16 mmol) wurde in absolutem Dioxan (10 ml) gelöst. Während 1 h wurde unter Wasserkühlung ein schwacher Ammoniakstrom durchgeleitet. Dabei bildete sich ein voluminöser weißer Niederschlag. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer

entfernt und der Rückstand in gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (20 ml) aufgelöst. Die wäßrige Lösung wurde zweimal mit Ethylacetat (je 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Magnesiumsulfat getrocknet. Man erhielt nach Entfernen des Lösemittels 800 mg (7.90 mmol, 50 %) Valeriansäureamid (**110**) als weißen Feststoff ohne weitere Reinigung.

$C_5H_{11}NO$ (101.15).

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$):

5.90 und 5.56 (2·s, br, 2H, NH_2), 2.23 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, H-2), 1.67-1.57 (m, 2H, H-3), 1.43-1.31 (m, 2H, H-4), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, H-5).

^{13}C -NMR (100.1 MHz, $CDCl_3$):

175.9 (Cq, 1C, C-1), 35.7 (Cs, 1C, C-2), 27.6 (Cs, 1C, C-3), 22.3 (Cs, 1C, C-4), 13.7 (Cp, 1C, C-5).

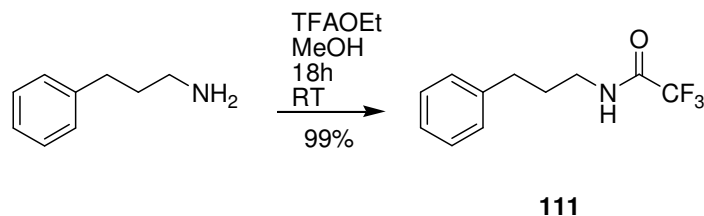
IR (KBr):

3370, 3192, 2963, 2937, 2866, 1662, 1630, 1414, 1315, 1242, 1141, 907, 877, 816, 699, 503 cm^{-1} .

GC-MS: $t_R = 11.2$ min.

MS (EI):

72 (20), 59 (100), 57 (8), 44 (31), 41 (10).

3-Phenylpropylamin-trifluoracetamid (MK44)

3-Phenylpropylamin (300 μ l, 210 μ mol) wurde in Methanol (3 ml) gelöst, mit Trifluoressigsäureethylester (330 μ l, 276 μ mol, 1.3 eq.) versetzt und 18h bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer wurde der farblose Rückstand chromatographisch gereinigt (Uetikon, 3 x 8 cm, Diethylether:Pentan 3:5). Man erhielt 485 mg (209 μ mol, 99 %) **111** als farblosen wachsartigen Feststoff.

$C_{11}H_{12}NOF_3$ (231.22).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 7.32-7.17 (m, 5H, Phenyl), 6.50 (s, br, 1H, NH), 3.42-3.37 (m, 2H, CH_2NH), 2.69 (t, $J=7.4$ Hz, 2H, CH_2 -Phenyl), 1.97-1.90 (m, 2H, CH_2).

^{13}C -NMR (100.1 MHz, $CDCl_3$): 157.0 (Cq, 1C, CO), 140.6 (Cq, 1C, Phenyl), 128.6, 128.4, 128.2, 126.3 (Ct, 5C, Phenyl), 117.7 (Cq, 1C, CF_3), 39.6 (Cs, 1C, CH_2 -NH), 33.0 (Cs, 1C, CH_2 -Phenyl), 30.2 (Cs, 1C, CH_2).

^{19}F -NMR (376.5 MHz, $CDCl_3$): -77.16 (s, 3F, CF_3).

UV/VIS (CH_3CN , λ/nm) : 259.

MS (ESI-LCQ, m/z): 254 ($M+Na^+$, 100)

20.4 Photolysen der Amidsubstrate

20.4.1 Allgemeine Photolysenbedingungen

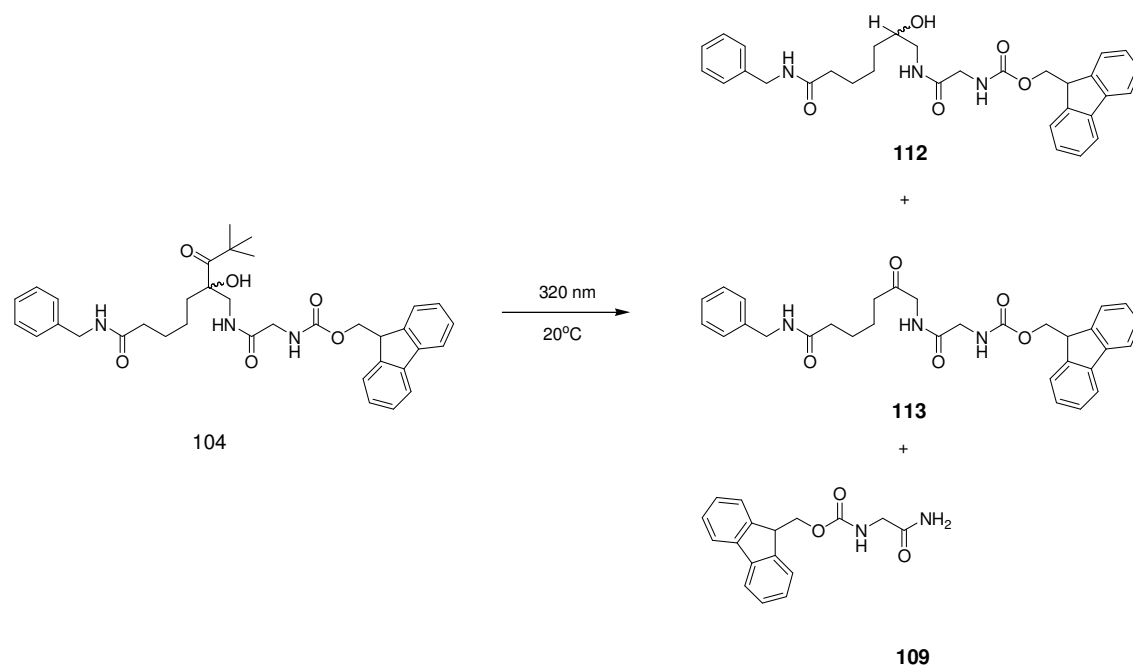
In einer Quarzglasküvette wurde 1 mg Photolysenedukt in 3 ml entgastem Lösemittel gelöst. Anschließend wurde mit einer Hg-Hochdrucklampe-Lampe (Lichtquelle 1) mit 320nm-Steilkantenfilter bei 20°C unter ständigem Rühren belichtet.

Die Auswertung der Photolysen erfolgte mittels RP-HPLC (100 µl der Photolysenlösung wurden jeweils nach 30, 60 und 90 min entnommen, eingengt und mit 40 µl Acetonitril aufgenommen), sowie GC.

Die Identität der Produkte wurde durch Koinjektion mit den authentischen Proben nachgewiesen.

20.4.2 Photolysen in homogener Phase

Photolyse von (*rac*)-8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6- [N-((carbonyl-methyl)-N-(fluorenylmethyl)-oxycarbonyl)]-nonansäurebenzylamid (**104**)



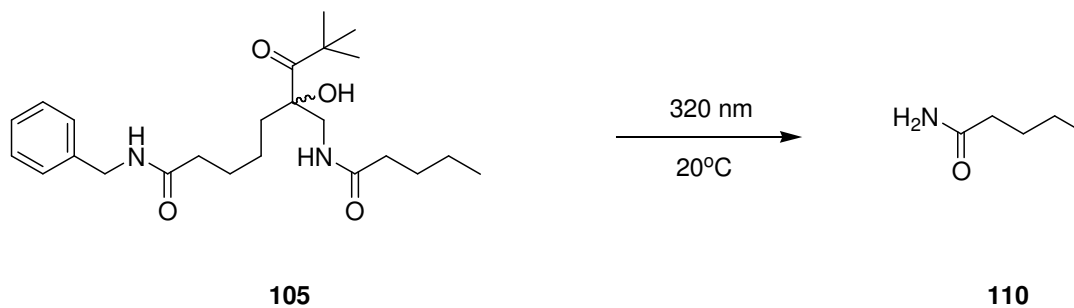
Schema 61: Photolyseprodukte aus Amidvorläufer **104**.

26 wurde nach der Allgemeinen Arbeitsvorschrift belichtet. Die Photolyse­lösung wurde mittels RP-HPLC analysiert.

Tabelle 43: Photolyse von **104** unter verschiedenen Bedingungen.

Lösemittel	Zusatz	Photolysedauer	Beobachtung
Dichlormethan	-	40 min	109 nicht nachweisbar, Produkte 38 und 39 im Verhältnis 2:3
Dichlormethan	1,4-Cyclohexadien (20 µl, 0.21 mmol, 130 eq.)	40 min	109 nicht nachweisbar, Produkte 38 und 39 im Verhältnis 1:1
Dichlormethan	Essigsäure (konz.) (0.50 ml)	40 min	109 nicht nachweisbar, Produkte 112 und 113 im Verhältnis 2:3
Tetrahydrofuran	-	40 min	109 nicht nachweisbar, Produkte 112 und 113 im Verhältnis = 1:1
Tetrahydrofuran	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure (30 mg, 0.15 mmol, 92 eq.)	40 min	109 nicht nachweisbar, Produkte 112 und 113 im Verhältnis 2:1
Methanol	-	40 min	109 nicht nachweisbar, Produkte 112 und 113 im Verhältnis 1:5
Methanol	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure (30 mg, 0.15 mmol, 92 eq.)	40 min	109 entsteht zu $\leq 8\%$ Produkte 112 und 113 im Verhältnis 1:2
Methanol	gesättigt mit Chlorwasserstoff	40 min	109 nicht nachweisbar, Hauptprodukte 112 und 113 im Verhältnis 112:113 = 1:1

Photolyse von 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(1-butyl-carbonyl)-aminomethyl]-nonansäurebenzylamid (105)

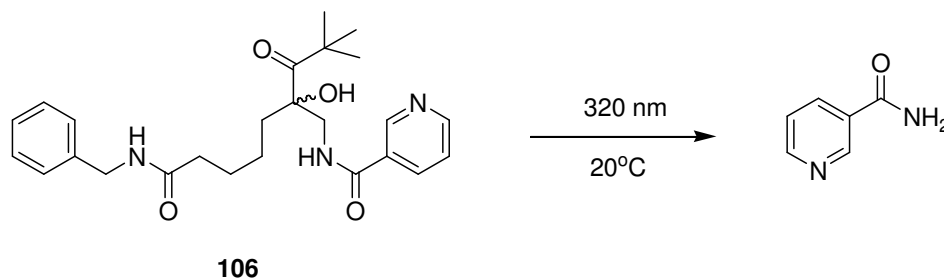


Amid **105** wurde nach der Allgemeinen Arbeitsvorschrift belichtet. Die PhotolyseLösung wurde mittels Gaschromatographie analysiert.

Tabelle 44: Photolyse von **105** unter verschiedenen Bedingungen.

Lösemittel	Zusatz	Photolyse-dauer	Beobachtung
Dichlormethan	-	120 min	110 nicht nachweisbar
Methanol	-	70 min	110 nicht nachweisbar, uneinheitliches Produktgemisch
Methanol	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure (30 mg, 0.15 mmol, 92 eq.)	70 min	110 nicht nachweisbar, uneinheitliches Produktgemisch

Photolyse von 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-(3-pyridyl-carbonyl)-aminomethyl]-nonansäurebenzylamid (106)

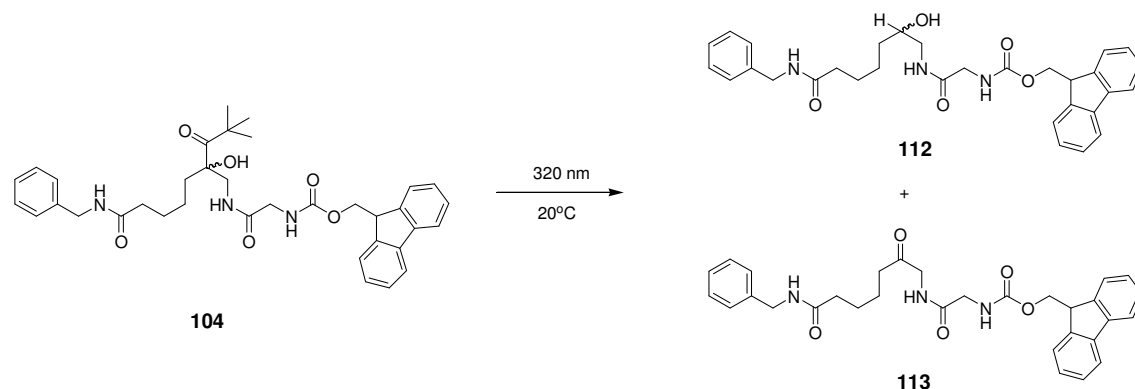


Das Nicotinamid **28** wurde nach der Allgemeinen Arbeitsvorschrift belichtet. Die PhotolyseLösung wurde mittels Gaschromatographie und RP-HPLC analysiert.

Tabelle 45: Photolyse von **106** unter verschiedenen Bedingungen.

Lösemittel	Zusatz	Photolyse-dauer	Beobachtung
Dichlormethan	-	60 min	Nicotinamid nicht nachweisbar
Methanol	-	60 min	Nicotinamid nicht nachweisbar
Methanol	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure (20 mg, 0.10 mmol, 62 eq.)	70 min	Nicotinamid nicht nachweisbar

Präparative Photolyse von 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-((carbonylmethyl)-N-(fluorenylmethyl)-oxycarbonyl)]-nonansäurebenzylamid (104**) in neutralem Milieu**



Gemäß den Allgemeinen Photolysebedingungen wurde 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-hydroxy-6-[N-((carbonylmethyl)-N-(fluorenylmethyl)-oxycarbonyl)]-nonansäurebenzylamid (**104**) (15 mg, 20.0 μmol) in entgastem Dichlormethan (3 ml) während 100 min belichtet.

Das Lösemittel wurde anschließend am Rotationsverdampfer entfernt. Das erhaltene gelbe Öl wurde in 3 ml Acetonitril gelöst und durch präparative RP-HPLC gereinigt. Man erhielt nach Entfernen des Acetonitril/Wasser-Gemisches und fünfmaliger Koevaporation mit Dichlormethan 3 mg (7.0 μmol , 27 %) des Alkohols **112** und 0.5 mg (1 μmol , 4 %) des Ketons **113**.

112:

$\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5$ (529.64).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, COSY, DMSO-d_6):

8.27 (s, br, 1H, NH), 7.88 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, H-14'), 7.72 (m, 3H, NH und H-17'), 7.50 (s, br, 1H, NH), 7.40 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-15'), 7.33-7.21 (m, 7H, H-4'', H-5'', H-6'', H-16'), 4.60 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, OH), 4.28-4.21 (m, 5H, H-11', H-12', H-2'), 3.60 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H, H-9'), 3.47-3.42 (m, 1H, H-6), 3.15-3.05 (m, 1H, H-7a'), 2.95-2.80 (m, 1H, H-7b'), 2.13-2.10 (m, 2H, H-2), 1.50-1.47 (m, 2H, H-3), 1.37-1.36 (m, 2H, H-4a, H-5a), 1.35-1.22 (m, 2H, H-4b, H-5b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.5 MHz, HMQC, DMSO-d_6):

δ = 172.1 (Cq, 1C, C-1), 168.5 (Cq, 1C, C-8'), 156.5 (Cq, 1C, C-10'), 143.9 (Cq, 2C, C-13'), 140.7 (Cq, 2C, C-18'), 139.7 (Cq, 1C, C-3''), 128.2, 127.6, 2·127.1, 126.7 (Ct, 9C, C-17', C-14', C-4'', C-5'', C-6''), 125.3, 120.1 (Ct, 4C, C-15', C-16'), 72.3 (Cq, 1C, C-6), 65.7 (Cs, 1C, C-11'), 46.6 (Ct, 1C, C-12'), 45.0 (Cs, 1C, C-7'), 43.5 (Cs, 1C, C-9'), 41.9 (Cs, 1C, C-2''), 35.4 (Cs, 1C, C-2), 34.2 (Cs, 1C, C-5), 25.5 (Cs, 1C, C-3), 24.9 (Cs, 1C, C-4).

MS (FAB):

568 (17) [M+K]⁺, 530 (15) [M+H]⁺.

RP-HPLC: t_R = 7.56 min.

113:

C₃₁H₃₃N₃O₅ (529.62).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

7.76 (d, J = 7.5 Hz, 2H, H-14'), 7.60 (d, J = 7.7 Hz, 2H, H-17'), 7.40 (t, J = 7.3 Hz, 2H, H-15'), 7.35-7.25 (m, 7H, H-4'', H-5'', H-6'', H-16'), 6.63, 5.83, 5.44 (3·s, br, 3H, NH), 4.45-4.43 (m, 4H, H-11', H-2''), 4.23 (t, J = 6.6 Hz, 1H, H-12'), 4.13 (d, J = 4.3 Hz, 2H, H-9'), 3.91 (d, J = 5.3 Hz, 2H, H-7), 2.49 (s, br, 2H, H-5), 2.22 (s, br, 2H, H-2), 1.67 (s, br, 4H, H-3 und H-4).

¹³C-NMR (125.5 MHz, HMQC, CDCl₃):

204.5 (Cq, 1C, C-6), 172.0 (Cq, 1C, C-1), 168.5 (Cq, 1C, C-8'), 143.7 (Cq, 2C, C-13'), 141.3 (Cq, 2C, C-18'), 138.1 (Cq, 1C, C-3''), 128.7, 127.9, 127.8, 127.6, 127.1 (Ct, 9C, C-17', C-14', C-4'', C-5'', C-6''), 125.0, 120.0 (Ct, 4C, C-15', C-16'), 67.2 (Cs, 1C, C-11'), 49.0 (Cs, 1C, C-9'), 47.1 (Ct, 1C, C-12'), 44.0 (Cs, 1C, C-7'), 43.7 (Cs, 1C, C-2''), 39.8 (Cs, 1C, C-2), 36.1 (Cs, 1C, C-5), 24.9 (Cs, 1C, C-3), 23.0 (Cs, 1C, C-4).

RP-HPLC: t_R = 8.46 min.

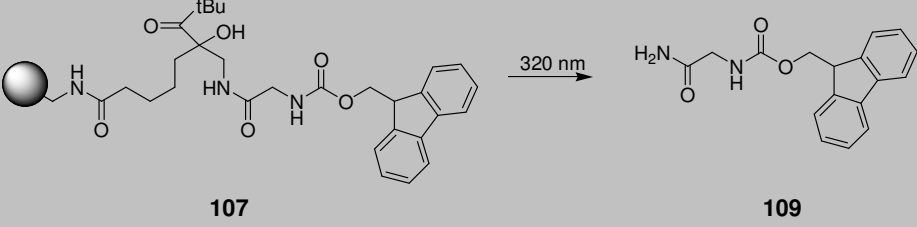
20.4.3 Photolysen an der Festphase

Photolyse von Fmoc-Glycinamid-Photolinker-TentaGel (107)

In Quarzglasküvetten (10 mm, 3.0 ml) wurden Proben des Harzes **107** in entgastem Methanol (3 ml) suspendiert, mit *p*-Toluolsulfonsäure versetzt und nach einer Quellzeit von 40 min wie in Tabelle 46 angegeben, mit Lichtquelle 1 und vorgeschaltetem Kantenfilter ($h\nu > 320$ nm) bei 16°C unter ständigem Rühren belichtet.

Die Produktbestimmung erfolgte mittels RP-HPLC (200 µl der Photolysenlösungen wurden entnommen, eingengt und in 40 µl Acetonitril gelöst). Die Umsatzbestimmung erfolgte UV-spektroskopisch bei 290 nm unter Verwendung von Kalibriergeraden.

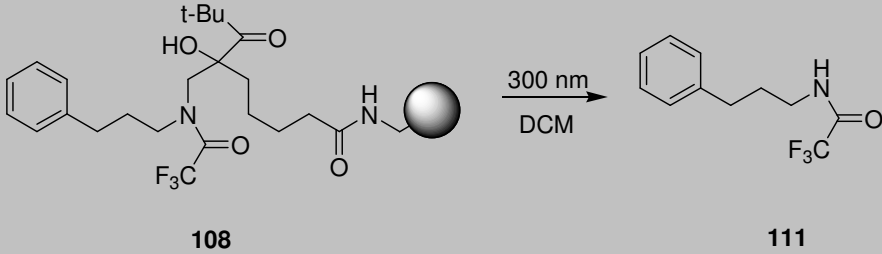
Tabelle 46: Photolyse von **107** mit verschiedenen *p*-TsOH-Äquivalenten.

				
Einwaage 107 (mg/µmol) Lösemittel	Zusatz	$h\nu$	Photolyse-zeit	Ausbeute 109
jeweils 5 mg/10 µmol MeOH	-	320 nm	90 min	0 %
	10 eq. <i>p</i> -TsOH			< 8 %
	150 eq. <i>p</i> -TsOH			< 8 %

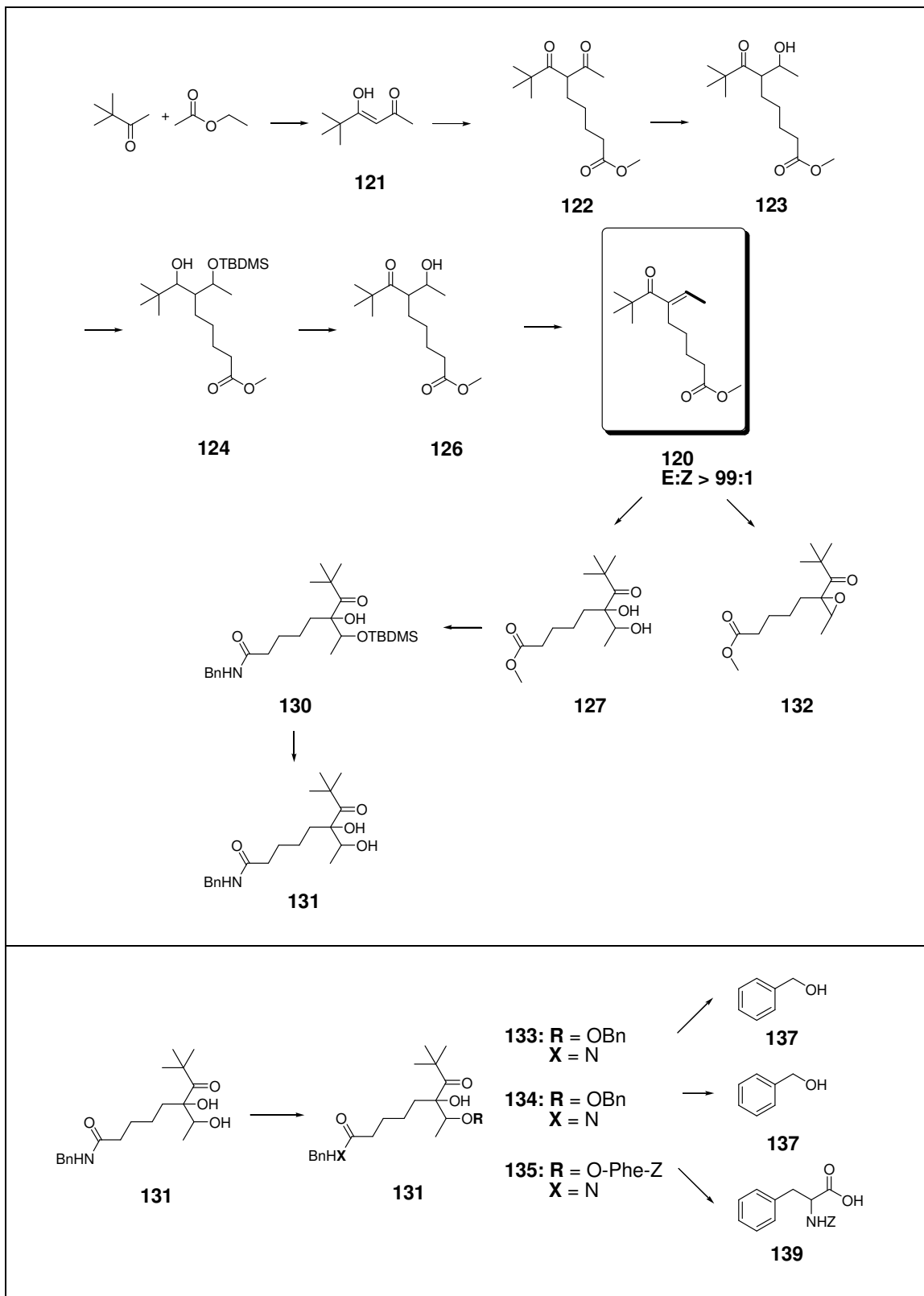
Photolyse von 108

108 (17 mg, 5 μmol) wurde in Dichlormethan (1.5 ml) suspendiert und nach einer Quellzeit von 20 min wie in Tabelle 47 angegeben, mit Lichtquelle 2 in einem Quarzglasröhrchen bei 25°C unter ständigem Rühren belichtet. Die Lösung der Photolyseprodukte wurde vom Harz dekantiert und lyophilisiert. Das Spaltprodukt **111** wurde mittels ESI-MS und RP-HPLC identifiziert und quantifiziert.

Tabelle 47: Photolyse des festphasengebundenen Amidvorläufers **108**.

				
Edukt (mg/ μmol)	Zusatz	$h\nu_{\text{max}}$	Photolyse- dauer	Ausbeute (RP-HPLC) [ESI-MS, %]
Lösemittel	-		100 min	< 1 %
Dichlormethan	10 eq. HCl	300 nm	100 min	8 % [232 M+H ⁺ , (100)]

21 Photolinkerderivat

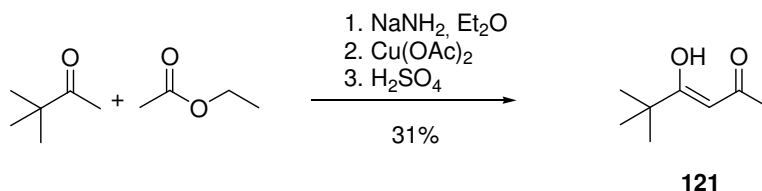


Schema 62: Synthese des β -methylmodifizierten Pivaloyllinkers. Photolyseexperimente.

21.1 Synthese des derivatisierten Festphasenphotolinkers

21.1.1 Aufbau des modifizierten Linkergerüsts

4-Hydroxy-5,5-dimethyl-hex-3-en-2-on (**121**)¹⁰⁹



Pinakolin (75.0 ml, 0.61 mol), verdünnt mit absolutem Diethylether (100 ml), wurde während 30 min zu einer siedenden Suspension von Natriumamid (48.0 g, 1.23 mol, 1.9 eq.) in absolutem Diethylether (600 ml) getropft und noch weitere 30 min unter Rückfluß erhitzt. Ethylacetat (140 ml, 1.41 mol, 2.3 eq.), gemischt mit absolutem Diethylether (100 ml), wurde während 2 min zugesetzt und der Ansatz noch 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde Wasser (600 ml) zugesetzt und mit Salzsäure (1.3 N, 900 ml) angesäuert. Es wurde mit Diethylether (3 x 250 ml) im Scheidetrichter extrahiert und die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer wurde der ölige Rückstand in Methanol (250 ml) gelöst und mit einer Lösung von Kupfer(II)-acetat-Monohydrat (80.0 g, 0.40 mol, 0.7 eq.) in Wasser (1300 ml) versetzt. Der ausgefallene dunkelviolette Niederschlag des Kupferdiketonats wurde abfiltriert und nacheinander mit Methanol (100 ml), Diethylether (2 x 250 ml), sowie Pentan (2 x 250 ml) gewaschen und im Luftstrom getrocknet.

Zur Freisetzung von **121** wurde das Diketonat mit Schwefelsäure (10 %, 800 ml) im Scheidetrichter geschüttelt und das sich abscheidende hellgelbe Öl mit Diethylether (3 x 150 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser (2 x 100 ml) gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösemittels am Rotationsverdampfer wurde das ölige Rohprodukt einer fraktionierten Destillation unterworfen. Man erhielt **121** (27.0 g, 0.19 mmol, 31 %) als blaßgelbes Öl.

$C_8H_{14}O_2$ (142.20).

berechnet: C 67.57, H 9.92, O 22.50

gefunden: C 67.49, H 9.94, O 22.40.

$R_f(\text{Pentan:Diethylether } 8:1) = 0.43$.

Smp. (**121**-Cu-Diketonat): 197°-198° C (Lit.: 191°C-192°C).

Sdp. (119 mbar): 79° C.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

5.60 (s, 1H, Methin-H); 2.07 (s, 3H, COCH_3); 1.16 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

200.2 (C_q , 1C, $\underline{\text{C}}\text{O}$); 192.5 (C_q , 1C, $\text{C}=\underline{\text{C}}\text{OH}$); 95.7 (C_t , 1C, $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CO}$); 40.0 (C_q , 1C, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$);

27.3 (C_p , 3C, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$).

GC/MS (HP 1, Programm 1):

$t_R = 11.7$ min.

MS (EI, m/z): 142 (M^+ , 16), 85 (100), 57 (14), 43 (40).

6-Acetyl-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-methylester (122)110

Natriumhydrid (60 % in Paraffin, 1.94 g, 48.5 mmol, 1.2 eq.) wurde bei 20° C in Dimethylsulfoxid (40 ml) eingerührt und der entstehende gelbe Kristallbrei mit Benzol (100 ml) verflüssigt. **121** (5.87 g, 41.3 mmol) wurde während 10 min unter Rühren und Wasserkühlung zugetropft. Nach 30-minütigem Rühren wurde 5-Brompentansäuremethylester zugesetzt und 2h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde dem Reaktionsgemisch Wasser (100 ml) zugesetzt und mit Diethylether (3 x 100 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Pentan:Diethylether 4:1) erhielt man das Diketon **122** (3.75 g, 14.6 mmol, 35 %) als farbloses Öl.

C₁₄H₂₄O₄ (256.35).

berechnet: C 65.60, H 9.44, O 24.97

gefunden: C 65.45, H 9.49, O 24.85.

R_f(Pentan:Diethylether 4:1) = 0.13.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ/ppm):

3.99 (t, J=7.1, 1H, H-6); 3.63 (s, 3H, H-1'); 2.29-2.25 (m, 2H, H-2); 2.10 (s, 3H, H-8'); 2.10 (s, 3H, H-7'); 1.88-1.70, 1.64-1.56, 1.26-1.14 (3*m, 6H, H-3, H-4, H-5); 1.11 (s, 9H; H-9).

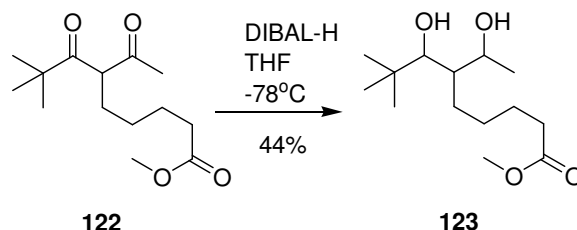
^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

211.1, 204.7 (C_q , 2C, C-7, C-7'); 174.1 (C_q , 1C, C-1); 62.8 (C_t , 1C, C-6); 51.9 (C_p , 1C, C-1'); 46.0 (C_q ; 1C, C-8); 34.0 (C_s , 1C, C-2); 30.5 (C_s , 1C, C-3); 27.7, 25.0 (C_s , 2C, C-4, C-5); 27.5 (C_p , 1C, C-8'); 26.3 (C_p , 3C, C-9).

IR (NaCl , $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 2957, 2869, 1736, 1711, 1584, 1439, 1362, 1173, 1098.

MS (ESI-LCQ, m/z): 279 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

7-Hydroxy-6-(1-hydroxyethyl)-8,8-dimethyl-nonansäure-methylester (**123**)¹¹¹



122 (1.88 g, 7.22 mmol) wurde in absolutem Tetrahydrofuran (70 ml) gelöst und bei -70°C mit Di-*iso*-butyl-aluminiumhydrid (1M in Hexan, 16.0 ml, 16.0 mmol, 2.2 eq.) während 20 min tropfenweise versetzt. Es wurde 1.5 h bei -70°C und weitere 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von gesättigter Ammoniumchloridlösung (70 ml) wurde mit Diethylether (3 x 50 ml) im Scheidetrichter extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Diethylether:Pentan 2:1) erhielt man das Diol **123** (0.83 g, 3.17 mmol, 44 %) als farbloses Öl.

$\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_4$ (260.37).

berechnet: C 64.58, H 10.84, O 24.58

gefunden: C 64.58, H 10.76, O 24.62.

$R_f(\text{Diethylether}) = 0.38$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

3.99-3.94, 3.49-3.46 (2m, 2H, H-7, H-7'); 3.65 (s, 3H, H-1'); 2.34-2.30 (m, 2H, H-2); 1.67-1.60, 1.55-1.48, 1.47-1.31 (3m, 7H, H-3, H-4, H-5, H-6); 1.21-1.17 (m, 3H, H-8'); 0.92 (s, 9H, H-9).

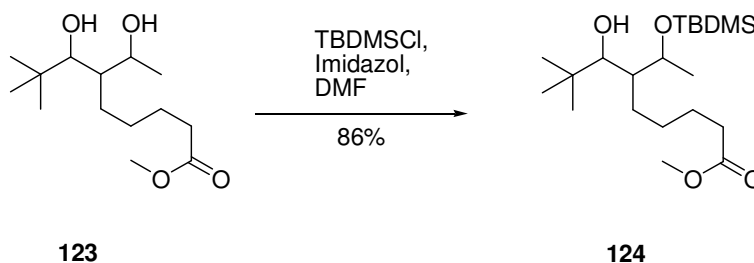
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

174.6 (Cq, 1C, C-1); 82.6 (Ct, 1C, C-7); 73.6 (Ct, 1C, C-7'); 51.9 (Cp, 1C, C-1'); 44.9 (Ct, 1C, C-6); 36.1 (Cq, 1C, C-8); 34.2 (Cs, 1C, C-2); 30.6 (Cs, 1C, C-4); 26.8 (Cp, 3C, C-9); 26.0 (Cs, 1C, C-3); 20.8 (Cs, 1C, C-5); 15.6 (Cp, 1C, C-8').

IR (NaCl, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3439, 2953, 1733, 1440, 1366, 1202.

MS (ESI-LCQ, m/z): 280 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

6-[1-(*tert*-Butyl-dimethyl-silanyloxy)-ethyl]-7-hydroxy-8,8-dimethyl-nonansäure-methylester (124)⁵⁸



123 (825 mg, 3.17 mmol) wurde in absolutem *N,N*-Dimethylformamid (10 ml) gelöst und mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (526 mg, 3.49 mmol, 1.1 eq.) sowie Imidazol (450 mg, 6.61 mmol, 2.1 eq.) bei Raumtemperatur unter Rühren versetzt. Nach 20 h wurde Wasser (50 ml) zugegeben und im Scheidetrichter mit Diethylether (3 x 30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Pentan:Diethylether 4:1) erhielt man **124** (1.02 g, 2.72 mmol, 86 %) als farbloses Öl.

$C_{20}H_{42}O_4Si$ (374.63).

berechnet: C 64.12, H 11.30

gefunden: C 64.28, H 11.20.

$R_f(\text{Diethylether:Pentan } 2:1) = 0.50$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

3.93-3.89, 3.46 (2m, 2H, H-7, H-7'); 3.65 (s, 3H, H-1'); 2.32-2.29 (m, 2H, H-2); 1.82, 1.66-1.58, 1.56-1.48, 1.47-1.39, 1.37-1.29, 1.25-1.16 (6m, 7H, H-3, H-4, H-5, H-6); 1.13 (d, $J=6.3$, 3H, H-8'); 0.89, 0.86 (2s, 18H, H-9, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$); 0.06, 0.04 (2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

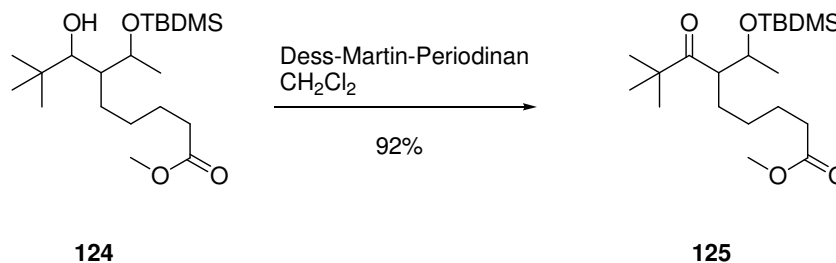
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

174.5 (Cq, 1C, C-1); 79.5 (Ct, 1C, C-7); 72.6 (Ct, 1C, C-7'); 51.8 (Cp, 1C, C-1'); 45.7 (Ct, 1C, C-6); 36.1 (Cq, 1C, C-8); 34.3 (Cs, 1C, C-2); 29.8 (Cs, 1C, C-4); 27.0, 26.3 (Cp, 6C, C-9, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$); 26.0 (Cs, 1C, C-3); 24.1 (Cs, 1C, C-5); 20.8 (Cp, 1C, C-8'); 18.4 (Cq, 1C, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$); -4.3, -3.9 (Cp, 2C, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

IR (NaCl, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3554, 2954, 2862, 1739, 1466, 1367, 1254, 1166, 1096, 1047, 1002.

MS (FAB, m/z): 375 ($\text{M}+\text{H}^+$, 7), 159 (53); 73 (100).

6-[1-(tert-Butyl-dimethyl-silyloxy)-ethyl]-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-methyl-ester (125)¹¹²



124 (970 mg, 2.59 mmol), gelöst in absolutem Dichlormethan (15 ml), wurde zu einer Lösung von 1,1,1-Triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-on (1.42 g, 3.33 mmol, 1.3 eq., Herstellung s. Anhang) in Dichlormethan (15 ml) während 5 min getropft. Nach 20 min Rühren bei Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch mit Diethylether (300 ml) verdünnt und im Scheidetrichter nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 10 %iger Natriumthiosulfatlösung (je 1x, 100 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Pentan: Diethylether 9:1) erhielt man **125** (884 mg, 2.37 mmol, 92 %) als blaßgelbes Öl.

$C_{20}H_{40}O_4Si$ (372.61).

berechnet: C 64.47, H 10.82
gefunden: C 64.58, H 10.72.

R_f (Pentan:Diethylether 4:1) = 0.25.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

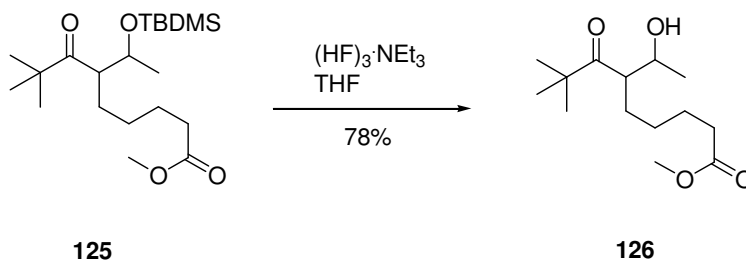
3.98-3.91, 3.01-2.97 (2m, 2H, H-6, H-7'); 3.64 (s, 3H, H-1'); 2.28-2.25 (m, 2H, H-2); 1.70-1.43, 1.28-1.20 (2m, 6H, H-3, H-4, H-5); 1.12 (s, 9H, H-9); 1.05 (d, $J=6.1$, 3H, H-8'); 0.87 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$); 0.04 (s, 6H, $Si(CH_3)_2$).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

218.0 (Cq, 1C, C-7); 174.5 (Cq, 1C, C-1); 70.3 (Ct, 1C, C-7'); 53.6 (Ct, 1C, C-6); 51.8 (Cp, 1C, C-1'); 45.0 (Cq, 1C, C-8); 34.3 (Cs, 1C, C-2); 30.1 (Cs, 1C, C-4); 27.2 (Cs, 1C, C-3); 27.1 (Cp, 3C, C-9); 26.3 (Cp, 3C, $SiC(CH_3)_3$); 25.7 (Cs, 1C, C-5); 22.8 (Cp, 1C, C-8'); 18.4 (Cq, 1C, $SiC(CH_3)_3$); -4.3, -3.9 (Cp, 2C, $Si(CH_3)_2$).

IR (NaCl, $\tilde{\nu}/cm^{-1}$): 2956, 2862, 1742, 1697, 1465, 1368, 1254, 1166, 1111, 1050, 992.

MS (FAB, m/z): 373 ($M+H^+$, 16), 315 (13); 159 (58); 57 (100).

6-(1-Hydroxyethyl)-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-methylester (126)⁶⁴

125 (845 mg, 2.27 mmol) wurde in Tetrahydrofuran (20 ml) gelöst und mit Triethylamin-tris-hydrofluorid (8.5 ml, 52 mmol, 23 eq.) bei Raumtemperatur gerührt. Nach 20 h wurde Wasser (100 ml) zugegeben und im Scheidetrichter mit Diethylether (3 x 30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Pentan:Diethylether 1:1) erhielt man **126** (455 mg, 1.76 mmol, 78 %) als farbloses Öl.

$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_4$ (258.35).

berechnet: C 65.08, H 10.14; O 24.77

gefunden: C 64.61, H 10.02, O 25.23.

$R_f(\text{Pentan:Diethylether } 2:1) = 0.10$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

3.89 (dq, $J_1=6.4$, $J_2=3.0$, 1H, H-7'); 3.64 (s, 3H, H-1''); 2.97-2.93 (m, 1H, H-6); 2.39 (s br, 1H, OH); 2.34-2.24 (m, 2H, H-2); 1.73-1.54 (m, 4H, H-3, H-5); 1.29-1.19 (m, 2H, H-4); 1.17 (d, $J=6.4$, 3H, H-8'); 1.14 (s, 9H, H-9).

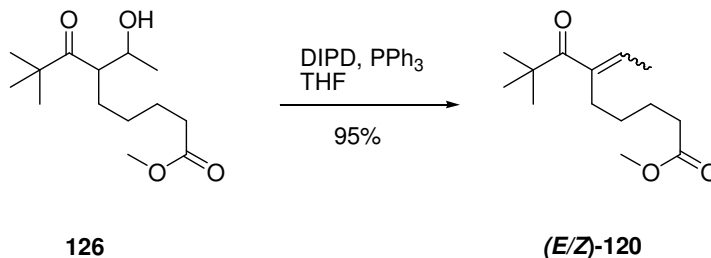
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

220.8 (Cq, 1C, C-7); 174.4 (Cq, 1C, C-1); 68.0 (Ct, 1C, C-7'); 53.6 (Ct, 1C, C-6); 51.9 (Cp, 1C, C-1''); 51.1 (Ct, 1C, C-6); 45.2 (Cq, 1C, C-8); 34.1 (Cs, 1C, C-2); 28.2 (Cs, 1C, C-4); 26.7 (Cp, 3C, C-9); 26.4 (Cs, 1C, C-3); 25.7 (Cs, 1C, C-5); 21.2 (Cp, 1C, C-8').

IR (NaCl, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3465, 2964, 1731, 1462, 1369, 1226, 1057, 997.

MS (FAB, m/z): 197 (M+K⁺, 17), 259 (M+H⁺, 21), 215 (14), 85 (42), 57 (100).

6-Ethyliden-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-methylester ((E/Z)-120)¹¹³



126 (226 mg, 0.85 mmol) und Triphenylphosphin (697 mg, 2.66 mmol, 3.1 eq.) wurden in absolutem Tetrahydrofuran (15 ml) gelöst und mit Di-iso-propylazodicarboxylat (520 μ l, 2.55 mmol, 3.0 eq.) unter Rühren bei Raumtemperatur versetzt. Die gelbe Reaktionslösung wurde anschließend 2h auf 60° C erwärmt. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das zurückbleibende rote Öl direkt chromatographisch gereinigt (Merck, Pentan:Diethylether 20:1 \rightarrow 9:1). Man erhielt **(E/Z)-120** (195 mg, 0.81 mmol, 95 %) als hellgelbes Öl.

C₁₄H₂₄O₃ (240.34).

berechnet.: C 69.96, H 10.07; O 19.97

gefunden: C 69.79, H 9.97, O 19.84.

R_f(Pentan:Diethylether 1:1) = 0.55.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

6.20 (q, J=6.9, 1H, H-7 \prime); 3.63 (s, 3H, H-1 \prime); 2.30-2.24 (m, 4H, H-2, H-5); 1.75 (d, J=6.9, 3H, H-8 \prime); 1.64-1.57, 1.36-1.25 (2m, 4H, H-3, H-4); 1.20 (s, 9H, H-9).

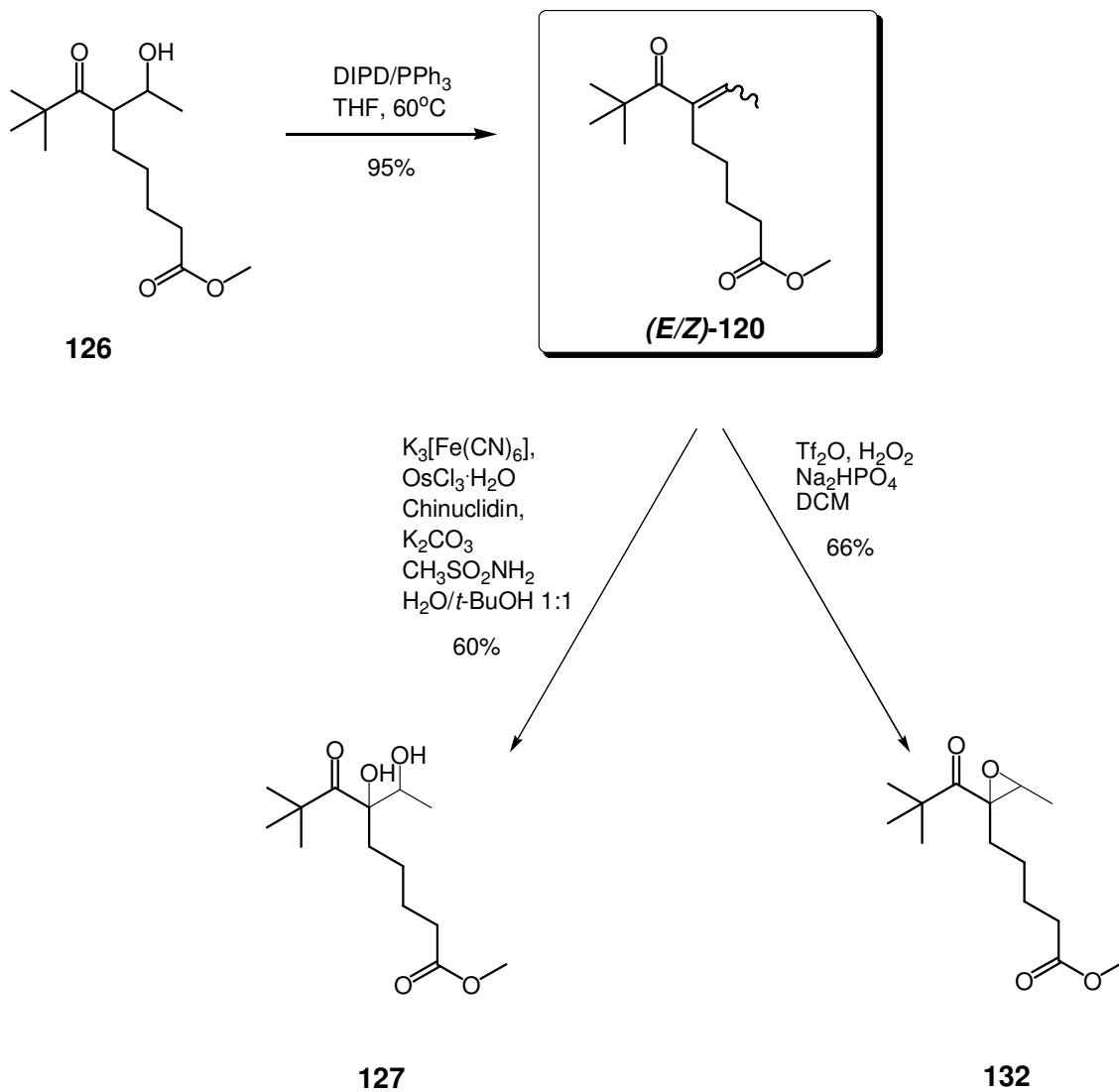
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

211.0 (C_q, 1C, C-7); 174.4 (C_q, 1C, C-1); 141.7 (C_q, 1C, C-6); 131.1 (C_t, 1C, C-7 \prime); 51.8 (C_p, 1C, C-1 \prime); 44.2 (C_q, 1C, C-8); 34.2 (C_s, 1C, C-2); 28.7 (C_p, 3C, C-9); 28.7, 27.8, 25.3 (C_s, 3C, C-3, C-4, C-5); 14.2 (C_p, 1C, C-8 \prime).

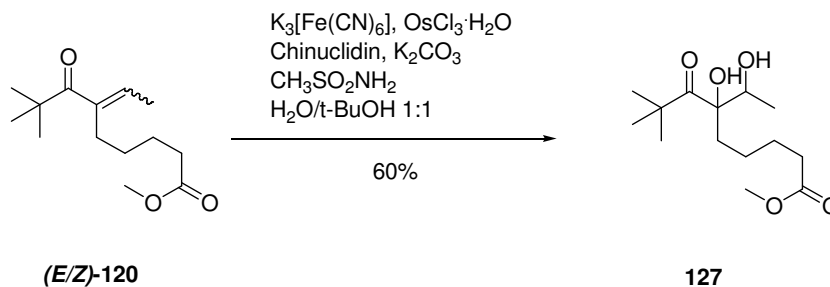
IR (NaCl, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 2953, 1740, 1661, 1440, 1365, 1196, 1077.

MS (ESI-LCQ, m/z): 263 ($M+\text{Na}^+$, 100).

21.1.2 Funktionalisierung des modifizierten Photolinkers



Schema 63: Funktionalisierung des Linkers als Diol **127** und Epoxid **132**.

6-Hydroxy-6-(1-hydroxyethyl)-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-methylester (127)¹¹⁴

(E/Z)-120 (109 mg, 0.45 mmol) wurde in einem *tert*-Butanol-Wasser-Gemisch (1:1, 26 ml) bei Raumtemperatur nacheinander mit Kaliumhexacyanoferrat-(III) (420 mg, 1.28 mmol, 2.8 eq.), Kaliumcarbonat (175 mg, 1.27 mg, 2.8 eq.), Osmium(III)-chlorid-Monohydrat (2.3 mg, 7 μmol , 0.02 eq.), Methansulfonamid (48 mg, 0.50 mmol, 1.1 eq.) und Chinuclidin (2.7 mg, 24 μmol , 0.05 eq.) versetzt und während 24h gerührt. Der hellgrünen Reaktionslösung wurde anschließend Natriumthiosulfatlösung (10 %, 100 ml) zugesetzt und es wurde im Scheidetrichter mit Diethylether (3 x 30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Pentan:Diethylether 1:1 \rightarrow 0:1) erhielt man **127** (75 mg, 0.27 mmol, 60 %) als farbloses Öl.

$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_5$ (274.35).

berechnet: C 61.29, H 9.55; O 29.16

gefunden.: C 60.67, H 9.60, O 30.26.

R_f (Pentan:Diethylether 1:1) = 0.25.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ /ppm):

4.18 (m, 1H, H-7'); 4.07 (s, 1H, OH); 3.64 (s, 3H, H-1''); 2.22-2.33 (m, 2H, H-2); 2.11 (bd, 1H, OH an C-7''); 1.78 (ddd, $J=14.0, 12.5, 4.4$, 1H, H-5_a); 1.57 (m, 1H, H-5_b); 1.55-1.57 (m, 2H, H-3); 1.30-1.41 (m, 1H, H-4_a); 1.27 (s, 9H, H-9); 1.21 (d, $J=6.3$, 3H, H-8''); 0.86-0.98 (m, 1H, H-4_b).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , δ /ppm):

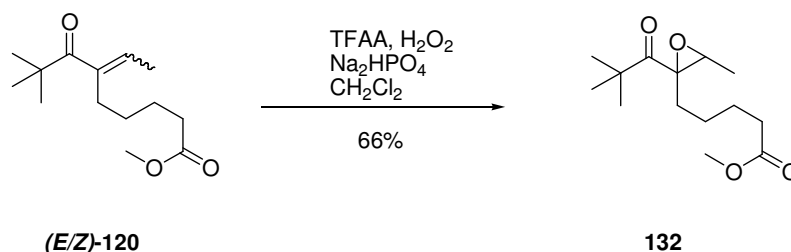
219.0 (Cq, 1C, C-7); 173.8 (Cq, 1C, C-1); 85.9 (Cq, 1C, C-6); 70.1 (Cs, 1C, C-7'); 51.5 (Cp, 1C, C-1'); 44.2 (Cq, 1C, C-8); 35.2 (Cs, 1C, C-2); 33.7 (Cp, 1C, C-5); 28.1 (CP, 3C, C-9); 25.1, 23.4 (Cs, 2C, C-3, C-4); 17.7 (Cp, 1C, C-8').

IR (NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3494, 2953, 1735, 1687, 1443, 1366, 1173, 1119, 1006, 924.

UV/VIS (CH_3CN , λ/nm) : 284.

MS FAB, m/z): 275 ($\text{M}+\text{H}^+$, 16); 313 ($\text{M}+\text{K}^+$, 9); 57 (100).

5-[2-(2,2-Dimethyl-propionyl)-3-methyl-oxiranyl]-pentansäure-methylester (**132**)¹¹⁶



Trifluoressigsäureanhydrid (840 μl , 6.00 mmol, 4.4 eq.), verdünnt mit absolutem Dichlormethan, wurde bei 0°C unter Rühren mit Wasserstoffperoxid (140 μl , 87 %, ProPulse[®]) versetzt. Die so hergestellte Trifluorperessigsäurelösung wurde in eine Spritze mit Teflonnadel aufgezogen.

(E/Z)-120 (330 mg, 1.37 mmol) und *di*-Natriumhydrogenphosphat (wasserfrei, 680 mg, 5.15 mmol, 3.8 eq.) wurden in absolutem Dichlormethan (10 ml) unter Rückfluß während 5 min mit der Trifluorperessigsäure-Lösung versetzt und anschließend noch weitere 1.5h zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (30 ml) ausgeschüttelt und die organische Phase nacheinander mit gesättigter Eisen(II)-sulfatlösung (20 ml) und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (20 ml) extrahiert und anschließend über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das zurückbleibende gelbe Öl chromatographisch gereinigt (Merck, Pentan:Diethylether 4:1). Man erhielt **132** (230 mg, 0.90 mmol, 66 %) als farbloses Öl.

$C_{14}H_{24}O_4$ (256.34).

berechnet: C 65.60, H 9.44; O 24.97

gefunden: C 65.55, H 9.38, O 24.72.

R_f (Pentan:Diethylether 3:1) = 0.30.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

3.65 (s, 3H, H-1'); 2.98 (q, $J=5.5$, 1H, H-7'); 2.31-2.27 (m, 2H, H-2); 2.16-2.09 (m, 1H, H-5_a); 1.67-1.59, 1.53-1.45, 1.42-1.27 (3m, 5H, H-3, H-4, H-5_b); 1.32 (d, $J=5.5$, 3H, H-8'); 1.15 (s, 9H, H-9).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

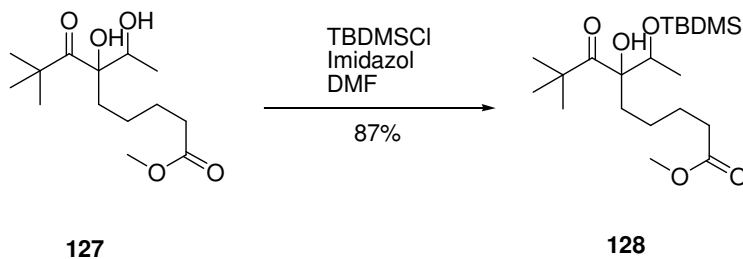
214.0 (C_q, 1C, C-7); 173.8 (C_q, 1C, C-1); 68.3 (C_q, 1C, C-6); 57.1 (C_t, 1C, C-7'); 51.5 (C_p, 1C, C-1'); 44.3 (C_q, 1C, C-8); 33.8 (C_s, 1C, C-2); 29.4 (C_s, 1C, C-5); 26.0 (C_p, 3C, C-9); 25.1, 25.0 (C_s, 2C, C-3, C-4); 13.6 (C_p, 1C, C-8').

IR (NaCl, $\bar{\nu}/cm^{-1}$): 2959, 1740, 1695, 1439, 1364, 1198, 1076, 1003.

MS (ESI-LCQ, m/z): 279 (M+Na⁺, 100).

21.1.3 Benzylamidmodell des modifizierten Diollinkers (131)

6-[1-(tert-Butyl-dimethyl-silanyloxy)-ethyl]-6-hydroxy-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-methylester (128)⁵⁸



127 (2.16 g, 7.87 mmol) wurde in absolutem *N,N*-Dimethylformamid (25 ml) gelöst und mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (1.30 g, 17.9 mmol, 2.2 eq.) sowie Imidazol (1.22 g, 35.8 mmol, 4.6 eq.) bei Raumtemperatur unter Rühren versetzt. Nach 3 d wurde Wasser (150 ml) zugegeben und im Scheidetrichter mit Diethylether (3 x 50 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Pentan:Diethylether 6:1) erhielt man **128** (2.65 g, 6.82 mmol, 87 %) als hellgelbes Öl.

$C_{20}H_{40}O_5Si$ (388.61).

berechnet: C 61.81, H 10.38

gefunden: C 61.83, H 10.38.

R_f (Diethylether:Pentan 1:1) = 0.70.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

4.25 (q, $J=6.3$, 1H, H-7'); 3.64 (s, 3H, H-1'); 3.17 (br s, 1H, OH), 2.27 (t, $J=7.4$, 2H, H-2); 1.69-1.51, 1.33-1.18, 1.12-1.01 (3m, 6H, H-3, H-4, H-5_a, H-5_b); 1.23 (s, 9H, H-9); 1.07 (d, $J=6.3$, 3H, H-8'); 0.86 (s, 9H, SiC(CH₃)₃); 0.08, 0.00 (2s, 6H, Si(CH₃)₂).

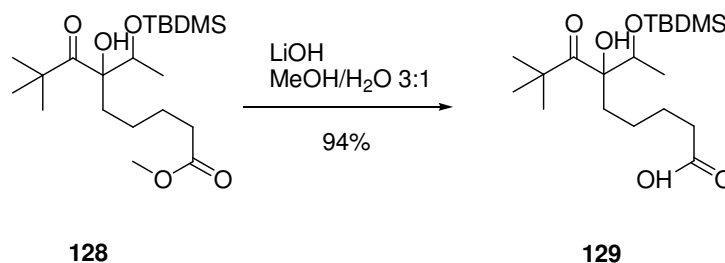
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

217.0 (Cq, 1C, C-7); 174.0 (Cq, 1C, C-1); 86.5 (Cq, 1C, C-6); 71.4 (Ct, 1C, C-7'); 51.5 (Cp, 1C, C-1'); 45.1 (Cq, 1C, C-8); 34.8, 33.8 (Cs, 2C, C-2, C-5); 27.1 (Cp, 3C, C-9); 25.8 (Cp, 3C, SiC(CH₃)₃); 25.4, 23.0 (Cs, 2C, C-3, C-4); 17.9 (Cq, 1C, SiC(CH₃)₃); 17.1 (Cp, 1C, C-8'); -4.5, (Cp, 2C, Si(CH₃)₂).

IR (NaCl, $\tilde{\nu}/cm^{-1}$): 3537. 2954. 1741. 1693. 1464. 1364. 1254. 1171. 1087. 1009. 965.

MS (ESI-LCQ, m/z): 411 ($M+Na^+$, 100)

6-[1-(tert-Butyl-dimethyl-silyloxy)-ethyl]-6-hydroxy-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure (129).⁵⁹



128 (1.28 g, 3.29 mmol) wurde in einem Methanol-Wasser-Gemisch (3:1, 16 ml) mit Lithiumhydroxid-Monohydrat (0.41 g, 9.77 mmol, 3.0 eq.) versetzt und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die farblose Reaktionslösung wurde mit gesättigter Ammoniumchloridlösung (100 ml) angesäuert und im Scheidetrichter mit Diethylether (3 x 50 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Pentan:Diethylether 2:1→0:1) erhielt man **129** (1.16 g, 3.10 mmol, 94 %) als farbloses zähes Öl.

$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_5\text{Si}$ (374.59).

berechnet: C 60.92, H 10.23

gefunden: C 61.01, H 9.98.

$R_f(\text{Diethylether}:\text{Pentan 1:1}) = 0.30$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

4.25 (q, $J=6.3$, 1H, H-7 \prime); 3.19 (br s, 1H, OH), 2.23 (m, 2H, H-2); 1.68-1.42, 1.22-1.19, 1.15-1.05 (3m, 6H, H-3, H-4, H-5_a, H-5_b); 1.23 (s, 9H, H-9); 1.07 (d, $J=6.3$, 3H, H-8 \prime); 0.86 (s, 9H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3)_3$); 0.08, 0.01 (2s, 6H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3)_2$).

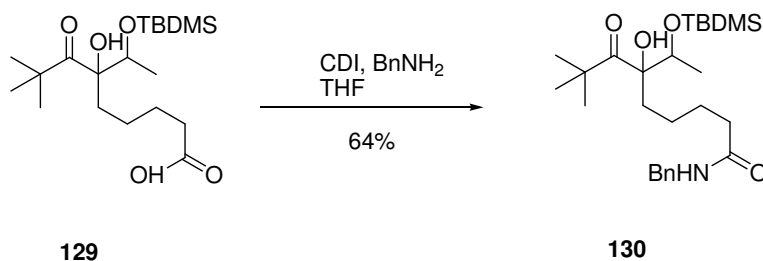
^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

217.4 (Cq, 1C, C-7); 176.1 (Cq, 1C, C-1); 86.6 (Cq, 1C, C-6); 71.5 (Ct, 1C, C-7'); 45.0 (Cq, 1C, C-8); 35.0 (Cs, 2C, C-2, C-5); 27.2 (Cp, 3C, C-9); 25.8 (Cp, 3C, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 25.6, 23.1 (Cs, 2C, C-3, C-4); 17.9 (Cq, 1C, $\text{Si}\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$); 17.1 (Cp, 1C, C-8'); -4.4, -4.5, (Cp, 2C, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$).

IR (NaCl, $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3510, 2955, 1710, 1465, 1256, 1086, 964, 834.

MS (ESI-LCQ, m/z): 373 (M-H, 100).

6-[1-(tert-Butyl-dimethyl-silanyloxy)-ethyl]-6-hydroxy-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-benzylamid (130)¹¹⁵



1,1'-Carbonyldiimidazol (0.86 g, 5.30 mmol, 1.5 eq.) wurden in Tetrahydrofuran (10 ml) suspendiert und mit einer Lösung von **129** (1.33 g, 3.55 mmol) in Tetrahydrofuran (20 ml) bei Raumtemperatur versetzt und 30 min. gerührt. Dieser Lösung wurde Benzylamin (470 μl , 4.29 mmol, 1.2 eq.) zuge tropft und man rührte weitere 18 h. Die Reaktionslösung wurde mit Zitronensäure (10 % in Wasser, 50 ml) angesäuert und im Scheidetrichter mit Diethylether (3 x 30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Pentan:Diethylether:Essigsäure 200:100:1 \rightarrow 100:100:1) erhielt man **130** (1.05 g, 2.26 mmol, 64 %) als hellgelben Feststoff.

$\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_4\text{Si}$ (463.73).

$R_f(\text{Diethylether}:\text{Pentan}:\text{Essigsäure } 200:100:1) = 0.38$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

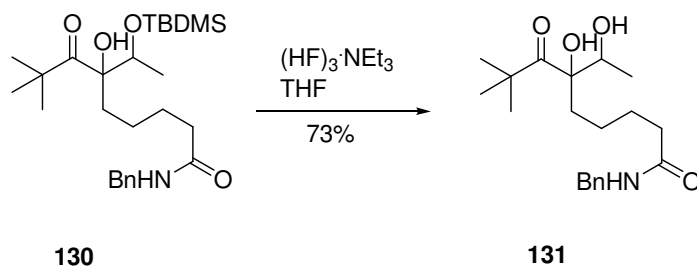
7.34-7.25 (m, 5H, arom. H); 5.74 (br s, 1H, CONH); 4.42 (d, $J=5.5$, 2 H, H-1'); 4.24 (q, $J=6.3$, 1H, H-7'); 3.15 (br s, 1H, OH); 2.20-2.16 (m, 2H, H-2); 1.72-1.51, 1.39-1.25, 1.13-1.02 (m, 6H, H-3, H-4, H-5_a, H-5_b); 1.23 (s, 9H, H-9); 1.07 (d, $J=6.3$, 3H, H-8'); 0.86 (s, 9H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 0.08, 0.00 (2s, 6H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

217.4 (Cq, 1C, C-7); 172.6 (Cq, 1C, C-1); 138.3 (Cq, 1C, arom., *ipso*); 128.7, 127.8, 127.5 (Ct, 5C, arom.); 86.6 (Cq, 1C, C-6); 71.4 (Ct, 1C, C-7'); 45.1 (Cq, 1C, C-8); 43.6 (Cs, 1C, C-1'); 36.5, 34.7 (Cs, 2C, C-2, C-5); 27.1 (Cp, 3C, C-9); 26.2, 23.2 (Cs, 2C, C-3, C-4); 25.8 (Cp, 3C, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 17.9 (Cq, 1C, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 17.1 (Cp, 1C, C-8'); -4.5, (Cp, 2C, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$).

MS (ESI-LCQ, m/z): 486 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

6-Hydroxy-6-(1-hydroxyethyl)-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-benzylamid (**131**)⁶⁴



130 (496 mg, 1.07 mmol) wurde in Tetrahydrofuran (6 ml) gelöst und mit Triethylamin-tris-hydrofluorid (2.00 ml, 12.3 mmol, 11.5 eq.) bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4 d wurde Diethylether (20 ml) und Kieselsäure (0.5 g) zugesetzt und im Scheidetrichter mit Wasser (3 x 20 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Ethylacetat:Hexan 4:1) erhielt man **131** (273 mg, 0.73 mmol, 73 %) als farblosen Feststoff.

$C_{20}H_{31}NO_4$ (349.46).

berechnet: C 68.74, H 8.94, N 4.01, O 18.31
gefunden: C 68.78, H 8.98, N 4.03, O 18.11.

$R_f(\text{Diethylether}) = 0.13$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

7.36-7.25 (m, 5H, arom. H); 5.80 (br s, 1H, CONH); 4.41 (d, $J=5.6$, 2 H, H-1'); 4.14 (q, $J=6.3$, 1H, H-7'); 4.08 (br s, 1H, OH); 2.25-2.13, 1.84-1.77, 1.71-1.57, 1.43-1.31, 1.07-0.92 (m, 9H, H-2, H-3, H-4, H-5_a, H-5_b, OH); 1.27 (s, 9H, H-9); 1.20 (d, $J=6.3$, 3H, H-8');

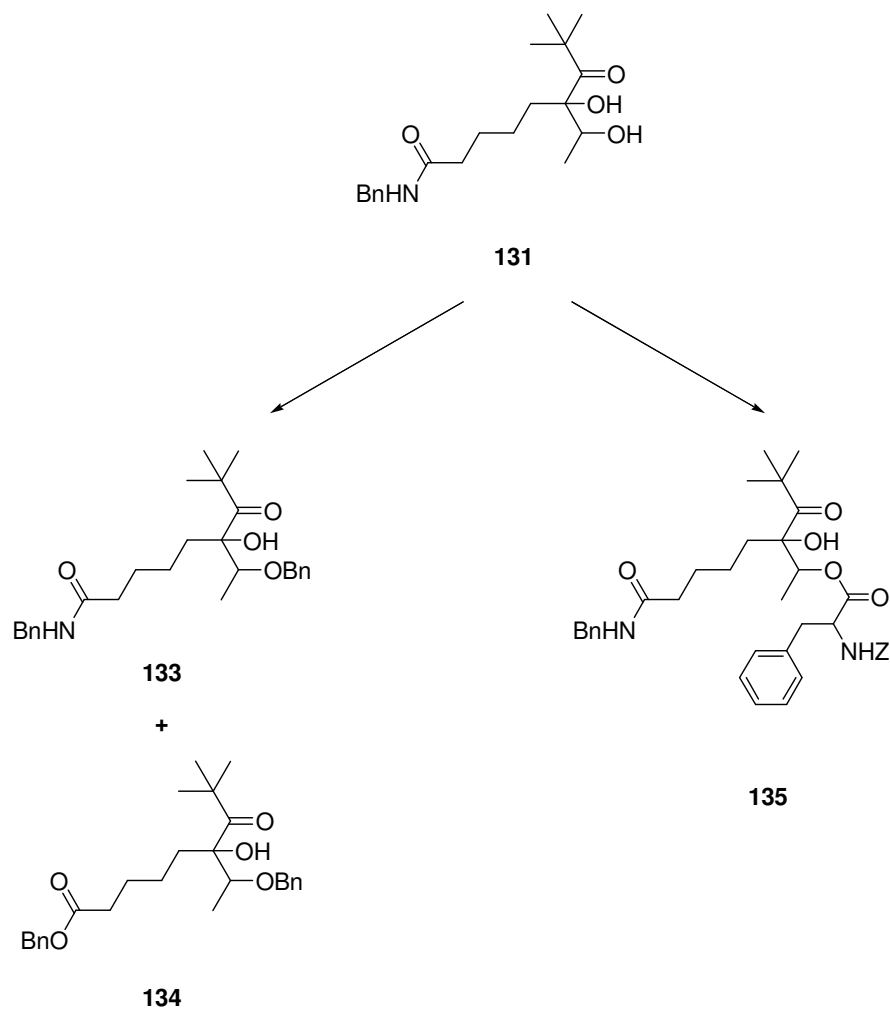
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

218.9 (Cq, 1C, C-7); 172.4 (Cq, 1C, C-1); 138.2 (Cq, 1C, arom., *ipso*); 128.7, 127.8, 127.6 (Ct, 5C, arom.); 85.9 (Cq, 1C, C-6); 70.3 (Ct, 1C, C-7'); 44.3 (Cq, 1C, C-8); 43.6 (Cs, 1C, C-1'); 36.2, 35.1 (Cs, 2C, C-2, C-5); 28.0 (Cp, 3C, C-9); 25.7, 23.4 (Cs, 2C, C-3, C-4); 17.7 (Cp, 1C, C-8').

IR (KBr, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3394, 3321, 3010, 2947, 2869, 1680, 1643, 1551, 1461, 1242, 1180, 1117, 932.

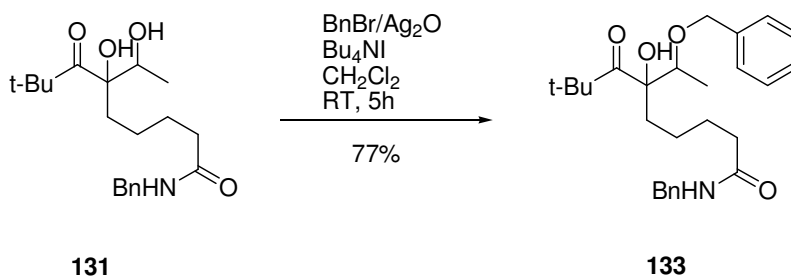
MS (ESI-LCQ, m/z): 721 ($2M+\text{Na}^+$, 100), 372 ($M+\text{Na}^+$, 23).

21.1.4 Synthese der Photolysesubstrate



Schema 64: Synthese der Photolysesubstrate **133**, **134** und **135**.

6-(1-Benzyloxyethyl)-6-hydroxy-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-benzylamid (133**)¹¹⁸**



131 (47 mg, 0.13 mmol) wurde in absolutem Dichlormethan (1.0 ml) gelöst und nacheinander mit frisch gefälltem Silberoxid (63 mg, 0.27 mmol, 2.0 eq.),¹¹⁷ Benzylbromid (60 µl, 0.51 mmol, 3.8 eq.) und Tetrabutylammoniumiodid (5.5 mg, 16 µmol, 0.1 eq.) versetzt. Nach 5 h Rühren bei Raumtemperatur wurde Wasser (10 ml) zugegeben und im Scheidetrichter mit Wasser (3 x 10 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Toluol:Aceton 10:1) erhielt man **133** (45 mg, 0.10 mmol, 77 %) als gelbes Öl.

$C_{27}H_{37}NO_4$ (439.60).

R_f (Toluol:Aceton 10:1) = 0.13.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

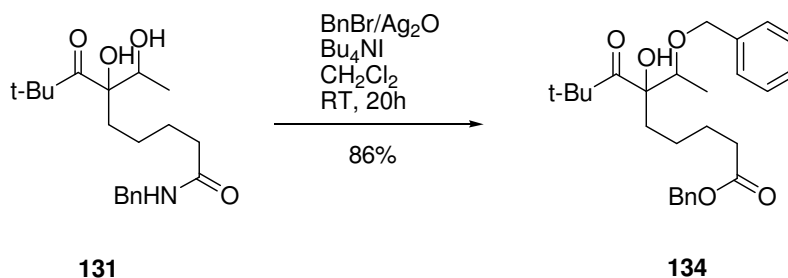
7.36-7.23 (m, 10H, arom. H); 5.83 (br s, 1H, CONH); 4.56 (d, $J=11.3$, 1H, H-9_a); 4.41 (d, $J=5.7$, 2 H, H-1'); 4.32 (d, $J=11.3$, 1H, H-9_b); 3.97 (q, $J=6.3$, 1H, H-7); 3.22 (br s, 1H, OH); 2.20-2.14, 1.77-1.51, 1.44-1.32, 1.10-1.01 (4m, 8H, H-2, H-3, H-4, H-5_a, H-5_b); 1.19 (s, 9H, H-9); 1.15 (d, $J=6.3$, 3H, H-8).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

218.0 (Cq, 1C, C-7); 172.6 (Cq, 1C, C-1); 138.3, 137.8 (Cq, 2C, arom., *ipso*); 128.6, 128.4, 128.3, 127.9, 127.8, 127.7, 127.4 (Ct, 10C, arom.); 86.7 (Cq, 1C, C-6); 78.4 (Ct, 1C, C-7); 71.1 (Cs, 1C, C-9); 44.9 (Cq, 1C, C-8); 43.5 (Cs, 1C, C-1'); 36.4, 35.2 (Cs, 2C, C-2, C-5); 27.3 (Cp, 3C, C-9); 26.0, 23.3 (Cs, 2C, C-3, C-4); 12.6 (Cp, 1C, C-8).

IR (NaCl, $\bar{\nu}/cm^{-1}$): 3302, 3025, 2956, 1650, 1544, 1455, 1364, 1088, 740, 698.

MS (ESI-LCQ, m/z): 462 (M+Na⁺, 100).

6-(1-Benzyloxyethyl)-6-hydroxy-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäure-benzylester (134)¹¹⁸

131 (100 mg, 0.29 mmol) wurde in absolutem Dichlormethan (2 ml) gelöst und nacheinander mit frisch gefälltem Silberoxid (151 mg, 0.65 mmol, 2.3 eq.),¹¹⁷ Benzylbromid (150 μl , 1.26 mmol, 4.4 eq.) und Tetrabutylammoniumiodid (17 mg, 46 μmol , 0.2 eq.) versetzt. Nach 20 h Rühren bei Raumtemperatur wurde Wasser (20 ml) zugegeben und im Scheidetrichter mit Wasser (3 x 20 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Toluol:Aceton 10:1) erhielt man **134** (110 mg, 0.25 mmol, 86 %) als farbloses Öl.

$\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_5$ (440.57).

berechnet: C 73.61, H 8.24, O 18.16

gefunden: C 73.45, H 8.13, O 18.20.

$R_f(\text{Pentan:Diethylether}) = 0.38$.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

7.38-7.24 (m, 10H, arom. H); 5.01 (s, 2H, PhCH_2OCO); 4.56 (d, $J=11.6$, 1H, H-9_a); 4.33 (d, $J=11.6$, 1H, H-9_b); 3.98 (q, $J=6.0$, 1H, H-7); 3.20 (br s, 1H, OH); 2.35-2.31, 1.75-1.50, 1.43-1.32, 1.11-1.00 (4m, 8H, H-2, H-3, H-4, H-5_a, H-5_b); 1.19 (s, 9H, H-9); 1.15 (d, $J=6.0$, 3H, H-8).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

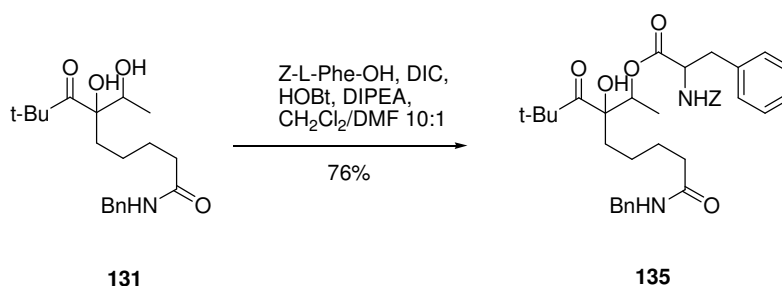
217.9 (Cq, 1C, C-7); 173.3 (Cq, 1C, C-1); 137.8, 136.0 (Cq, 2C, arom., *ipso*); 128.5, 128.3, 128.2, 128.0, 127.7 (Ct, 10C, arom.);

86.7 (Cq, 1C, C-6); 78.3 (Ct, 1C, C-7'); 71.2, 66.1 (Cs, 2C, C-9', PhCH₂OCO); 44.9 (Cq, 1C, C-8); 43.5 (Cs, 1C, C-1''); 35.2, 34.1 (Cs, 2C, C-2, C-5); 27.3 (Cp, 3C, C-9); 25.3, 23.2 (Cs, 2C, C-3, C-4); 12.6 (Cp, 1C, C-8').

IR (NaCl, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3529, 3032, 2958, 1735, 1691, 1456, 1381, 1164, 1088, 1002, 742, 698.

MS (ESI-LCQ, m/z): 463 (M+Na⁺, 100).

2-Benzyloxycarbonylamino-3-phenyl-propansäure-6-benzylcarbamoyl-2-(2,2-dimethylpropionyl)-2-hydroxy-1-methylhexylester (135).



131 (35 mg, 0.10 mmol) wurde mit Z-L-Phenylalanin (64 mg, 0.21 mmol, 2.1 eq.), Diisopropylcarbodiimid (50 μl , 0.32 mmol, 3.2 eq.), 1-Hydroxybenzotriazol (58 mg, 0.43 mmol, 4.3 eq.) und Diisopropylethylamin (30 μl , 0.18 mmol, 1.8 eq.) in Dimethylformamid-Dichlormethan (10:1, 1.0 ml) 48h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (10 ml) versetzt und mit Diethylether (3x10 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde nacheinander mit Salzsäure (1N, 5 ml), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (5 ml) und Wasser (10 ml) ausgeschüttelt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Toluol:Aceton 10:1→5:1) erhielt man **135** (84 mg, 0.11 mmol, 76 %) als gelbes Öl.

C₃₇H₄₆N₂O₇ (630.77).

R_f(Toluol:Aceton 3:1) = 0.38.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

7.37-7.06 (m, 15H, arom. H); 5.37-5.16, 5.11-5.00, 4.57-4.44 (3m, 4H, PhCH_2OCO , BnCH); 4.41, 4.40 (2s, 2H, PhCH_2NH); 3.11-2.97 (m, 2H, PhCH_2CH); 2.16 (t-artiges m, $J=7.2$, 2H, H-2); 1.89-1.76, 1.65-1.45, 1.38-1.34 (3m, 5H, H-3, H-4, H-5a); 1.23 u. 1.19 (2s, 9H, H-9, Rotamere); 1.17-1.11 (m, 3H, H-8'); 1.07-0.95 (m, 1H, H-5b).

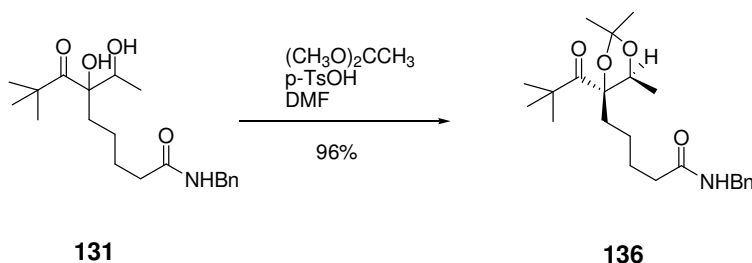
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm): *Doppelsignale durch überlagerte Rotamere sind mit "u." bezeichnet*: 216.0 u. 215.8 (Cq, 1C, C-7); 172.5 u. 172.4, 170.7 u. 170.6 (Cq, 2C, C-1, CHCO_2); 155.9 u. 155.6 (Cq, 1C, OCONH); 138.2, 136.0, 135.7, 135.5, 129.3, 129.2, 129.0, 128.7, 128.6, 128.5, 128.2, 128.1, 127.7, 127.5, 127.3, 127.2 (18C, arom. C); 85.2 u. 85.2 (Ct, 1C, C-6); 75.6 u. 75.3 (Ct, 1C, C-7'); 67.1 (Cs, 1C, $\text{PhCH}_2\text{OCONH}$); 55.1 u. 55.0 (Cs, 1C, BnCH_2); 45.0 u. 44.8 (Cq, 1C, C-8); 43.6, 38.1 u. 37.7, 36.2 u. 36.1, 34.5 u. 34.4, 25.7, 23.2 u. 23.1 (Cs, 6C, C-2, C-3, C-4, C-5, PhCH_2CH , PhCH_2NH); 27.5 u. 27.4 (Cp, 3C, C-9); 14.1 u. 13.8 (Cp, 1C, C-8').

IR (NaCl, $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3331, 2956, 1698, 1534, 1454, 1257, 1057, 736, 699.

MS (FAB, m/z): 631 ($\text{M}+\text{H}^+$, 5).

21.1.5 Synthese des Acetonids **136** zur Bestimmung der relativen Stereochemie

5-[4-(2,2-Dimethyl-propionyl)-2,2,5-trimethyl-[1,3]dioxolan-4-yl]-pentansäurebenzylamid (**136**)¹¹⁹



6-Hydroxy-6-(1-hydroxyethyl)-8,8-dimethyl-7-oxo-nonansäurebenzylamid (**131**) (16 mg, 46 μmol) wurde in Dimethylformamid (0.5 ml) gelöst und mit Acetondimethylacetal (50 μl , 0.41

mmol, 9.5 eq.) und Toluol-4-sulfonsäure-Monohydrat (6 mg, 32 μmol , 0.7 eq.) 1h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (10 ml) versetzt und mit Diethylether (3x5 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Ohne weitere Reinigung erhielt man 5-[4-(2,2-Dimethyl-propionyl)-2,2,5-trimethyl-[1,3]dioxolan-4-yl]-pentansäurebenzylamid (**136**) (17mg, 44 μmol , 96 %) als farbloses Öl. Die Zuordnung der Konfiguration der Verbindung **136** erfolgte mit Hilfe von NOEDIF, ^1H -COSY- und ^1H - ^{13}C -HMBC-Messungen.¹²⁰

$\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{NO}_4$ (389.53).

$R_f(\text{Diethylether}) = 0.38$.

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

7.34-7.25 (m, 5H, arom. H); 5.73 (br s, 1H, NHCO); 4.42 (d, $J=5.7$, 2H, Benzyl); 3.96 (q, $J=6.3$, 1H, H-7'); 2.19 (t, $J=7.6$, 2H, H-2); 1.95-1.87 (m, 1H, H-5_a); 1.71-1.58 (m, 2H, H-3); 1.53-1.46 (m, 2H, H-4_a, H-5_b); 1.44, 1.42 (2s, 6H, Methyliden- CH_3); 1.28 (d, $J=6.3$, 3H, H-8'); 1.22 (s, 9H, H-9); 1.08-0.97 (m, 1H, H-4b).

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

216.0 (Cq, 1C, C-7); 172.5 (Cq, 1C, C-1); 138.3 (Cq, 1C, arom. C); 127.7, 127.8, 127.8 (Ct, 5C, arom. C); 108.2 (Cq, 1C, Methyliden); 92.2 (Cq, 1C, C-6); 76.5 (Ct, 1C, C-7'); 45.3 (Cq, 1C, C-8); 43.6 (Cs, 1C, Benzyl); 36.5 (Cs, 1C, C-2); 33.2 (Cs, 1C, C-5); 26.1 (Cs, 1C, C-3); 23.7 (Cs, 1C, C-3); 27.0, 26.6 (Cp, 2C, Methyliden- CH_3); 26.5 (Cp, 3C, C-9); 13.8 (Cp, 1C, C-8').

21.2 Photolysen

21.2.1 Allgemeine Photolysevorschrift (APV)

Belichtung der *t*-Butylketone in Lösung

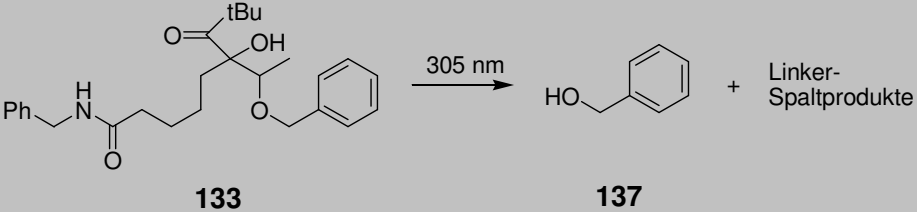
Die Photolyseprodukte (5-10 mg) werden in sauerstofffreien Lösemitteln in einer Quarzglasküvette (3.0 ml) unter Argonatmosphäre und Rühren belichtet. Die Proben werden unter Verwendung von Kantenfiltern mit Lichtquelle 1 bei 5°C belichtet, sofern nicht anders angegeben.

Definierte Volumina der Photolysenlösungen werden mit der Lösung des Standards (Phenylethanol) versetzt und mittels RP-HPLC analysiert. Der qualitative Nachweis der Produkte erfolgt durch Koinjektion authentischer Verbindungen oder ESI-Massenspektrometrie. Die absoluten Ausbeuten in Prozenten werden mit Hilfe käuflicher oder unabhängig synthetisierter Referenzverbindungen und der ermittelten Flächenfaktoren bezüglich des Standards bestimmt.

21.2.2 Photolyse des Benzylethers 133 unter verschiedenen Bedingungen

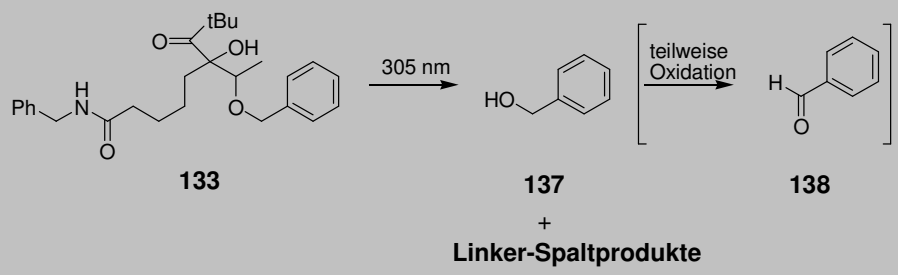
Photolyse des Benzylethers 133 in verschiedenen Lösemitteln *ohne* Säurezusatz

Tabelle 48: Photolytische Freisetzungen von Benzylalkohol (137) aus 133 in neutralen Lösemitteln.

			
Lösemittel	Wellenlänge	Photolysendauer	Ausbeute 137
Dichlormethan	305 nm	30 min	64 %
Chloroform	305 nm	30 min	65 %
Benzol	305 nm	60 min	26 %
Methanol	305 nm	60 min	7 %
DMSO	305 nm	60 min	3 %

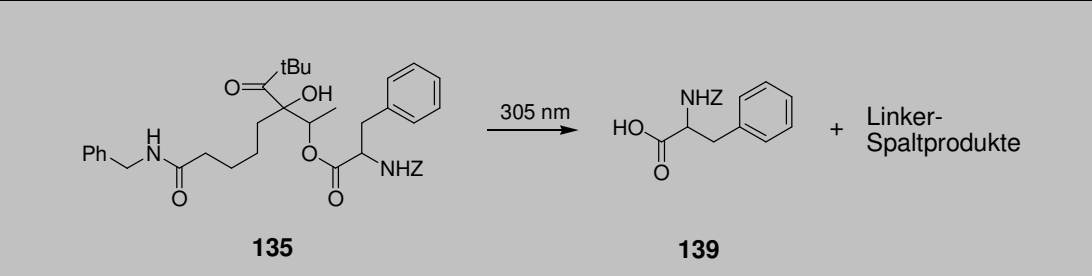
Photolyse des Benzylethers **133** in verschiedenen Lösemitteln *mit Säurezusatz*

Tabelle 49: Gegenüberstellung der photolytische Freisetzung von Benzylalkohol (**137**) aus **133** in neutralen Lösemitteln und in Gegenwart von Chlorwasserstoff.

				
Lösemittel (Zusatz)	Wellenlänge	Photolyse- dauer	Ausbeute 137	Ausbeute 138
Dichlormethan (neutral)	305 nm	5 min	36 %	1 %
		10 min	54 %	< 2 %
		15 min	58 %	< 2 %
		20 min	64 %	2 %
		30 min	64 %	2 %
Dichlormethan (2 eq. HCl)	305 nm	0 min	5 %	n. n.
		1 min	17 %	< 1 %
		2 min	35 %	2 %
		3 min	45 %	2 %
		4 min	51 %	2 %
		5 min	53 %	4 %
		10 min	72 %	6 %
		20 min	76 %	4 %
		30 min	82 %	7 %
		40 min	76 %	10 %
Methanol (neutral)	305 nm	60 min	7 %	< 1 %
		60 min	72 %	2 %
Methanol (2eq. HCl)	305 nm	30 min	66 %	2 %
	305 nm	60 min	72 %	2 %

21.2.3 Photolyse des Z-Phenylalaninesters 135

Tabelle 50: Photolytische Freisetzung von Z-Phenylalanin (**139**) aus **135**.

			
Lösemittel	Wellenlänge	Photolysendauer	Ausbeute 139 (RP-HPLC)
Dichlormethan	305 nm	5 min	5 %
		10 min	17 %
		15 min	29 %
		30 min	56 %
		50 min	64 % viele Nebenprodukte!
		60 min	63 %

21.2.4 Vergleichende Photolyse der Linker-Benzylether 133 und 136

Die Benzylether **133** und **136** wurden in Dichlormethan nach APV belichtet. Beide Belichtungsreihen und RP-HPLC-Analysen wurden nebeneinander ohne Unterbrechung bei identischen äußeren Bedingungen wie Temperatur, Lichtstrahlfokussierung und Rührfrequenz durchgeführt.

Tabelle 51: Gegenüberstellung der beobachteten Photolyseausbeuten von Benzylalkohol beim Einsatz des modifizierten Linkers **136** und des Linkers **133**.

$\text{Ph-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(OH)(tBu)(O-CH}_2\text{-Ph)-R} \xrightarrow{305 \text{ nm}} \text{HO-CH}_2\text{-Ph} \xrightarrow{\text{teilweise Oxidation}} \text{H-C(=O)-Ph}$

133: R = CH₃
136: R = H

+ Linker-Spaltprodukte

			133		136	
Lösemittel (Zusatz)	Wellen- länge	Photolysen- dauer	Ausbeuten		Ausbeuten	
			BnOH	PhCHO	BnOH	PhCHO
Dichlormethan (2 eq. HCl)	305 nm	0 min	5 %	n.n.	12 %	<1 %
		1 min	17 %	1 %	22 %	2 %
		2 min	35 %	2 %	33 %	3 %
		3 min	45 %	2 %	34 %	3 %
		4 min	51 %	2 %	45 %	4 %
		5 min	53 %	4 %	48 %	4 %
		10 min	72 %	6 %	70 %	7 %
		20 min	76 %	4 %	71 %	7 %
		30 min	82 %	7 %	72 %	10 %
		40 min	76 %	10 %	72 %	16 %
		60 min	73 %	12 %	59 %	22 %

22 Pivaloyllinker-geschützte Glycoside

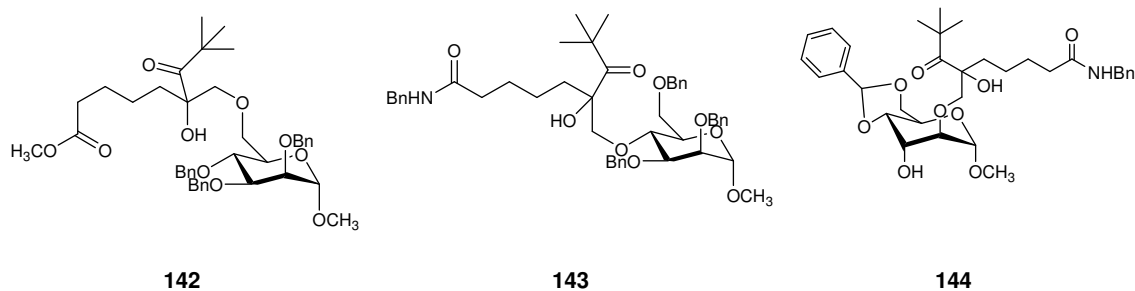
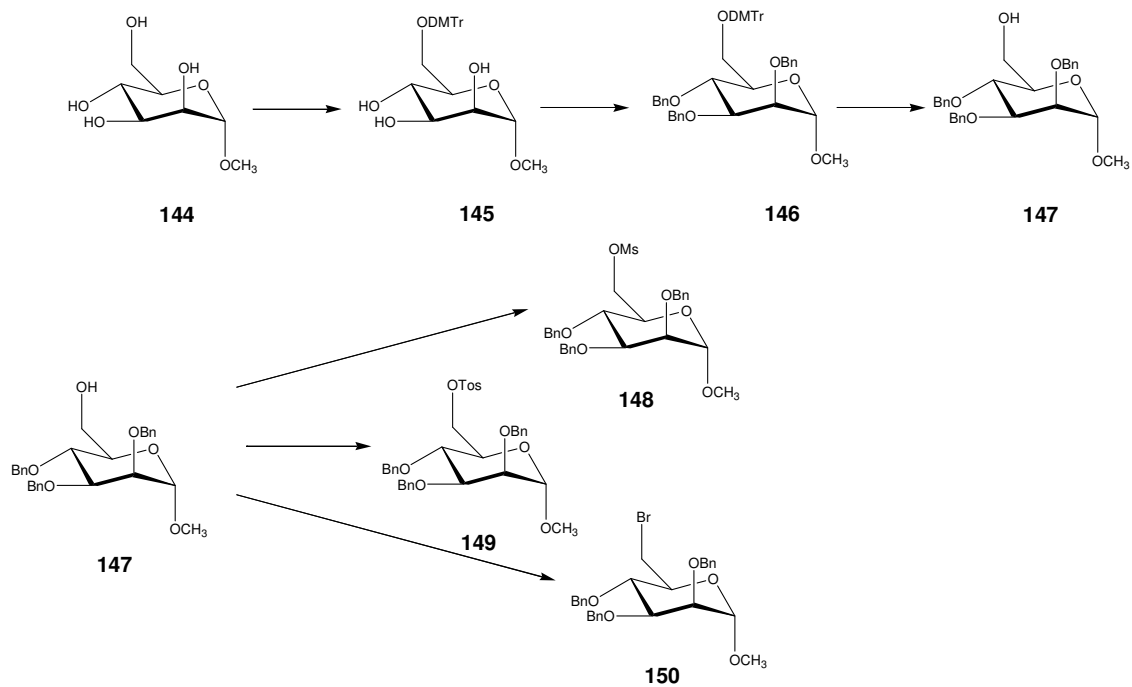
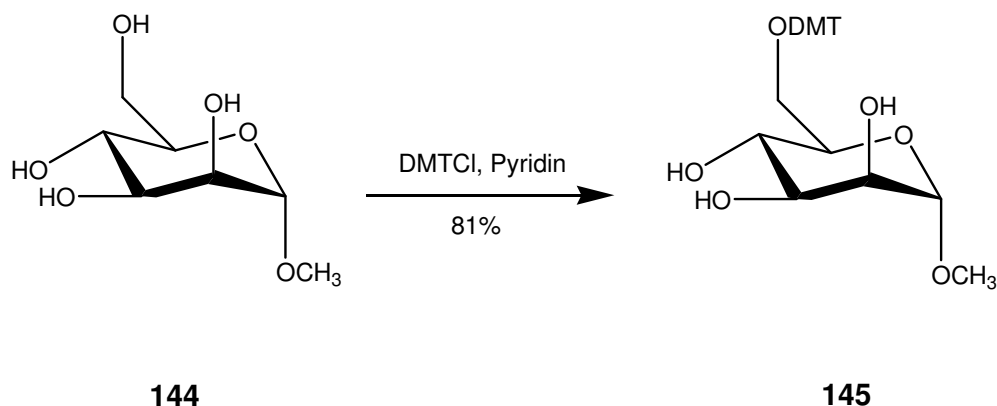


Abbildung 42: Pivaloylgeschützte Mannopyranoside **142** und **143**, Altopropanosid **144**.

22.1 Mannopyranosid **142** - Synthese der Vorläufer



Schema 65: Synthese der Kupplungsvorläufer zum Mannopyranosid **142**.

Methyl-6-*O*-(4,4'-dimethoxytrityl)- α -D-mannopyranosid (145)¹²⁵


Methyl- α -D-mannopyranosid (**144**) (1.01 g, 5.20 mmol) wurde in Pyridin (10 ml) gelöst und mit 4,4'-Dimethoxytritylchlorid (2.05g, 6.05 mmol, 1.2 eq.) 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Methanol (5 ml) zugesetzt und das Reaktionsgemisch am Rotationsverdampfer eingengt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Dichlormethan:Methanol 15:1 mit 0.1 % Triethylamin) erhielt man Methyl-6-*O*-(4,4'-dimethoxytrityl)- α -D-mannopyranosid (**145**) (2.10 g, 4.23 mmol, 81 %) als gelben Schaum.

$C_{28}H_{32}O_8$ (496.55).

R_f (Dichlormethan/Methanol 10:1) = 0.38.

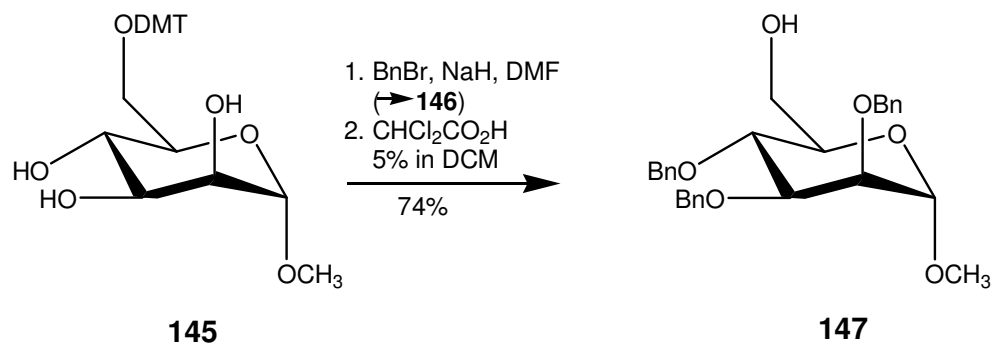
1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , δ /ppm):

7.43-7.21, 6.87-6.84 (2m, 13H, arom. H); 4.71-4.72 (m, 1H, H-1); 3.87-3.86, 3.73-3.61, 3.39-3.30 (3m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5); 3.79 (s, 6H, arom. CH_3O); 3.41 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , δ /ppm):

159.1, 145.4, 136.3, 136.2, 130.4, 128.4, 128.3, 127.2, 113.5 (18C, arom. C); 101.1 (Ct, 1C, C-1); 86.7 (Cq, 1C, Ar $_3$ C); 72.2, 70.8, 70.0 (Ct, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 64.6 (Cs, 1C, C-6); 55.6 (Cp, 2C, ArOCH $_3$); 55.1 (Cp, 1C, OCH_3).

MS (ESI-LCQ, m/z): 519 ($M+Na^+$, 100).

Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -D-mannopyranosid (**146**)^{126, 127}

Methyl-6-*O*-(4,4'-dimethoxytrityl)- α -D-mannopyranosid (**145**) (1.01 g, 2.03 mmol) wurde in Dimethylformamid (10 ml) gelöst und bei 0°C mit Natriumhydrid (0.53 g, 12.1 mmol, 6.0 eq, 55 % in Paraffin) 5 min gerührt. Der violetten Suspension wurde Benzylbromid (900 μ l, 7.58 mmol, 3.7 eq.) zugesetzt und es wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden nacheinander Methanol (5 ml) und Wasser (100 ml) zugesetzt. Nach der Extraktion mit Diethylether (3x50 ml) wurde die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Das erhaltene rote Öl wurde in Dichlormethan (19 ml) gelöst und mit Dichloressigsäure (1 ml) 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung (50 ml) zugesetzt und mit Ethylacetat (3x30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Hexan:Ethylacetat 4:1 \rightarrow 1:1) erhielt man Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -D-mannopyranosid (**147**) (0.71 g, 1.52 mmol, 74 %) als gelbes Öl.

C₂₈H₃₂O₆ (464.56).

R_f(Hexan/Ethylacetat) = 0.25.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

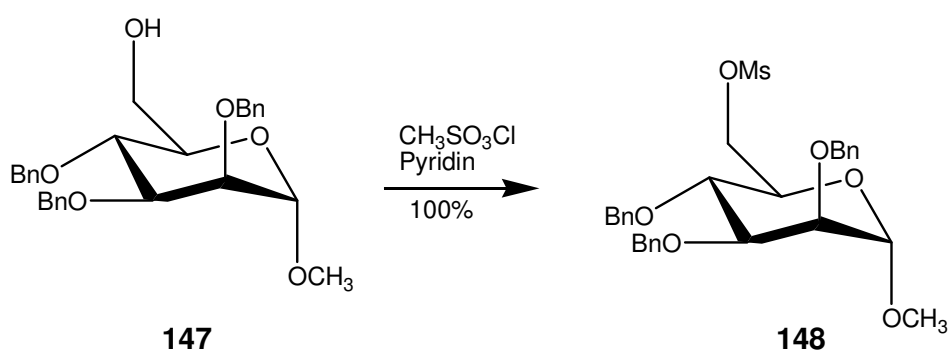
7.38-7.26 (m, 15H, arom. H); 4.95 (d, J=10.9, 1H, Benzyl); 4.79, 4.69 (2d, J=12.4, 2H, Benzyl); 4.71-4.64, 3.99-3.75, 3.65-3.60 (3m, 10H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, Benzyl); 3.31 (s, 3H, OCH₃).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

138.4, 138.2, 128.4, 128.9, 127.8, 127.7, 127.6 (18C, arom. C); 99.3 (Ct, 1C, C-1); 80.2, 74.9, 74.6, 72.0 (Ct, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 75.2, 72.9, 72.2 (Cs, 3C, Benzyl); 62.4 (Cs, 1C, C-6); 54.8 (Cp, 1C, OCH_3).

MS (ESI-LCQ, m/z): 487 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-6-*O*-mesyl- α -D-mannopyranosid (148)¹²⁸



Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -D-mannopyranosid (**147**) (100 mg, 0.22 mmol) wurde in Pyridin (2 ml) gelöst und bei 0°C mit Methansulfonylchlorid (30 μl , 0.39 mmol, 1.8 eq.) versetzt und 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Man ließ auf Raumtemperatur erwärmen und rührte weitere 60 min. Der Ansatz wurde mit 1M Salzsäure (50 ml) angesäuert und mit Dichlormethan (3x20 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Hexan:Ethylacetat 2:1) erhielt man Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-6-*O*-mesyl- α -D-mannopyranosid (**147**) (120 mg, 0.22 mmol, 100 %) als gelbes Öl.

$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_8\text{S}$ (542.64).

R_f (Hexan/Ethylacetat) = 0.63.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

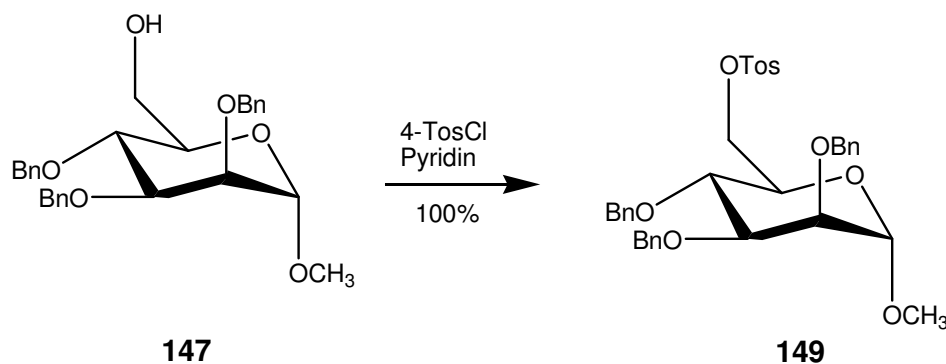
7.36-7.27 (m, 15H, arom. H); 4.96 (d, $J=10.8$, 1H, Benzyl); 4.76, 4.63 (2d, $J=12.0$, 2H, Benzyl); 4.71-4.70, 4.66-4.63, 4.55-4.52, 4.46-4.42, 3.97-3.89, 3.80-3.74 (6m, 10H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, Benzyl); 3.31 (s, 3H, OCH_3); 3.00 (s, 3H, CH_3 Mesyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

138.2, 138.0, 128.4, 128.0, 127.8, 127.7, 127.6 (18C, arom. C); 99.2 (Ct, 1C, C-1); 80.0, 74.5, 73.9, 70.2 (Ct, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 75.2, 73.0, 72.1 (Cs, 3C, Benzyl); 69.4 (Cs, 1C, C-6); 55.0 (Cp, 1C, OCH_3); 37.9 (Cp, 1C, CH_3 Mesyl).

MS (ESI-LCQ, m/z): 565 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-6-*O*-(4-toluolsulfonyl)- α -D-mannopyranosid (**149**)¹²⁹



Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -D-mannopyranosid (**147**) (250 mg, 0.54 mmol) wurde in Pyridin (3 ml) gelöst und bei 0°C mit 4-Toluolsulfonylchlorid (194 mg, 1.02 mmol, 1.9 eq.) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wurde mit 1M Salzsäure (100 ml) angesäuert und mit Dichlormethan (3x40 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Hexan:Ethylacetat 4:1) erhielt man Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-6-*O*-(4-toluolsulfonyl)- α -D-mannopyranosid (**149**) (340 mg, 0.54 mmol, 100 %) als farbloses Öl.

$C_{35}H_{38}O_8S$ (618.74).

$R_f(\text{Hexan:Ethylacetat } 1:1) = 0.63$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

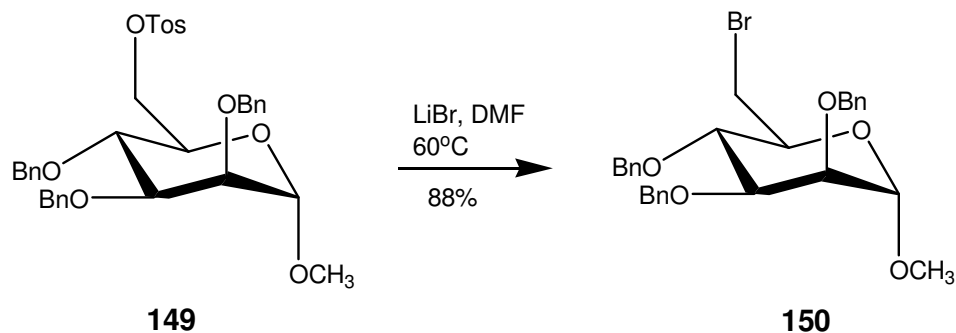
7.81-7.79, 7.36-7.27 (2m, 19H, arom. H); 4.91, 4.49 (2d, $J=10.8$, 2H, Benzyl); 4.75-4.67, 4.63-4.57, 4.32-4.22, 3.89-3.75 (4m, 12H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, Benzyl); 3.27 (s, 3H, OCH_3); 2.42 (s, 3H, Aryl- $\underline{\text{CH}}_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

144.6, 138.2, 138.1, 138.0, 133.0, 129.7, 128.3, 128.0, 127.9, 127.7, 127.6, 127.5 (24C, arom. C); 98.8 (Ct, 1C, C-1); 80.0, 74.3, 74.0, 69.9 (Ct, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 74.9, 72.6, 72.0 (Cs, 3C, Benzyl); 69.2 (Cs, 1C, C-6); 54.8 (Cp, 1C, OCH_3); 21.6 (Cp, 1C, Aryl- $\underline{\text{CH}}_3$).

MS (ESI-LCQ, m/z): 641 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-6-brom- α -D-mannopyranosid (**150**)¹²⁹



Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-6-*O*-(4-toluolsulfonyl)- α -D-mannopyranosid (**149**) (310 mg, 0.50 mmol) wurde in Dimethylformamid (5 ml) gelöst und mit Lithiumbromid (186 mg, 2.14 mmol, 4.3 eq.) 24 h bei 60°C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde nach Abkühlung auf Raumtemperatur in Wasser (50 ml) gegossen und mit Diethylether (3x30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck,

Hexan:Ethylacetat 3:1) erhielt man Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-6-brom- α -D-mannopyranosid (**150**) (232 mg, 0.44 mmol, 88 %) als farbloses Öl.

$C_{28}H_{31}BrO_5$ (527.45).

R_f (Pentan:Diethylether 1:1) = 0.55.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

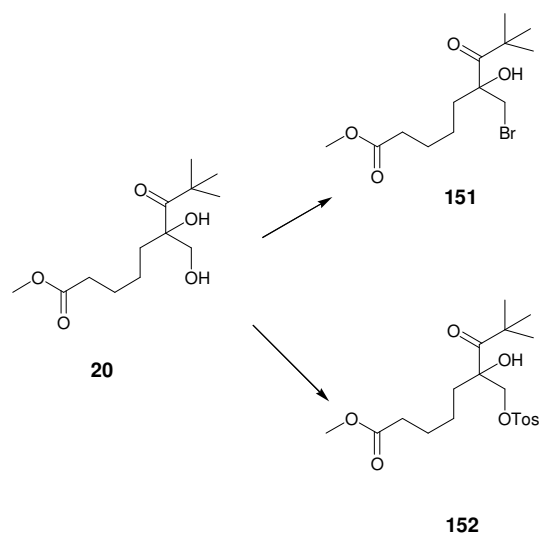
7.39-7.26 (m, 15H, arom. H); 4.98, 4.65 (2d, $J=12.4$, 2H, Benzyl); 4.76-4.69, 4.63-4.57, 3.91-3.85, 3.79-3.69, 3.59-3.55 (5m, 11H, H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, Benzyl); 3.34 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

138.3, 138.2, 128.4, 128.3, 128.0, 127.8, 127.6 (18C, arom. C); 99.0 (Ct, 1C, C-1); 80.0, 76.9, 75.3, 71.3 (Ct, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 74.4, 72.7, 72.0 (Cs, 3C, Benzyl); 54.9 (Cp, 1C, OCH_3); 27.8 (Cs, 1C, C-6).

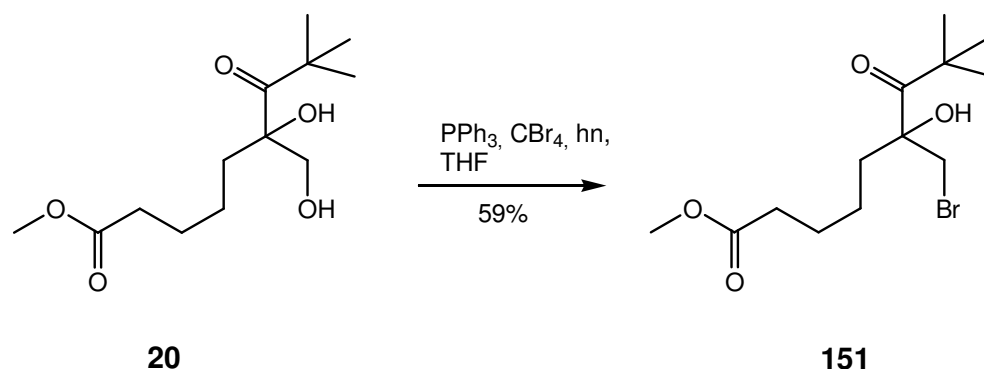
MS (ESI-LCQ, m/z): 549 ($M+Na^+$, 100).

22.1.1 Pivaloyllinker-Derivate **151** und **152** mit β -ständigen Nucleofugen.



Schema 66: Pivaloyllinker-Derivate **151** und **152** mit β -ständigen Nucleofugen.

8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-bromomethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**151**)¹³¹



(*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**20**) (205 mg, 0.79 mmol) wurde in Tetrahydrofuran (6 ml) gelöst, mit Triphenylphosphin (311 mg, 1.19 mmol, 1.5 eq.) und Tetrabrommethan (399 mg, 1.20 mmol, 1.5 eq.) versetzt und bei Raumtemperatur im Tageslicht 30 min gerührt. Dann wurde 24 h unter Lichtausschluß weiter gerührt und anschließend das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Diethylether:Pentan 3:1) erhielt man (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-bromomethyl-oxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**151**) (151 mg, 0.47 mmol, 59 %) als farbloses Öl.

$\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{BrO}_4$ (323.22).

$R_f(\text{Diethylether:Pentan } 2:1) = 0.60$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

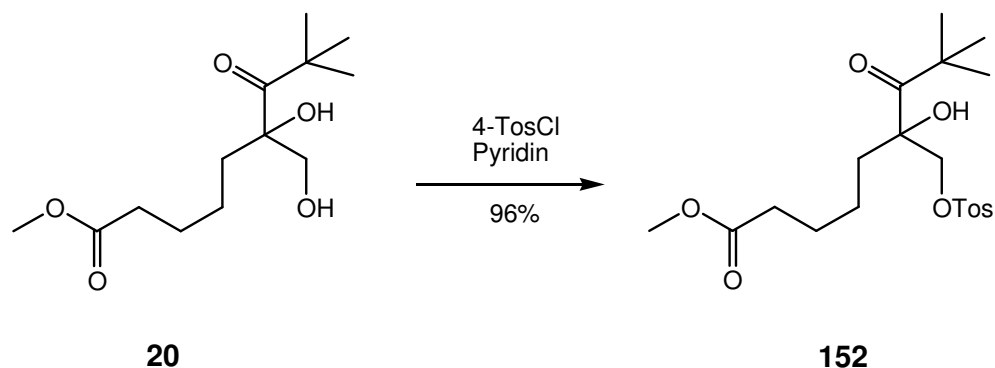
3.84 (d, $J=10.4$, 1H, H-7a \prime); 3.53 (d, $J=10.4$, 1H, H-7b \prime); 3.65 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.29 (t-artiges m, $J=7.4$, 2H, H-2); 1.91-1.72, 1.64-1.56, 1.45-1.42, 1.26-1.13 (4m, 6H, H-3, H-4, H-5a, H-5b); 1.29 (s, 9H, H-9).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

215.2 (Cq, 1C, C-7); 173.8 (Cq, 1C, C-1); 82.8 (Cq, 1C, C-6); 52.0 (Cp, 1C, CO_2CH_3); 44.9 (Cq, 1C, C-8); 41.8, 38.4, 34.1, 25.4, 23.7 (Cs, 5C, C-2, C-3, C-4, C-5, C-7 \prime); 28.1 (Cp, 3C, C-9).

MS (ESI-LCQ, m/z): 437 ($\text{M}+\text{Na}^+$, 100).

8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-[(4-toluolsulfonyl)-oxymethyl]-7-oxo-nonansäuremethyl-ester (152)¹²⁹



8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**20**) (220 mg, 0.85 mmol) wurde in Pyridin (5 ml) gelöst und bei 0°C mit 4-Toluolsulfonylchlorid (227 mg, 1.19 mmol, 1.4 eq.) versetzt und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wurde mit 1M Salzsäure (100 ml) angesäuert und mit Dichlormethan (3x50 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Hexan:Ethylacetat 3:1) erhielt man 8,8-Dimethyl-6-hydroxy-6-[(4-toluolsulfonyl)-oxymethyl]-7-oxo-nonansäuremethylester (**152**) (338 mg, 0.82 mmol, 96 %) als farbloses Öl.

$C_{20}H_{30}O_7S$ (414.51).

$R_f(\text{Hexan:Ethylacetat } 1:1) = 0.50$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $CDCl_3$, δ/ppm):

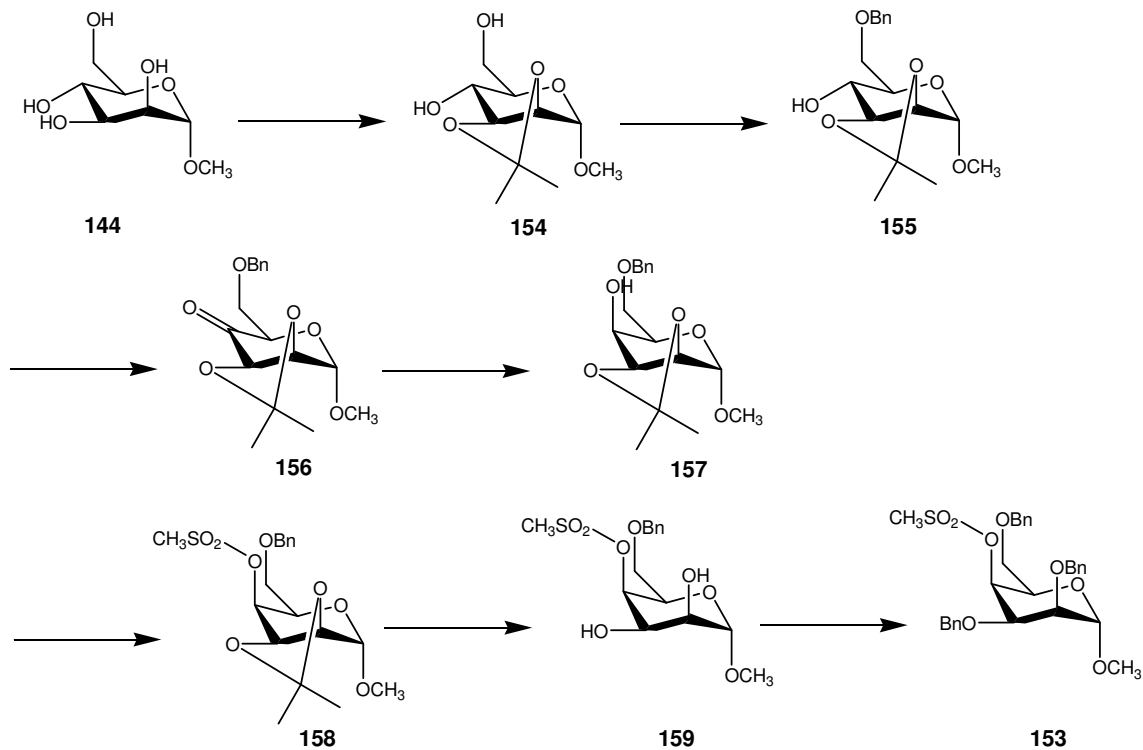
7.75-7.73, 7.36-7.34 (2m, 4H, arom. H); 4.31 (d, $J=10.0$, 1H, H-7a \prime); 4.01 (d, $J=10.0$, 1H, H-7b \prime); 3.63 (s, 3H, $CO_2\text{CH}_3$); 2.35 (s, 3H, Aryl- CH_3); 2.25 (t-artiges m, $J=7.4$, 2H, H-2); 1.77-1.70, 1.64-1.51, 1.39-1.25, 1.16-1.07 (4m, 6H, H-3, H-4, H-5a, H-5b); 1.23 (s, 9H, H-9).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $CDCl_3$, δ/ppm):

215.4 (Cq, 1C, C-7); 173.7 (Cq, 1C, C-1); 145.2, 132.2, 129.9, 128.0 (6C, arom. C); 82.7 (Cq, 1C, C-6); 74.5 (Cs, 1C, C-7 \prime); 51.5 (Cp, 1C, $CO_2\text{CH}_3$); 44.6 (Cq, 1C, C-8); 36.1 (Cs, 1C, C-2); 33.6 (Cs, 1C, C-5); 28.1 (Cp, 3C, C-9); 24.9, 22.8 (Cs, 2C, C-3, C-4); 21.7 (Cp, 1C, Aryl- CH_3).

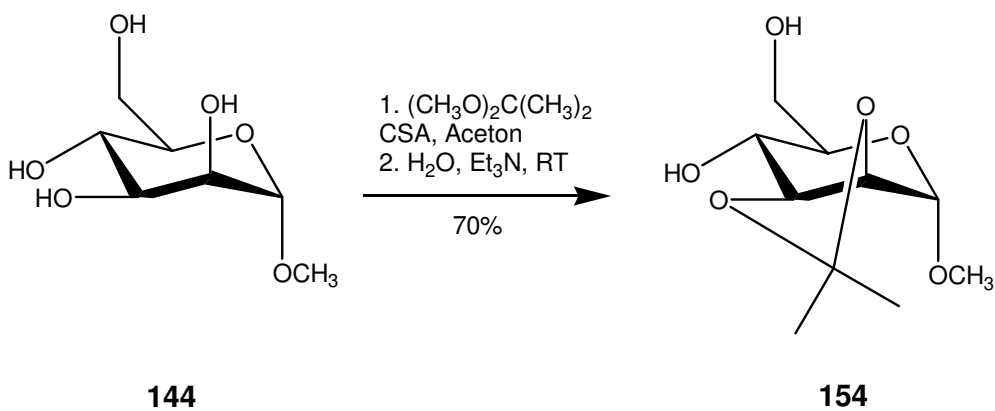
MS (ESI-LCQ, m/z): 437 (M+Na⁺, 100).

22.2 Mannopyranosid 143 - Synthese der Vorläufer



Schema 67: Synthese des 4-O-mesylierten Talopyranosids 153.

Methyl-2,3-Di-O-isopropyliden- α -D-mannopyranosid (154)¹³²



Methyl- α -D-mannopyranosid (**144**) (4.14 g, 21.3 mmol) wurde in Aceton (30 ml) suspendiert, mit Acetondimethylacetal (13.0 ml, 106 mmol, 5.0 eq.) und (\pm)-Campher-10-sulfonsäure (0.88 g, 3.79 mmol, 0.18 eq.) versetzt und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandenen klaren Lösung wurde Wasser (4 ml) und Triethylamin (0.60 ml, 4.3 mmol, 0.2 eq.) zugesetzt und 60 min gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde am Rotationsverdampfer eingengt. Nach chromatographischer Reinigung (Merck, Dichlormethan:Methanol 49:1 \rightarrow 9:1) erhielt man Methyl 2,3-Di-*O*-isopropyliden- α -D-mannopyranosid (**154**) (3.50 g, 14.9 mmol, 70 %) als farbloses Öl.

C₁₀H₁₈O₆ (234.25).

R_f(Dichlormethan/Methanol 9:1) = 0.30.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

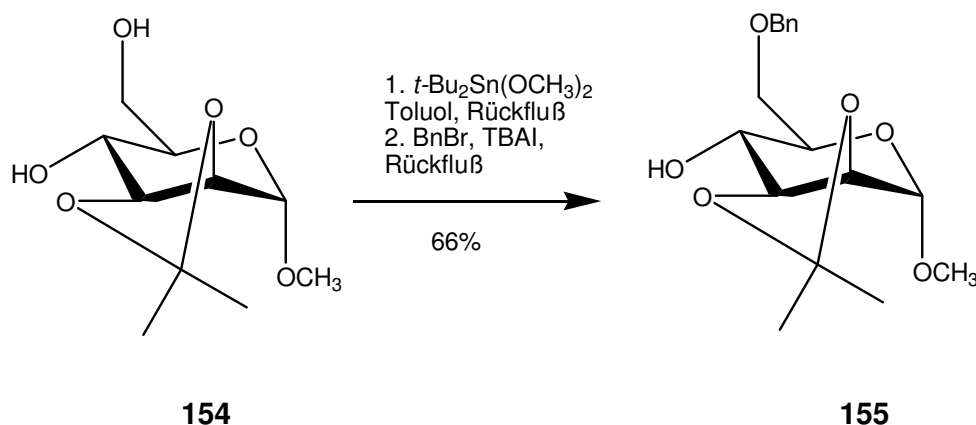
4.92 (s, 1H, H-1); 4.17-4.13 (m, 2H, H-2, H-3); 3.86 (m, 2H, H-6); 3.76-3.71 (m, 1H, H-5); 3.40 (s, 1H, O-CH₃); 1.53, 1.36 (2s, 6H, Methyliden-CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

109.6 (C_q, 1C, Methyliden); 98.4 (C_t, 1C, C-1); 78.3, 75.5, 69.6, 69.5 (C_t, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 62.4 (C_s, 1C, C-6); 55.1 (C_p, 1C, OCH₃); 27.9, 26.1 (C_p, 2C, Methyliden-CH₃).

MS (ESI-LCQ, m/z): 257 (M+Na⁺, 100).

Methyl-6-*O*-Benzyl-2,3-di-*O*-isopropyliden- α -D-mannopyranosid (**155**)¹³³



2,3-Di-*O*-isopropyliden- α -D-mannopyranosid (**154**) (8.27 g, 35.3 mmol) wurde in Toluol (150 ml) gelöst und mit Dimethylzinndimethoxid (9.0 ml, 39.2 mmol, 1.1 eq.) 18 h am Wasserabscheider gekocht. Anschließend wurden Tetrabutylammoniumiodid (20.0 g, 54.2 mmol, 1.5 eq.) und Benzylbromid (5.0 ml, 42.1 mmol, 1.2 eq.) zugesetzt und es wurde weitere 6 h zum Sieden erhitzt. Nachdem das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde über Celite filtriert. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer eingeeengt und das zurückbleibende Öl in Dichlormethan (250 ml) gelöst. Nach Extraktion mit wäßriger Kaliumfluoridlösung (1M, 2 x 100 ml) und Wasser (100 ml) wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Uetikon, Toluol:Aceton 20:1→10:1→7:1) erhielt man Methyl-6-*O*-Benzyl-2,3-di-*O*-isopropyliden- α -D-mannopyranosid (**155**) (7.57 g, 23.3 mmol, 66 %) als gelbes Öl.

C₁₇H₂₄O₆ (324.37).

R_f(Dichlormethan/Methanol 9:1) = 0.75.

berechnet: C 62.95, H 7.46; O 29.59

gefunden: C 62.57, H 7.45, O 29.50.

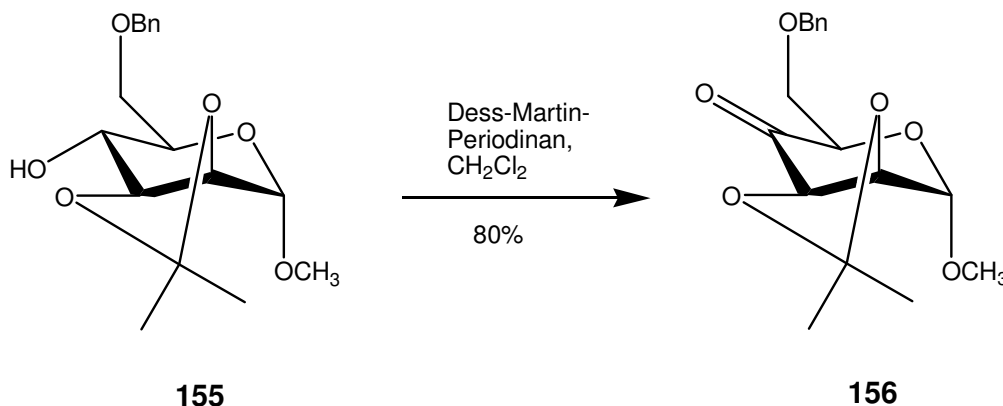
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

7.35-7.26 (m, 5H, Phenyl-H); 4.91 (s, 1H, H-1); 4.60 (2d, J=12.0, 2H, Benzyl-CH₂); 4.12 (m, 2H, H-2, H-3); 3.74-3.71 (m, 4H, H-4, H-4, H-6a, H-6b); 3.39 (s, 1H, O-CH₃); 1.51, 1.34 (2s, 6H, Methyliden-CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

137.9 (Cq, 1C, Phenyl); 128.4, 127.7, 127.6 (Ct, 5C, Phenyl); 109.5 (Cq, 1C, Methyliden); 98.3 (Ct, 1C, C-1); 78.1, 75.3, 70.4, 68.5 (Ct, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 73.6, 70.2 (Cs, 2C, C-6, Benzyl-CH₂); 55.0 (Cp, 1C, OCH₃); 27.9, 26.0 (Cp, 2C, Methyliden-CH₃).

MS (FAB-MS, m/z): 325 (M+H⁺, 7).

Methyl-6-*O*-benzyl-2,3-*O*-isopropyliden- α -D-lyxo-hexopyranosid-4-ulose (156**)¹¹²**


Dess-Martin-Periodinan (7.30 g, 17.2 mmol, 1.5 eq.) wurde in Dichlormethan (160 ml) gelöst und während 5 min mit einer Lösung von Methyl-6-*O*-Benzyl-2,3-di-*O*-isopropyliden- α -D-mannopyranosid (**155**) (3.63 g, 11.2 mmol) in Dichlormethan (20 ml) tropfenweise versetzt. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Diethylether (400 ml) versetzt. Die etherische Lösung wurde nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (100 ml) und Natriumthiosulfatlösung (10 %, 100 ml) ausgeschüttelt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach chromatographischer Reinigung (Uetikon, Pentan:Diethylether 4:1→3:1) erhielt man Methyl-6-*O*-benzyl-2,3-*O*-isopropyliden- α -D-lyxo-hexopyranosid-4-ulose (**156**) (2.91 g, 9.03 mmol, 80 %) als farbloses Öl.

C₁₇H₂₂O₆ (322.35).

R_f(Toluol/Aceton 7:1) = 0.50.

berechnet: C 63.34, H 6.88; O 29.78

gefunden: C 62.83, H 6.92, O 30.42.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

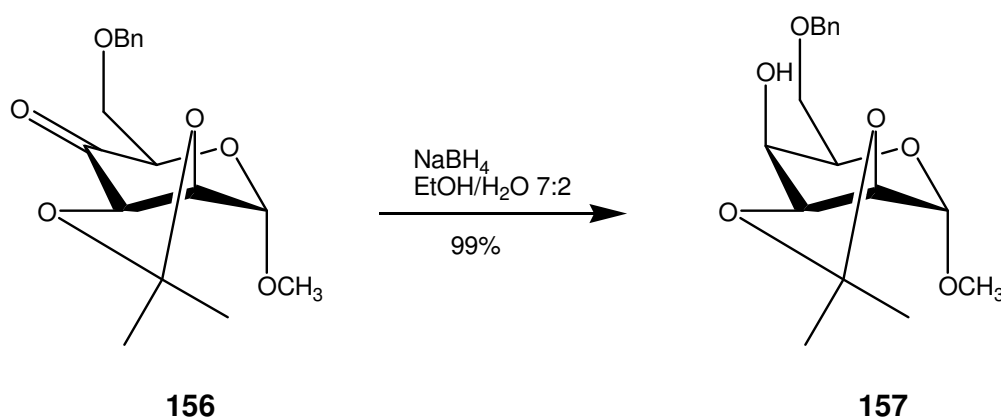
7.34-7.26 (m, 5H, Phenyl-H); 4.92 (s, 1H, H-1); 4.60 (2d, J=12.1, 2H, Benzyl-CH₂); 4.44-4.34 (m, 3H, H-2, H-3, H-5); 3.84 (m, 2H, H-6); 3.48 (s, 1H, O-CH₃); 1.46, 1.35 (2s, 6H, Methyliden-CH₃).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

202.3 (Cq, 1C, C-4); 137.8 (Cq, 1C, Phenyl); 128.3, 127.7, 127.6 (Ct, 5C, Phenyl); 111.7 (Cq, 1C, Methyliden); 98.1 (Ct, 1C, C-1); 78.2, 75.5, 73.5 (Ct, 3C, C-2, C-3, C-5); 74.0, 69.7 (Cs, 2C, C-6, Benzyl- CH_2); 56.0 (Cp, 1C, OCH_3); 26.6, 25.4 (Cp, 2C, Methyliden- CH_3).

MS (FAB-MS, m/z): 323 ($\text{M}+\text{H}^+$, 8).

Methyl-6-*O*-Benzyl-2,3-di-*O*-isopropyliden- α -D-talopyranosid (157**)¹³⁵**



Methyl-6-*O*-benzyl-2,3-*O*-isopropyliden- α -D-lyxo-hexopyranosid-4-ulose (**156**) (2.76 g, 8.56 mmol) wurde in einem Ethanol-Wasser-Gemisch (7:2, 90 ml) gelöst und bei 0°C mit Natriumborhydrid (0.27 g, 7.14 mmol, 0.8 eq.) versetzt. Während 30 min wurde auf Raumtemperatur erwärmt und das Lösemittel anschließend am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in Diethylether (150 ml) gelöst und nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (50 ml), Wasser (50 ml) und gesättigter Natriumchloridlösung (50 ml) ausgeschüttelt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach chromatographischer Reinigung (Uetikon, Dichlormethan:Aceton 30:1→9:1) erhielt man Methyl-6-*O*-Benzyl-2,3-di-*O*-isopropyliden- α -D-talopyranosid (**157**) (2.74 g, 8.45 mmol, 99 %) als farbloses Öl.

$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_6$ (324.37).

$R_f(\text{Toluol}/\text{Aceton } 7:1) = 0.45$.

berechnet: C 62.95, H 7.46; O 29.59

gefunden: C 62.74, H 7.46, O 29.77.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

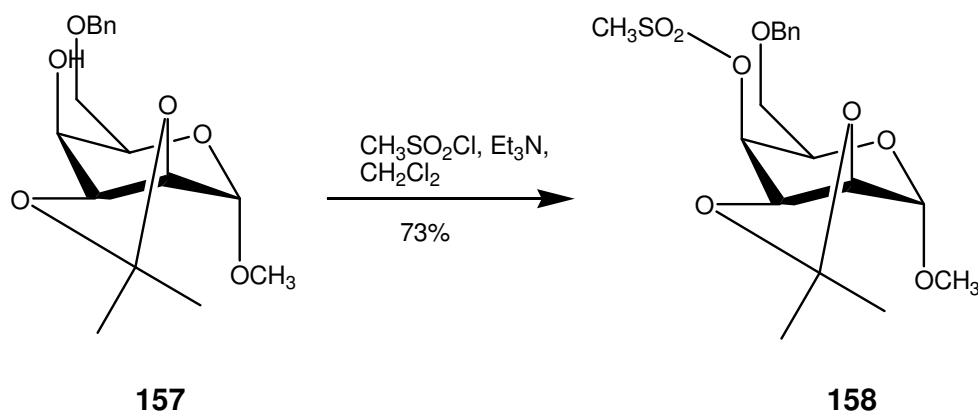
7.35-7.24 (m, 5H, Phenyl-H); 4.99 (s, 1H, H-1); 4.59 (2d, $J=11.9$, 2H, Benzyl- CH_2); 4.21 (dd, 1H, H-3); 4.07-4.05 (m, 1H, H-2); 3.92-3.89 (m, 1H, H-5); 3.80-3.75 (m, 3H, H-4, H-6a, H-6b); 3.43 (s, 1H, O- CH_3); 1.58, 1.37 (2s, 6H, Methyliden- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ/ppm):

138.1 (Cq, 1C, Phenyl); 128.3, 127.5 (Ct, 5C, Phenyl); 109.3 (Cq, 1C, Methyliden); 98.4 (Ct, 1C, C-1); 73.4, 69.8 (Cs, 2C, C-6, Benzyl- CH_2); 73.5, 72.4, 67.8, 64.3 (Ct, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 55.1 (Cp, 1C, O CH_3); 25.8, 25.1 (Cp, 2C, Methyliden- CH_3).

MS (FAB-MS, m/z): 325 ($\text{M}+\text{H}^+$, 2).

Methyl-6-*O*-benzyl-2,3-di-*O*-isopropyliden-4-*O*-mesyl- α -D-talopyranosid (**158**)¹³⁵



Methyl-6-*O*-Benzyl-2,3-di-*O*-isopropyliden- α -D-talopyranosid (**157**) (503 mg, 1.55 mmol) wurde in Dichlormethan (10 ml) gelöst und bei 0°C mit Triethylamin (0.96 ml, 6.90 mmol, 4.5 eq.) und Methansulfonylchlorid (0.58 ml, 7.47 mmol, 4.8 eq.) versetzt. Der Ansatz wurde 20 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (15 ml) neutralisiert und mit Diethylether (100 ml) verdünnt. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (2x50 ml) und gesättigter Kupfer(II)-sulfatlösung (2x50 ml) geschüttelt. Nach Trocknung

über Magnesiumsulfat wurde der Ether am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Uetikon, Dichlormethan:Aceton 99:1) erhielt man Methyl-6-*O*-benzyl-2,3-di-*O*-isopropyliden-4-*O*-mesyl- α -D-talopyranosid (**158**) (472 mg, 1.13 mmol, 73 %) als farblosen Feststoff.

$C_{18}H_{26}O_6S$ (402.46).

R_f (Dichlormethan/Aceton 30:1) = 0.38.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

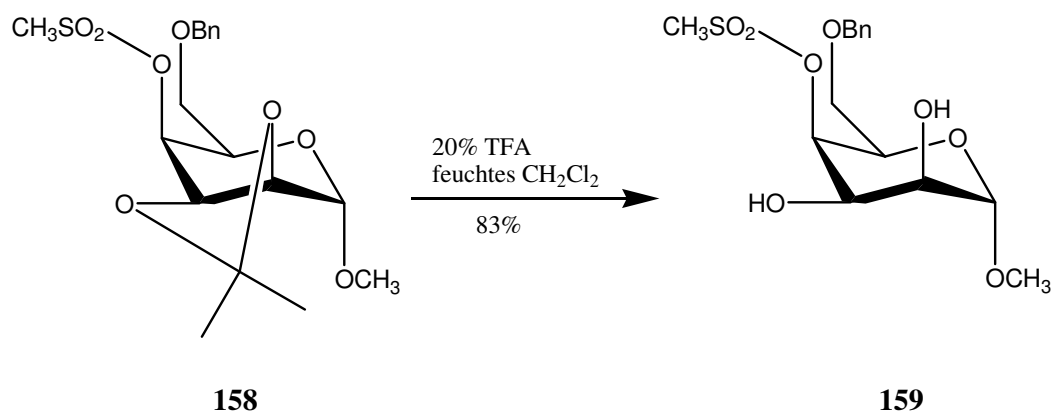
7.35-7.26 (m, 5H, Phenyl-H); 4.94 (s, 1H, H-1); 4.83-4.81 (m, 1H, H-2); 4.57 (2d, $J=11.6$, 2H, Benzyl- CH_2); 4.38-4.25 (m, 1H, H-3); 4.09-4.00 (m, 2H, H-4, H-5); 3.80-3.72 (m, 2H, H-6a, H-6b); 3.42 (s, 1H, O- CH_3); 3.06 (s, 3H, Mesyl); 1.59, 1.36 (2s, 6H, Methyliden- CH_3).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, δ /ppm):

137.1 (Cq, 1C, Phenyl); 128.4, 127.8, 127.7 (Ct, 5C, Phenyl); 110.3 (Cq, 1C, Methyliden); 98.6 (Ct, 1C, C-1); 73.6, 66.5 (Cs, 2C, C-6, Benzyl- CH_2); 73.3, 72.8, 70.3, 69.1 (Ct, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 55.4 (Cp, 1C, O CH_3); 38.6 (Cp, 1C, Mesyl); 25.9, 25.0 (Cp, 2C, Methyliden- CH_3).

MS (FAB-MS, m/z): 403 ($M+H^+$, 3).

Methyl-6-*O*-Benzyl-4-*O*-mesyl- α -D-talopyranosid (**159**)¹³⁶



Methyl-6-*O*-benzyl-2,3-di-*O*-isopropyliden-4-*O*-mesyl- α -D-talopyranosid (**158**) (170 mg, 423 μ mol) wurde in Dichlormethan (1.6 ml) gelöst und mit Trifluoressigsäure (0.4 ml), sowie 1 Tropfen Wasser versetzt. Es wurde 40 min bei Raumtemperatur gerührt und der Ansatz mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (10 ml) versetzt. Nach Extraktion mit Dichlormethan (3x10 ml) und Trocknung über Magnesiumsulfat wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach chromatographischer Reinigung (Uetikon, Dichlormethan:Methanol 50:1) erhielt man Methyl-6-*O*-Benzyl-4-*O*-mesyl- α -D-talopyranosid (**159**) (127 mg, 350 μ mol, 83 %) als farblosen Feststoff.

C₁₅H₂₂O₈S (362.40).

R_f(Dichlormethan/Methanol 20:1) = 0.25.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

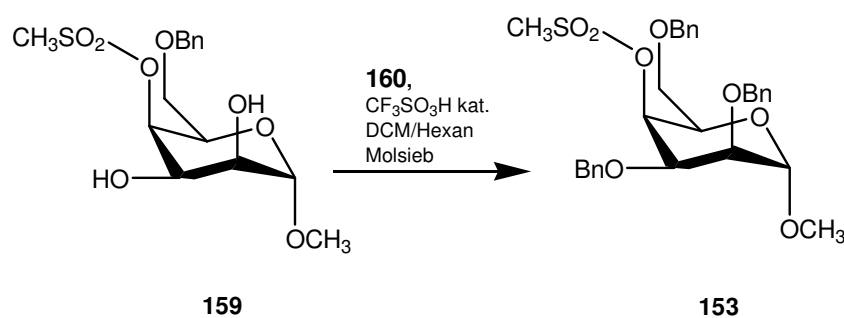
7.35-7.26 (m, 5H, Phenyl-H); 4.97 (d, J=5.0, 1H, H-1); 4.82 (s, 1H, H-4); 4.56 (s, 2H, Benzyl-CH₂); 4.08-4.04 (m, 1H, H-6a); 3.95-3.91 (m, 1H, H-2); 3.78-3.67 (m, 3H, H-3, H-5, H-6b); 3.37 (s, 1H, O-CH₃); 3.12 (s, 3H, Mesyl).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, δ /ppm):

137.5 (Cq, 1C, Phenyl); 128.3, 127.7 (Ct, 5C, Phenyl); 101.2 (Ct, 1C, C-1); 79.3, 69.4, 67.0, 64.8 (Ct, 4C, C-2, C-3, C-4, C-5); 55.1 (Cp, 1C, OCH₃); 73.5, 68.3 (Cs, 2C, C-6, Benzyl-CH₂); 38.5 (Cp, 1C, Mesyl).

MS (FAB-MS, m/z): 363 (M+H⁺, 8).

Methyl-tri-2,3,6-*O*-Benzyl-4-*O*-mesyl- α -D-talopyranosid (**153**)¹³⁷



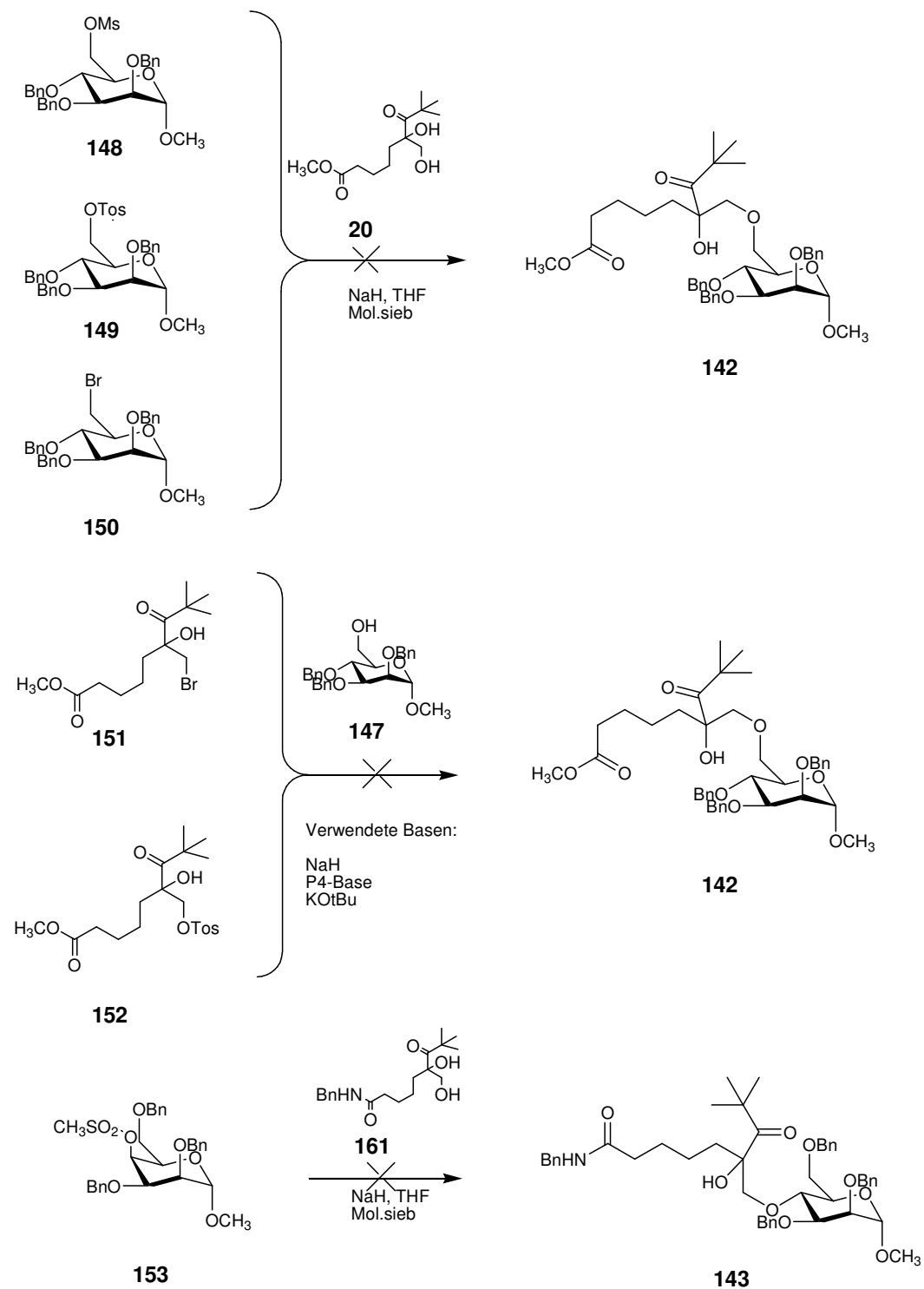
Methyl-6-*O*-Benzyl-4-*O*-mesyl- α -D-talopyranosid (**159**) (48 mg, 132 μ mol) wurde in Dichlormethan (0.5 ml) gelöst und mit pulverisiertem Molsieb (4Å, 100 mg) versetzt. Es wurde eine Lösung von Benzyltrichloracetimidat (MK400, 158 mg, 626 μ mol, 4.7 eq.) in Hexan (1.0 ml) und Trifluormethansulfonsäure (5 μ l, 57 μ mol, 0.4 eq.) zugesetzt und 20h bei Raumtemperatur gerührt. Die gelbe Suspension wurde mit Dichlormethan (5 ml) verdünnt, über Celite filtriert, mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhielt Methyl-tri-2,3,6-*O*-Benzyl-4-*O*-mesyl- α -D-talopyranosid (**163**) (190 mg, 35 μ mol, 73 %) als braunes Öl.

C₂₉H₃₄O₈S (542.62).

MS (ESI-LCQ, m/z): 565 (M+Na⁺, 100).

22.3 Kupplungsversuche der Pyranoside mit dem Pivaloyllinker

22.3.1 Linkerankupplung durch nucleophile Substitution



Schema 68: Darstellung der Mannopyranoside **142** und **143**.

Allgemeine Durchführung:

Das Nucleophil (60 μmol) wurde in Tetrahydrofuran (0.5 ml) gelöst und mit der entsprechenden Base (120 μmol , 2.0 eq.) bei 0°C unter Rühren versetzt und 20 min gerührt. Das Substrat wurde als Lösung in Tetrahydrofuran (0.5 ml) bei 0°C zugetropft und unter Rühren erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde mit gesättigter Ammoniumchloridlösung (5 ml) versetzt und mit Dichlormethan extrahiert (3x5 ml). Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Tabelle 52: Bedingungen der nucleophilen Substitutionsreaktionen zur Darstellung der pivaloylgeschützten Mannopyranoside **142** und **143**.

Substrat	Nucleophil	Base zur Deprotonierung	Löse-mittel	Bedingungen	Produktbildung (ESI-LCQ)
148	20	NaH	THF	Mol.sieb, RT, 2h	142 nein
148	20	P4-Base ¹³⁸	THF	60°C, 3h	142 nein
149	20	NaH	THF	Mol.sieb, RT, 2h	142 nein
150	20	NaH	THF	Mol.sieb, RT, 2h	142 nein
152	147	NaH	THF	Mol.sieb, RT, 2h	142 nein
152	147	P4-Base	THF	RT	142 nein
152	147	K- <i>Or</i> Bu	THF	RT	142 nein
151	147	NaH	THF	Mol.sieb, RT, 2h	142 nein
151	147	P4-Base	THF	RT	142 nein
151	147	K- <i>Or</i> Bu	THF	RT	142 nein
153	161	NaH	THF	RT	143 nein

22.3.2 Linkerankupplung durch Epoxidöffnung

Epoxidöffnungen an Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**)

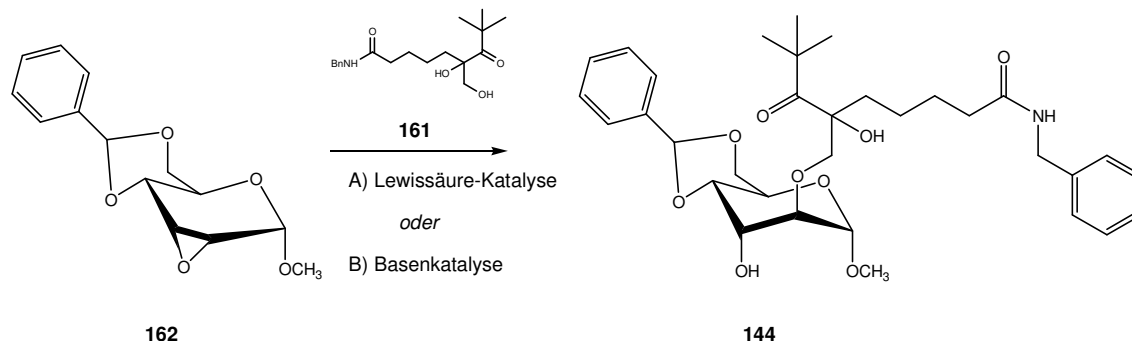


Abbildung 43: Nucleophile Öffnung des Epoxids **162**.

A) Ansätze unter Lewisäure-Katalyse

1. Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**) (10 mg, 38 μmol) wurde in einem Gemisch aus Benzol und Dimethylsulfoxid (30:1, 1.5 ml) gelöst, bei Raumtemperatur mit Bortrifluoridetherat (5 μl , 39 μmol , 1.0 eq.), (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäurebenzylamid (**161**) (21 mg, 63 μmol , 1.6 eq.) und Molekularsieb (4 \AA , 300 mg) versetzt und 72 h gerührt.⁵³

2. Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**) (14 mg, 64 μmol) wurde in Dimethylformamid (1.5 ml) gelöst, bei Raumtemperatur mit Bortrifluoridetherat (6 μl , 47 μmol , 1.0 eq.), (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäurebenzylamid (**161**) (23 mg, 69 μmol , 1.5 eq.) und Molekularsieb (4 \AA , 300 mg) versetzt und 20 h bei 60°C gerührt.

3. Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**) (10 mg, 38 μmol) wurde in Dimethylsulfoxid (1.0 ml) gelöst, bei Raumtemperatur mit Zinkchloridlösung (1M in Diethylether, 10 μl , 136 μmol , 2.1 eq.), (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäurebenzylamid (**161**) (21 mg, 64 μmol , 1.5 eq.) und Molekularsieb (4 \AA , 300 mg) versetzt und 18 h bei 80°C gerührt.

4. Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**) (11 mg, 42 μ mol) wurde in einem Gemisch aus Benzol und 1,2-Dichlorethan (1:1, 2 ml) gelöst und bei 50°C mit Aluminiumchlorid (9 mg, 67 μ mol, 1.6 eq.) und (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäurebenzylamid (**161**) (21 mg, 63 μ mol, 1.5 eq.) 2h gerührt.¹³⁹

B) Ansätze unter Basenkatalyse

5. Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**) (10 mg, 38 μ mol) wurde zu einer zuvor bereiteten Lösung aus Natriumhydrid (Suspension 50 %, 5 mg, 104 μ mol, 2.7 eq.) und (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäurebenzylamid (**161**) (21 mg, 63 μ mol, 1.6 eq.) in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und Dimethylsulfoxid (30:1, 1.5 ml) bei 0°C gegeben und unter Zusatz von Molekularsieb (4Å, 300 mg) 2 h bei Raumtemperatur gerührt.⁵³

6. Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**) (10 mg, 38 μ mol) wurde zu einer zuvor bereiteten Lösung aus Kalium-*tert.*-butylat (15 mg, 134 μ mol, 3.5 eq.) und (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäurebenzylamid (**161**) (21 mg, 63 μ mol, 1.6 eq.) in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und Dimethylsulfoxid (30:1, 1.5 ml) bei 0°C gegeben und unter Zusatz von Molekularsieb (4Å, 300 mg) 2 h bei Raumtemperatur gerührt.⁵³

7. Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**) (10 mg, 38 μ mol) wurde zu einer vorher bereiteten Lösung aus Natriumhydrid (Suspension 50 %, 5 mg, 104 μ mol, 2.7 eq.) und (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäurebenzylamid (**161**) (21 mg, 63 μ mol, 1.6 eq.) in Dimethylformamid (1.0 ml) bei 0°C gegeben und unter Zusatz von Molekularsieb (4Å, 300 mg) 16h auf 80°C erwärmt.

8. Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**) (10 mg, 38 μ mol) wurde zu einer Lösung aus P4-Base (1M in Hexan, 100 μ l, 100 μ mol, 2.6 eq.) und (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäurebenzylamid (**161**) (21 mg, 63 μ mol, 1.6 eq.) in Dimethylsulfoxid (1.0 ml) bei 0°C gegeben und unter Zusatz von Molekularsieb (4Å, 300 mg) 2 h auf 80°C erwärmt.

9. Methyl-2,3-anhydro-4,6-benzyliden- α -D-allopyranosid (**162**) (15 mg, 57 μ mol) wurde zu einer zuvor bereiteten Lösung aus Kaliumhydroxid (10 mg, 178 μ mol, 3.1 eq.) und (*rac*)-8,8-Dimethyl-6-hydroxymethyl-7-oxo-nonansäurebenzylamid (**161**) (19 mg, 57 μ mol, 1.0 eq.) in

Dimethylformamid (1.0 ml) unter Zusatz von Molekularsieb (4Å, 300 mg) 20h auf 100°C erwärmt.

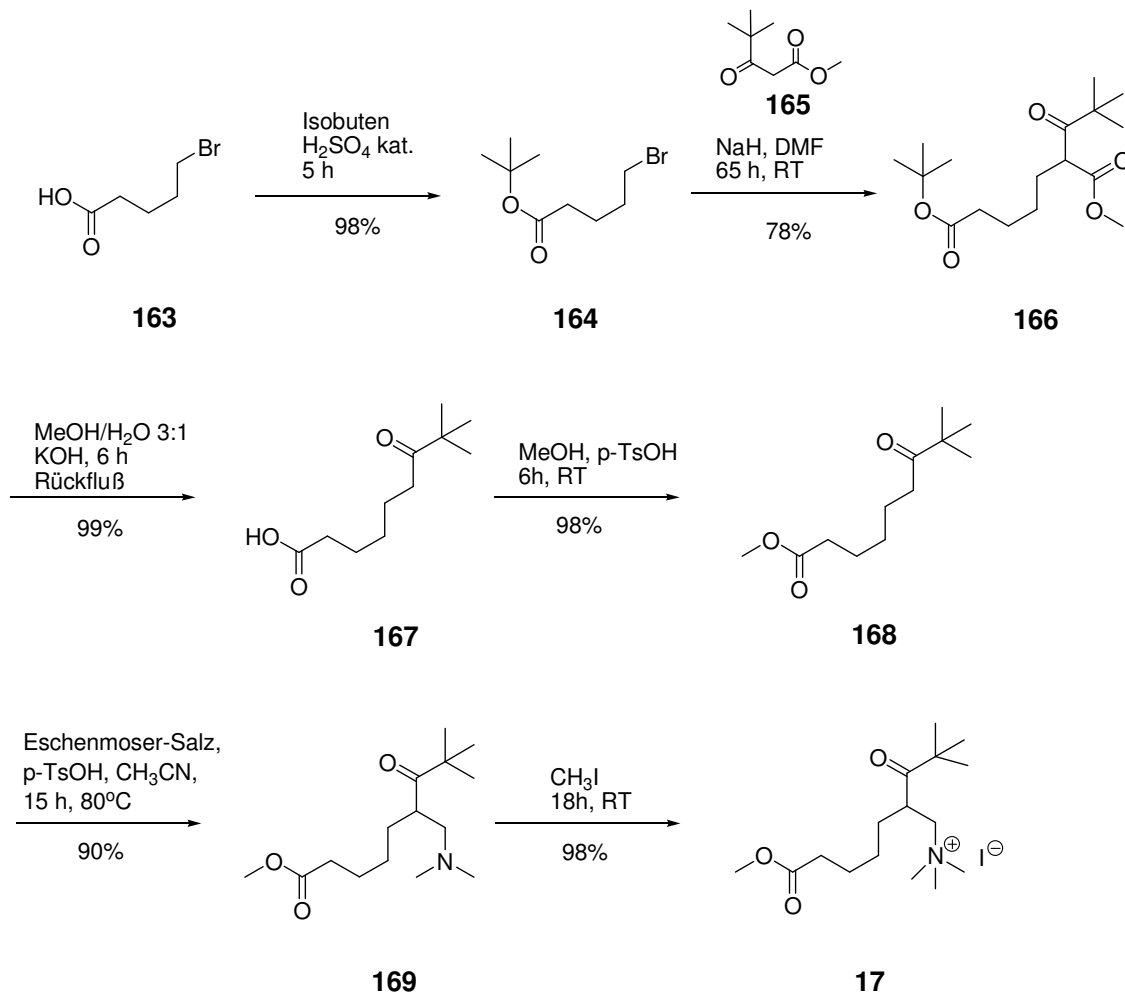
Tabelle 53: Verwendete Lewisbasen und -säuren zur nucleophilen Epoxidöffnung am Allopyranosid **162**.

Substrat	Nucleophil	Aktivierung	Lösemittel	Bedingungen	Produkt 144 (ESI-LCQ)
162	161	BF ₃ - Diethyletherat	Benzol/ DMSO	Mol.sieb, RT, 72 h	nein
162	161	BF ₃ - Diethyletherat	DMF	Mol.sieb, 60 °C, 20 h	nein
162	161	ZnCl ₂	DMSO	Mol.sieb, 80 °C, 18 h	nein
162	161	AlCl ₃	Benzol/1,2- Dichlorethan	Mol.sieb, 50 °C, 2h	nein
162	161	NaH	THF/DMSO	Mol.sieb, RT, 2h	nein
162	161	K- <i>Or</i> Bu	THF/DMSO	Mol.sieb, RT, 2h	nein
162	161	NaH	DMF	Mol.sieb, 80 °C, 16 h	nein
162	161	P4-Base	DMSO	Mol.sieb, 80 °C, 2 h	nein
162	161	KOH	DMF	RT	nein

In keinem der Ansätze konnte das gewünschte Produkt 144 mittels ESI-Massenspektrometrie nachgewiesen werden.

23 Anhang

23.1 Synthese des Pivaloyllinker-Ammoniumiodidvorläufers **17**⁵³



Schema 69: Syntheseübersicht zum Pivaloyllinker-Ammoniumiodidvorläufer **17**.

5-Bromopentansäure-*tert.*-butylester (**164**)^{140, 141}

5-Bromopentansäure (**163**) (7.05 g, 37.8 mmol) wurde in einer Druckmantelapparatur vorgelegt und mit konzentrierter Schwefelsäure (520 ml, 9.42 mmol, 0.25 eq.) sowie flüssigem Isobuten (35.0 ml, 375 mmol, 10 eq) versetzt. Dieses Reaktionsgemisch wurde während 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde in einen Scheidetrichter mit gesättigter Bicarbonatlösung (100 ml) überführt und dreimal mit Diethylether (je 100 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, sowie das Lösemittel am Vakuum entfernt. Man erhielt ohne

weitere Reinigung 8.81 g (37.1 mmol, 98 %) 5-Brompentansäure-*tert.*-butylester (**164**) als farbloses Öl.

C₉H₁₇BrO₂ (237.14):

berechnet: C 45.58, H 7.23, O 13.49;

gefunden: C 45.60, H 7.24, O 13.59.

R_f (Pentan:Diethylether = 20:1) = 0.22.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

3.41 (t, J = 6.5 Hz, 2H, H-5), 2.25 (t, J = 7.2 Hz, 2H, H-2), 1.92-1.85 (m, 2H, H-4), 1.78-1.71 (m, 2H, H-3), 1.45 (s, 9H, H-3').

¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃):

172.4 (C_q, 1C, C-1), 80.2 (C_q, 1C, C-2'), 34.4 (C_s, 1C, C-2), 33.0 (C_s, 1C, C-5), 31.9 (C_s, 1C, C-4), 28.0 (C_p, 3C, C-3'), 23.5 (C_s, 1C, C-3).

IR (NaCl):

2977, 2933, 1729, 1457, 1392, 1367, 1256, 1218, 1156, 848 cm⁻¹.

GC-MS: t_R = 13.8 min.

MS (EI):

223 (1), 221 (1), 183 (9), 181 (9), 165 (17), 163 (17), 137 (11), 135 (11), 101 (9), 57 (100), 41 (3).

2-*tert.*-Butylcarbonylheptandisäure-1-methyl-7-*tert.*-butyldiester (**166**)¹⁴²

In einem 500 ml Dreihalskolben wurde Natriumhydrid (3.00 g, 76.8 mmol, 3.0 eq) in N,N-Dimethylformamid (200 ml) suspendiert und auf -10°C abgekühlt. Nun wurde langsam 4,4-Dimethyl-3-oxo-pentansäuremethylester (**165**) (12.3 g, 76.8 mmol, 3.0 eq) zugetropft und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 30 min Rühren bei Raumtemperatur wurde auf 0°C abgekühlt und langsam eine Lösung aus 5-Brompentansäure-*tert.*-butylester (**164**) (6.07 g,

25.6 mmol) in DMF (20 ml) zugetropft. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und während 65 h nachgerührt. Die so erhaltene farblose Lösung wurde mit Wasser (200 ml) in einen Scheidetrichter überführt und dreimal mit Diethylether (je 300 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (Uetikon, 5 x 23 cm, Pentan:Diethylether im Gradienten 20:1 bis 5:1). Man erhielt 6.31 g (20.1 mmol, 78 %) 2-*tert.*-Butylcarbonylheptandisäure-1-methyl-7-*tert.*-butyldiester (**166**) als farbloses Öl.

C₁₇H₃₀O₅ (314.42):

berechnet: C 64.94, H 9.62, O 25.44

gefunden: C 65.10, H 9.65, O 25.53.

R_f (Pentan:Diethylether = 4:1) = 0.28.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

3.89 (t, J = 7.1 Hz, 1H, H-6), 3.68 (s, 3H, H-8'), 2.20 (t, J = 7.4 Hz, 2H, H-2), 1.91-1.80 (m, 1H, H-5a), 1.79-1.72 (m, 1H, H-5b), 1.59 (qu, J = 7.2 Hz, 2H, H-4), 1.44 (s, 9H, H-3'), 1.34-1.22 (m, 2H, H-3), 1.16 (s, 9H, H-9).

¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃):

209.6 (Cq, 1C, C-7), 172.8 (Cq, 1C, C-1), 169.9 (Cq, 1C, C-7'), 80.0 (Cq, 1C, C-2''), 52.2 (Ct, 1C, C-6), 52.2 (Cq, 1C, C-8'), 45.3 (Cq, 1C, C-8), 35.1 (Cs, 1C, C-2), 29.6 (Cs, 1C, C-4), 28.0 (Cp, 3C, C-3'), 27.2 (Cs, 1C, C-3), 26.1 (Cp, 3C, C-9), 24.8 (Cs, 1C, C-5).

IR (NaCl): 2973, 2870, 1731, 1709, 1479, 1458, 1435, 1392, 1367, 1255, 1224, 1157, 1097, 1052 cm⁻¹.

GC-MS: t_R = 20.9 min.

MS (EI): 258 (2), 241 (10), 227 (5), 209 (4), 201 (9), 183 (20), 174 (9), 156 (27), 128 (21), 123 (10), 101 (7), 85 (10), 69 (7), 57 (100), 41 (31).

8,8-Dimethyl-7-oxo-nonansäure (167)¹⁴³

2-*tert.*-Butylcarbonylheptandisäure-1-methyl-7-*tert.*-butyldiester (**166**) (4.30 g, 13.7 mmol) wurde in einem Methanol:Wasser 3:1-Gemisch (60 ml) gelöst und mit pulverisiertem Kaliumhydroxid (1.53 g, 27.4 mmol, 2.0 eq) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde während 6 h am Rückfluß gerührt, bevor die abgekühlte Lösung mit 1 N Salzsäure (20 ml) sauer gestellt wurde. Das Methanol wurde am Vakuum entfernt und die resultierende saure wäßrige Lösung anschließend dreimal mit Diethylether (je 50 ml) extrahiert. Vereinigte organische Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Vakuum entfernt. Man erhielt ohne weitere Reinigung 2.70 g (13.5 mmol, 99 %) 8,8-Dimethyl-7-oxo-nonansäure (**167**) als farbloses Kristallisat.

C₁₁H₂₀O₃ (200.28):

berechnet: C 65.97, H 10.07, O 23.97

gefunden: C 65.92, H 9.93, O 24.04.

Schmelzpunkt: 49° - 51° C.

R_f (Pentan:Diethylether =1:1) = 0.32.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

2.49 (t, J = 7.2 Hz, 2H, H-6), 2.36 (t, J = 7.4 Hz, 2H, H-2), 1.70-1.60 (m, 2H, H-3), 1.62-1.53 (m, 2H, H-5), 1.38-1.30 (m, 2H, H-4), 1.13 (s, 9H, H-9).

¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃):

216.0 (Cq, 1C, C-7), 179.5 (Cq, 1C, C-1), 44.1 (Cq, 1C, C-8), 36.1 (Cs, 1C, C-6), 33.8 (Cs, 1C, C-2), 28.6 (Cs, 1C, C-4), 26.3 (Cp, 3C, C-9), 24.5 (Cs, 1C, C-3), 23.4 (Cs, 1C, C-5).

IR (KBr): 3300-2500, 2968, 2938, 2870, 1715, 1698, 1478, 1429, 1413, 1368, 1345, 1302, 1264, 1240, 1200, 1100, 1059, 982, 936, 728 cm⁻¹.

GC-MS: t_R = 17.99 min.

MS (EI): 200 (8) [M⁺], 183 (13), 143 (100), 125 (56), 115 (2), 97 (15), 85 (5), 69 (13), 57 (67), 41 (12).

8,8-Dimethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (168)¹⁰³

8,8-Dimethyl-7-oxo-nonansäure (**167**) (2.79 g, 13.9 mmol) wurde in Methanol (40 ml) gelöst und mit 2 Spatelspitzen *p*-Toluolsulfonsäure versetzt. Diese Reaktionslösung wurde während 6 h bei Raumtemperatur unter Argon gerührt. Danach wurde die Lösung eingeengt und der Rückstand mit Wasser (50 ml) versetzt. Nun wurde dreimal mit Diethylether (je 50 ml) extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über Magnesiumsulfat getrocknet, sowie das Lösemittel am Vakuum entfernt. Man erhielt ohne weitere Reinigung 2.92 g (13.6 mmol, 98 %) 8,8-Dimethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**168**) als blaßgelbes Öl.

C₁₂H₂₂O₃ (214.31):

berechnet: C 67.25, H 10.35, O 22.40;

gefunden: C 67.03, H 10.42, O 22.40.

R_f (Pentan:Diethylether = 10:1) = 0.25.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

3.67 (s, 3H, H-2'), 2.48 (t, J = 7.2 Hz, 2H, H-6), 2.31 (t, J = 7.4 Hz, 2H, H-2), 1.67-1.59 (m, 2H, H-3), 1.62-1.52 (m, 2H, H-5), 1.36-1.25 (m, 2H, H-4), 1.13 (s, 9H, H-9).

¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃):

215.7 (Cq, 1C, C-7), 174.1 (Cq, 1C, C-1), 51.4 (Cp, 1C, C-2'), 44.0 (Cq, 1C, C-8), 36.1 (Cs, 1C, C-6), 33.8 (Cs, 1C, C-2), 28.7 (Cs, 1C, C-4), 26.3 (Cp, 3C, C-9), 24.7 (Cs, 1C, C-3), 23.4 (Cs, 1C, C-5).

IR (NaCl): 2953, 2868, 1740, 1705, 1478, 1463, 1437, 1366, 1256, 1199, 1172, 1099, 1060, 991 cm⁻¹.

GC-MS: t_R = 16.1 min.

MS (EI): 214 (2) [M⁺], 183 (5), 157 (55), 139 (3), 125 (100), 111 (46), 97 (37), 87 (40), 69 (63), 57 (99), 41 (61).

8,8-Dimethyl-6-N,N-dimethylaminomethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (169)^{144, 145}

8,8-Dimethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**168**) (2.58 g, 12.0 mmol) wurde in Acetonitril (100 ml) gelöst und mit N,N-Dimethylmethyleniminiumchlorid (Eschenmoser-Salz) (5.81 g, 60.2 mmol, 5.0 eq) sowie *p*-Toluolsulfonsäure (2.29 g, 12.0 mmol, 1.0 eq) während 16 h unter Argon bei 80°C gerührt. Die farblose, saure Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, mit 2 N Natronlauge (15 ml) basisch gestellt und mit Wasser (50 ml) in einen Scheidetrichter überführt. Es wurde dreimal mit Diethylether (je 150 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden einmal mit Wasser (150 ml) zurückgewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet sowie das Lösemittel am Vakuum entfernt. Man erhielt ohne weitere Reinigung 2.94 g (10.8 mmol, 90 %) 8,8-Dimethyl-6-N,N-dimethylaminomethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**169**) als gelbes Öl, welches bei 4°C auskristallisierte.

C₁₅H₂₉NO₃ (271.40):

berechnet: C 66.38, H 10.77, N 5.16, O 17.69

gefunden: C 66.32, H 10.76, N 5.32, O 17.89.

R_f (Diethylether) = 0.38.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

3.66 (s, 3H, H-2'), 3.11 (qu, J = 6.6 Hz, 1H, H-6), 2.38 (dd, J = 12.3; 6.5 Hz, 1H, H-7a'), 2.29 (t, J = 7.5 Hz, 2 H, H-2), 2.19 (dd, J = 12.2; 6.6 Hz, 1H, H-7b'), 2.18 (s, 6H, H-8'), 1.65-1.55 (m, 2H, H-3), 1.55-1.44 (m, 2H, H-5), 1.31-1.17 (m, 2H, H-4), 1.15 (s, 9H, H-9).

¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃):

218.3 (Cq, 1C, C-7), 174.0 (Cq, 1C, C-1), 62.5 (Cs, 1C, C-7'), 51.4 (Cp, 1C, C-2'), 46.0 (Cp, 2C, C-8'), 44.5 (Ct, 1C, C-6), 44.1 (Cq, 1C, C-8), 33.8 (Cs, 1C, C-2), 30.8 (Cs, 1C, C-5), 27.3 (Cs, 1C, C-4), 26.3 (Cp, 3C, C-9), 25.1 (Cs, 1C, C-3).

IR (NaCl): 2951, 2862, 2818, 2767, 1739, 1702, 1462, 1366, 1264, 1196, 1174, 1045, 982 cm⁻¹.

GC-MS: t_R = 19.1 min.

MS (EI): 271 (1) [M⁺], 256(1), 240 (1), 214 (1), 186 (1), 156 (1), 141 (1), 125 (1), 98 (1), 84 (2), 69 (1), 58 (100), 41 (5).

8,8-Dimethyl-7-oxo-6-(methyl-N,N,N-trimethylammoniumiodid)-nonansäuremethylester (17)¹⁴⁶

8,8-Dimethyl-6-N,N-dimethylaminomethyl-7-oxo-nonansäuremethylester (**169**) (2.78 g, 10.2 mmol) wurde mit Methyljodid (20 ml, 321 mmol, 31.0 eq) versetzt und während 48 h bei Raumtemperatur unter Argon gerührt. Das überschüssige Methyljodid wurde am Vakuum entfernt, wodurch ohne weitere Reinigung 4.15 g (10.0 mmol, 98 %) 8,8-Dimethyl-7-oxo-6-(methyl-N,N,N-trimethylammoniumiodid)-nonansäuremethylester (**17**) als blaßgelbes Pulver erhalten wurden.

C₁₆H₃₂INO₃ (413.34):

berechnet: C 46.49, H 7.80, N 3.39, O 11.61

gefunden: C 46.21, H 7.78, N 3.45, O 11.72.

Schmelzpunkt: 159 - 161 °C.

R_f (CH₂Cl₂:MeOH = 10:1) = 0.20.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD):

3.76 (dd, J = 13.5, 8.2 Hz, 1H, H-6), 3.34 (s, 3H, H-2'), 3.01 (d, J = 13.4 Hz, 1H, H-7a'), 2.98 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H-7b'), 2.82 (s, 9H, H-8'), 2.06 (t, J = 7.3 Hz, 2H, H-2), 1.45-1.27 (m, 4H, H-3 und H-5), 1.16-1.08 (m, 2H, H-4), 0.97 (s, 9H, H-9).

¹³C-NMR (100.1 MHz, CD₃OD):

216.6 (Cq, 1C, C-7), 176.4 (Cq, 1C, C-1), 68.1 (Cs, 1C, C-7'), 55.4 (Cp, 3C, C-8'), 52.9 (Cp, 1C, C-2'), 46.5 (Ct, 1C, C-6), 43.3 (Cq, 1C, C-8), 35.1 (Cs, 1C, C-2), 33.1 (Cs, 1C, C-5), 28.9 (Cp, 3C, C-9), 27.7 (Cs, 1C, C-4), 26.5 (Cs, 1C, C-3).

IR (KBr): 3000, 2952, 2940, 2865, 1734, 1699, 1479, 1459, 1438, 1403, 1368, 1302, 1288, 1198, 1180, 1157, 1134, 971, 957 cm⁻¹.

MS (FAB): 286 (100) [M-I]⁺, 200 (5), 69 (5), 57 (29), 43 (12), 41 (11).

23.2 Synthese nichtkommerzieller Reagenzien

5-Brompentansäure-methylester¹⁰³

5-Brom-pentansäure (50.0 g, 0.28 mol) wurde in Methanol (250 ml) gelöst und bei Raumtemperatur unter Zusatz von 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat 4h gerührt. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das erhaltene gelbe Öl mit Diethylether (200 ml) verdünnt. Es wurde nacheinander mit gesättigten Lösungen von Natriumhydrogencarbonat (2 x 100 ml) und Natriumchlorid (1 x 100 ml) ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat wurde der Diethylether am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhielt 5-Brompentansäure-methylester (52 g, 0.27 mol, 96 %) als farblose Flüssigkeit, die ohne weitere Reinigung verwendet wurde.

C₆H₁₁BrO₂ (195.05).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ/ppm):

3.67 (s, 3H, OCH₃); 3.41 (t, J=6.5, 2H, CH₂CO₂Me); 2.35 (t, J=7.3, 2H, BrCH₂), 1.93-1.86 (m, 2H, CH₂CH₂CO₂Me); 1.83-1.74 (m, 2H, BrCH₂CH₂).

GC/MS (HP 1, Programm 1): *t*_R = 13.2 min.

MS (EI, m/z): 196 (< 1), 194 (< 1), 137, 135, 115, 87, 55 (100).

Dess-Martin-Periodinan 1,1,1-Triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-on

A) 1-Hydroxy-1,2-benziodoxol-3(1H)-on¹¹²

2-Iodbenzoesäure (170 g, 0.69 mol) wurde in einem Sulfierkolben mit mechanischem Rührer in wässriger Schwefelsäure (0.73M, 1460 ml) suspendiert und auf 50°C erwärmt. Während 15 min setzte man Kaliumbromat (152 g, 0.91 mol, 1.3 eq.) zu. Unter Durchleitung eines

kontinuierlichen Stickstoffstroms wurde der Ansatz 4h bei 70°C gerührt. Anschließend wurde auf 8°C abgekühlt und der ausgefallene weiße Feststoff abfiltriert. Nach dem Waschen mit Wasser (1000 ml), (2 x 100 ml) und Trocknen im Vakuum bei Raumtemperatur erhielt man 1-Hydroxy-1,2-benziodoxol-3(1H)-on (178g, 0.64 mol, 93 %) ohne weitere Reinigung als feines weißes Pulver.

$C_7H_5IO_4$ (280.01).

B) 1,1,1-Triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-on¹⁴⁷

1-Hydroxy-1,2-benziodoxol-3(1H)-on (178g, 0.64 mol) wurde in Acetanhydrid (800 ml) suspendiert und nach Zusatz von 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat (1.0 g, 0.05 mol, 0.8 mol %) 2h bei 80°C gerührt. Die entstandene gelbgrüne Lösung wurde auf 0°C abgekühlt und der ausgefallene farblose Niederschlag unter Stickstoffatmosphäre abfiltriert. Es wurde mit Diethylether (600 ml) gewaschen und im Stickstoffstrom getrocknet. Man erhielt 1,1,1-Triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-on (195 g, 0.46 mol, 72 %) als weißes Pulver.

$C_{13}H_{13}IO_8$ (424.14).

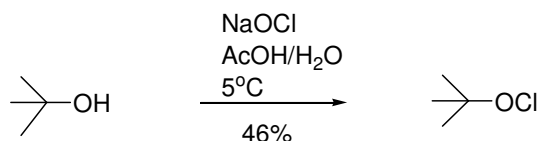
2,2-Dimethyldioxiran (DMD)¹⁴⁸

Natriumhydrogencarbonat (120 g, 1.43 mol) wurde in einem 4l-Sulfierkolben mit mechanischem Rührer, Destillationsbrücke und stickstoffgekühlter Vorlage in einem Gemisch aus Wasser (500 ml) und Aceton (400 ml) suspendiert. Mit einer Membranpumpe wurde ein Innendruck von 600 mbar eingestellt. Kaliummonopersulfat-Tripelsalz (240 g, 0.39 mol) wurde mit Hilfe eines verschließbaren Pulvertrichters portionenweise bei Raumtemperatur zugesetzt, wobei das Reaktionsgemisch stark aufschäumte und 2,2-Dimethyldioxiran in der Vorlage kondensierte. Nachdem die erste heftige Reaktion abgeklungen war, wurde der Ansatz auf 40°C erwärmt und der Druck auf 400 mbar erniedrigt. Es wurden insgesamt 300 ml eines 2,2-Dimethyldioxiran-Aceton Gemisches abdestilliert.

Die erhaltene gelbe Lösung wurde umgehend zur Epoxidierung eingesetzt. Eine Lagerung während 2 Tagen bei -18°C war möglich.

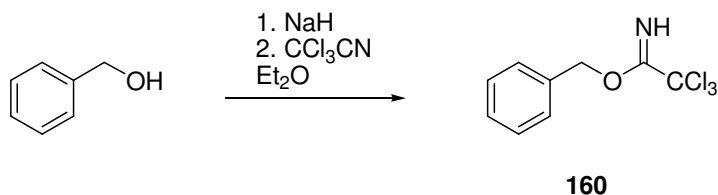
Der photometrisch bestimmte Gehalt an DMD betrug 0.05 molL^{-1} ($\lambda=330 \text{ nm}$, $\epsilon=14.86$).

tert.-Butylhypochlorit¹⁴⁹



In einem 1l-Sulfierkolben mit mechanischem Rührer wurde eine 6 %ige wäßrige Natriumhypochloritlösung (500 ml, 0.400 mol, 1.0 eq.) auf 5° C abgekühlt. Unter kräftigem Rühren und Lichtausschluß wurde ein Gemisch aus *t*-Butanol (37.0 ml, 0.390 mol, 1.0 eq.) und Eisessig (24.5 ml, 0.430 mol, 1.1 eq.) während 30 min zugetropft. Die Temperatur wurde stets unter 10° C gehalten. Nach weiteren 5 min Rührens wurde die gebildete gelbe organische Phase abgetrennt und mit 10 %iger Natriumhydrogencarbonatlösung (50 ml) und Wasser (50 ml) gewaschen. Das gelbe Öl (19.4 g, 179 mmol, 46 %) wurde über Calciumchlorid getrocknet, filtriert und über Calciumchlorid unter Lichtausschluß bei -20° C aufbewahrt.

Benzyltrichloracetimidat (160)¹³⁷



Benzylalkohol (22.9 g, 220 mmol) wurde mit Diethylether (30 ml) verdünnt und zu einer Suspension von Natriumhydrid (1.00 g, 21 mol, 0.1 eq.) getropft. Zu dieser farblosen Lösung wurde während 15 min bei 0°C eine Trichloracetonitril (20.0 ml, 200 mmol, 0.9 eq.) getropft, wobei eine braune Lösung entstand. Der Reaktionsansatz wurde 60 min bei Raumtemperatur gerührt, anschließend mit Pentan (200 ml) und Methanol (0.8 ml) versetzt und über Celite filtriert. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer eingedunstet. Man erhielt Benzyltrichloracetimidat (**160**) (52.3 g, 207 mmol, 94 %) als gelbes Öl, das ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt wurde.

C₉H₈NOCl₃ (252.52).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

8.39 (s, 1H, NH); 7.45-7.33 (m, 5H, arom.); 5.35 (s, 2H, CH₂).

MS (ESI-LCQ, m/z): 253 (M+H⁺, 100).

23.3 Quantifizierung mittels HPLC und Gaschromatographie

23.3.1 Bestimmung der Ausbeuten mithilfe relativer Flächenfaktoren¹⁵⁰

Die in dieser Arbeit genannten Ausbeuten der Photolysenprodukte (im folgenden **P**) wurden unmittelbar aus den Chromatogrammen mit den entsprechenden Flächenfaktoren **F_P** in bezug auf einen zugesetzten internen Standard **IS** bestimmt. Die Identifizierung der jeweiligen Produkte **P** erfolgte durch Koinjektion der betreffenden unabhängig synthetisierten oder kommerziell erhältlichen Referenzverbindungen **P**.

Der Flächenfaktor **F_P** der jeweiligen Verbindung **P** wurde nach der folgenden Gleichung aus den genauen Einwaagen der authentischen Referenzverbindung **P** und des Standards **IS** sowie den aus dem Chromatogramm erhaltenen integrierten Flächen in Prozenten berechnet:

$$\mathbf{F_P} = \frac{\text{Einwaage P [mmol]} \cdot \mathbf{IS} [\text{Flächen- \%}]}{\text{Einwaage IS [mmol]} \cdot \mathbf{P} [\text{Flächen- \%}]}$$

Die Flächenfaktoren **F_P** wurden nach Ermittlung der Kalibriergeraden durch das arithmetische Mittel mehrerer Einwaagen und wiederholter Injektionen unterschiedlicher Konzentration der jeweiligen Verbindung **P** mit dem Standard **IS** berechnet.

Aus den so erhaltenen Flächenfaktoren **F_P**, der Einwaage des internen Standards **IS** und den integrierten Flächen von Produkt **P** und Standard **IS** im Chromatogramm der untersuchten Probe ließ sich die Ausbeute der Verbindung **P** direkt ermitteln:

$$\text{Ausbeute } \mathbf{P} \text{ [mmol]} = \mathbf{F_P} \cdot \frac{\text{Einwaage } \mathbf{IS} \text{ [mmol]} \cdot \mathbf{P} \text{ [Flächen- \%]}}{\mathbf{IS} \text{ [Flächen- \%]}}$$

Division der so ermittelten Ausbeute durch die Einwaage des Edukts ergab die in den Resultaten der Untersuchungen genannte Ausbeute der jeweiligen Verbindung **P** in Prozenten.

24 Literaturverzeichnis

- ¹ H.-J. Böhm, G. Klebe, H. Kubinyi, *Wirkstoffdesign – Der Weg zum Arzneimittel*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **1996**.
- ² K. Frobel, T. Krämer, *Chemie in unserer Zeit*, **1996** 30, 270.
- ³ W.F. Maier, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 1294.
- ⁴ F. Balkenhohl, C. Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2437.
- ⁵ G. Jung, *Combinatorial Peptide and Non Peptide Libraries – A Handbook*, VCH, Weinheim, **1994**.
- ⁶ B. Dörner, R. Steinhauer, P. White, *Chimia* **1999**, 53,11.
- ⁷ R.B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149.
- ⁸ R.L. Letsinger, V. Mahadeva, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 87, 3526.
- ⁹ E. Bayer, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 117.
- ¹⁰ W. Rapp in *Combinatorial Chemistry*, Wiley & Sons, New York, **1997**.
- ¹¹ H.B. Lee, S. Balasubramaniam, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 3454.
- ¹² A. Svensson, T. Fex, J. Kihlberg, *J. Comb. Chem.* **2000**, 2, 736.
- ¹³ E.E. Swayze, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8643.
- ¹⁴ C.R. Johnson, B.R. Zhang, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 9253
- ¹⁵ W. Rapp in *Combinatorial Peptide and Nonpeptide Libraries* (Hrsg. G. Jung), VCH, Weinheim, **1996**.
- ¹⁶ B. Yan, H. Yan, *J. Comb. Chem.* **2001**, 3, 78.
- ¹⁷ M.R. Carrasco, M.C. Fitzgerald, Y. Oda, S.B.H. Kent, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 6331.
- ¹⁸ E. Kaiser, R.L. Colescott, C.D. Bossinger, P.I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, 34, 595.
- ¹⁹ A. Oded, R.A. Houghten, *Pept. Res.* **1990**, 3, 42.
- ²⁰ a) J.D. Fontenot, J.M. Miller, M.A. David, R.C. Montelaro, *Pept. Res.* **1991**, 4, 19;
b) Novabiochem, *Catalog*, **2000/2001**.
- ²¹ B.R. Stranix, J.P. Gao, R. Barghi, J. Salha, G.D. Darling, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 8987.
- ²² I.W. James, *Tetrahedron* **1999**, 55, 4855.
- ²³ C. Watson, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 2025.
- ²⁴ B. Bury, *Dissertation*, Universität Basel, **2002**.
- ²⁵ J.R. Horton, L.M. Stamp, A. Routledge, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 9181.

- ²⁶ F. Guillier, D. Orain, M. Bradley, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2091.
- ²⁷ S. Peukert, *Dissertation*, Universität Basel, **1998**.
- ²⁸ a) G. Barany, R.B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 7363.
b) G. Barany, R.B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 3084.
c) T.W. Greene, P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3. Aufl., Wiley, New York, **1999**.
d) M. Schelhaas, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2192.
- ²⁹ a) C.G. Bochet, *Synlett* **2004**, *13*, 2268.
b) A. Blanc, C.G. Bochet, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5567.
- ³⁰ P. Lloyd-Williams, F. Albericio, E. Giralt, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 11065.
- ³¹ W. Denk, J.H. Strickler, W.W. Webb, *Science* **1990**, *248*, 73.
- ³² S.P.A. Fodor, J.L. Read, M.C. Pirrung, L. Stryer, A.T. Lu, D. Solas, *Science* **1991**, *251*, 767.
- ³³ S.T. Flickinger, M. Patel, B.F. Binkowski, A.M. Lowe, M.H. Li, C. Kim, F. Cerrina, P.J. Belshaw, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2357.
- ³⁴ S. Namiki, F. Kaneda, M. Ikegami, T. Arai, K. Fujimori, S. Asada, H. Hama, Y. Kasuya, K. Goto, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1695.
- ³⁵ S. R. Adams, R. Y. Tsien, *Annu. Rev. Physiol.* **1993**, *55*, 755.
- ³⁶ G. Marriott (Ed.), *Methods Enzymol.* **1998**, 291.
- ³⁷ J. E. T. Corrie, D. R. Trentham in *Bioorganic Photochemistry Vol. 2: Biological Applications of Photochemical Switches*, H. Morrison (Ed.), Wiley-Verlag, **1993**, 243.
- ³⁸ A. Herrmann, C. Debonneville, V. Laubscher, L. Aymard, *Flavour Fragr. J.* **2000**, *15*, 415.
- ³⁹ J. W. Walker, G. P. Reid, J. A. McCray, D. R. Trentham, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7170.
- ⁴⁰ A. Patchornik, B. Amit, R.B. Woodward, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 6333.
- ⁴¹ D.L. Whitehouse, S.N. Savinov, D.J. Austin, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *36*, 7851.
- ⁴² M. Rubinstein, B. Amit, A. Patchornik, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *17*, 1445.
- ⁴³ H. Venkatesan, M.M. Greenberg, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 525
- ⁴⁴ D.L. McMinn, M.M. Greenberg, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 3827.
- ⁴⁵ C.P. Holmes, D.G. Jones, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2318.
- ⁴⁶ U. Zehavi, A. Patchornik, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2285.
- ⁴⁷ C. Sheehan, R.M. Wilson, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 5277.
- ⁴⁸ Routledge, C. Abell, S. Balasubramaniam, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1227.

- ⁴⁹ R.O. Schönleber, *Diplomarbeit*, Universität Basel, **1998**.
- ⁵⁰ S.N. Müller, R. Batra, M. Senn, B. Giese, M. Kisel, O. Shadyro, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2795.
- ⁵¹ S. Peukert, B. Giese, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9045.
- ⁵² S. Peukert, *Dissertation*, Universität Basel, **1998**.
- ⁵³ R. Glatthar, B. Giese, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2315.
- ⁵⁴ R. Glatthar, *Dissertation*, Universität Basel, **2000**.
- ⁵⁵ F. Zaragoza Dörwald, *Organic Synthesis on Solid Support*, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**.
- ⁵⁶ A.P. Beracierta, D.A. Whiting, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1978**, 1257.
- ⁵⁷ M. Schröder, *Chem. Rev.* **1980**, *80*, 187.
- ⁵⁸ E.J. Corey, A. Venkateswarlu, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 6190, (1972).
- ⁵⁹ a) E.J. Corey, I. Szekely, C.S. Shriver, *Tetrahedron Lett.*, 3527, **1977**.
b) W.K.-D. Brill, A. DeMesmaeker, S. Wendeborn, *Synlett* **1998**, 1085.
- ⁶⁰ P.W. Murray, D.L. Shiang, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1990**, 349.
- ⁶¹ G. Li, H.H. Angert, K.B. Sharpless, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2995.
- ⁶² P. O'Brien, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 339.
- ⁶³ Advanced ChemTech, *Handbook of Combinatorial & Solid Phase Chemistry*, **1999**.
- ⁶⁴ M.C. Pirrung, S.W. Shuey, D.C. Lever, L. Fallon, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1345.
- ⁶⁵ R.S. Lott, V.S. Chauhan, C.H. Stammer, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1979**, 495.
- ⁶⁶ C.G. Bochet, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6341.
- ⁶⁷ C.G. Bochet, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2140.
- ⁶⁸ T. Shiori, T. Aoyama, S. Mori, *Org. Synth.* **1990**, *68*, 1.
- ⁶⁹ M. Kessler, R. Glatthar, B. Giese, C.G. Bochet, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1179.
- ⁷⁰ W. Kern, G. Spittler, *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 1168.
- ⁷¹ a) H. Dugas, *Bioorganic Chemistry*, 3rd Ed., Springer New York, **1996**.
b) E. Mutschler, *Arzneimittelwirkungen*, 5. Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **1986**.
c) H.Y. Meltzer (Ed.), *Psychopharmacology, The Third Generation of Progress*, Raven Press, New York, **1987**.
- ⁷² J. Hughes, T.W. Smith, H.W. Kosterlitz, L.A. Fothergill, B.A. Morgan, H.R. Morris, *Nature* **1975**, *258*, 577.
- ⁷³ D. D'Addona, C.G. Bochet, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5227.
- ⁷⁴ H. Waldmann, H. Kunz, *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 1712.

- ⁷⁵ Novabiochem, *Catalog*, **2002/2003**.
- ⁷⁶ A.M. Felix, E.P. Heimer, T.J. Lambros, C. Tzougraki, J. Meienhofer, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4194.
- ⁷⁷ S.Y. Reece, M.R. Seyedsayamdost, J. Stubbe, D.G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8500; Y. Bu, R. I. Cukier, *J. Phys. Chem.B* **2005**, *109*, 22013.
- ⁷⁸ H. Kamogawa, et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1983**, *56*, 762.
- ⁷⁹ M. Ladlow, C.H. Legge, T. Neudeck, A.J. Pipe, T. Sheppard, L.L. Yang, *Chem. Comm.* **2003**, 2048.
- ⁸⁰ A. del Campo, D. Boos, H.W. Spiess, U. Jonas, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4707.
- ⁸¹ a) S. Esener, D. Hartmann, S. Güncer, C. Fan, M. Heller, J. Cable, *Proc. Spatial Light Modulators. Topical Meeting. OSA Trends in Optics and Photonics Series* **1997**, *14*, 65.
b) L. M. Demers, S.-J. Park, T. A. Taton, Z. Li, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3161.
c) R. Bashir, *Superlattices Microstruct.* **2001**, *29*, 1.
- ⁸² H. Kirchner, A. Kruse, P. Neustock, L. Rink, *Cytokine und Interferone: Botenstoffe des Immunsystems*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **1994**.
- ⁸³ L.J. Stern, J.H. Brown, T.S. Jardetzky, J.C. Gorga, R.G. Urban, J.L. Strominger, D.C. Wiley, *Nature* **1994**, *368*, 215.
- ⁸⁴ a) K. Falk, O. Röttschke, S. Stevanovic, G. Jung, H.-G. Rammensee, *Nature* **1991**, *351*, 290.
b) D.F. Hunt *et al.* *Science*, **1992**, *255*, 1261.
c) T.S. Jardetzky, W.S. Lane, R.A. Robinson, D.R. Madden, *Nature* **1991**, *253*, 326.
- ⁸⁵ P.J. Bjorkman, M.A. Saper, B. Samraoui, W.S. Bennett, J.L. Strominger, D.C. Wiley, *Nature* **1987**, *329*, 506.
- ⁸⁶ M.R. Chicz *et al.*, *Nature* **1992**, *356*, 764.
- ⁸⁷ J.H. Brown, T.S. Jardetzky, J.C. Gorga, L.J. Stern, R.G. Urban, J.L. Strominger, D.C. Wiley, *Nature* **1993**, *364*, 33.
- ⁸⁸ A.K.N. Iversen *et al.*, *Nature Immunology* **2006**, *7*, 179.
- ⁸⁹ C.B. Moore *et al.*, *Science* **2002**, *296*, 1439.
- ⁹⁰ M. Altfeld *et al.*, *J. Virol.* **2005**, *79*, 5000.
- ⁹¹ V. Cerundolo, A.G.D. Tse, R.D. Salter, P. Parham, A. Townsend, *Proc. R. Soc.* **1991**, *244*, 169.
- ⁹² M.L. Silver, H.-C. Guo, J.L. Strominger, D.C. Wiley, *Nature* **1992**, *360*, 367.

- ⁹³ L.J. Ausubel, K.C. O'Connor, C. Baecher-Allen, C. Trollmo, B. Kessler, B. Hekking, D. Merritt, A.L. Meyer, B. Kwok, H. Ploegh, B.T. Huber, D.A. Hafler, *Clinical Immunology* **2005**, *115*, 313.
- ⁹⁴ A.C. Steere, *N. Engl. J. Med.* **1989**, *321*, 586.
- ⁹⁵ B. Kessler, Harvard Medical School, Boston, *persönliche Mitteilung*.
- ⁹⁶ M. Kümin, K. Koch, Universität Basel, *persönliche Mitteilung*.
- ⁹⁷ H. Du, M.K. Boyd, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6645.
- ⁹⁸ R. O. Schönleber, B. Giese, *Synlett* **2003**, *4*, 501.
- ⁹⁹ D. Enders, C. Rijksen, E. Bremus-Köbberling, A. Gillner, J. Köbberling, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2839.
- ¹⁰⁰ A. Vidal-Ferran, N. Bampos, A. Moyano, M.A. Pericàs, A. Riera, and J.K. M. Sanders, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6309
- ¹⁰¹ C.P. Holmes, D.G. Jones, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2318.
- ¹⁰² S.M. Sternson, S.L. Schreiber, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7451.
- ¹⁰³ Autorenkollektiv, *Organikum*, 3. Aufl., Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1993**.
- ¹⁰⁴ R.C. Sheppard, E. Atherton, *Solid Phase Peptide Synthesis*, IRL Press, **1989**.
- ¹⁰⁵ L.F. Tietze, C. Schneider, A. Grote, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 139.
- ¹⁰⁶ L.A. Carpino, G.Y. Han, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3405.
- ¹⁰⁷ S. Müller, *Dissertation*, Universität Basel, **1996**.
- ¹⁰⁸ a) J. March, *Advanced Organic Chemistry*, 3rd Ed., Wiley, New York, **1985**.
b) H. Perst, *Oxonium Ions*, Verlag Chemie, Weinheim, **1971**.
- ¹⁰⁹ J.T. Adams, C.R. Hauser, *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 1220.
- ¹¹⁰ J.J. Bloomfield, *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 4112.
- ¹¹¹ E. Winterfeldt, *Synthesis* **1975**, 617.
- ¹¹² a) D.B. Dess, J.C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155.
b) D.B. Dess, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277.
- ¹¹³ H. Terasawa, M. Sugimori, A. Ejima, H. Tagawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **1989**, *37*, 3382.
- ¹¹⁴ P.C.B. Page, M.J. McKenzie, D.R. Buckle, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 14573.
- ¹¹⁵ H.A. Staab, *Angew. Chem.* **1962**, *74*, 407.
- ¹¹⁶ W.D. Emmons, A.S. Pagano, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 89.
- ¹¹⁷ M. Tanabe et al., *Org. Synth. Coll. Vol.* **1990**, *VII*, 386.
- ¹¹⁸ A. Bouzide, G. Sauvé, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5945 (1997).

- ¹¹⁹ B.H. Lipshutz, J.C. Barton, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 4495.
- ¹²⁰ K. Kulicke, Universität Basel, *persönliche Mitteilung*.
- ¹²¹ R. Merenyi, Z. Janousek, H.G. Viehe, *Substituent Effects in Radical Chemistry*, Reidel, Dordrecht, **1986**.
- ¹²² S. Ivan, Universität Basel, *persönliche Mitteilung*.
- ¹²³ K.C. Nicolaou, N. Watanabe, J. Li, J. Pastor, N. Winssinger, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1631.
- ¹²⁴ C.G. Bochet, S.L. Mercier, *Chimia* **2006**, *60*, 452.
- ¹²⁵ S.K. Chandhari, O. Hernandez, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 95.
- ¹²⁶ 1. A. Fukuzawa, H. Sato, T. Masamune, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4303.
- ¹²⁷ 2. M. Septak, *Nucleic Acids Research* **1996**, *15*, 3053.
- ¹²⁸ A. Fürst, F. Koller, *Helv. Chim. Acta* **1947**, *30*, 1454.
- ¹²⁹ L.S. Jeong, R.F. Schinazi, J.W. Beach, H.O. Kim, K. Shanmuganathan, S. Nampalli, M.W. Chun, W. K. Chung, B.G. Choi, C.K. Chu, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2627.
- ¹³⁰ D.C.M. Kong, M. von Itzstein, *Carbohydrate Research* **1998**, *305*, 323.
- ¹³¹ A. Yusufoglu, S. Antons, H.D. Scharf, *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 1119.
- ¹³² Ault, R. N.; Haworth, W. N.; Hirst, E. L. *J. Chem. Soc.* **1935**, 1012.
- ¹³³ G.J. Boons, G.H. Castle, J.A. Clase, P. Grice, S.V. Ley, and C. Pinel, *Synlett* **1993**, 913.
- ¹³⁴ D.B. Dess, J.C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155; D.B. Dess, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277 .
- ¹³⁵ Eis, M. J.; Ganem, B. *Carbohydr. Res.* **1988**, *176*, 316.
- ¹³⁶ Y. Leblanc, B.J. Fitzsimmons, J. Adams, F. Perez, J. Rokach, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 789.
- ¹³⁷ H.-P. Wessel, T. Iversen, D.R. Bundle, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1985**, 2247.
- ¹³⁸ R. Schwesinger, H. Schlemper, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 1212.
- ¹³⁹ S.N.H. Kazmi, Z. Ahmad, A. Malik, *J. Chem. Res.* **1992**, 124.
- ¹⁴⁰ S. Pavlov, M. Bogavac, V. Arsenijevic, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1974**, 2985-2986.
- ¹⁴¹ J.-P. Laurent, B. Morvan, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1993**, 2141-2145.
- ¹⁴² K.F. Bernardy, J.F. Poletto, J. Nocera, P. Miranda, R.E. Schaub, M.J. Weiss, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 4702.
- ¹⁴³ E. Boscone, P. Farina, G. Guazzi, S. Innocenti, V. Mariotta, *Synthesis*, **1983**, *11*, 942.
- ¹⁴⁴ M. Arend, B. Westermann, N. Risch, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1096.
- ¹⁴⁵ M. Kinoshita, S. Umezawa, *Bull. Soc. Chem. Jpn.* **1960**, *33*, 1075.
- ¹⁴⁶ A.P. Beracierta, D.A. Whiting, *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1978**, 1257.

- ¹⁴⁷ R.E. Ireland, L. Liu, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 2899.
- ¹⁴⁸ W. Adam, J. Bialos, L. Hadjiarapoglon, *Chem. Ber.* **1991**, 124, 2377; R.W. Murray, M. Singh, *Org. Synth. Coll. Vol. 9*, **1998**, 288.
- ¹⁴⁹ M.J. Mintz, C. Walling, *Org. Synth. Coll. Vol. V*, **1983**, 183.
- ¹⁵⁰ M. Senn, *Dissertation 1996*, Universität Basel.