

Universität Dortmund

Fachbereich Chemie

Diplomarbeit

**Untersuchungen zur Synthese des nordwestlichen
Teils von Nosiheptid**

Martin Mikyna

Dortmund, 15.02.2006

Betreut durch Dr. Hans-Dieter Arndt

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Hans-Dieter Arndt für die interessante Aufgabenstellung, für seine intensive Betreuung und seine Hilfe bei allen großen und kleinen Problemen die während der Arbeit aufgetaucht sind.

Bei Herrn PD Dr. Bernd Plietker bedanke ich mich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Waldmann für die Ermöglichung der Arbeit in den Laboratorien des Max-Planck-Institutes.

Allen Mitglieder des Arbeitskreises Arndt und der Arbeitsgruppe Waldmann danke ich für ihre Geduld, für die interessanten chemischen Diskussionen und ihre Hilfe bei allen Hindernissen im Laboralltag; mein Dank gilt insbesondere Matthias Riedrich für seine menschliche Art und für das Verbessern der orthographischen und stilistischen Mängel dieser Arbeit.

Meinen Kommilitonen, mit denen ich so einiges im und neben dem Studium erlebt habe, sei vor allem für das Verstehen und die Einführung in den Dortmunder Menschengeschlag gedankt.

Schließlich möchte ich meinen Eltern und meiner Schwester Petra für die Unterstützung in allen Belangen des Studiums und für ihr stetes Interesse am Fortkommen meines Studiums danken.

Linda, ich danke Dir für Deine nie nachlassende Unterstützung, Deine Geduld, wenn es wieder mal später wurde und dass Du mich immer wieder aufgebaut hast, wenn meine Motivation nicht mehr ausgereicht hat.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|------------|---|-----------|
| 1. | Einleitung und Zielsetzung | 1 |
| 2. | Retrosynthetische Analyse | 5 |
| 3. | Synthese und Methoden | 8 |
| 3.1 | Synthese von <i>N</i>-Boc-(2<i>S</i>,4<i>S</i>)-4-(tert-Butyl-dimethylsilyloxy)-pyrrolidin-5-on-2-carbonsäure (11) | 8 |
| 3.1.1 | Syntheseroute zur Darstellung von <i>N</i> -Boc-(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(tert-Butyl-dimethylsilyloxy)-pyrrolidin-5-on-2-carbonsäure 11 unter Verwendung eines differenzierten Methyl-, Benylesters 36 | 9 |
| 3.1.2 | Syntheseroute zur Darstellung von <i>N</i> -Boc-(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(tert-Butyl-dimethylsilyloxy)-pyrrolidin-5-on-2-carbonsäure 11 unter Verwendung eines differenzierten 2,2,2-Trichloroethyl-, Benylesters 12 | 19 |
| 3.2 | Thiazolsynthese | 23 |
| 3.2.1 | Synthese von Methyl-(<i>N</i> -Boc-(1 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-(((tert-Butyl-dimethylsilyloxy)propyl)-(benzyloxy)carbonyl))thiazol-4-carboxylat 5 | 28 |
| 3.3 | Untersuchungen zur Eliminierung beim Azidotransfer in Cystin | 30 |
| 4. | Zusammenfassung | 35 |
| 4.1 | Zusammenfassung der Ergebnisse | 35 |
| 4.2 | Ausblick | 37 |
| 5 | Experimenteller Teil | 39 |
| 5.1 | Allgemeine experimentelle Bedingungen | 39 |
| 5.1.1 | Eingesetzte Lösungsmittel | 39 |
| 5.1.2 | Verwendete Reagenzien | 39 |
| 5.1.3 | Schutzgasarbeiten | 39 |
| 5.1.4 | Chromatographie | 40 |
| 5.1.5 | Charakterisierung | 40 |
| 5.2 | Synthese der Substanzen | 42 |
| 5.2.1 | Synthese des Thiazols 5 | 42 |
| 5.2.2 | Synthese von Cystinderivaten für die selektive Darstellung von Dehydroazidoalanin 85 | 65 |

Abkürzungsverzeichnis

Literaturverzeichnis

1. Einleitung und Zielsetzung

Die fortschreitende Entwicklung von Resistenzen in pathogenen Bakterienstämmen gegenüber etablierten Antibiotika macht es erforderlich, die Suche nach neuen Wirkstoffen fortzusetzen. Die Forschung auf diesem Gebiet stellt einerseits eine Herausforderung an medizinische Chemiker, Biochemiker und Biologen dar, die Resistenzmechanismen durch computerchemische, kristallographische u.a. Methoden aufzuklären, Sackgassen bei der aktuellen Wirkstoffsuche aufzuzeigen und, darauf basierend, neue potentielle, biologische Targets zu finden. Andererseits stellt dieser Prozess den synthetisch arbeitenden, organischen Chemiker vor die Aufgabe, die aus der oben genannten Arbeit hervorgegangenen Verbindungen zu synthetisieren. Es müssen möglichst, effiziente Methoden ausgearbeitet werden, diese Moleküle darzustellen, und auch zu modifizieren, um deren pharmakologische Wirksamkeit zu erhöhen. Dieser Forschungsansatz wird besonders wichtig, wenn man die Tatsache betrachtet, dass die überwiegende Zahl der Antibiotika, die in den vergangenen Jahrzehnten auf den Markt kamen, Naturstoffe darstellen bzw. sich von Naturstoffen ableiten.^[1] Die Komplexität vieler Naturstoffe ist dabei besonders geeignet die Erforschung neuer Methoden vor allem auf dem Gebiet der Heterozyklenchemie und der stereoselektiven Synthese zu stimulieren.

Ein Vertreter einer in den vergangenen Jahren in den Fokus der Forschung gerückten Substanzklasse, der Thiopeptide oder Thiazolylpeptide, ist das Nosiheptid **1** (Abb. 1).

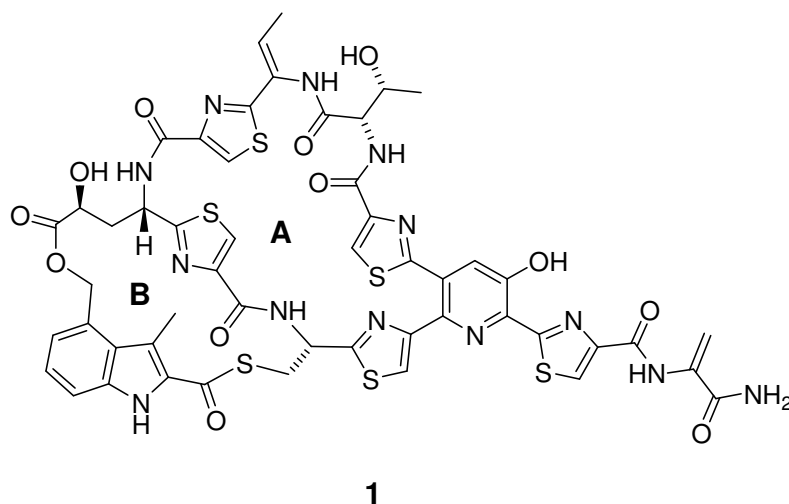


Abb. 1: Struktur von Nosiheptid 1.

Wie man aus dem Namen der Substanzklasse ableiten kann, beinhalten diese schwefelhaltigen Substanzen diverse Heterozyklen, wie Thiazol-, Oxazol-, sowie Pyridin- und Indoleinheiten. Ein weiteres Merkmal sind Dehydroaminosäurefragmente. Nosiheptid **1** ist eines der am längsten bekannten Thiopeptide und wurde zum ersten Mal aus *Streptomyces actuosus* 40037 isoliert.^[2] Seine Struktur wurde 1977 kristallographisch von Pascard et al. gelöst.^[3] Das Molekül weist fünf Thiazol-, ein 2,3,4-substituiertes Indol, ein 2,3,6-substituiertes Hydroxypyridin, sowie zwei Dehydropeptideinheiten auf, die in Form zweier Makrozyklen miteinander verknüpft sind. Nosiheptid **1** ist einer der kleinsten Vertreter der Thiopeptide, die eine hohe antibiotische Wirkung gegenüber gram-positiven Bakterien des Stammes *S. aureus* ATCC 6538 P (MIC 0.9 ng/ml)^[2] besitzen und wurde aus diesen Gründen auch als Futterzusatz in der Schweine- und Hühnermast eingesetzt.^[4]

Die genauen Kenntnisse über die Wirkmechanismen der Thiopeptide beschränken sich weitestgehend auf die Verbindungen Thiostrepton, Micrococcin und Nocathiacin. Nosiheptid inhibiert, wie die meisten Thiopeptide, die Proteinbiosynthese der verschiedenen Mikroorganismen, indem sie sich an die Ribosomen binden.^[5]

Von Thiostrepton (Abb. 2) ist bekannt, dass es sich direkt an die 23S rRNA Ribosomuntereinheit der Bakterien bindet, dort die Interaktion mit dem Protein L11 stört und dadurch effektiv den weiteren Aufbau des Peptids verhindert.^[6]

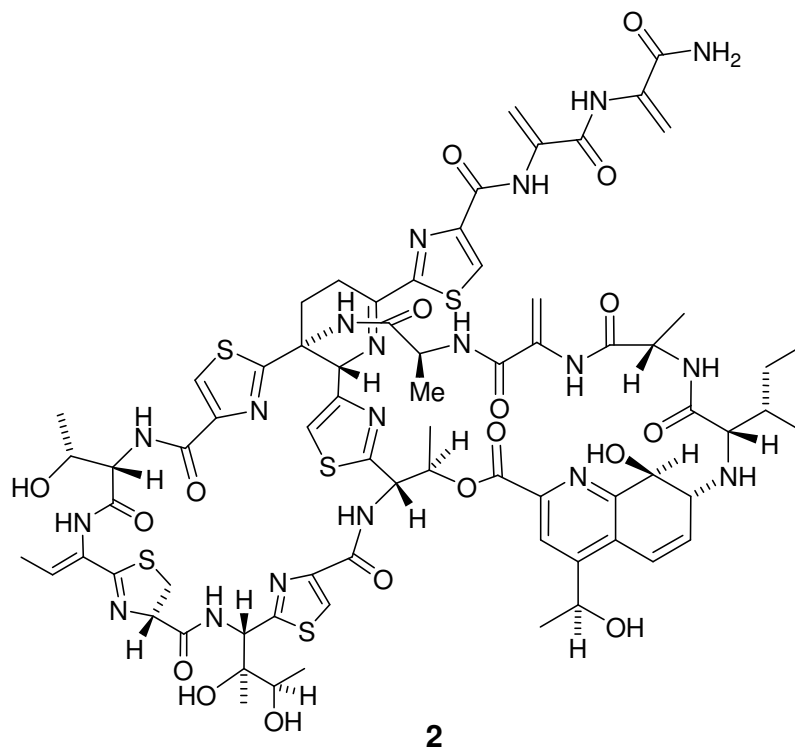


Abb. 2: Struktur von Thiostrepton **2**.

Der Wirkungsmechanismus von Nosiheptid kann, obwohl Details nicht bekannt sind, mit dem des Thiostreptons verglichen werden, welches vergleichsweise gut untersucht ist.

Die Untersuchung des Nosiheptids ist aus mehrerer Hinsicht interessant. Es ist das kleinste Thiopeptid mit einer vollen biologischen Aktivität im nanomolaren Bereich. Es ist, anders als andere Vertreter dieser Substanzklasse, nicht derartig komplex. Vom synthetischen Standpunkt eignet es sich deshalb für den Versuch einer Totalsynthese, da es trotzdem eine Reihe von neuartigen und methodisch noch nicht voll erschlossenen Strukturmerkmalen besitzt. Eine abgeschlossene Totalsynthese ist bislang nicht bekannt. Bislang wurden lediglich die Synthese von verschiedenen Heterozyklusfragmenten, wie die des thiazolsubstituierten Pyridinkerns^[7] und des Indols^[8] beschrieben. Die Vollendung der Totalsynthese von Nosiheptid und Derivaten davon würde die Studie des genauen Wirkmechanismus zulassen. Durch hydrophile Modifikationen könnte die Löslichkeit verbessert oder durch die Einführung von fluorophoren Gruppen die Lokalisation mikroskopisch verfolgt werden. Eine genauere Untersuchung bietet darüber hinaus noch die Möglichkeit das eigentliche Pharmakophor zu ermitteln, d.h. die kleinste biologisch wirksame Untereinheit einzugrenzen und dadurch Wege zu neuen, möglicherweise im Menschen einsetzbaren Wirkstoffen zu ebnet.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Synthese von Thiazolfragmenten sowie der Darstellung der Hydroxyglutamateinheit des sogenannten nordwestlichen Teils des Nosiheptid A-Rings (Abb. 3).

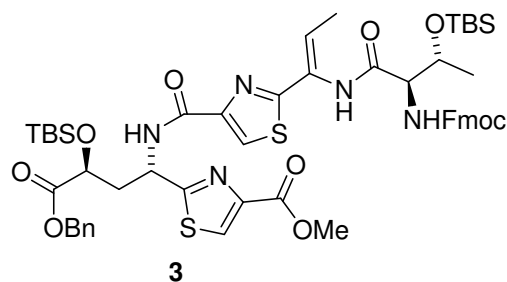


Abb. 3: Struktur des nordwestlichen Teils 3 von Nosiheptid.

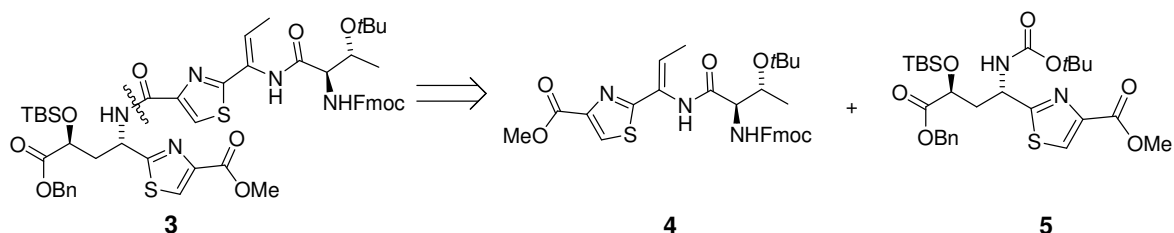
Die Synthese des Thiazolfragments geschieht unter Ausnutzung der Aza-Wittig-Reaktion. In einer *ex-chiral pool* Synthese wurde die Hydroxyglutamateinheit synthetisiert. Dabei diente *trans*-Hydroxyprolin als Ausgangsmolekül. Im Folgenden wird zunächst das

Einleitung

Retrosynthese-Schema erläutert und anschließend die Synthesedurchführung beschrieben und verschiedene Reaktionstypen genauer erklärt.

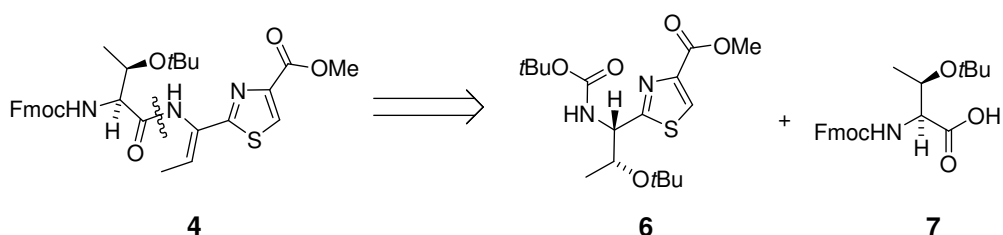
2. Retrosynthetische Analyse

Der nordwestliche Teil von Nosiheptid **3** beinhaltet zwei Thiazoleinheiten, eine Hydroxyglutamateinheit und ein Dehydroaminosäurefragment. Laut Retrosyntheschema (Schema 1), lässt sich das Molekül **3** in die Fragmente **4** und **5** zerlegen, die durch eine Amidbindung miteinander verknüpft sind.



Schema 1: Retrosynthetische Analyse des nordwestlichen Teils von Nosiheptid **3** und deren Zerlegung in die Fragmente **4** und **5**.

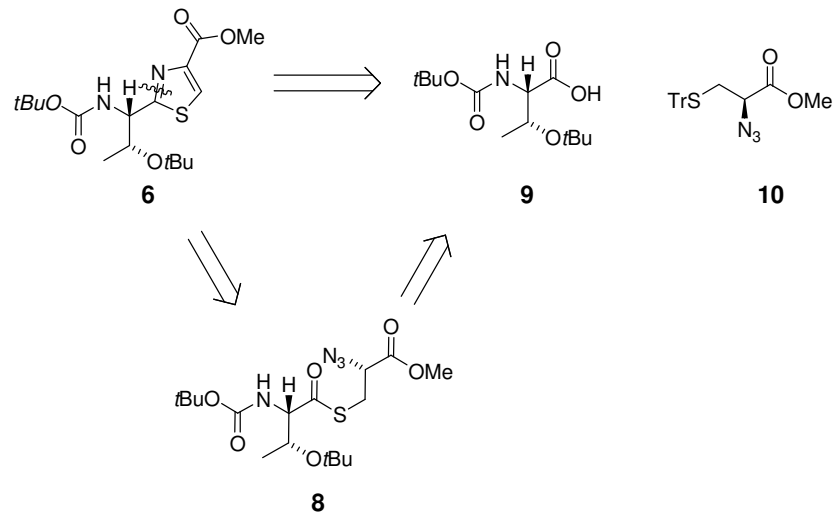
Das Fragment **4** kann bei weitergehender Analyse auf die Synthone **6** und **7** zurückgeführt werden. Dabei handelt es sich um das *N*-Boc- und *O*-*t*-Butyl-geschützte Thiazol **6** und das *N*-Fmoc- und *O*-*t*-Butyl-geschützte Threonin **7** zurückführen. Die beiden Moleküle können durch eine Peptidkupplung verknüpft werden, die Doppelbindung kann durch basenassistierte Eliminierung des Threoninrests generiert werden (Schema 2).



Schema 2: Retrosynthetische Analyse des Fragments **4**.

Die Verbindung **6** kann durch Zyklisierung einer intramolekularen Aza-Wittig-Reaktion des Thioesters **8** erhalten werden. Diese Reaktion wurde in der Arbeitsgruppe kürzlich zur Darstellung von α -chiralen Thiazolen und Oxazolen entwickelt.^[9] Den Ester wiederum kann aus der *O*-, *N*-geschützten Aminosäure Threonin **9** und dem Tritylgeschützten α -Azidocystein-methylester **10** erhalten werden (Schema 3).

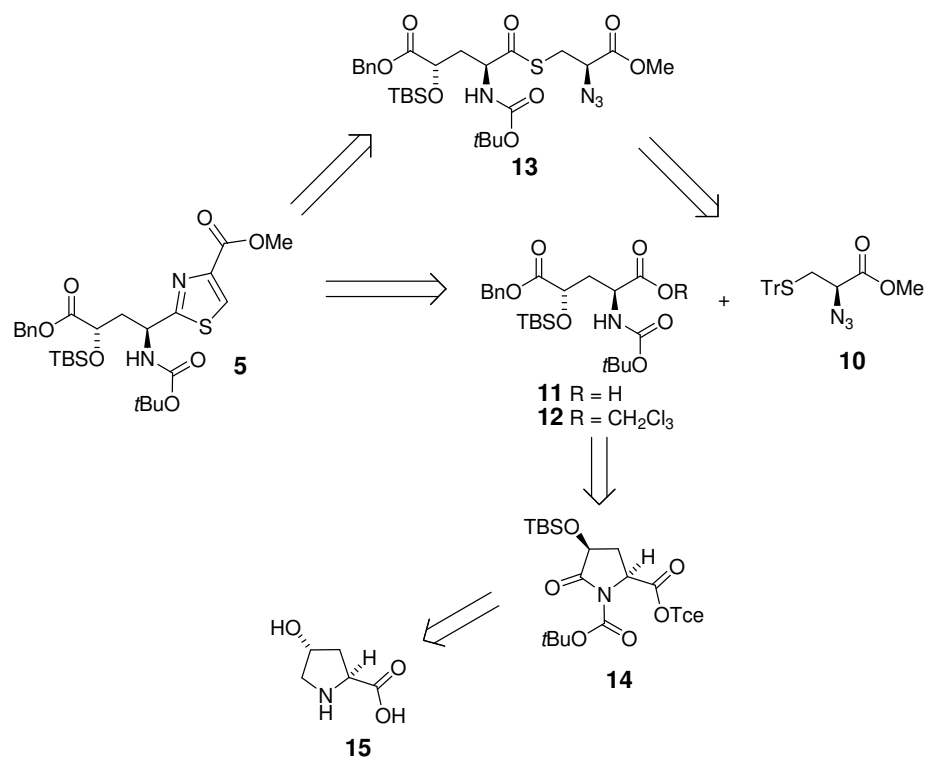
Retrosynthetische Analyse



Schema 3: Retrosynthetische Analyse des Fragments **4**

Das Fragment **5** kann durch Kupplung der γ -Hydroxyglutaminsäure **11** mit dem Azidocysteinmethylester **10** in einer Aza-Wittig-Reaktion aufgebaut werden. In Anlehnung an eine Veröffentlichung^[10] von Zhang *et al.* sollte die Glutaminsäure **11** in einer ex-chiral pool Synthese ausgehend von 4-*trans*-Hydroxy-Prolin **15** zugänglich sein. Die Synthese umfasst die Einführung von Silyl- und Boc-Schutzgruppen, eine rutheniumkatalysierte Oxidation zum Pyrrolidinon **14**, sowie die anschließende Ringöffnung mithilfe von Natriumhydrid und Benzylalkohol zur Darstellung des differenzierten Diesters **12**. Ein entscheidender Schritt ist hierbei die Wahl des Alkohols R zur Veresterung der Aminosäure **13** (Schema 4). Die Inversion der Absolutkonfiguration an C-3 konnte mittels intramolekularer Lactonbildung unter Mitsunobu-Bedingungen realisiert werden.

Retrosynthetische Analyse

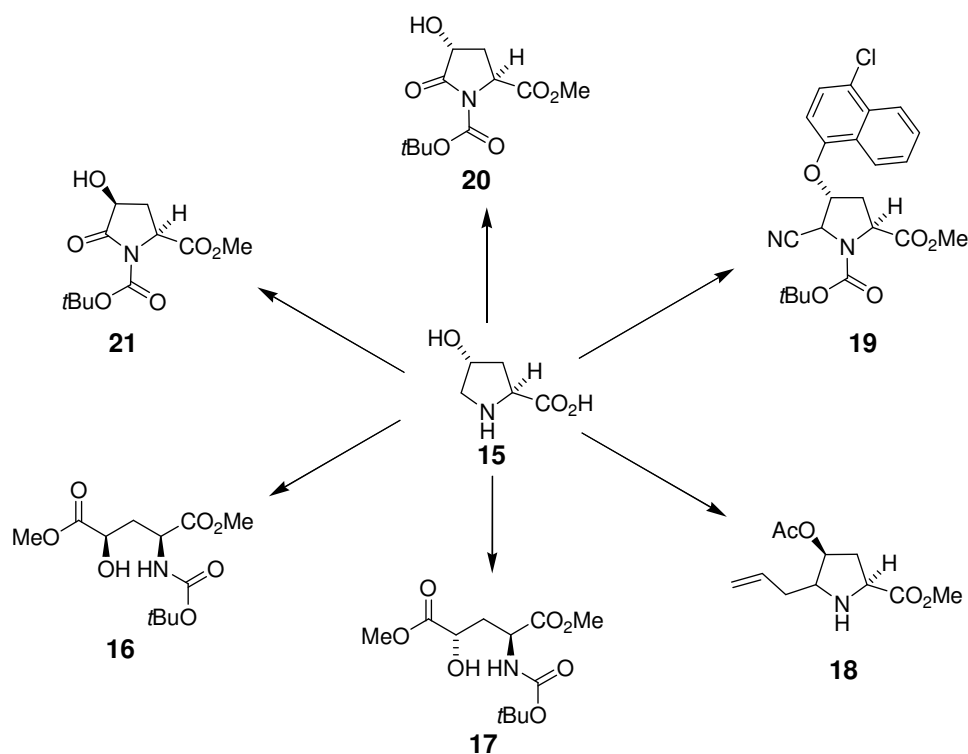


Schema 4: Retrosynthetische Analyse des Fragments **5** abgeleitet von 4-trans-Hydroxy-prolin (**11** $R = \text{H}$; **12** $R = \text{CH}_2\text{CCl}_3$).

3. Synthese und Methoden

3.1 Synthese von *N*-Boc-(2*S*,4*S*)-4-(*tert*-Butyl-dimethylsilyloxy)-pyrrolidin-5-on-2-carbonsäure **11**

Die Synthese von unterschiedlich funktionalisierten Pyroglutaminsäurederivaten stellt ein wichtiges Synthesziel für die vielfältigsten Anwendungen dar. In den vergangenen Jahren fand deren Erforschung auf vielen Ebenen Beachtung, v. a. für die Naturstoffsynthese und für die Darstellung biologisch relevanter Verbindungen,^[11-13] zur Synthese von Pyrrolidinalkaloiden^[14] und von enantiomerenreinen Prolinderivaten^[15] sowie nichtproteinogener Aminosäuren.^[16] Des Weiteren findet es Anwendung auf dem Gebiet der stereoselektiven Synthese, wo es u.a. als Auxiliar^[17] eingesetzt wird. Zhang *et al.*^[10] haben 2001 ausgehend von *trans*-4-Hydroxy-prolin verschiedene Pyroglutamatderivate synthetisiert, aber auch einen Weg beschrieben, γ -Hydroxyglutaminsäure-Spezies **16** und **17** enantiomerenrein darzustellen (Schema 5). Darauf basierend gelang es die Pyrrolidinderivate **18-21** darzustellen.



Schema 5: Ausgehend von *trans*-4-Hydroxy-prolin von Zhang *et al.* erschlossene Pyrrolidine **18-21** und γ -Hydroxy-glutamate **16** und **17**.

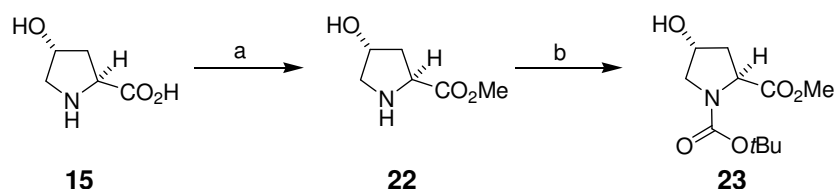
Die vorliegende Syntheseroute führt, ausgehend von *trans*-4-Hydroxy-prolin, in vier Stufen zum gewünschten Produkt **16** bzw. **17**. Die entscheidenden Schritte sind eine rutheniumkatalysierte Oxidation und die Öffnung des gebildeten Lactams mit Methanol unter basischen Bedingungen. Die Inversion der Konfiguration an C-4 erfolgt durch Acylierung der Hydroxylfunktion unter Mitsunobu-Bedingungen.

Das Edukt, eine natürlich vorkommende Aminosäure, ist kommerziell erhältlich und eignet sich deshalb ideal für die Erfordernisse der enantioselektiven Synthese. Die Syntheseroute wurde für den Zweck der Synthese der Nosiheptidfragmente angepasst und verändert.

Hierzu musste das Stereozentrum an C-4 durch eine Mitsunobu-Reaktion invertiert werden, wie Zhang *et al.* es auch für die Synthese des (2*S*,4*S*)-Diastereomers verwendet haben. Die Hydroxylgruppe an C-4 musste zusätzlich mit einer Silyl-Schutzgruppe versehen werden. Zudem müssen die Carbonylkohlenstoffe C-1 und C-5 durch Einführung von zwei unterschiedlichen Estern differenziert werden. Die Auswahl der benötigten Alkohole für die Veresterung musste so erfolgen, dass der Ester an C-1 orthogonal zum anderen Ester gespalten werden konnte. Zusätzlich musste der Ester an C-1 unter den Reaktionsbedingungen der Rutheniumoxidation stabil sein. Ein erster Ansatz in diese Richtung verfolgte die Verwendung eines Methylesters an C-1 und eines Benzylesters an C-5.

3.1.1 Syntheseroute zur Darstellung von *N*-Boc-(2*S*,4*S*)-4-(*tert*-Butyl-dimethylsilyloxy)-pyrrolidin-5-on-2-carbonsäure **11** unter Verwendung eines differenzierten Methyl-, Benzylesters **36**

Die Syntheseroute für die Darstellung der Glutaminsäure **11** ging analog zu Zhang *et al.*^[10] von *trans*-4-Hydroxy-prolin **15** aus (Schema 6). Hier erfolgte zunächst die Bildung des Methylesters **22** nach der Vorschrift von Parsons^[18] durch Reaktion mit Thionylchlorid in Methanol in quantitativer Ausbeute. Es schloss sich dann die Schützung der Aminofunktion mit der *tert*-Butoxycarbonyl-Schutzgruppe an.^[18] Der Aminosäureester **22** wurde in Dioxan zusammen mit der Base Diisopropylamin gelöst und bei Raumtemperatur mit Di-*tert*-Butoxy-dicarbonat versetzt. Zur Beschleunigung der Reaktion wurde in katalytischen Mengen (2 mol%) Dimethylaminopyridin zugesetzt. Die Reaktion verlief innerhalb von 18 h unter vollständiger Umsetzung des Substrats. Die Ausbeute des geschützten Prolinmethylesters **23** betrug 81%.



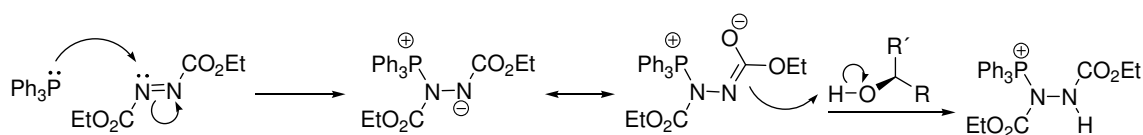
Schema 6: Erster Ansatz zur Darstellung von **11**: Veresterung und Boc-Schützung. (a) SO_2Cl , MeOH , $0\text{ }^\circ\text{C}$, Rückfluß, 19 h, quant.; (b) Boc_2O , DIPEA , DMAP , Dioxan , RT , 81%.

Es schloss sich die Acylierung des sekundären Alkohols an C-4 an. Dies geschah unter Inversion des Stereozentrums mittels Mitsunobu-Reaktion.^[19]

Mitsunobu-Reaktion

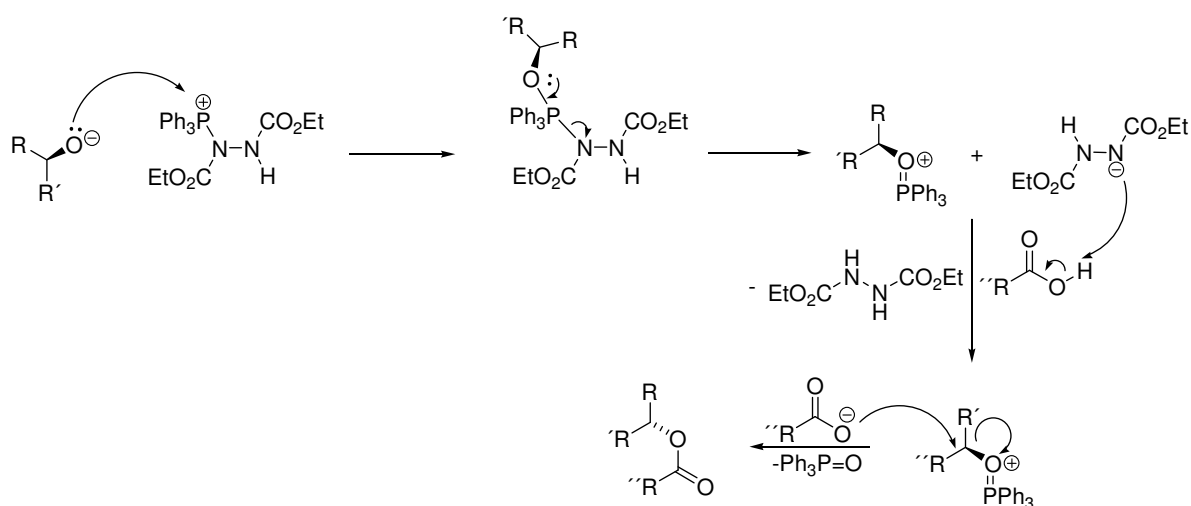
Dieser Reaktionstyp hat sich den vergangenen Jahrzehnten als sehr vielseitig erwiesen, v.a. auf dem Gebiet der Naturstoffsynthese, wo die Kontrolle der oft zahlreichen Stereozentren von immenser Bedeutung ist. Zwar wird die Mitsunobu-Reaktion in der Mehrzahl der Publikationen zur Veresterung von sekundären Alkoholen verwendet. Sie kann jedoch auch, und das zeichnet ihre Vielseitigkeit aus, zur Substitution der Alkoholfunktion durch Amine herangezogen werden. Dabei kann das Amin einerseits durch Reaktion der Alkoholfunktion mit Phthalimid und anschließender Reduktion mit Hydrazin gebildet werden^[20], andererseits ist es durch Reduktion^[20] von Aziden zugänglich, die ebenfalls durch Reaktion mit HN_3 unter Mitsunobu-Bedingungen synthetisiert werden können.^[21] Des Weiteren kann die Methode auch zur Darstellung von β -Lactamen^[22], sowie zur C-C-Bindungsknüpfung^[23] verwendet werden.

Das Prinzip der Reaktion basiert auf der Reaktion des Alkohols mit der entsprechenden Säure unter Beteiligung von Triphenylphosphin und Diethylazodicarboxylat. Mechanistisch^[24] erfolgt zunächst der Angriff des Triphenylphosphins auf einen Stickstoff der Azoverbindung, wobei ein Betain gebildet wird. Die Oxidationsstufe des Phosphors ändert sich von +III auf +IV. Der sich anschließende Schritt ist die Deprotonierung des Alkohols durch die entstandene starke Base (Schema 7).



Schema 7: Erster Schritt der Mitsunobu-Reaktion: Angriff des Triphenylphosphins auf DEAD mit anschließender Protonierung durch die Säure. $R, R' = \text{Aryl, Alkyl}$.

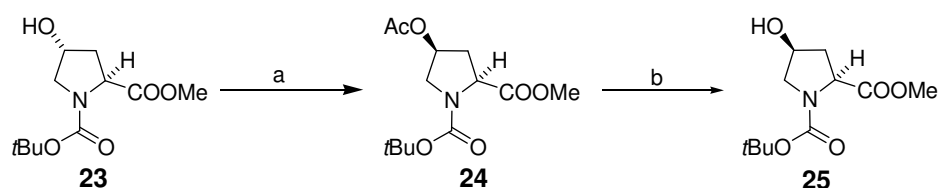
Das in der Reaktionsmischung enthaltene Alkoholat kann nun an den Phosphor binden. Das Hydrazin wird dann freigesetzt und durch die Carbonsäure protoniert. Durch einen S_N2 -Angriff des Carboxylats kann Triphenylphosphinoxid unter Inversion am Stereozentrum substituiert werden, da es eine gute Abgangsgruppe darstellt (Schema 8).



Schema 8: Zweiter Schritt der Mitsunobu-Reaktion: Bildung des Triphenylphosphinoxid-Addukts und Freisetzung des Hydrazins. $R', R'' = \text{Alk, Ar}$.

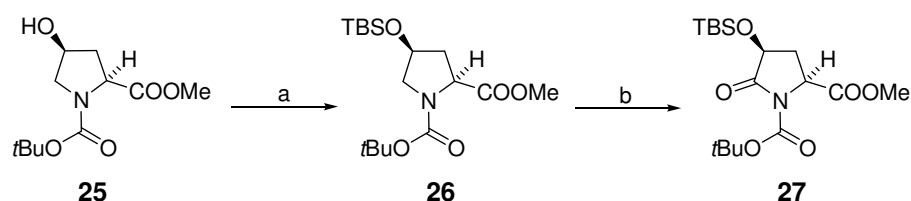
Ein Nachteil der Mitsunobu-Reaktion ist die oftmals schwierige Abtrennung des Triphenylphosphinoxids und des Hydrazins, was auch bei der hier durchgeführten Reaktion zu beobachten war. Das Azo-Reagenz DEAD wurde durch das sicherere DIAD ersetzt. Zwar konnte der größte Teil des Triphenylphosphinoxids durch Kühlen und Waschen mit eiskaltem Toluol ausgefällt und entfernt werden, aber die chromatographische Isolierung des Produkts erwies sich als problematisch. Das Produkt hatte nur eine geringfügig höhere Polarität als der gebildete Ester und benötigte sehr lange für die vollständige Elution von der Säule. Das Produkt **24** konnte dennoch in 79%iger Ausbeute isoliert werden.

Die Alkohololyse des Esters **24** mithilfe von Kaliumcarbonat in Methanol führte in 70%iger Ausbeute zum sekundären Alkohol **25** mit (2*S*,4*S*)-Konfiguration (Schema 9).



Schema 9: Inversion des Stereozentrums an C-4 mittels Mitsunobu-Reaktion und anschließende Spaltung des Esters zur Bildung von **27**. (a) PPh_3 , DIAD, AcOH, Toluol, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 21 h, 79%; (b) K_2CO_3 , MeOH, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 20 h, 70%.

Die nächsten Schritte bestanden im Schützen des sekundären Alkohols als Silylether unter Standardbedingungen mit *tert*-Butyl-dimethylsilylchlorid und Imidazol in DMF. Der Silylether **26** konnte in 76%iger Ausbeute erhalten werden. Für die Darstellung des Glutamats war es notwendig, eine Carbonylfunktion an C-5 einzufügen. Das Pyrrolidin **26** wurde danach mithilfe des Oxidationssystems $RuO_2/NaIO_4$ in das Pyrrolidinon **27** überführt (Schema 10).

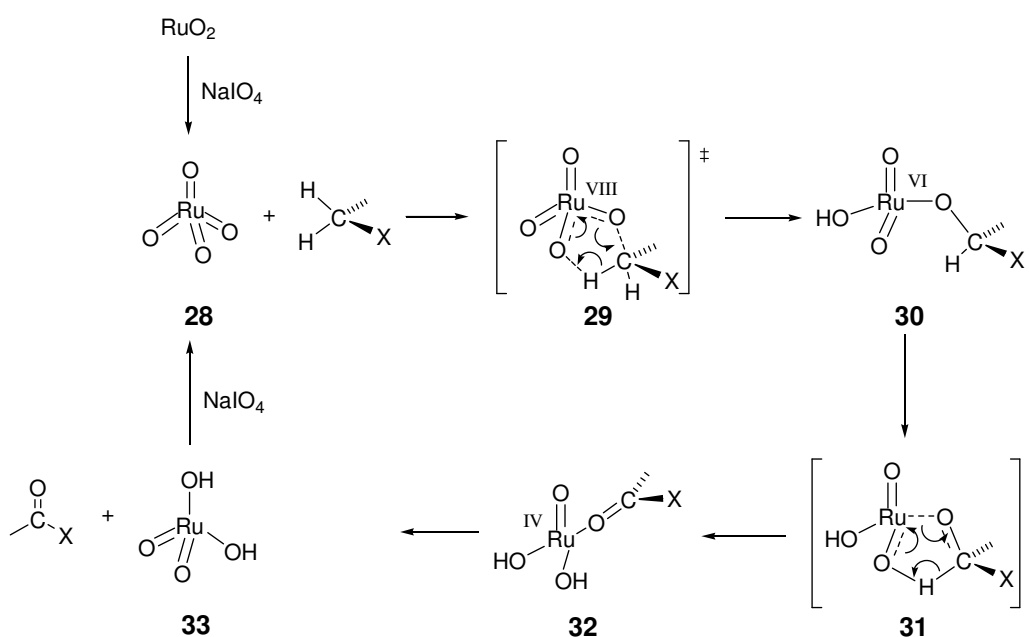


Schema 10: Silyl-Schätzung und Oxidation zum Pyrrolidinon **27**. (a) TBSCl, Imidazol, DMF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 6 h, 91%; (b) $RuO_2 \cdot xH_2O$, $NaIO_4$, EtOAc/ H_2O , RT, 71%.

Oxidation durch RuO_4

Die Verwendung von RuO_4 zur katalytischen Oxidation verschiedener organischer Substrate ist in der organischen Synthese etabliert.^[25] Dabei ist sowohl die Oxidation primärer Alkohole zu Carbonsäuren^[26], als auch die von primären bzw. sekundären Alkoholen zu Aldehyden bzw. Ketonen möglich.^[27] Weitere Einsatzgebiete sind die Dihydroxylierung von Olefinen^[28], die direkte, selektive Mono-Oxidation von vicinalen Diolen^[29] mithilfe von Oxone[®] als Reoxidationsmittel und die oxidative Spaltung von

Doppelbindungen.^[28b] Ein besonders nützlicher Aspekt der Rutheniumchemie ist die Möglichkeit C-H-Bindungen α zu einem Heteroatom direkt und selektiv zu oxidieren. Dieses Verfahren bietet die Möglichkeit einer Transformation einer C-H-Bindung in eine C-O-Bindung ohne signifikante Epimerisierung an eventuell vorhandenen Stereozentren im Substrat. Grundsätzlich kommen für diesen Reaktionstyp Verbindungen in Frage, die α -ständig zu C-H-Bindungen ein tertiäres Amid trägt. Bisweilen wurde auch die Oxidation von Ethern zu Estern beobachtet.^[26b, 30] Das gewünschte Produkt ist das Pyrrolidinon **27**, welches aus dem Pyrrolidin **26** generiert werden soll. Zhang *et al.*^[10] haben für die bereits beschriebene Synthese eine Methodik beschrieben, um Umwandlungen dieses Typs in guten Ausbeute (> 95%) für die Synthese von Pyroglutamaten zu nutzen. Sie benützten dafür das Oxidationssystem RuO₂ als Rutheniumquelle und Natriumperodat für die Regenerierung des Katalysators. Gemäß dem aktuellen Stand der Forschung verläuft die Reaktion mechanistisch betrachtet in zwei Schritten ab (Schema 11).^[29, 31]

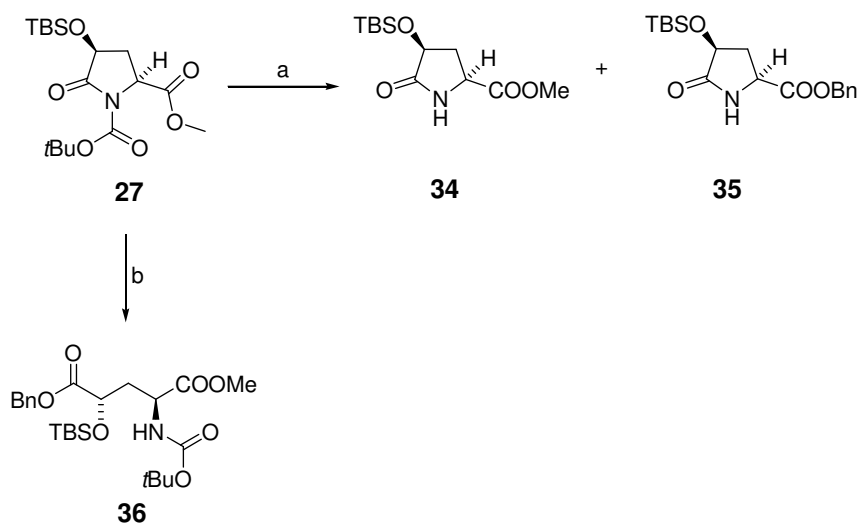


Schema 11: Mechanismus der Oxidation einer aktivierten C-H-Bindung α -ständig zu einem tertiären Amid oder bei Ethern. X = N, O (nach Plietker^[25]).

Die reaktive Spezies ist hier das Rutheniumtetraoxid **28** mit der Oxidationsstufe +VIII welches *in situ* durch das Reoxidationsmittel Natriumperodat generiert wird. In einem ersten Schritt wird über einen fünfgliedrigen Übergangszustand **29** eine Ruthenatspezies **30** mit der C-H-aktivierten Verbindung erhalten. Die Oxidationsstufe ist hier +VI. Der nächste

Teilschritt besteht aus einem zweiten Wasserstofftransfer von der organischen Spezies auf einen Sauerstoff des Ruthenats, welcher noch ebenfalls über einen fünfgliedrigen Übergangszustand **31** verläuft. Das Produkt wird mit der C-O-Doppelbindung schließlich von **32** abgespalten und das Ruthenium hierbei reduziert, wobei sich die Spezies $\text{Ru}(\text{O}_2)(\text{OH})_2$ **33** mit der Oxidationsstufe +IV bildet. Um in katalytischen Mengen eingesetzt werden zu können, wird letztere mithilfe von NaIO_4 zum RuO_4 reoxidiert und steht somit für einen weiteren katalytischen Zyklus zur Verfügung. Die Reaktion verläuft im vorliegenden Fall in einem Ethylacetat/Wasser-Zweiphasen-Gemisch innerhalb von 6 h in 71%iger Ausbeute.

Zur Ringöffnung des Lactams **27** wurde dieses zunächst in reinem Benzylalkohol gelöst und auf 100 °C und dann schrittweise auf 200 °C erhitzt. Die Reaktion wurde bis zum vollständigen Umsatz des Edukts weiter verfolgt und nach 6 h beendet. Das gewünschte Produkt konnte jedoch nicht erhalten werden. Aus den analytischen Daten ergab sich, dass bei den zwei isolierten Produkten die Boc-Schutzgruppe abgespalten worden war. In 67% wurde der Methylester ohne die Boc-Gruppe **34** erhalten, bei der anderen Verbindung konnte zusätzlich eine Umesterung des Methyl- zum Benzylester **35** nachgewiesen werden. Letztere Spezies wurde lediglich in 19% Ausbeute erhalten (Schema 12).

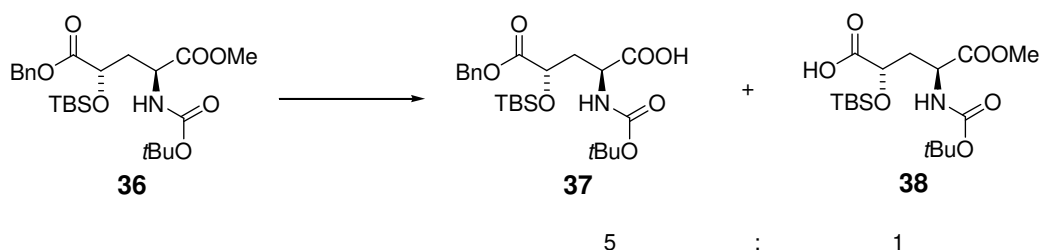


Schema 12: Ansätze zur Lactamöffnung. (a) BnOH , 100 °C \rightarrow 200 °C, 6 h, 67% (**34**), 19% (**35**); (b) 1. NaH , BnOH , THF , -78 °C, 45 min., 86% oder 2. BuLi , BnOH , THF , -78 °C, 2 h, 68%.

Der zweite Ansatz basiert auf einer Veröffentlichung von Pedregal *et al.*^[32] von 1993. Dort wurden zwei prinzipielle Möglichkeiten aufgezeigt, um *N*-Boc-geschützte Pyroglutamate mit O-,N- aber auch mit S-Nucleophilen zu öffnen. Das System Kaliumcyanid in THF im

Ultraschallbad zeigte sich v. a. in Verbindungen mit Stickstoffnucleophilen als erfolgreich. Der Aufbau von Estern bedingte den Einsatz einer starken Base wie Natriumhydrid bei tiefen Temperaturen. Diese Reaktion lief jedoch bereits bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ab und war nach 45 Minuten beendet, was den nucleophilen Charakter des Benzylat-Anions illustriert. Das gewünschte Produkt **36** konnte so in 86% Ausbeute erhalten werden. Ein dazu analoger Ansatz unter Verwendung von Butyllithium als Base lieferte **36** nur in 68%iger Ausbeute (Schema 14).

Der letzte Schritt auf dem Weg zur Synthese von **11** war die selektive Spaltung des Methylesters neben dem Benzylester. Es wurde angenommen, dass sich der Methylester aufgrund des +I-Effekts und des sterischen Anspruchs leichter spalten lassen sollte. Für diese Zwecke finden sich in der Literatur diverse Bedingungen.^[33] Darunter zählt z. B. die Verwendung von Lithiumhydroxid als Base für die allgemeine Esterspaltung, aber auch in speziellen Fällen für die Hydrolyse von Methylestern.^[34] Der Versuch diese Reaktion mit dem vorhandenen Substrat **36** durchzuführen, hatte jedoch eine gleichzeitige Spaltung des Benzylesters in einem nicht zu vernachlässigbaren Ausmaß zur Folge (Schema 13). Darüber hinaus konnte eine chromatographische Trennung der beiden Verbindungen (Glutaminsäure-Methylester, Glutaminsäure-Benzylester) nicht erreicht werden. Aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ergab sich ein Verhältnis der beiden Spezies von 5 : 1 von Benzylester **37** zu Methylester **38** in einer sehr geringen Gesamtausbeute von 20%.



Schema 13: Ergebnisse der Hydrolyseversuche von **37** mit Lithiumhydroxid: LiOH, THF/H₂O (5 : 1), 0 °C, 5.5 h, 20%.

Eine Reihe weiterer Esterspaltungsmethoden verlaufen nach einem S_N2-Mechanismus unter Dealkylierung der Carboxylatfunktion.^[33] Dazu zählen die Benutzung von Lithiumhalogeniden, und hier v. a. das Iodid, welches als Nucleophil fungiert. Dies gilt speziell für den Fall, wenn DMF als Lösungsmittel verwendet wird.^[35] Unter den beschriebenen Reaktionsbedingungen (LiI, DMF, 130 °C) führte die Reaktion zu einer vollständigen Hydrolyse des Edukts. Als eine Weiterentwicklung kann das von Seebach *et*

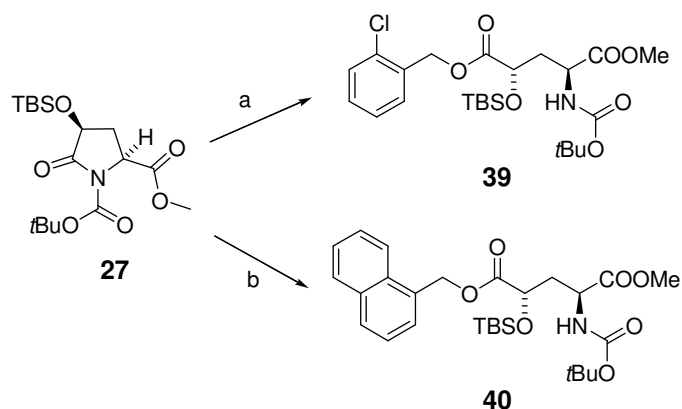
al.^[36] entwickelte System mit Lithiumbromid und DBU in THF betrachtet werden. Diese Methode wurde v. a. zur Verseifung von Methylestern, zur epimerisierungsfreien Umesterung von Peptiden und zu deren milden Abspaltung von der festen Phase angewendet. Im vorliegenden Fall wurde ein Produktgemisch mit nicht weiter zu identifizierenden Komponenten erhalten. Das gewünschte Produkt konnte nicht isoliert werden.

Zu den oben beschriebenen Methoden des Dealkylierungs-S_N2-Typs gehört auch das kombinierte System Cäsiumcarbonat und Thiophenol in NMP.^[37] Auch hier konnte nach einer Reaktionszeit von 3 h bei 85 °C nur eine unselektive Hydrolyse beider Ester beobachtet werden. Die Verwendung von Kaliumcyanid in DMF bei 100 °C analog einer Vorschrift von Dolby *et al.*^[38] führte ebenso zur Spaltung beider Ester.

Eine weitere Methode macht von anderen Hydroxidsalzen wie z. B. Ba(OH)₂ Gebrauch, um z.B. selektiv Methyl- neben Ethylestern zu spalten.^[39] Die Reaktion führte unter diesen Bedingungen bei 0 °C innerhalb von 2.5 h zur vollständigen Hydrolyse. Zusätzlich wurde Lithiumhydroperoxid eingesetzt, welches als Reagenz zur Abspaltung von Oxazolidinonen nach diastereoselektiven Aldolkondensationen nach Evans Verwendung findet.^[40] Die Reaktion in THF bei 0 °C lieferte nach 3 h ein Gemisch von zwei Verbindungen in einer Gesamtausbeute von 20%. Das ¹H-NMR zeigte eine Produktverteilung von Benzyl- zu Methylester von 2 : 1.

Zinnreagenzien haben in den vergangenen Jahren ein reges Interesse in der organischen Synthese erfahren. Nicolaou *et al.* entwickelten im Rahmen ihrer Totalsynthese von Thioestrepton eine Möglichkeit, Methylester mithilfe von Trimethylzinnhydroxid selektiv und unter milden Bedingungen zu spalten.^[41a] Diese Weiterentwicklung eines Verfahrens von Mascaretti *et al.* sollte die Spaltung, von Methyl- und Benzylestern auch an der festen Phase zulassen.^[41b] Die Reaktion ergab unter Verwendung von Bis(tributylzinn)-oxid als Abspaltungsreagenz eine Gesamtausbeute von 19%. Allerdings handelte es sich, wie im ¹H-NMR-Spektrum zu erkennen war, um ein 6.3 : 1-Gemisch der Verbindungen **37** und **38**.

Die Differenzierung von Methyl- und Benzylester war mit den untersuchten Methoden nicht realisierbar.



Schema 14: Einführung der sterisch anspruchsvolleren 2-Chlorobenzyl- und 1-Naphthalenmethylester. (a) BuLi, 2-Chlorobenzylalkohol, THF, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2 h, 32%; (b) BuLi, 1-Naphthalenmethanol, THF, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3.5 h.

Ein leicht abgewandelter Ansatz sollte nun einen sterisch anspruchsvollen Ester einführen, um so eine bessere Chemoselektivität bei der Hydrolyse zu erreichen. Dazu wurde versucht analog zu Zhang *et al.* einen 2-Chlorobenzylester und 1-Naphthalenmethylester zu synthetisieren (Schema 14).

Mit der Base Natriumhydrid gelang die Umsetzung nicht. Es kam zur Zersetzung. Bei Verwendung von Butyllithium wurden nur geringe Ausbeuten erzielt. Der 2-Chlorobenzylester **39** wurde nur in einer Ausbeute von 32% erhalten. Die Darstellung von **40** gelang auch mit Butyllithium nicht.

Um dieses Problem zu umgehen, ist es auch möglich, das Lactam ohne den Einsatz eines Alkohols zu öffnen, um so die an C-5 ungeschützte, freie γ -Hydroxyglutaminsäure **41** zu generieren. Die Veresterung mit einer sterisch anspruchsvollen Gruppe zur Darstellung von **39** oder **40** sollte unter Standardbedingungen (z. B.: DCC, DMAP, DCM) gut durchführbar sein. Für die Lactamsplaltung wurde das, wie für die Esterspaltung selbst schon verwendete, Lithiumhydroperoxid in THF bei $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ verwendet. Nach 7 h war bei vollständiger Umsetzung des Substrats jedoch nur eine Zersetzung des Edukts zu beobachten. Da die bis diesem Zeitpunkt untersuchten Methoden nicht zum Ziel führten wurde von weiteren Experimenten mithilfe chemischer Verfahren abgesehen. Stattdessen kamen enzymkatalysierte Methoden zur selektiven Esterspaltung zum Einsatz.

Enzyme haben seit langem Einzug in die organische Synthese gefunden, da sie Reaktionen unter milden Bedingungen ermöglichen und auch *meso*-Verbindungen oder racemische Substanzmischungen enantioselektiv umsetzen können. Zu den wichtigsten Reaktionstypen zählen Veresterungen und Esterhydrolysen, der Aufbau von P-O-Bindungen, die

Reduktion von Ketonen und die Oxidation von Alkoholen, sowie Isomerisierungsreaktionen von Aminosäuren und Zuckern.^[42] Ein Nachteil von enzymatischen Reaktionen ist die oft hohe Substratspezifität, d. h. dass für verschiedene Substanzklassen auch verschiedene Enzyme benötigt werden. Für die Esterspaltung kommen sowohl Acylasen, als auch Lipasen in Frage. Dabei können schon kleine Variationen am Substrat die Reaktionsgeschwindigkeit erheblich herabsetzen oder einen Umsatz vollständig verhindern. Lipase B aus *Candida antarctica* (CAL B) wurde bereits für die kinetische Resolution eines Cycloprolons^[43a] und die eines Propylbutanoats angewendet.^[43b] Letzteres Beispiel und eine Publikation von Conde *et al.*^[43c] waren der Anlass, dieses Enzym für die selektive Methylesterspaltung des Substrats **36** auszuwählen, da die in beiden Veröffentlichungen verwendeten Substrate in α -Position zur Esterfunktion einen hydrophobe Gruppe tragen. Dies könnte die Substratspezifität für das vorliegende Molekül erhöhen, da es an C-2 eine sterisch anspruchsvolle und hydrophobe TBS-Gruppe trägt. Die Reaktionen wurden in einem 1 M Phosphatpuffer bei pH 7.24 und 40 – 60 °C mit jeweils 40%igem Zusatz von organischen Cosolventien wie Aceton und DMSO durchgeführt. Das verwendete Enzym (Novozym 435) war auf Eupergit[®] C-Beads immobilisiert, um die Aufarbeitung nach der Reaktion zu erleichtern, da sich das Enzym dann über einen Faltenfilter abfiltrieren lässt. Nach 24 h war jedoch kein Umsatz des Substrats zu erkennen.

Eine Alternative für die enzymatische Esterspaltung war die Verwendung von Schweineleber-Esterase (PLE). Diese ist dafür bekannt, dass die Bindungstasche voluminöse Substrate gut aufnehmen kann und insgesamt für eine Reihe variabler Verbindungstypen benutzt werden kann.^[44] Diese Esterase, die aus verschiedenen Isoenzymen besteht, findet v. a. in der Verseifung von symmetrischen Diestern^[45] Anwendung und lässt die Produktion von Monoestern auch in größeren Mengen zu. Die Reaktionsbedingungen waren ähnlich zu den oben beschriebenen. In einer pH-Pufferlösung (pH 7.05) mit 20% organischer Cosolventien wie Methanol, Aceton und *t*-Butanol wurde das Substrat bei 30 °C gelöst bzw. suspendiert und geschüttelt. In allen drei Fällen konnte nach 48 h nur das Substrat reisoliert werden.

Für die Probleme des enzymatischen Umsatzes können Löslichkeitsprobleme des Edukts als Ursache vermutet werden. Das Substrat war wahrscheinlich aufgrund der beiden hydrophoben Schutzgruppen Boc und TBS nicht genug löslich, da die Lösungsmittelmischungen vorwiegend wässrig waren. Das Produkt bildete in jedem Lösungsmittelgemisch eine Suspension. Eine sichtbare Löslichkeit trat nicht auf. Eine

Erhöhung des Anteils organischer Cosolventien hätte zwar die Löslichkeit des Substrats erhöht, jedoch die Aktivität der Enzyme deutlich herabgesetzt.

Abschließend lässt sich feststellen, dass die Wahl der Kombination Methyl-/Benzylester trotz der Anwendung vielfältiger Methoden (Tabelle 1) nicht zum Ziel geführt hat. Eine andere Synthesestrategie, die sich des 2,2,2-Trichloroethylesters bedient, führte über eine Variation der Syntheseroute unter Einsparung eines Schrittes zur erfolgreichen Synthese der gewünschten γ -Hydroxyglutaminsäure **11**.

*Tabelle 1: Zusammenfassung der Versuche zur selektiven Methylesterspaltung des differenzierten Benzyl-/Methylesters **18**.*

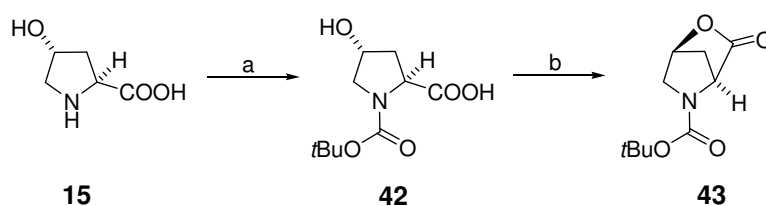
| Methode | Gesamtausbeute [%] | Verhältnis Benzylester/Methylester (bestimmt durch $^1\text{H-NMR}$) |
|---|------------------------|--|
| LiOH, THF/H ₂ O, 0 °C, 5.5 h | 20 | 5 : 1 |
| LiI, DMF, 130 °C, 3 h | Vollständige Hydrolyse | - |
| LiBr, DBU, THF/H ₂ O 9 : 1 | | |
| LiOOH, 0 °C, 3 h | 20 | 2 : 1 |
| Ba(OH) ₂ · 8 H ₂ O, MeOH, 0 °C/ RT., 2.5 h | Vollständige Hydrolyse | - |
| PhSH, CsCO ₃ , NMP, 85 °C, 3 h | Vollständige Hydrolyse | - |
| (Bu ₃ Sn) ₂ O, Toluol, 90 °C, 5 h | 19 | 6.3 : 1 |
| KCN, DMF, 100 °C, 24 h | Vollständige Hydrolyse | - |
| <i>Candida antarctica</i> Lipase B, pH 7.2, 30 – 40% Aceton oder DMSO, 40 – 60 °C, 12 h/ 24 h | Kein Umsatz | - |
| Schweineleber-Esterase, pH 7.05, 20% Aceton, MeOH oder <i>t</i> -BuOH, 30 °C, 48 h | Kein Umsatz | - |

*3.1.2 Syntheseroute zur Darstellung von N-Boc-(2S,4S)-4-(tert-Butyl-dimethylsilyloxy)-pyrrolidin-5-on-2-carbonsäure **11** unter Verwendung eines differenzierten 2,2,2-Trichloroethyl-, Benzylesters **12***

Die Versuche zur Spaltung des Methyl-, Benzylesters der Glutaminsäure **37**, die zumindest einen Vorzug bei der Spaltung der beiden Ester zeigten, verliefen vorwiegend unter

basischen Bedingungen. Die Orthogonalität bei den Spaltungsbedingungen war hier nicht gegeben. Eine Schutzgruppe, die diesen Erfordernissen genügt ist der Trichloroethylester (Tce). Die Tce-Schutzgruppe wird in vielen Fällen, v. a. bei der Peptidsynthese, als Schutzgruppe für Carbonsäuren verwendet^[46a] und wurde unter anderem bei der Totalsynthese von Cephalosporin A von Woodward *et al.*^[46b] benutzt. Die Spaltung erfolgt meist unter Einsatz von Metallen, wie Zink, Cadmium und Selen, die als Reduktionsmittel fungieren.

Die geänderte Syntheseroute ging, wie die unter 3.1.1 beschriebene, von der chiralen Aminosäure *trans*-4-Hydroxy-prolin **13** aus. Dessen Aminofunktion wurde zunächst unter Standardbedingungen^[47] mithilfe von Di-*tert*-butyl-dicarbonat, Natronlauge in einer THF/H₂O-Mischung als Carbamat **42** geschützt. Im nächsten Schritt musste, wie bereits beschrieben, das Stereozentrum an C-4 invertiert werden. Dieser Schritt erfolgte unter Ausnutzung einer intramolekularen Mitsunobu-Reaktion und ergab dadurch das bityklische Lacton **43** (Schema 15).

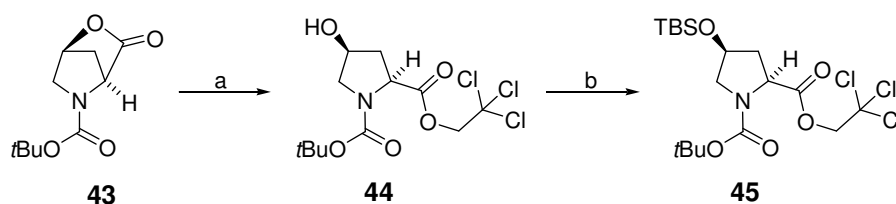


Schema 15: Boc-Schützung von *trans*-4-Hydroxy-prolin **15** und anschließende Generierung des bityklischen Lactons **42**. (a) Boc₂O, 10% NaOH, THF/H₂O (2 : 1), RT, 21 h, 81%; (b) DIAD, PPh₃, THF, 0 °C → RT, 18 h, 81%.

Erneut war hierbei die Isolierung des Produkts und die Trennung des gebildeten Hydrazins bei der Aufarbeitung nach der Durchführung der Reaktion problematisch. Das Triphenylphosphinoxid konnte durch Versetzen mit einer Diethylether/Petrolether-Lösung (9 : 1) ausgefällt werden. Andere Verunreinigung, insbesondere der größte Teil des Hydrazins konnten durch Säulenchromatographie entfernt werden. Die abschließende Reinigung des Produkts erfolgte mittels Umkristallisieren aus Petrolether/Ethylacetat (4 : 1). Dadurch wurde das Lacton **42** in einer Ausbeute von 82% erhalten.

Diese Vorgehensweise hatte den Vorteil, dass durch diese Reaktion einerseits die benötigte Absolutkonfiguration an C-4 erzeugt, andererseits ein Substrat für die Einführung des entsprechenden Trichloroethylester synthetisiert wurde. Es wurde also, im Vergleich zu der

unter 3.1.1 beschriebenen Syntheseroute, eine Stufe eingespart. Der Versuch, das Lacton unter einfachen basischen Bedingungen mit Kaliumcarbonat und dem Alkohol 2,2,2-Trichloroethanol in Acetonitril herzustellen lieferte den gewünschten Ester **44** nur in einer achtprozentigen Ausbeute. Die Anwendung der Bedingungen zur Esterspaltung und Umesterung nach Seebach^[36] mit DBU und Lithiumbromid führte zur Zersetzung des Edukts. Analog zur Öffnung des Lactams^[32] **27** konnte das Lacton jedoch mit Natriumhydrid und Trichloroethanol in THF bei -78 °C geöffnet und in 88%iger Ausbeute isoliert werden. Eine mögliche Epimerisierung an den Stereozentren konnte durch ¹H-NMR-Spektroskopie ausgeschlossen werden (>95:5). Anschließend wurde der entstandene sekundäre Alkohol als TBS-Ether geschützt. Die Reaktion lieferte den Silylether **45** in 72%iger Ausbeute (Schema 16).

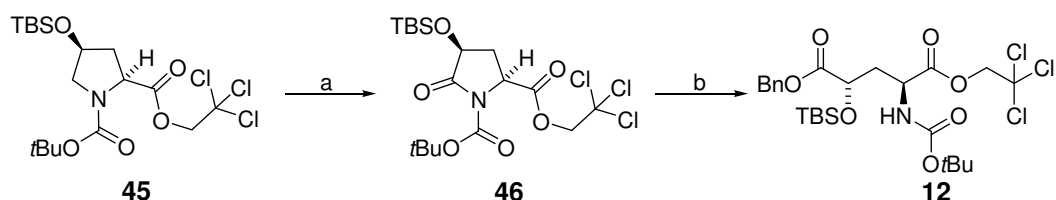


Schema 16: Ringöffnung zur Bildung des 2,2,2-Trichloroethylesters **44** und die anschließende TBS-Schützung zur Generierung des Siloxans **45**. (a) NaH, 2,2,2-Trichloroethanol, THF, -78 °C, 1.5 h, 88%; (b) TBSCl, Imidazol, DMF, 0 °C → RT, 19 h, 72%.

Das gebildete Pyrrolidin **45** wurde unter Oxidation der C-H-Bindung an C-5 in das Pyrrolidinon **46** überführt. Die Reaktion verlief, analog der Generierung des Pyrrolidinons **27**, unter Beteiligung von Rutheniumtetraoxid in katalytischen Mengen.^[10] Die oxidierte Verbindung **46** konnte in 76% Ausbeute als farbloser Feststoff erhalten werden. In Analogie zur Synthese des Glutaminsäurederivats **36** wurde das Lactam **46** unter Verwendung von Natriumhydrid und des Alkohols geöffnet und somit der gemischte Benzyl-/Trichloroethylester **12** erhalten (Schema 17).

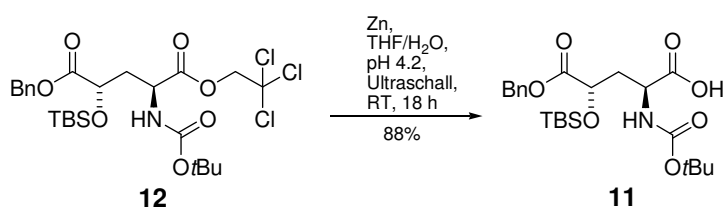
Zur selektiven Spaltung des Trichloroethylesters bedurfte es einiger Modifikationen der in der Literatur beschriebenen Verfahren.^[48] Saure Reaktionsbedingungen kamen für das zu benutzende Substrat nicht in Frage, da Boc- und TBS-Schutzgruppen ebenfalls unter diesen Bedingungen gespalten werden, sodass ein 1 M Phosphatpuffer bei pH 4.2 verwendet werden musste. Erste Versuche zeigten hier, dass die Aktivität des verwendeten Zinkpulvers von enormer Bedeutung ist. Eine durch den Luftsauerstoff auftretende

Passivierung der Oberfläche verlangsamte die Abspaltgeschwindigkeit bzw. verhinderte eine Reaktion insgesamt. Deshalb musste unmittelbar vor dem Einsatz des Metalls, dieses mit konzentrierter Salzsäure behandelt und mit Wasser und Diethylether gewaschen werden. Darüber hinaus erwies sich das Verwenden eines Rührers als nicht hilfreich für den zügigen Ablauf der Reaktion.



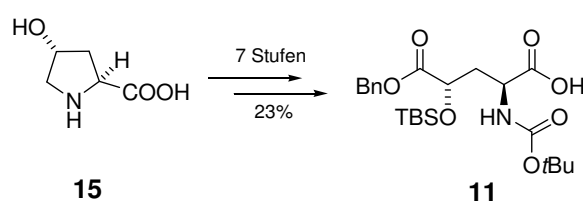
Schema 17: Rutheniumkatalysierte Oxidation des Pyrrolidins und anschließende Ringöffnung des Lactams 45 zur Synthese des differenzierten Dieesters 10. (a) $\text{RuO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, NaIO_4 , $\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$, RT, 17 h, 76%; (b) NaH , BnOH , THF , -78°C , 1.5 h, 83%.

Das Durchführen der Reaktion in einem Ultraschallbad führte zu einer deutlichen Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit. Der aktivierende Effekt des Ultraschalls manifestierte sich auch in einer glänzenden Oberfläche der sich bei der Reaktion bildenden Zinkpartikel. Diese Tatsache weist darauf hin, dass eine eventuell vorhandene Passivierung an der Oberfläche der Zinkpartikel kontinuierlich entfernt wird. Die mehrfach geschützte γ -Hydroxyglutaminsäure 11 konnte durch diese Prozedur in 88%iger Ausbeute isoliert werden (Schema 18).



Schema 18: Spaltung des Trichloroethylesters 12.

Insgesamt ging die Synthese von der Aminosäure *trans*-4-Hydroxyprolin aus. Durch diverse Modifikationen, die eine Mitsunobu-Reaktion, je eine Lacton- und Lactam-Öffnung durch ein Alkoholat und die Ruthenium-katalysierte Oxidation einer aktivierten C-H-Bindung umfassen, gelang es, die gewünschte orthogonal geschützte Glutaminsäure 11 in sieben Stufen zu synthetisieren (Schema 19). Diese Säure diente als Baustein für die folgende Thiazolsynthese.



Schema 19: Kurzübersicht über die Synthese der Glutaminsäure **11** ausgehend von der Aminosäure *trans*-4-Hydroxy-Prolin **15**.

3.2 Thiazolsynthese

Thiazole und Oxazole kommen in einer Reihe von verschiedenen Naturstoffen vor. Darunter sind einige viel versprechende Kandidaten für den Einsatz als Medikamente, wie beispielsweise Epothilon. Ein Epothilon-Derivat, das von der Schering AG entwickelt wurde, befindet sich gegenwärtig in einer Phase-II-Studie als Chemotherapeutikum gegen Lungen-, Eierstock- und Brustkrebs. Die bakterielle Biosynthese der Thiazole konnte für das von *Escherichia coli* hergestellte peptidische Antibiotikum Microcin B17 von Walsh *et al.*^[49a-b] aufgeklärt werden. Dabei greifen Thiolseitenketten von cysteinhaltigen Peptiden intramolekular die Amidbindung zur vorangegangenen Aminosäure an. In einer posttranslationalen Zyklisierungs-, Dehydrierungs-, Dehydrogenierungssequenz wird mithilfe der Hydrolyse von ATP bzw. GTP der Thiazolring gebildet.^[49c]

Thiazol-Strukturen finden sich nicht nur in Antibiotika, wie in den Thiopeptiden (Kapitel 1). Des Weiteren ist eine Bisthiazolyleinheit Teil des aus *Sterptomyces verticillus* isolierten Naturstoffs Bleomycin **47** (Abbildung 4).^[50] Dieser wird in der Antitumor-Therapie zur Behandlung von Gebärmutterhals-, Hoden- sowie Kopf- und Nackenkrebs eingesetzt. Das Luciferin **48** der Feuerfliege *Photinus pyralis* wird zur optischen Verifizierung des Einbaus von Gensequenzen in das menschliche Genom verwendet.^[51] Die verwendete Gensequenz kodiert auch für die Luciferase (Reportergen) der Feuerfliege. War die Einschleusung erfolgreich, wird das Enzym exprimiert und kann somit das natürliche Substrat Luciferin umsetzen. Da bei der Reaktion Lichtquanten ausgesendet werden, kann der Ablauf mikroskopisch verfolgt werden.

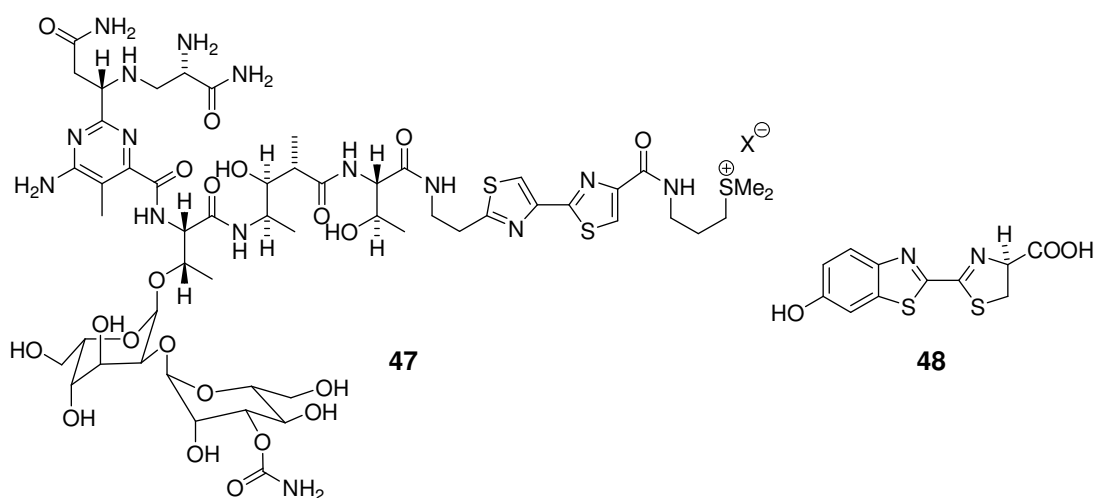
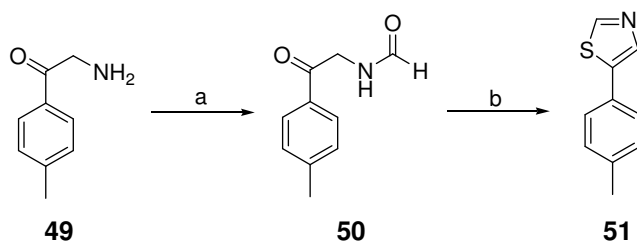


Abbildung 4: Strukturen von Bleomycin **47** und dem Luciferin der Feuerfliege **48**.

Die Synthesemethoden zur Darstellung von Thiazolen sind zum Teil an die der Oxazole angelehnt. Eine Variante besteht in der Zyklodehydratation von α -Acylaminoketonen (Robinson-Gabriel-Synthese). Ein mögliches Reagenz ist Phosphorpentasulfid, wie es in der Darstellung von 5-*p*-Tolylthiazol angewendet wurde (Schema 20).^[52]



Schema 20: Synthese von 5-*p*-Tolylthiazol. (a) HCO_2COMe . (b) P_2S_5 .

Für die Darstellung unterschiedlich substituierter Thiazole wurde z. B. Lawesson's Reagenz **50** (Abbildung 5) verwendet,^[52b] um ω -Acylaminoketone über die entsprechende Thiocarbonylverbindung in den schwefelhaltigen Heterozyklus zu überführen.

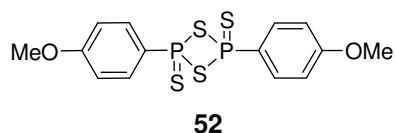
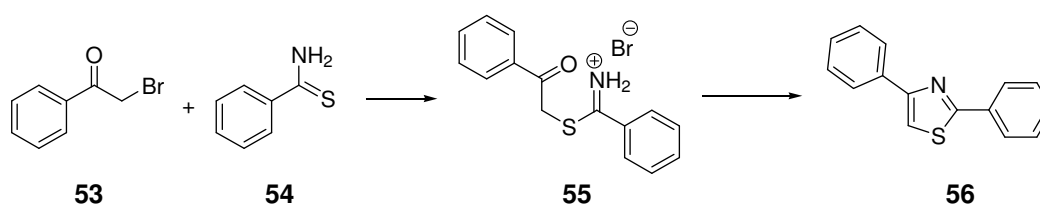


Abbildung 5: Struktur von 2,4-Bis(4-methoxyphenyl)-1,3,2,4-dithiadiphosphetan-2,4-disulfid (Lawesson's Reagenz) **52**.

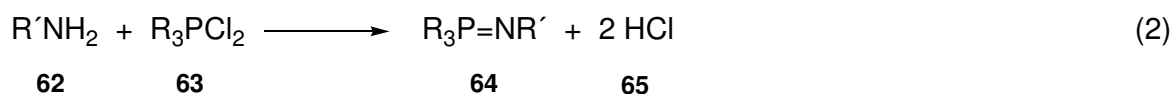
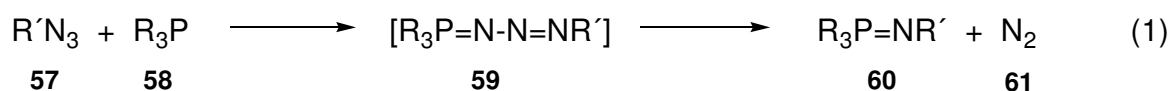
Eine klassische Methode zur Synthese von Thiazolen ist die Thiazolsynthese nach Hantzsch.^[53] Sie bedient sich Reagenzien wie Thioamiden, Thioharnstoffen, Thiosemicarbaziden und anderen Verbindungen, welche das –N-C=S Strukturmotiv tragen und erfordert zusätzlich eine α -Halocarbonylverbindung. Wie in der Beispielreaktion (Schema 21) zu sehen, greift das Schwefelatom von Phenylthioamid **54** den halogentragenden Kohlenstoff der Verbindung **53** an und bildet die azyklische Verbindung **55**, die dann zum 2,4-Diphenylthiazol **56** zyklisiert.^[52a]



Schema 21: Thiazolsynthese nach Hantzsch.

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Methode, die Aza-Wittig-Reaktion, wurde zum ersten Mal von Carrié *et al.* im Zusammenhang mit der Synthese von zyklischen Iminen erwähnt.^[54a] Vor allem auf dem Gebiet der Chemie der Stickstoff-Heterozyklen hat diese Synthesestrategie Bedeutung erlangt.^[54b-c] Genau wie ihre Kohlenstoff-Analoga können Iminophosphorane (Aza-Ylide) mit Carbonylverbindungen in einer Wittig-artigen Reaktion, der Aza-Wittig-Reaktion, reagieren und somit Imine bilden.

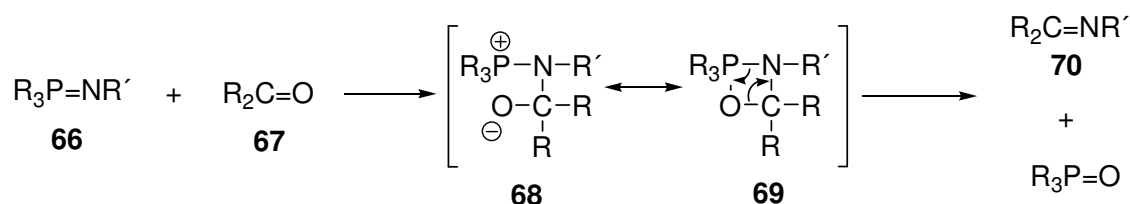
Staudinger *et al.* gelang es zum ersten Mal das Substrat für diese Reaktion, die Iminophosphorane **60**, durch Umsetzung eines tertiären Phosphins **58** mit einem organischen Azid **57** zu synthetisieren (Schema 22, Gleichung 1).^[54a] Die Triebkraft der Reaktion ist hier die Freisetzung von elementarem Stickstoff **61** aus dem intermediären, instabilen Phosphazid **59**.



Schema 22: Synthese von Iminophosphoranen nach Staudinger (Gleichung 1) und Kirsanov (Gleichung 2).

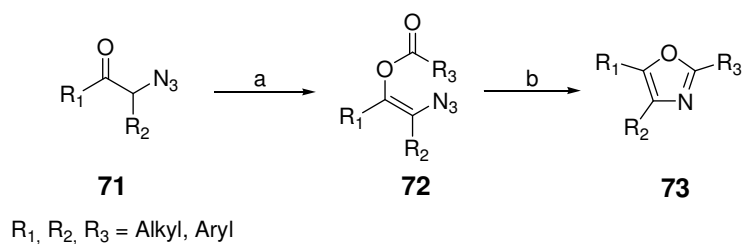
Eine zweite von Kirsanov^[55b] entwickelte Methode verläuft unter stark sauren Reaktionsbedingungen und kommt aus diesem Grund nur für Substrate in Frage, die keine empfindlichen Funktionalitäten tragen (Schema 22, Gleichung 2). Polyphosphor(V)-Verbindungen **63** reagieren mit Aminen **62** unter Freisetzung von Chlorwasserstoff **65** zum Iminophosphoran **64**.

Eine interessante Anwendung für Iminophosphorane **66** ist deren Umsetzung mit Ketonen und anderen Carbonylverbindungen **67** in einer so genannten Aza-Wittig-Reaktion. Die Reaktion (Schema 23) verläuft möglicherweise über die intermediäre Bildung eines Oxazaphosphetans **69**. Letztere Verbindung steht im Gleichgewicht mit der Betainstruktur **68**. Das Imin **70** ergibt sich hieraus durch Abspaltung von Triphenylphosphinoxid.



Schema 23: Mechanismus der Aza-Wittig-Reaktion zur Bildung von Iminen.

Eine interessante Variante wäre die intramolekulare Aza-Wittig-Reaktion, die eine Möglichkeit zur Darstellung unterschiedlich substituierter Heterozyklen eröffnen würde. Dadurch sind grundsätzlich Fünf-, Sechs- und Siebengliedrige zyklische Imine zugänglich. Drei- und Viergliedrige Ringe können nicht dargestellt werden, da die Ringspannung des intermediär gebildeten Phosphazaoxetans zu groß ist. Für den intermolekularen Fall stellen Ketone und Aldehyde ausreichende Substrate für die Reaktion dar, dagegen kommen für die Zyklisierung auch Ester, Amide und Imide in Frage.^[54b-c] Auf diese Weise lassen sich ebenfalls heterozyklische Verbindungen synthetisieren, die zusätzlich andere Heteroatome als Stickstoff im Ringsystem tragen. Aus Enolacetaten können beispielsweise Oxazole dargestellt werden, wie Eguchi *et al.* gezeigt haben (Schema 24).^[56]

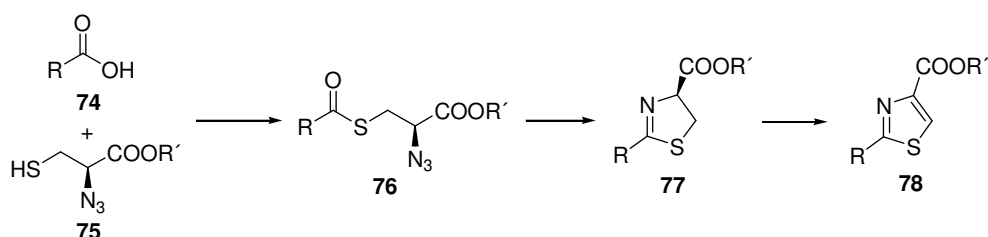


Schema 24: Oxazolsynthese nach Eguchi et al.. (a) i. LDA, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$; ii. $(\text{R}_3\text{CO})_2\text{O}$ oder R_3COCl ; (b) $\text{P}(\text{OEt})_3$, Cyclohexan, $90\text{ }^\circ\text{C}$, 24 h.

Nach dieser Methode werden α -Azidoketone **71** zunächst mit Lithiumdiisopropylamid enolisiert und anschließend mit Anhydriden oder Säurechloriden abgefangen. Die Zyklisierung des hieraus entstandenen Esters **72** mithilfe von Triethylphosphit bewerkstelligt, und ergibt 2,4,5-substituierte Oxazole **73** in moderater bis guter Ausbeute. Als Problem hat sich der Enolisierungsschritt erwiesen, denn hier kann neben dem für die Zyklisierung günstigen *Z*-Isomer, auch das weniger günstige *E*-Isomer entstehen, wobei das Verhältnis der beiden Isomere stark von den Substituenten abhängig ist. Des Weiteren ist diese Methode für empfindliche Substituenten am Oxazol wenig geeignet.

Das Konzept für die in dieser Arbeit beschriebene Thiazolsynthese basiert auf der Kupplung eines α -Azidocysteinderivats **75** mit einer entsprechenden Säure **74** zum Thioester **76**, welcher im Anschluß unter Verwendung von Triphenylphosphin zum Thiazolin **77** zyklisiert wird. Die Bildung des Thiazols **78** erfolgt unter basenassistierter Oxidation des Thiazolins (Schema 25).

Die in dieser Synthese angewandte Methode kann sowohl für Oxazole, als auch für Thiazole verwendet werden und ermöglicht die Zyklisierung unter relativ milden Bedingungen.



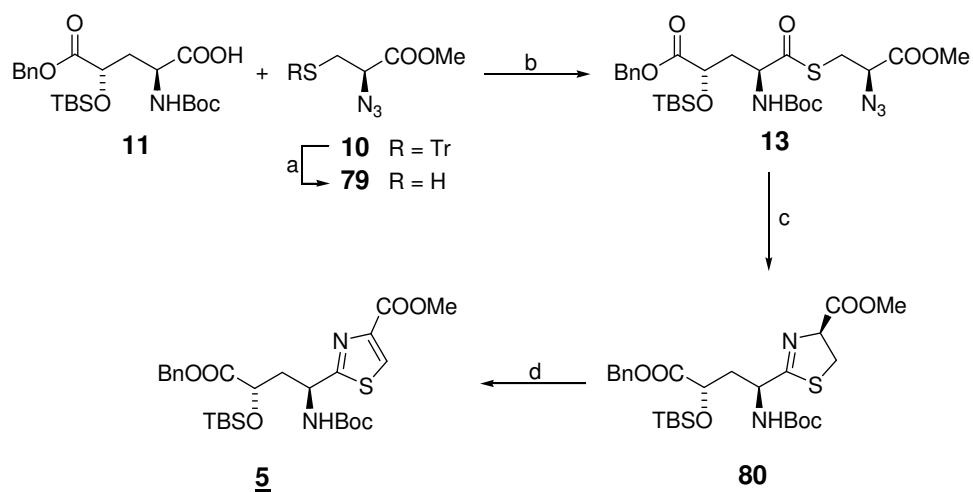
Schema 25: Konzept der Thiazolsynthese unter Verwendung der Aza-Wittig-Reaktion.

3.2.1 Synthese von Methyl-(N-Boc-(1S, 3S)-3-(((tert-Butyl-dimethylsilyloxy)propyl)-((benzyloxy)carbonyl))thiazol-4-carboxylat **5**

Die Synthesestrategie basiert auf der Veresterung eines α -Azidoaminosäureesters über dessen *O*- bzw. *S*-haltige Seitenkette mit einer beliebigen Verbindung mit einer Carbonsäurefunktion. α -Azidoserinester geben Oxazole und α -Azidocysteinthioester entsprechend Thiazole. Als Reagenz für die Zyklisierung wird Triphenylphosphin verwendet, wobei ein Oxazolin bzw. Thiazolin erhalten wird. Die Heterozyklen werden in einer basenassistierten Oxidation in Oxazole bzw. Thiazole transformiert.

Für die Darstellung des Thiazols **5** dienten die Glutaminsäure **11** und der α -Azidomethylester **79** als Ausgangsmaterialien. Das freie Thiol **10** wird erst unmittelbar vor der Veresterungsreaktion gebildet^[57] und ohne weitere Reinigung im nächsten Syntheseschritt eingesetzt (Schema 26). Für die Thioesterbildung wurde die Glutaminsäure **11** in ein aktiviertes gemischtes Anhydrid überführt und dann bei -20 °C mit dem Cysteinderivat **79** umgesetzt. Der Thioester **13** wurde in einer Ausbeute von 34% erhalten. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigte, dass es sich bei dem isolierten Produkt um zwei Diastereomere im Verhältnis 3 : 2 handelt. Unter den Bedingungen der Thioesterbildung wurde eines der beiden Stereozentren offensichtlich epimerisiert. Die Synthese wurde mit diesem Diastereomeregemisch fortgesetzt

Die anschließende Zyklisierung zum Zwischenprodukt Thiazolin **80** gelang glatt mit Triphenylphosphin. Ein hierbei intermediär vermutetes Iminophosphoran wurde nicht isoliert, es erscheint jedoch plausibel, dass die Reaktion über diese Zwischenstufe verläuft. Das Thiazolin **80** wurde analog zur Methode von Williams *et al.*^[58] mit Bromtrichlormethan und DBU unter Abstraktion eines Protons in das gewünschte Thiazol **5** in hervorragender Ausbeute überführt. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigte ein Diastereomerenverhältnis von 9 : 1.

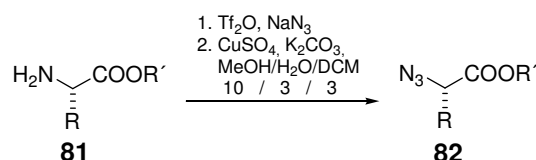


Schema 26: Synthese des Thiazolfragments **5**. (a) Et_3SiH , TFA, DCM, RT, 1 h; (b) $i\text{BuOCOCl}$, NMM, THF, $-20\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 12 h, 34%; (c) PPh_3 , THF, $-20\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow 40\text{ }^\circ\text{C}$, 19 h, 96%; (d) BrCCl_3 , DBU, DCM, $-20\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 24 h, 91%.

Die Synthese wurde unter Verwendung von DIC und DMAP zur Bildung des Thioesters **13** wiederholt. Die Epimerisierung wurde hier ebenfalls beobachtet. Das Auftreten eines Diastereomerenverhältnisses von 3 : 2 für den Thioester und 9 : 1 für das Thiazol deutet darauf hin, dass die eingesetzte Azidoverbindung nicht enantiomerenrein war. Weitere Untersuchungen zur Klärung dieses Sachverhaltes werden zur Zeit durchgeführt. Derartig starke Epimerisierungen wurden bei Aminosäurederivaten in der Arbeitsgruppe bislang nicht beobachtet.^[9]

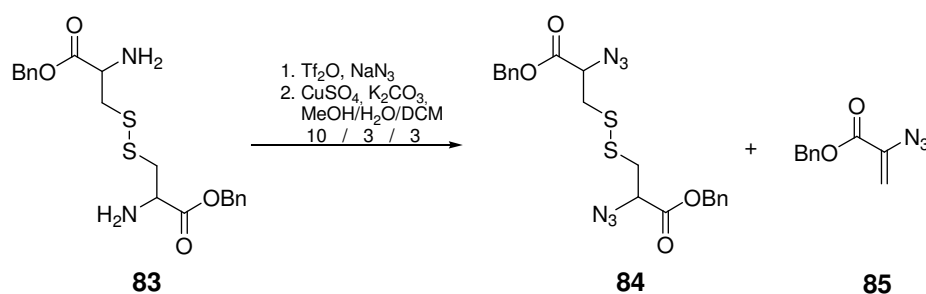
3.3 Untersuchungen zur Eliminierung beim Azidotransfer in Cystin

α -Azidosäureester **82** wie der in der Synthese des Thiazolfragments **5** verwendete α -Azidocysteinmethylester sind grundsätzlich über eine von Wong *et al.*^[59a] entwickelte und von Pelletier *et al.*^[59b] modifizierte Diazotransfer-Reaktion zugänglich. Hierzu wird das Amin (z. B. der Aminosäureester **81**) mit Trifluormethylsulfonylazid, Kaliumcarbonat und einer katalytischen Menge CuSO₄ umgesetzt. Triflylazid muss vor dem Einsatz im Diazotransfer frisch durch Reaktion von Trifluormethansulfonsäureanhydrid und Natriumazid hergestellt werden und wird ohne weitere Reinigung im nächsten Reaktionsschritt verwendet (Schema 27). Eine Isolierung von Tf-N₃ muss wegen der Instabilität und der daraus resultierenden Explosivität vermieden werden.



*Schema 27: Synthese eines α -Azidosäureester **75** aus einem α -Aminosäureesters **74**.*

Bei Testreaktionen zum Diazotransfer an Cystindibenzylester **83** war eine interessante Nebenreaktion beobachtet worden.^[9] Neben der Diazidoverbindung **84** wurde der α -Azidodehydroalaninester **85** isoliert (ca. 1 : 1, Schema 28).



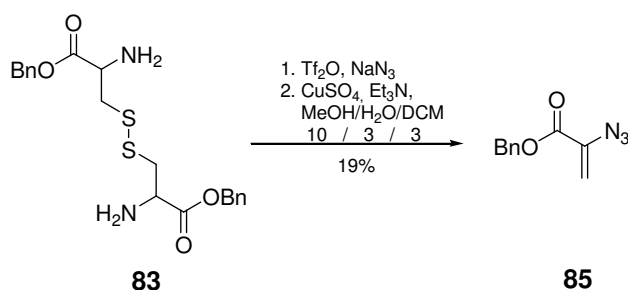
*Schema 28: Versuch des Diazotransfers mit dem Cystindibenzylester **83**.*

Eine gezielte Synthese von Verbindungen analog zu **85** böte interessante Anwendungen. Eine generelle Methode zur Darstellung von Dehydroaminosäuren unter chemoselektiver Eliminierung von Disulfiden ist bislang nicht literaturbekannt und hätte großes

Anwendungspotential in der Synthese natürlicher und nichtnatürlicher Peptidstrukturen. Darüber hinaus könnte sich so die Möglichkeit zur gezielten Transformation von Disulfidbrücken in Proteinen in Dehydroaminosäureeinheiten eröffnen.

Dehydroaminosäuren finden sich in einer Vielzahl von pharmakologisch wirksamen Naturstoffen. Dazu zählen z.B. β -Lactam-Antibiotika, die Lantibiotika und die Azinomycine.^[60] Ein häufig beschrittener Weg zur Synthese von Dehydroaminosäuren ist die Eliminierung von β -Hydroxy- α -Aminosäuren. Dazu werden die Hydroxylgruppen beispielsweise mit TsCl aktiviert und anschließend mit DABCO eliminiert.^[62a] Ein System, das ebenfalls auf diese Weise funktioniert, ist die von Bradley *et al.*^[62b] für die Synthese von Lantibiotika eingesetzte Kombination von *N*-Ethyl-*N'*-[3-(dimethylamino)propyl]carbodiimid und Kupfer(I)chlorid. Des Weiteren wurde von Corey *et al.* gezeigt,^[62c] dass Dehydroalanineinheiten gezielt in Peptide eingebaut werden können, indem der Schwefel des Cysteins methyliert, oxidiert und anschließend mit DBU eliminiert wird. Daneben sind noch eine Reihe weiterer Methoden bekannt, die sehr unterschiedliche Ansätze verwenden.^[63]

Um diese potentiell interessante Transformation unter Umständen nutzbar zu machen, beschloss man die Reaktionsbedingungen zu studieren. In Versuchen die Bildung von **85** zu reproduzieren konnte die Dehydroalaninverbindung isoliert und identifiziert werden, allerdings nur in einer Ausbeute von 19% (Schema 29).



Schema 29: Reproduzierte Synthese der Dehydroalaninverbindung 85.

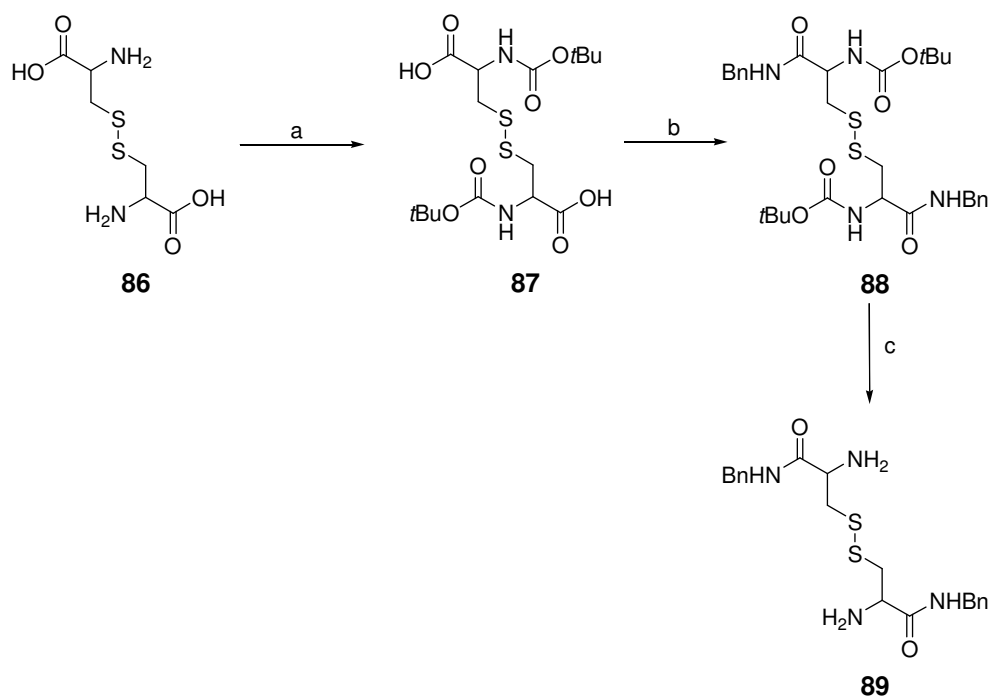
Darüber hinaus gelang dies nicht bei jedem Versuch. Die Synthese des Diazidocysteins **84** gelang nicht. Als ein grundsätzliches Problem trat dabei die Verseifung des Benzylesters auf. Hinweise aus der Literatur^[60] zeigen, dass die Spaltung von Estern und Amidn unter Anwesenheit von Metallionen möglich ist. Bivalente Metallionen (z. B.: Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+}) können unter Chelatbildung mit dem Carbonylsauerstoff und dem Amin-Stickstoff

die Spaltung von Estern bereits unter neutralen bis leicht sauren Bedingungen (pH 6) katalysieren. Die beim Diazotransfer anwesenden Cu(II)-Ionen könnten daher bereits bei den basischen Reaktionsbedingungen (pH 10.5) den Ester verseift haben. Der Schwefel in der Verbindung **83** könnte als Donor fungieren. Diese Nebenreaktion wurde auch bei Verwendung von Triethylamin als Base bei einem pH-Wert von 8.5 – 9 beobachtet. Die Reaktion wurde dann unter Zusatz von Pufferlösungen bei pH 4.8, 7, 9 und 10.5 erneut durchgeführt. Im sauren und neutralen Medium führte die Reaktion zur Zersetzung des Substrats, im basischen Medium kam es zur Hydrolyse des Benzylesters (Tabelle 2).

Tabelle 2: Ergebnisse der Diazotransfer-Reaktion bei verschiedenen pH-Werten.

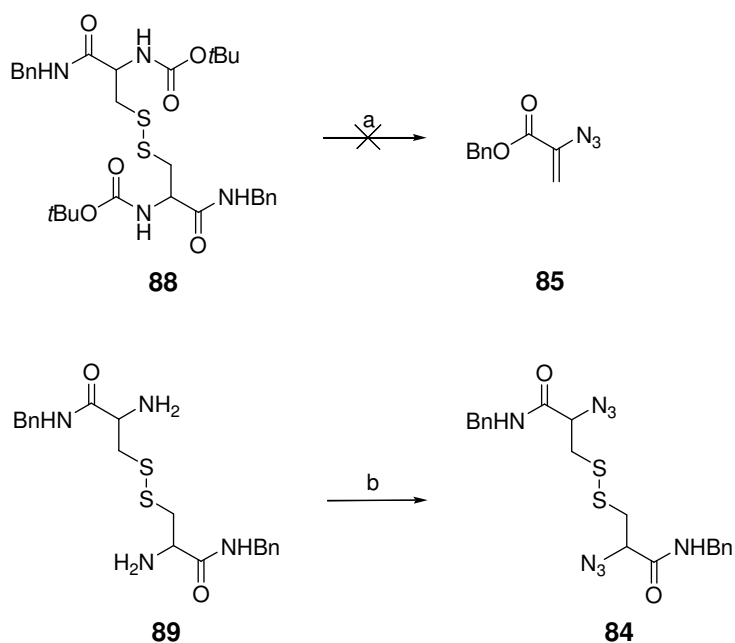
| Reaktion | pH | Ausbeute | Ausbeute |
|----------|------|--------------------------------|-------------------------|
| | | Dehydroalanin 86 [%] | Diazid 85 [%] |
| 1 | 4,8 | - | - |
| 2 | 7 | - | - |
| 3 | 9 | 16 | - |
| 4 | 10,5 | - | - |

In einem weiteren Ansatz wurde Cystin **86** in das Benzylamid **89** überführt. Die Umsetzung von Cystin mit Boc₂O ergab die Boc-geschützte Verbindung **87**, die anschließend mit Benzylamin zum Amid **88** umgesetzt wurde. Die Spaltung der Boc-Gruppe mit TFA lieferte das Benzylamid **89** (Schema 30).



Schema 30: Synthese des Benzamids **89**. (a) Boc_2O , Et_3N , 1,4-Dioxan/ H_2O , RT, 15 h, 79%; (b) DIC , HOBT , BnNH_2 , DCM , RT, 1.5 h, 68%; (c) TFA , DCM , 0 °C → RT, 45 Min., 99%.

Mit dem doppelt geschützten Cystin **88** konnte unter den Bedingungen der Diazotransfer-Reaktion kein Umsatz erzielt werden. Der Einsatz des Bis(benzylamid)cystin **89** ermöglichte die Synthese der entsprechenden Diazoverbindung in 14%. Dabei trat keine Eliminierung zum Dehydroalanin auf (Schema 31).



Schema 31: Versuche zum Diazotransfer mit den Cystinderivaten **88** und **89**. a) Tf-N₃, K₂CO₃, CuSO₄·5H₂O, MeOH/DCM/H₂O, RT, 24 h; b) Tf-N₃, K₂CO₃, CuSO₄·5H₂O, MeOH/DCM/H₂O, RT, 19 h, 14 %.

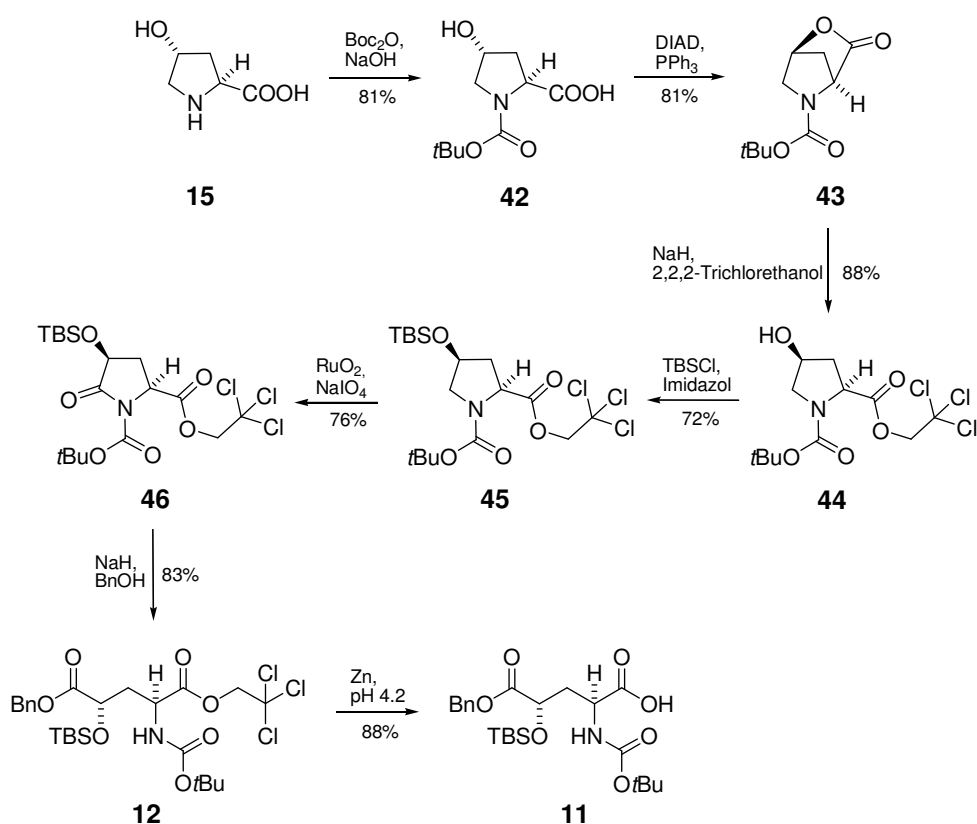
Die Ergebnisse Versuche in Schema 31 weisen darauf hin, dass für den Diazotransfer eine freie Aminogruppe zur Verfügung stehen muss.

Mit den untersuchten Methoden war die Herausarbeitung der richtigen Reaktionsbedingungen für die gezielte Synthese der Dehydroalaninspezies nicht möglich.

4. Zusammenfassung

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

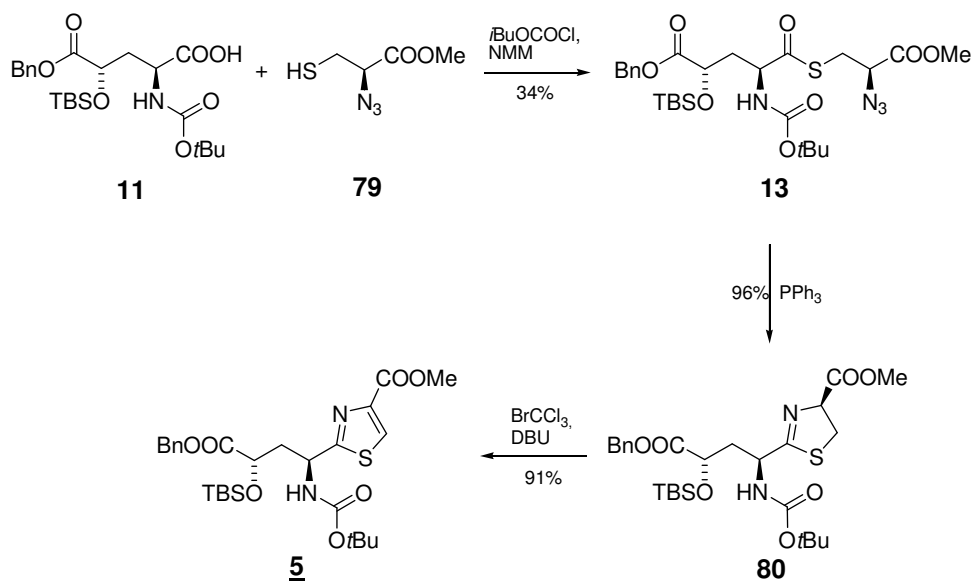
In der vorliegenden Arbeit wurde ein Zugang für das Fragment **5** des nordwestlichen Teils des Thiopeptids Nosiheptid entwickelt. Die Synthese des hierzu benötigten γ -Glutaminsäure-Derivats **11** konnte in sieben Stufen gezeigt werden. Die Synthese griff dabei auf die kommerziell erhältliche Aminosäure *trans*-4-Hydroxyprolin **15** zurück. Diese konnte als Trichloroethylester **44** geschützt werden und im weiteren Syntheseverlauf mittels Rutheniumtetraoxid-katalysierter Oxidation in das Pyrrolidinon **46** überführt werden. Letzteres konnte erfolgreich durch baseninduzierte Öffnung des Lactams in den differenzierten Diester **12** überführt werden. Aufgrund der Orthogonalität der Schutzgruppen gelang es den Trichloroethylester chemoselektiv mit elementarem Zink in die Glutaminsäure **11** umzuwandeln. Diese Spaltung konnte in einer Ausbeute von 88% gezeigt werden (Schema 32).



Schema 32: Gesamtübersicht zur Synthese der Glutaminsäure **11**.

Zusammenfassung

Darüber hinaus wurde das Thiazol **5** in drei Stufen ausgehend von der Säure **11** dargestellt. Nach dem Schlüsselschritt, der Bildung des Thioesters **13**, konnte unter Verwendung der Aza-Wittig-Methodik das Thiazolin **80** isoliert werden. Die Oxidation zum Thiazol **5** gelang in einer Ausbeute von 91%. Die Gesamtausbeute zur Darstellung des Thiazols **5** betrug 19% über drei Stufen (Schema 33), wobei die Ausbeute des recht labilen Thioesters sicher noch optimiert werden kann.



Schema 33: Synthese des Thiazols **5**.

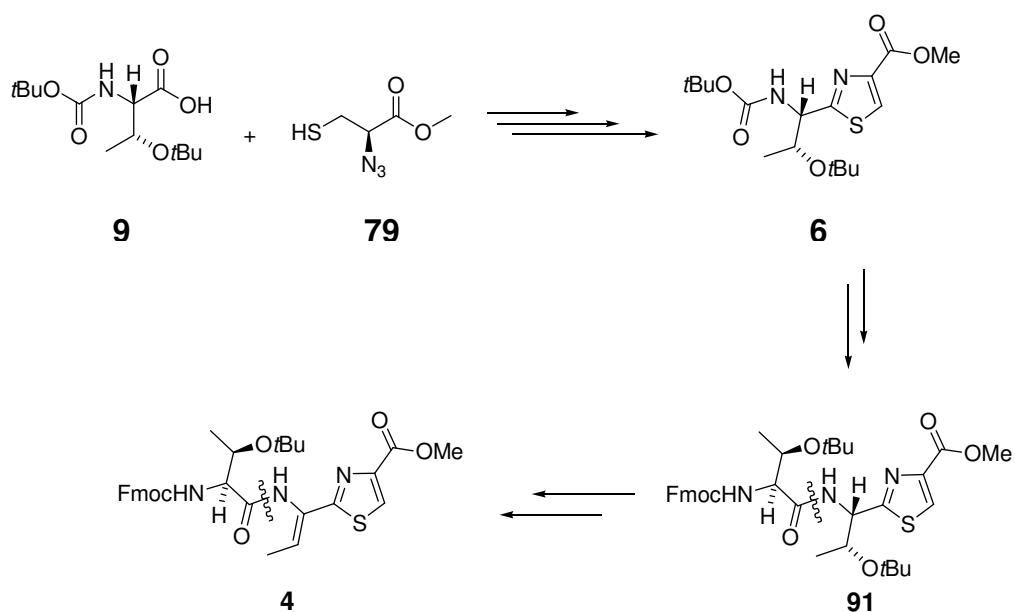
Das Auftreten einer Epimerisierung bei der Thioesterbildung bleibt Gegenstand weiterer Untersuchungen. Bisweilen ist noch nicht klar an welchem Stereozentrum die Epimerisierung stattfindet. Die Entwicklung neuer Methoden, die diese unerwünschte Nebenreaktion unterdrücken ist von entscheidender Bedeutung. Reaktionsbedingungen, die bei tieferen Temperaturen und mit schwächeren bzw. ganz ohne Basen zum Produkt führen könnten dieses Problem beheben.

Das Auftreten einer Eliminierung beim Diazotransfer im Cystinbenzylester **84** als interessante Nebenreaktion, wurde genauer untersucht. Dabei war die Reproduzierbarkeit des Reaktionsergebnisses nicht immer gegeben. Ein Grund hierfür war wahrscheinlich die Spaltung des Benzylesters. Die Synthese des stabileren Benzylamids und dessen Umsetzung im Diazotransfer zeigte zwar die Bildung des Diazidocystins, jedoch nicht die des Eliminierungsprodukts. Die Reaktionsbedingungen für die gezielte Generierung des Dehydroazids konnten mit den untersuchten Methoden nicht gefunden werden. Da dieses

Produkt in der Reaktion auftritt und aufgrund der potentiell sehr interessanten Anwendbarkeit dieser Reaktion in der Peptidsynthese ist es sinnvoll diesen Reaktionstyp weiter zu untersuchen.

4.2 Ausblick

Im weiteren Verlauf der Synthese des nordwestlichen Teils von Nosiheptid steht die Darstellung des Fragments **4** noch aus. Eine mögliche Syntheseroute basiert auf der geschützten Aminosäure Threonin **9**. Diese kann analog der Synthese des Thiazols **A** mit dem α -Azidocysteinmethylester **79** zum Thioester verknüpft und anschließend mittels Aza-Wittig-Methodik über eine Zyklisierungs- und Oxidationssequenz zum Thiazol **6** umgesetzt werden (Schema 34).



Schema 34: Geplante Syntheseroute zur Darstellung des Fragments 4.

Das Thiazol **6** könnte dann mit TFA entschützt und dann mit Fmoc-Threonin **7** zum Amid **91** gekuppelt werden. Um das Olefin im Fragment **A** (*Z*)-selektiv zu synthetisieren, könnte der sekundäre Alkohol beispielsweise mesyliert werden und die dadurch gebildete gute Abgangsgruppe mittels Base eliminiert werden. Die Verknüpfung der Fragmente **4** und **5** zum nordwestlichen Teil von Nosiheptid **3** könnte beispielsweise unter Standardpeptidknüpfungsbedingungen erfolgen.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit konnte die erfolgreiche stereoselektive Synthese der Glutaminsäure **11** demonstrieren. Die Darstellung des Thiazolfragments **5** konnte ebenfalls gezeigt werden, wenn auch ein Diastereomergemisch erhalten wurde. Zu diesem Sachverhalt werden weitere Untersuchungen durchgeführt.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen

5.1.1 Eingesetzte Lösungsmittel

Lösungsmittel, die in nicht luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Reaktion eingesetzt worden sind, wurden wie vom Hersteller geliefert eingesetzt.

Lösungsmittel, die in luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen eingesetzt worden sind, wurden wie folgt behandelt:

Dichlormethan wurde unmittelbar vor Gebrauch unter Argon von Kalziumhydrid abdestilliert.

Tetrahydrofuran wurde unmittelbar vor Gebrauch unter Argon von Natrium/Benzophenon abdestilliert.

Andere trockene Lösungsmittel wie **Dimethylformamid**, **Toluol** und **Methanol** wurden wie vom Hersteller geliefert, eingesetzt (Acros, extra trocken, H₂O < 50 ppm).

5.1.2 Verwendete Reagenzien

Alle kommerziell erhältlichen Reagenzien wurden, falls nicht anders angegeben, ohne weitere Reinigung verwendet. 2,2,2-Trichlorethanol wurde von Kalziumsulfat abdestilliert. Der Trityl-geschützte Azidomethylester **10** wurde von Surendra Harkal (AK Arndt) dargestellt und zur Verfügung gestellt.

5.1.3 Schutzgasarbeiten

Aller Glasapparaturen für Reaktionen mit luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Substanzen wurden im Trockenofen bei 100 °C getrocknet. Die Arbeiten wurden unter Argon als Schutzgas durchgeführt.

5.1.4 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie:

Merck Aluminium-DC-Folien Kieselgel 60, Fluoreszenzindikator F₂₅₄. Als Anfärbereagenz wurde eine ethanolische Lösung von Phosphormoybdänsäurepentahydrat (12 g/ 250 ml) oder eine Lösung von Kaliumpermanganat (0,5%ige Lösung in Wasser) verwendet.^[64]

Säulenchromatographie:

Für die Flash-Chromatographie wurde Acros Kieselgel für Säulenchromatographie (0.04 – 0.07 mm; 6 nm Porendurchmesser) verwendet.

Analytische HPLC:

Varian ProStar Model 410 Anlage mit der Säule Nucleodur Gravity C18 5 μ mit 125 mm Länge und 4 mm Innendurchmesser.

5.1.5 Charakterisierung

¹H-NMR-Spektroskopie:

Die Spektren wurden auf einem Varian Mercury 400 (400 MHz) Spektrometer in deuterierten Lösungsmitteln aufgenommen. Die Restprotonen der Lösungsmittel (CDCl₃ δ_{H} = 7.26 ppm; CD₃OD δ_{H} = 3.31; C₆D₆ δ_{H} = 7.15; CD₃CN δ_{H} = 1.94) dienten als interner Standard. Die chemischen Verschiebungen sind als ppm in Einheiten der δ -Skala angeben. Für die Multiplizitäten wurden die folgenden Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), qn (Quintett), dd (Doppeldublett), ddd (Dreifachdublett), dt (Dublett von Triplets), m (Multipllett), b (breites Signal, kombiniert mit d, t, q,...), app. (scheinbare Signalform, kombiniert mit d, t, q,...). Kopplungskonstanten wurden in Hz angegeben.

¹³C-NMR-Spektroskopie:

Alle Spektren wurden auf einem Varian Mercury 400 bei 100 MHz aufgenommen und auf die entsprechenden Lösungsmittelsignale (CDCl₃ δ_{C} = 77.0 ppm; CD₃OD δ_{C} = 49.05; C₆D₆ δ_{C} = 128.02; CD₃CN δ_{C} = 1.24) kalibriert. Alle eindimensionalen Spektren wurden

breitbandenkoppelt aufgenommen. HSQC-Spektren dienten zur Verifizierung der Zuordnung. Die chemischen Verschiebungen sind als ppm in Einheiten der δ -Skala angegeben.

Massenspektrometrie (GC-MS):

Die GC-MS-Chromatogramme wurden auf einer HP 6890 Anlage mit dem Massendetektor HP 5973 und der Kapillarsäule HP 5M (Länge 25 m, Innendurchmesser 0.2 mm, 0.33 μ m Beschichtungsdicke) mit Helium als Trägergas aufgenommen.

Massenspektrometrie (LC-MS):

Die LC-MS-Spektren wurden auf einer LCQ Advantage ESI Anlage mit der Vorsäule VP 50/21 Nucleodur C18 Gravity 5 μ m und der Hauptsäule Nucleodur C18 Gravity 3 μ m (Länge 125 mm, Innendurchmesser 4 mm; beide von Macherey&Nagel) gemessen. Die Detektion erfolgte bei 215 nm und 254 nm.

Massenspektrometrie (HRMS (FAB)):

Die hochauflösenden Massenspektren wurden mit einem Finnigan MAT MS 90 Spektrometer gemessen. Als Ionisierungsmethode wurde *Fast Atom Bombardment* (FAB) mit *m*-Nitrobenzylalkohol als Matrix verwendet.

IR-Spektroskopie:

Alle Messungen wurden auf einem FT-IR-Spektrometer Vector 22 der Firma Bruker aufgenommen. Bandenmaxima wurden in Wellenzahlen (cm^{-1}) angegeben.

Schmelzpunktsbestimmung;

Alle Schmelzpunkte wurden auf einem Büchi Melting Point B-540 aufgenommen und sind unkorrigiert.

Spezifische optische Drehung:

Die spezifische optische Drehung wurde am Schmidt + Haensch Polartronic HH8 Kreispolariometer mit einer Natriumlampe bei 589 nm (c in g/100 ml, 10 cm Küvette) gemessen.

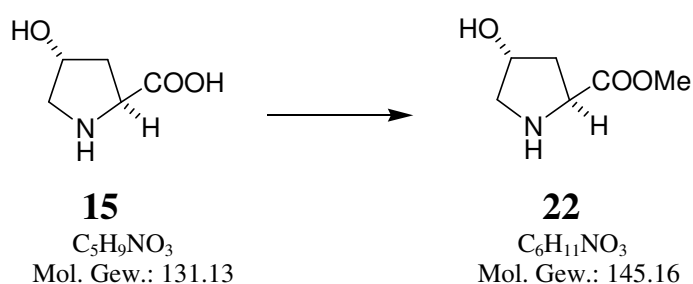
Elementaranalyse:

Elementaranalysen wurden auf einem Leco CHNS-932 an der Universität Dortmund von Markus Hüffner angefertigt.

5.2 Synthese der Substanzen

5.2.1 *Synthese des Thiazols 5*

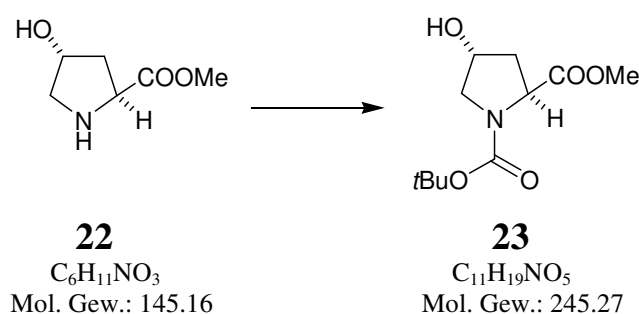
Darstellung von *trans*-4-hydroxy-prolin-methylester (22**)^[18]**



Ansatz: *trans*-4-hydroxy-prolin **15** (5.51 g, 42.0 mmol)
 Thionylchlorid (3.37 ml, 46.2 mmol, 2.0 eq)

Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von *trans*-4-hydroxy-prolin **15** (5.51 g, 42.0 mmol) in Methanol (22 ml) wurde über 10 Minuten Thionylchlorid (3.37 ml, 46.2 mmol) zugetropft. Die Lösung wurde 1 h bei 0 °C gerührt und anschließend 19 h unter Rückfluß erhitzt. Danach wurde die Reaktionslösung auf RT abgekühlt. Das Produkt wurde durch Zugabe von eiskaltem Diethylether (150 ml) gefällt und über eine G3-Fritte abfiltriert. Die Trocknung des Niederschlags im Ölpumpenvakuum lieferte das Hydrochlorid des Methylesters **22** (6.09 g, 42.00 mmol, quant.) als farblosen Feststoff. Dieser wurde ohne weitere Reinigung in der folgenden Synthese eingesetzt.

Darstellung von *N*-Boc-*trans*-4-hydroxy-prolin-methylester (23**)^[18]**



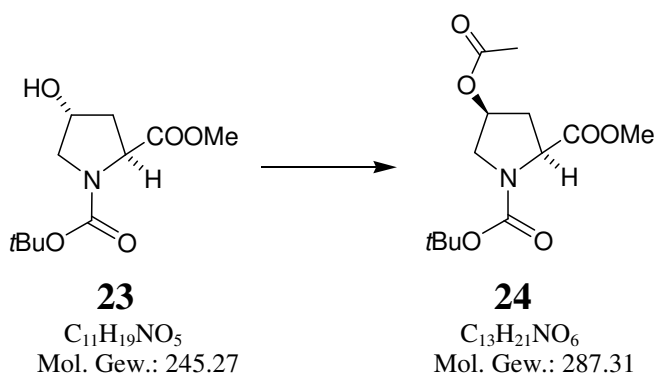
Ansatz: 6.09 g (42.0 mmol) Prolin-methylester-hydrochlorid **22**
 11.9 g (54.6 mmol, 1.3 eq.) Di-*tert*-butoxy-dicarbonat
 12.5 ml (71.4 ml, 1.7 eq.) Diisopropylethylamin
 103 mg (840 μ mol, 2 mol%) 4-Dimethylaminopyridin

Zu einer Lösung des Prolin-methylester-hydrochlorids **22** (6.09 g, 42.0 mmol) in 1,4-Dioxan (23 ml) wurde bei RT Diisopropylethylamin (12.5 ml, 71.4 mmol, 1.7 eq.) gegeben. Anschließend wurde die Lösung tropfenweise mit Di-*tert*-butoxy-dicarbonat (11.91 g, 54.57 mmol, 1.3 eq.) in Dioxan (55 ml) versetzt und 2 h gerührt. Danach wurde 4-Dimethylaminopyridin (103 mg, 840 μ mol, 2 mol%) zugegeben und weitere 18 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und der Rückstand in Ethylacetat (230 ml) aufgenommen. Die Lösung wurde mit 1 M wässriger Zitronensäure-Lsg. (1 \times 100 ml), sowie 1 M wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lsg. (1 \times 100 ml) und mit Wasser (2 \times 100 ml) gewaschen. Schließlich wurde die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Trocknen im Ölpumpenvakuum lieferte den Boc-geschützten Prolinester **23** (8.33 g, 34.0 mmol, 81%) als hellgelbes Öl.

DC: $R_f = 0.46$ (Ethylacetat).

¹H-NMR : (400 MHz, CDCl₃, Rotamere)
 $\delta = 1.41, 1.46$ (je s, 63 : 37, 9H, *t*-Bu), 2.02–2.12 (m, 1H, 3-H_{b2}),
 2.23–2.30 (m, 1H, 3H_{a2}), 3.24 (bs, 1H, OH), 3.50 (m, 1H, 5-H_{a2}),
 3.64 (m, 1H, 5-H_{b2}), 3.73 (s, 3H, OMe), 4.38–4.49 (m, 1H, 2-H₃),
 4.49–4.51 (m, 1H, 4-H₃).

Darstellung von *N*-Boc-(2*S*,4*S*)-4-acetyl-prolin-methylester (24**)**



Ansatz: 8.33 g (34.0 mmol) Prolin-Methylester **23**
 11.0 g (40.8 mmol, 1.2 eq.) Triphenylphosphin
 7.90 ml (40.8 mmol, 1.2 eq.) Diisopropylazodicarboxylat
 2.92 ml (50.9 mmol, 1.5 eq.) wasserfreie Essigsäure

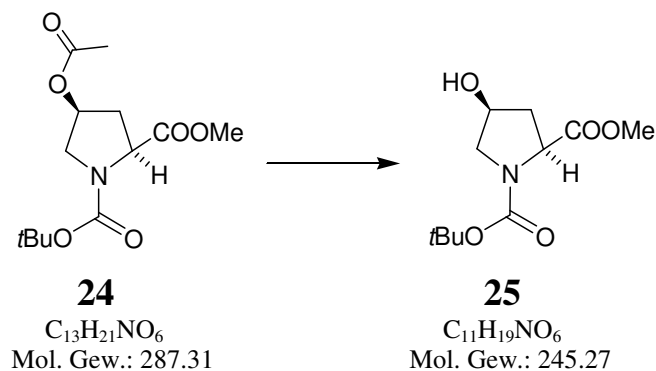
Der Prolinmethylester **23** (8.33 g, 34.0 mmol) wurde, unter Argonatmosphäre, zusammen mit Triphenylphosphin (11.0 g, 40.8 mmol, 1.2 eq.) und Eisessig (2.92 ml, 50.9 mmol, 1.5 eq.) in Toluol (340 ml) gelöst. Zu der auf 0 °C gekühlten Lösung wurde dann über 15 Minuten Diisopropylazodicarboxylat (7.90 ml, 40.8 mmol, 1.2 eq.) zugetropft. Die Reaktionslösung wurde 1.5 h bei 0 °C und anschließend 21 h bei RT gerührt. Danach wurde die Lösung i. Vak. auf 75 ml eingengt und 30 Minuten auf 5 °C gekühlt. Der ausgefallene Feststoff (Triphenylphosphinoxid) wurde über eine G4-Fritte abfiltriert und mit eiskaltem Toluol (100 ml) gewaschen. Das Filtrat wurde i. Vak. eingengt. Die chromatographische Reinigung des Rückstands über Kieselgel (270 g) mit PE/MTBE (3 : 1) lieferte das acylierte Prolinderivat **24** (7.70 g, 26.8 mmol, 79%) als farbloses Öl.

DC: $R_f = 0.13$ (PE/MTBE 3 : 1)
 $R_f = 0.20$ (PE/MTBE 3 : 1), Diisopropyl-1,2-hydrazin-dicarboxylat.

¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃, Rotamere)
 $\delta = 1.36, 1.40$ (je s, 52 : 48, 9H, *t*-Bu), 1.93 (s, 3H, OAc), 2.19–2.22 (m, 1H, 3H_{b2}), 2.33–2.49 (m, 1H, 3H_{a2}), 3.48 (dd, 1H, $J = 12.4, 17.6$ Hz, 5-H_{a2}), 3.62–3.71 (m, 1H, 5-H_{b2}), 3.67 (s, 3H, OMe), 4.37 (dd, $J = 8.8, 38.8$ Hz, 1H, 2-H), 5.15 (m, 1H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3 , Rotamere)
 $\delta = 21.6$ (2 \times , OAc), 28.5 (Boc-C(CH_3) $_3$), 36.0 (C-3), 52.1 (2 \times , C-2),
 52.4 (C-5), 57.8 (2 \times , OMe), 72.5 (2 \times , C-4), 80.6 (2 \times , Boc-C(CH_3) $_3$),
 154.0 (2 \times , Boc-C=O), 170.5 (2 \times , OAc), 172.5 (2 \times , COOMe).

Darstellung von *N*-Boc-*cis*-4-hydroxy-prolin-methylester (25**)**



Ansatz: 7.70 g (26.8 mmol) Acetat **24**
 4.07 g (29.4 mmol, 1.1 eq.) Kaliumcarbonat (wasserfrei)

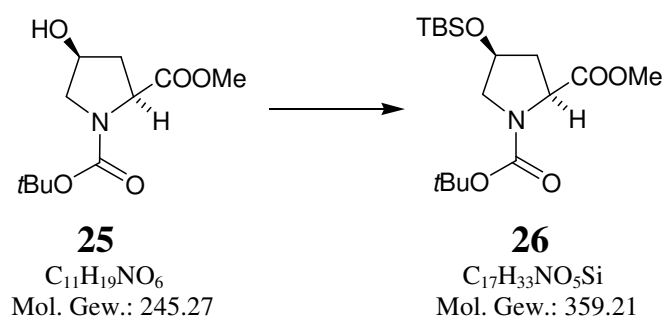
Das acylierte Prolinderivat **24** (7.70 g, 26.8 mmol) wurde in Methanol (100 ml) gelöst. In dieser Lösung wurde Kaliumcarbonat (4.07 g, 29.4 mmol, 1.1 eq.) suspendiert und anschließend 3.5 h bei RT gerührt. Das überschüssige Kaliumcarbonat wurde dann über einen Faltenfilter abfiltriert und das Filtrat unter Kühlung auf 0 °C mit Eisessig neutralisiert. Das Lösungsmittel wurde anschließend i. Vak. entfernt. Die Chromatographie des Rohprodukts an Kieselgel (220 g) mit PE/MTBE (4 : 1 \rightarrow 2 : 1) lieferte den sekundären Alkohol **25** (4.60 g, 18.8 mmol, 70%) als farblosen Feststoff.

DC: $R_f = 0.13$ (PE/MTBE 2 : 1).

$^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3 , Rotamere)
 $\delta = 1.42, 1.46$ (je s, 54 : 46, 9H, Boc-C(CH_3) $_3$), 2.06–2.11 (m, 1H, 3-H $_b$), 2.27–2.38 (m, 1H, 3-H $_a$), 3.24 (bs, 1H, OH), 3.49–3.57 (m, 1H, 5-H $_b$), 3.62–3.72 (m, 1H, 5-H $_a$), 3.78, 3.80 (je s, 3H, OMe), 4.28–4.31 (m, 1H, 2-H $_3$), 4.35–4.39 (m, 1H, 4-H).

¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃, Rotamere)
 δ = 28.5 (2x, Boc-C(CH₃)₃), 38.4 (2x, C-3), 52.9 (2x, C-2), 55.9 (2x, C-5), 58.0 (2x, OMe), 71.0 (2x, C-4), 80.7 (Boc-C(CH₃)₃), 154.3 (2x, Boc-C=O), 175.8 (2x, COOMe).

Darstellung von (2S,4S)-N-Boc-4-(tert-Butyl-dimethylsilyloxy)-pyrrolidin-2-carbonsäure-methylester (26)



Ansatz: 4.59 g (18.7 mmol) Alkohol **25**
 3.67 g (24.3 mmol, 1.3 eq) *tert*-Butyl-dimethyl-chlorsilan
 3.31 g (48.6 mmol, 2.6 eq.) Imidazol

Der sekundäre Alkohol **25** (4.59 g, 18.7 mmol) wurde zusammen mit Imidazol (3.31 g, 48.6 mmol, 2.6 eq.) unter Argonatmosphäre in wasserfreiem DMF (20 ml) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung von *tert*-Butyl-dimethyl-chlorsilan (3.67 g, 24.3 mmol, 1.3 eq.) in DMF (10 ml) über 20 Minuten zugetropft. Nach 6 h, in denen sich die Reaktionslösung langsam von 0 °C auf RT erwärmte, wurde die Lösung in Wasser (50 ml) gegossen. Es wurde mit Diethylether (3 × 70 ml) extrahiert; die organischen Extrakte wurden mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen und anschließend mit Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und die Chromatographie des Rückstands an Kieselgel (150 g) mit PE/MTBE (10 : 1) lieferte den silylgeschützten Alkohol **26** (6.67 g, 18.6 mmol, 91%) als farbloses Öl.

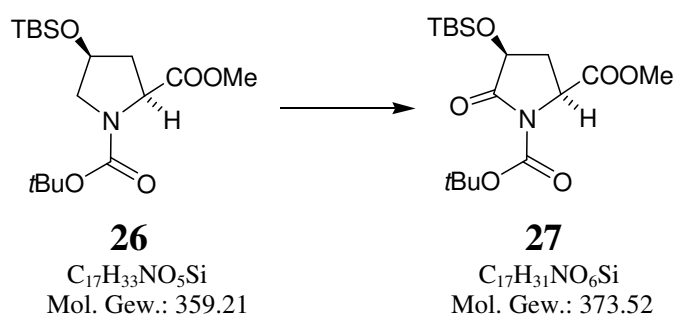
DC: R_f = 0.11 (PE/MTBE 10 : 1).

¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃, Rotamere)
 δ = 0.03, 0.04 (je s, 6H, TBS-(CH₃)₂), 0.85, 0.86 (je s, 9H, TBS-C(CH₃)₃), 1.42, 1.47 (je s, 9H, Boc-C(CH₃)₃), 2.07–2.12 (m, 1H, 3-H_{b2}), 2.22–2.35 (m, 1H, 3-H_{a2}), 3.30 (m, 1H, 5-H_{b2}), 3.63 (m, 1H, 5-H_{a2}), 3.70 (s, 3H, OMe), 4.35 (m, 1H, 2-H₃), 4.27–4.42 (m, 1H, 4-H₃).

¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃, Rotamere)
 δ = -4.9, -5.0 (2×, TBS-(CH₃)₂), 17.9 (TBS-C(CH₃)₃), 25.6 (2×, TBS-C(CH₃)₃), 28.4 (2×, Boc-C(CH₃)₃), 39.2 (C-3), 51.9 (2×, OMe), 54.5 (C-2), 57.6 (2×, C-5), 69.7 (C-4), 79.9 (Boc-C(CH₃)₃), 153.8 (Boc-C=O), 172.9 (COOMe).

GCMS: m/z: 258 [M – *t*Bu-CO₂]⁺, 246 [M – Si(CH₃)₂*t*Bu]⁺, [M – CO₂Me – CO₂*t*Bu]⁺, 142 [M – CO₂*t*Bu – SiMe₂*t*Bu]⁺, 68 [M – OTBS – Boc – CO₂Me]⁺.

Darstellung von *N*-Boc-(2*S*,4*S*)-4-(*tert*-Butyl-dimethylsilyloxy)-pyrrolidin-5on-2-carbonsäure-methylester (27)^[10]



Ansatz: 3.58 g (9.96 mmol) Pyrrolidinon **26**
 5.32 g (14.9 mmol, 2.5 eq.) Natriumperiodat
 265 mg (1.99 mmol, 20 mol%) RuO₂ · x H₂O

Nach einer Vorschrift von Zhang^[10] wurde zu einer Lösung von Natriumperjodat (5.32 g, 14.9 mmol, 2.5 eq) in Wasser (75 ml) unter Argon RuO₂ · x H₂O (265 mg, 1.99 mmol,

Experimenteller Teil

20 mol%) gegeben. Dabei verfärbte sich die Lösung von grün nach tiefgelb. Nach fünf Minuten wurde langsam das Pyrrolidin **26** (3.58 g, 9.96 mmol) in Ethylacetat (45 ml) zugetropft und dabei kräftig gerührt. Dies musste anfangs äußerst vorsichtig geschehen, da sonst eine Entmischung der beiden Phasen beobachtet wurde und die Lösung sich schwarz färbte. Die Lösung wurde 22 h bei RT gerührt und anschließend über Kieselgur abfiltriert. Das Filtrat wurde dann mit 38–40 % (w) NaHSO₃-Lsg. (2 × 30 ml) und ges. NaCl-Lsg. (40 ml) gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Anschließende Chromatographie an Kieselgel (180 g) mit Cyclohexan/EtOAc (10 : 1) lieferte das Pyrrolidinon **27** (2.71 g, 7.26 mmol, 71%) als farblosen Feststoff.

Schmp.: 55–57 °C.

DC: $R_f = 0.31$ (Cyclohexan/EtOAc 4 : 1).

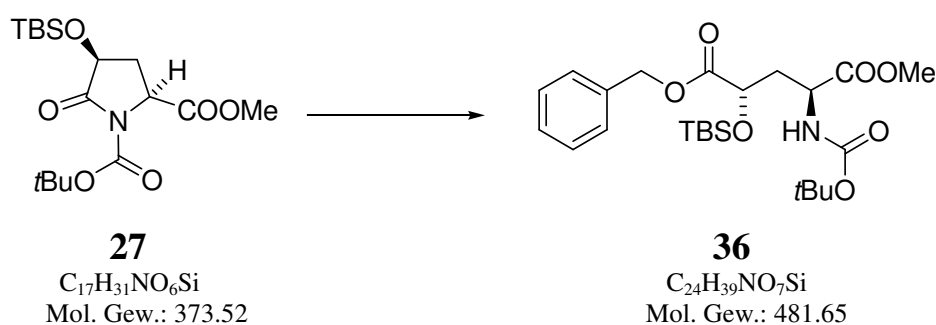
Spezif. Drehung: $[\alpha]_D = -44.6^\circ$ (c = 1.00 (CHCl₃), T = 20 °C).

¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃)
 $\delta = 0.12, 0.16$ (je s, je 3H, TBS-(CH₃)₂), 0.88 (s, 9H, TBS-C(CH₃)₃), 1.50 (s, 9H, Boc-C(CH₃)₃), 1.99 (dt, 1H, J = 6.8, 13.2 Hz, 3-H_{a2}), 2.56 (dt, 1H, J = 7.8, 12.8 Hz, 3-H_{b2}), 3.76 (s, 3H, OMe), 4.27 (t, 1H, J = 6.8 Hz, 2-H₃), 4.45 (t, 1H, J = 7 Hz, 4-H₃).

¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃)
 $\delta = -5.4, -4.6$ (2×s, TBS-(CH₃)₂), 18.1 (TBS-C(CH₃)₃), 25.6 (TBS-C(CH₃)₃), 27.8 (Boc-C(CH₃)₃), 32.2 (C-3), 52.4 (OMe), 55.7 (C-2), 70.5 (Boc-C(CH₃)₃), 83.8 (C-4), 149.4 (Boc-C=O), 171.0, 171.4 (C-5, COOMe).

HRMS (FAB): für C₁₇H₃₂NO₆Si (M + H)⁺ ber.: 374.1993, gef.: 374.2009.

Darstellung von (2*S*,4*S*)-*N*-Boc-4-(*tert*-Butyl-dimethylsilyloxy)-5-benzyl-1-methylpentandioat (36**)^[10]**



Ansatz: 80 mg (0.21 mmol) Pyrrolidinon **27**
 21 mg (0.53 mmol, 2.5 eq.) NaH (60%ige Dispersion in Mineralöl)
 55 μ l (0.53 mmol, 2.5 eq.) Benzylalkohol

Zu einer Suspension von Natriumhydrid (21 mg, 0.53 mmol, 2.5 eq.) in THF (2.2 ml) wurde bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ unter Argonatmosphäre Benzylalkohol (55 μ l, 0.53 mmol, 2.5 eq.) gegeben. Nach 10 Minuten wurde eine Lösung des Pyrrolidinons **27** (80 mg, 0.21 mmol) in THF (2 ml) über 5 Minuten zugetropft. Nach 45 Minuten wurde die Reaktion durch Zugabe von Eisessig (210 μ l) beendet und danach mit Wasser (4 ml) verdünnt. Anschließend wurde mit Dichlormethan (3×5 ml) extrahiert. Die organischen Extrakte wurden mit ges. NaCl-Lsg. (5 ml) gewaschen, mit $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die chromatographische Reinigung des Rohprodukts an Kieselgel (30 g) mit Cyclohexan/EtOAc (6 : 1) ergab den Diester **36** (89 mg, 0.18 mmol, 86%) als farbloses Öl.

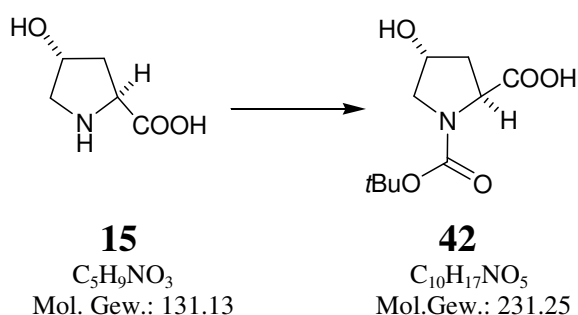
DC: $R_f = 0.21$ (Cyclohexan/EtOAc 6 : 1).

$^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, $CDCl_3$)
 $\delta = 0.02, 0.04$ (je s, je 3H, TBS-Si(CH_3)₂), 0.90 (s, 9H, TBS-C(CH_3)₃), 1.42 (s, 9H, Boc-C(CH_3)₃), 2.04–2.08 (m, 1H, 3-H₂), 2.20–2.26 (m, 1H, 3-H₂), 3.72 (s, 3H, OMe), 4.34 (dd, 1H, $J = 3.6$ Hz, 5.2 Hz, 4-H), 4.39–4.44 (m, 1H, 2-H), 5.14 (s, 2H, Bn- CH_2), 5.24 (bd, 1H, $J = 7.6$ Hz, NH), 7.33–7.39 (m, 5H, Bn).

$^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3)
 $\delta = -5.6, -5.0$ (2 \times , TBS-Si(CH_3) $_2$), 18.1 (TBS-C(CH_3) $_3$), 25.7 (TBS-C(CH_3) $_3$), 28.3 (Boc-C(CH_3) $_3$), 36.4 (C-3), 50.9, (C-2), 52.3 (OMe), 67.0 (Bn- CH_2), 69.5 (C-4), 79.9 (Boc-C(CH_3) $_3$), 128.5, 128.5, 135.3 (Bn), 135.3 (Bn), 155.4 (Boc-C=O), 172.7, 172.8 (C-1, C-5).

LCMS: $R_t = 8.32$ min; m/z: gef.: 504.2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, ber.: 504.24 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Darstellung von *N*-Boc-*trans*-Hydroxyprolin (42**)^[47]**



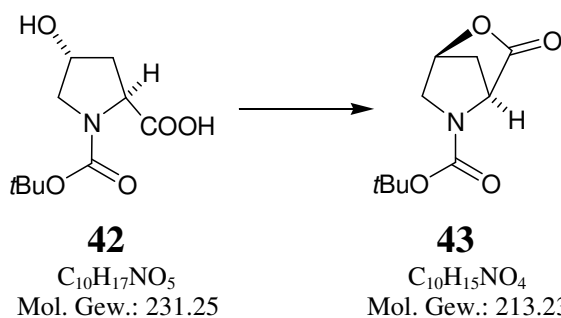
Ansatz : 5.0 g (38 mmol) *trans*-Hydroxyprolin **15**
 7.82 g (51.9 mmol, 1.36 eq.) Di-*tert*-butoxy-dicarbonat

Eine Lösung von *trans*-Hydroxyprolin (5.0 g, 38 mmol) in THF/Wasser (2 : 1, 75 ml) wurde mit NaOH-Lsg. (10 Gew.%, 16 ml) versetzt, gefolgt von Di-*tert*-Butoxy-dicarbonat (7.82 g, 51.9 mmol, 1.36 eq.) in THF/Wasser (2 : 1, 60 ml). Die Lösung wurde 21 h bei RT gerührt und das organische Lösungsmittel dann i. Vak. entfernt. Durch Zugabe von NaHSO_4 -Lsg. (10 Gew.%, 50 ml) wurde die entstandene Suspension angesäuert (pH 2), mit EtOAc (3 \times 60 ml) extrahiert und die organischen Extrakte mit Wasser (50 ml) und ges. NaCl-Lsg. (50 ml) gewaschen. Die organischen Phase wurde mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man erhielt 6.60 g (31.0 mmol, 81%) des geschützten Hydroxyprolins **42** als farbloses Harz.

$^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3 , Rotamere)
 $\delta = 1.42, 1.47$ (je s, 46 : 54, 9H, Boc-C(CH_3) $_3$), 2.09–2.42 (bm, 2H, 3- H_2), 3.50–3.60 (bm, 2H, 5- H_2), 4.40–4.49 (bm, 2H, 2- H_3 , 4- H_3).

GCMS: m/z: 186 [M – CO₂H]⁺, 158 [M – *t*BuO]⁺, 130 [M – Boc]⁺, 86 [M – Boc – CO₂H]⁺, 68 [M – OH - Boc – CO₂H]⁺, 57 [*t*Bu]⁺.

Darstellung von *N*-Boc-5-aza-2-oxa-3-oxo-bicyclo [2.2.1] heptan (43**)^[47]**



Ansatz: 2.55 g (11.0 mmol) geschütztes *trans*-Hydroxyprolin **42**
 2.28 ml (11.6 mmol, 1.05 eq.) Diisopropyl-azodicarboxylat
 3.03 g (11.6 mmol, 1.05 eq.) Triphenylphosphin

Nach einer Vorschrift von Jouillé^[47] wurde das geschützte *trans*-Hydroxyprolin **42** (2.55 g, 11.0 mmol) und Triphenylphosphin (3.03 g, 11.6 mmol, 1.05 eq.) unter Argonatmosphäre in THF (170 ml) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde innerhalb von 10 Minuten Diisopropyl-azodicarboxylat (2.28 ml, 11.6 mmol, 1.05 eq.) zugetropft. Die Reaktionslösung wurde bei 0 °C gerührt und dabei langsam auf RT erwärmt. Nach 18 h wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand 30 Minuten bei 5 °C gekühlt. Danach wurde mit eiskaltem PE/Et₂O (9 : 1, 75 ml) Triphenylphosphinoxid ausgefällt. über eine G3-Fritte abfiltriert. Die chromatographische Reinigung des Filtrats an Kieselgel (105 g) mit Cyclohexan/EtOAc (4 : 1) ergab 2.15 g eines mit Hydrazin verunreinigten Rohprodukts. Anschließendes Umkristallisieren aus PE/EtOAc (4 : 1) ergab das Lacton **43** (1.90 g, 8.91 mmol, 81%) als farblosen Feststoff.

Schmp.: 108–110 °C.

DC: $R_f = 0.43$ (Cyclohexan/EtOAc 1 : 1)
 $R_f = 0.59$ (Cyclohexan/EtOAc 1 : 1), Diisopropyl-1,2-hydrazin-dicarboxylat.

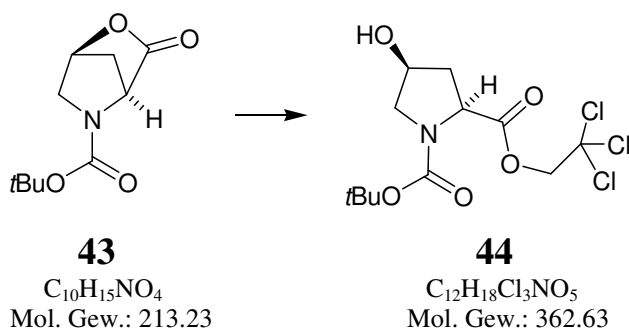
Experimenteller Teil

GC-MS: m/z : 213 $[M]^+$, 169 $[M - CO_2]^+$, 140 $[M - tBuO]^+$, 113 $[M - Boc]$, 69 $[M - Boc - CO_2]^+$, 57 $[tBu]^+$.

1H -NMR: (400 MHz, $CDCl_3$)
 δ = 1.46 (s, 9H, Boc- $C(CH_3)_3$), 2.00 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz, 7- H_{a2}), 2.19 (dt, 1H, $J = 1.2, 10.8$ Hz, 7- H_{b2}), 3.45 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz, 6- H_{a2}), 3.52 (dd, 1H, $J = 1.2, 11.2$ Hz, 6- H_{b2}), 4.54 (m, 1H, 4-H), 5.07 (m, 1H, 1-H).

^{13}C -NMR: (100 MHz, $CDCl_3$)
 δ = 28.3 (Boc- $C(CH_3)_3$), 39.1 (C-7), 49.8 (C-6), 74.8 (C-4), 78.3 (C-1), 81.3 (Boc- $C(CH_3)_3$), 158.0 (Boc- $C=O$), 170.8 (C-3).

Darstellung von *N*-Boc-(2*S*, 4*S*)-4-hydroxy-prolin-(2,2,2-trichloroethyl)ester (**44**)^[10]



Ansatz: 100 mg (470 μ mol) Lacton **43**
56 mg (1.4 mmol, 3.0 eq.) NaH (60%ige Dispersion in Mineralöl)
135 μ l (1.41 mmol, 3.0 eq.) 2,2,2-Trichlorethanol

Eine Suspension von Natriumhydrid (56 mg, 1.4 mmol, 3.0 eq) in THF (2.5 ml) wurde bei -78 °C mit 2,2,2-Trichlorethanol (135 μ l, 1.41 mmol, 3.0 eq) versetzt. Zu dieser Reaktionsmischung wurde über 5 Minuten eine Lösung des Lactons **43** (100 mg, 470 μ mol) in THF (2 ml) zugegeben. Nach 1.5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von Eisessig (2.8 ml) beendet und danach mit Wasser (8 ml) verdünnt. Anschließend wurde mit Dichlormethan extrahiert (3 \times 10 ml). Die organischen Extrakte

Experimenteller Teil

wurden mit ges. NaCl-Lsg. (15 ml) gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet und das LM i. Vak. entfernt. Anschließende Chromatographie an Kieselgel (12 g) mit Cyclohexan/EtOAc 2 : 1 lieferte den Ester **44** (150 mg, 0.41 mmol, 88%) als farblosen Feststoff.

Schmp.: 101-103 °C.

DC: $R_f = 0.26$ (Cyclohexan/EtOAc 1 : 1).

Spezif. Drehung: $[\alpha]_D = -22.4^\circ$ ($c = 1.00$ (CHCl₃), $T = 20^\circ\text{C}$).

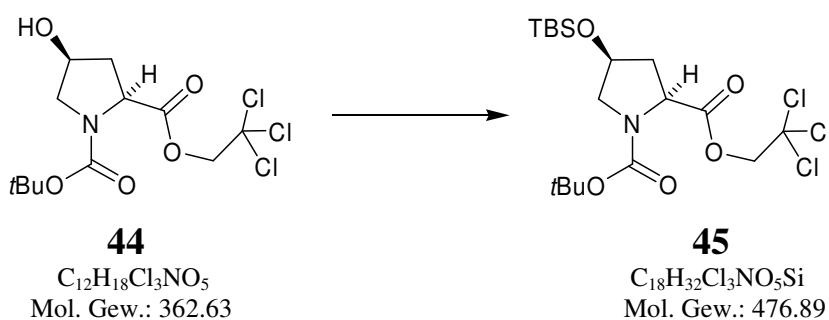
¹H-NMR: (400 MHz, CD₃OD)
 $\delta = 1.43, 1.48$ (2×s, 60:40, 9H, *t*-Bu), 2.19 (m, 1H, 3-H₂), 2.47 (m, 1H, 3-H₂), 3.36 (m, 1H, 5-H), 3.63 (dd, $J = 4.8, 11.2$ Hz, 1H, 5-H₂), 4.39 (m, 1H, 4-H), 4.50 (m, 1H, 2-H₂), 4.83 (m, 2H, 1'-H₂), 5.15 (bm, 1H, OH).

¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃, Rotamere)
 $\delta = 28.3$ (Boc-C(CH₃)₃), 39.4 (2×, C-3), 55.5 (2×, C-5), 57.6 (2×, C-2), 70.7 (2×, C-4), 74.5 (2×, TCE-CH₂), 80.7 (2×, Boc-C(CH₃)₃), 103.9 (TCE-CCl₃), 154.3 (Boc-C=O), 170.8 (C-2').

IR: KBr. $\tilde{\nu} = 3415$ s, 2970 s, 1769 s, 1695 s, 1543 m, 1406 s, 1381 s, 1253 s, 1148 s, 1127 s, 1048 s, 971 s, 893 s, 852 s, 799 s, 775 s, 717 s, 678 m, 578 s, 529 s, 514 m.

HRMS (FAB): für C₁₂H₁₉NO₅Cl₃ (M + H)⁺ ber.: 362.0323, gef.: 362.0323.

Darstellung von *N*-Boc-(2*S*,4*S*)-4-(*tert*-Butyl-dimethylsilyloxy)-pyrrolidin-2-carbonsäure-(2',2',2'-trichloroethyl)ester (45**)**



Ansatz: 1.71 g (4.72 mmol) Trichloroethylester **44**
 924 mg (6.13 mmol, 1.3 eq.) *tert*-Butyl-dimethyl-chlorsilan
 835 mg (12.3 mmol, 2.6 eq.) Imidazol

Der Trichloroethylester **44** (1.71 g, 4.72 mmol) wurde zusammen mit Imidazol (835 mg, 12.3 mmol, 2.6 eq.) unter Argonatmosphäre in DMF (30 ml) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu der Reaktionsmischung wurde innerhalb von 10 Minuten eine Lösung von *tert*-Butyl-dimethyl-chlorsilan (924 mg, 6.13 mmol, 1.3 eq.) in DMF (12 ml) getropft. Nach 19 h, in denen sich die Reaktionslösung langsam von 0 °C auf RT erwärmte, wurde die Mischung in Wasser (25 ml) gegossen. Es wurde anschließend mit Diethylether (3 × 50 ml) extrahiert, mit ges. NaCl-Lsg. (80 ml) gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die chromatographische Reinigung des Rohprodukts an Kieselgel (105 g) mit PE/MTBE (10 : 1) lieferte den Silylether **45** (1.62 g, 3.39 mmol, 72%) als farblosen Feststoff.

Schmp.: 69–71 °C.

DC: $R_f = 0.47$ (PE/MTBE 5 : 1).

Spezif. Drehung: $[\alpha]_D = -30.3^\circ$ ($c = 0.99$ (CHCl₃); $T = 20^\circ C$).

¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃, Rotamere)
 $\delta = 0.04$ (2xs, 3H, TBS-Si(CH₃)₂), 0.05, 0.06 (je s, 3H, TBS-Si(CH₃)₂), 0.85, 0.86 (je s, 56 : 44, 9H, TBS-SiC(CH₃)₃), 1.42,

Experimenteller Teil

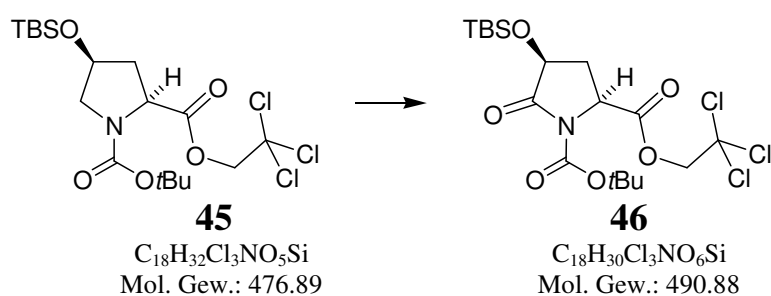
1.47 (je s, 56 : 44, 9H, Boc-C(CH₃)₃), 2.15–2.21 (m, 1H, 3-H_{b2}), 2.31–2.42 (m, 1H, 3-H_{a2}), 3.33 (m, 1H, 5-H_{b2}), 3.64 (m, 1H, 5-H_{a2}), 4.36–4.41 (m, 1H, 4-H), 4.49 (m, 1H, 2-H), 4.47–4.84 (m, 2H, O-CH₂-CCl₃).

¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃, Rotamere)
 δ = -4.7 (2×, TBS-Si(CH₃)₂), 20.0 (TBS-C(CH₃)₃), 25.8, 25.9 (2×, TBS-C(CH₃)₃), 28.5, 28.7 (2×, Boc-C(CH₃)₃), 38.9, 39.7 (2×, C-3), 54.5, 55.0 (C-5), 57.5, 57.7 (2×, C-2), 70.0, 70.9 (2×, C-4), 74.5, 74.8 (2×, TCE-CH₂), 80.4, 80.5 (2×, Boc-C(CH₃)₃), 95.6 (TCE-CCl₃), 153.9 (Boc-C=O), 170.7 (COOR).

IR: KBr. $\tilde{\nu}$ = 3392 m, 3098 m, 2955 s, 2893 s, 2710 m, 2646 m, 2544 m, 2492 m, 2044 m, 1768 s, 1712 s, 1470 s, 1405 s, 1254 s, 1148 s, 1025 s, 903 s, 868 bs, 816 s, 772 s, 741 s, 697 s, 675 s, 580 s, 527 s, 487 s.

HRMS (FAB): für C₁₈H₃₃NO₅Cl₃Si (M + H)⁺ ber.: 476.1188, gef.: 476.1221.

Darstellung von *N*-Boc-(2*S*,4*S*)-4-(*tert*-Butyl-dimethylsilyloxy)-pyrrolidin-5-on-2-carbonsäure-(2,2,2-trichloroethyl)ester (46**)^[10]**



Ansatz: 642 mg (1.35 mmol) silylgeschützter *cis*-Hydroxyprolinester **45**
720 mg (3.37 mmol, 2.5 eq.) NaIO₄
36 mg (0.27 mmol, 20 mol%) RuO₂ · x H₂O

Experimenteller Teil

Analog zu Zhang^[10] wurde eine Lösung von Natriumperjodat (720 mg, 3.37 mmol, 2.5 eq.) in Wasser (11 ml) unter Argonatmosphäre mit $\text{RuO}_2 \cdot x \text{H}_2\text{O}$ (36 mg, 0.27 mmol, 20 mol%) versetzt und 5 Minuten bei RT gerührt. Dabei verfärbt sich die Lösung von grün nach tiefgelb. Anschließend wurde über 5 Minuten das silylgeschützte Prolinesterderivat **45** (642 mg, 1.35 mmol) in Ethylacetat (7 ml) langsam zugetropft und dabei kräftig gerührt. Die Lösung wurde 17 h bei RT gerührt und der Niederschlag dann über Kieselgur abfiltriert. Die organische Phase des Filtrats wurde anschließend mit 38–40% (w) NaHSO_3 -Lsg. (20 ml) und ges. NaCl -Lsg. (25 ml) gewaschen. Die organischen Extrakte wurden mit MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die chromatographische Reinigung des Rohprodukts an Kieselgel (50 g) mit PE/MTBE (10 : 1 \rightarrow 2 : 1) ergab das Pyrrolidinon **46** (500 mg, 1.02 mmol, 76%) als farblosen Feststoff.

Schmp.: 86–87 °C.

DC: $R_f = 0.36$ (PE/MTBE 5 : 1).

Spezif. Drehung: $[\alpha]_D = -39.6^\circ$ ($c = 0.79$ (CHCl_3); $T = 20^\circ\text{C}$).

$^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3)
 $\delta = 0.13, 0.16$ (je s, je 3H, TBS-Si(CH_3)₂), 0.88 (s, 9H, TBS-SiC(CH_3)₃), 1.52 (s, 9H, Boc-C(CH_3)₃), 2.08 (app. qn, 1H, $J = 6.4, 6.8$ Hz, 3-H_{b2}), 2.65 (ddd, 1H, $J = 2.4, 5.2, 7.2$ Hz, 3-H_{a2}), 4.31 (dd, 1H, $J = 0.4, 6.8$ Hz, 4-H), 4.64 (dd, 1H, $J = 6.8, 1.2$ Hz, 2-H), 4.70 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, TCE- CH_2), 4.90 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, TCE- CH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3)
 $\delta = -5.3, -4.6$ (je s, TBS-Si(CH_3)₂), 18.1 (TBS-SiC(CH_3)₃), 25.6 (TBS-SiC(CH_3)₃), 27.9 (Boc-C(CH_3)₃), 32.0 (C-3), 55.4 (C-2), 70.6 (C-4), 74.5 (TCE- CH_2), 84.2 (Boc-C(CH_3)₃), 94.4 (TCE- CCl_3), 149.6 (Boc-C=O), 169.0, 170.9 (C-5, C-2').

Experimenteller Teil

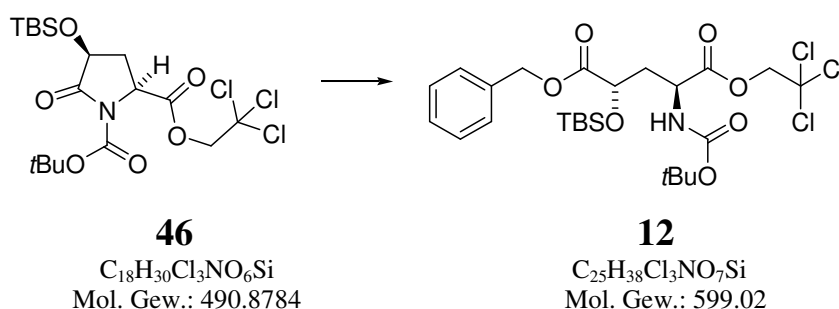
IR: KBr. $\tilde{\nu}$ = 3502 m, 3372 m, 2960 s, 2712 w, 2648 w, 2293 w, 1937 w, 1768 bs, 1725 s, 1469 s, 1369 s, 1323 s, 1148 s, 1088 s, 967 s, 792 s, 716 s, 617 m, 572 s, 512 m, 485 s.

HRMS (FAB): für $C_{18}H_{31}Cl_3NO_6Si$ ($M + H$)⁺ ber.: 490.0986, gef.: 490.0965.

Analyse:

| | | | |
|-------|---------|--------|---------|
| ber.: | C 44.04 | H 6.16 | N 2.85 |
| gef.: | C 44.20 | H 6.30 | N 2.60. |

Darstellung von *N*-Boc-(2*S*,4*S*)-4-(*tert*-Butyl-dimethylsilyloxy)-5-benzyl-1-(2,2,2-trichloroethyl)-pentandioat (12**)^[32]**



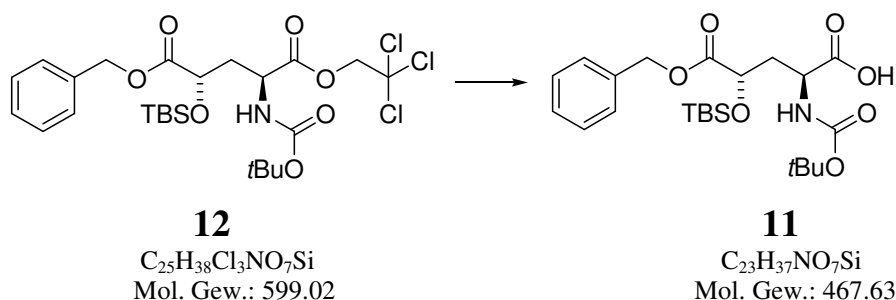
Ansatz: 415 mg (0.845 mmol) Pyrrolidinon **46**
85 mg (2.1 mmol, 2.5 eq.) NaH (60%ige Dispersion in Mineralöl)
219 μ l (2.11 mmol, 2.5 eq.) Benzylalkohol

Zu einer Suspension von Natriumhydrid (85 mg, 2.1 mmol) in THF (10 ml) wurde unter Argonatmosphäre bei -78 °C Benzylalkohol (219 μ l, 2.11 mmol, 2.5 eq.) zugetropft. Anschließend wurde über 5 Minuten eine Lösung des Pyrrolidinons **46** (415 mg, 0.845 mmol) in THF (10 ml) zugetropft, die Lösung 90 min bei -78 °C gerührt und dann durch Zugabe von Eisessig (0.35 ml) und Wasser (15 ml) verdünnt. Danach wurde mit Dichlormethan (3 \times 20 ml) extrahiert, mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, mit $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak entfernt. Durch Chromatographie an Kieselgel (50 g) mit PE/MTBE (12 : 1) wurde das Glutaminsäurederivat **12** (420 mg, 0.701 mmol, 83%) als farbloses Öl erhalten.

Experimenteller Teil

- DC:** $R_f = 0.32$ (PE/MTBE 5 : 1).
- Spezif. Drehung:** $[\alpha]_D = -29.2^\circ$ ($c = 0.94$ (CHCl₃); $T = 20.0^\circ\text{C}$).
- ¹H-NMR:** (400 MHz, CDCl₃)
 $\delta = 0.03, 0.05$ (je s, je 3H, TBS-Si(CH₃)₂), 0.91 (s, 9H, TBS-SiC(CH₃)₃), 1.43 (s, 9H, Boc-C(CH₃)₃), 2.13–2.19 (m, 1H, 3-H₂), 2.29–2.35 (m, 1H, 3-H₂), 4.39 (dd, 1H, $J = 3.2, 6.0$ Hz, 4-H₃), 4.50–4.55 (m, 1H, 2-H₃), 4.61 (d, 1H, $J = 11.2$ Hz, TCE-CH₂), 4.93 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz, TCE-CH₂), 5.15 (s, 2H, Bn-CH₂), 5.54 (bd, 1H, NH), 7.34–7.36 (m, 5H, Bn).
- ¹³C-NMR:** (100 MHz, CDCl₃)
 $\delta = -5.3$ (2xs, TBS-Si(CH₃)₂), 18.3 (TBS-SiC(CH₃)₃), 25.9 (TBS-SiC(CH₃)₃), 28.5 (Boc-C(CH₃)₃), 36.1 (C-3), 51.5 (C-2), 67.3 (BnCH₂), 69.8 (C-4), 74.6 (TCE-CH₂), 80.3 (Boc-C(CH₃)₃), 94.8 (TCE-CCl₃), 128.7, 128.8, 128.8 (je s, Bn), 135.4 (Bn), 155.6 (Boc-C=O), 171.0 (C-5), 171.7 (C-1).
- IR:** KBr. $\tilde{\nu} = 3757$ m, 3374 s, 3158 s, 2920 s, 2322 w, 2295 w, 1952 m, 1764 s, 1471 s, 1268 s, 1122 s, 1072 s, 938 s, 861 s, 822 s, 708 s, 667 s, 634 s, 590 s, 5679 s, 537 s, 506 s.
- HRMS (FAB):** für C₂₅H₃₉Cl₃NO₇Si (M + H)⁺ ber.: 598.1561, gef.: 598,1569.

Darstellung von **N-Boc-(2S,4S)-4-(tert-Butyl-dimethylsilyloxy)-4-((benzyloxy)carbonyl)-butansäure (11)**^[48a]



Ansatz: 310 mg (0.518 mmol) Trichloroethylester **12**
678 mg (10.4 mmol, 20.0 eq.) Zinkstaub

Die Aktivierung des Metalls erfolgte unter Behandlung mit konzentrierter Salzsäure-Lsg. und anschließendem Waschen mit Wasser und Diethylether. Analog zur Vorschrift von Just *et al.*^[48a] wurde der Trichloroethylester **12** (310 mg, 0.518 mmol) in THF (12 ml) gelöst und unter Argonatmosphäre mit frisch aktiviertem Zinkpulver (678 mg, 10.4 mmol, 20.0 eq.) versetzt. Die Umsetzung wurde bei RT in einem Ultraschallbad durchgeführt. Nach 18 h wurde das überschüssige Zink abfiltriert und das organische Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde mit 1 M Zitronensäure-Lsg. versetzt und mit Diethylether (3 × 15 ml) extrahiert. Die organischen Extrakte wurden mit ges. NaCl-Lsg. (25 ml) gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet. Schließlich wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Durch Chromatographie an Kieselgel (33 g) mit CHCl₃/MeOH (12 : 1) wurde die Säure **11** (214 mg, 0.457 mmol, 88%) als farbloses Harz erhalten.

DC: $R_f = 0.25$ (Chloroform/MeOH 12 : 1)

Spezif. Drehung: $[\alpha]_D = -19.9^\circ$ (c = 1.07 (EtOH); T = 20.0 °C)

¹H-NMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆)
 $\delta = -0.03, -0.02$ (je s, je 3H, TBS-Si(CH₃)₂), 0.83 (s, 9H, TBS-SiC(CH₃)₃), 1.37 (s, 9H, Boc-C(CH₃)₃), 1.91-1.94 (m, 2H, 3-H₂), 3.99-4.05 (m, 1H, 2-H), 4.27-4.30 (m, 1H, 4-H), 5.13 (s, 2H, Bn-

Experimenteller Teil

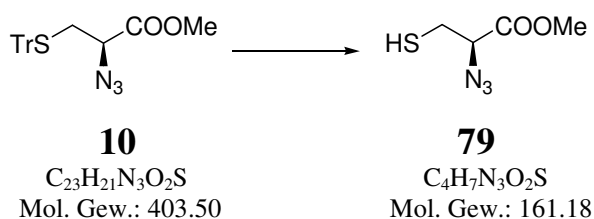
CH_2), 5.31 – 5.34 (bm, 1H, NH), 7.08 – 7.13 (bm, 1H, COOH), 7.31–7.39 (m, 5H, Bn).

^{13}C -NMR: (100 MHz, DMSO-*d*6)
 δ = -5.3 (TBS-Si(CH₃)₂), 17.3 (TBS-SiC(CH₃)₃), 26.0 (TBS-SiC(CH₃)₃), 28.5 (Boc-C(CH₃)₃), 36.8 (C-3), 51.3 (C-2), 67.5 (Bn-CH₂), 70.0 (C-4), 80.0 (Boc-C(CH₃)₃), 129.2, 129.3, 129.4 (je s, Bn), 136.9 (Bn), 149.2 (Boc-C=O), 168.8, 173.6 (C-1, C-5).

Analyse:

| | | | |
|-------|---------|--------|--------|
| ber.: | C 59.07 | H 7.98 | N 3.00 |
| gef.: | C 58.80 | H 8.00 | N 2.60 |

Darstellung von α -Azidocysteinmethylester (**79**)^[57]



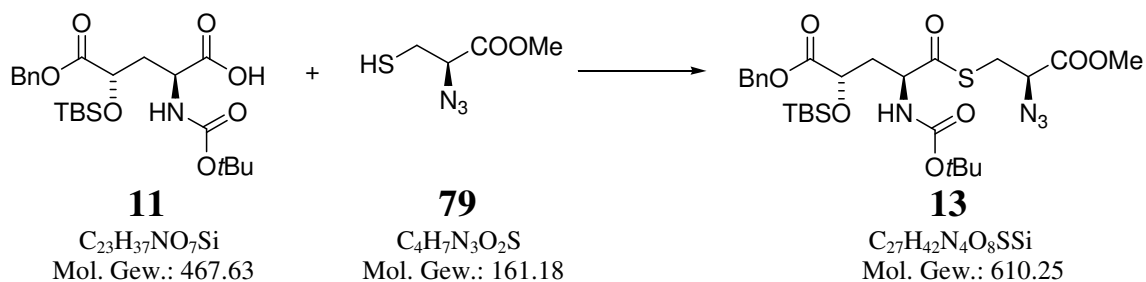
Ansatz:

- 62 mg (0.15 mmol) α -Azidocysteinmethylester **10**
- 62 μ l (0.80 mmol, 5.2 eq.) Trifluoressigsäure
- 27 μ l (0.17 mmol, 1.1 eq.) Triethylsilan

Zu einer Lösung des tritylgeschützten α -Azidocysteinmethylesters **10** (62 mg, 0.15 mmol) in Dichlormethan (2 ml) wurde Trifluoressigsäure (62 μ l, 0.80 mmol, 5.2 eq.) zugetropft. Dabei verfärbte sich die Lösung intensiv gelb. Anschließend wurde Triethylsilan (27 μ l, 0.17 mmol, 1.1 eq.) zugetropft, wobei sich die gelbe Lösung entfärbte. Nach 1 h wurde das Lösungsmittel i. Vak. bei RT entfernt und schließlich mit Toluol (2 \times 3 ml) eingengt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung zur Bildung des Thioesters **80** eingesetzt.

DC: R_f = 0.67 (Cyclohexan/EtOAc 4 : 1)

Darstellung von *N*-Boc-(2*S*,4*S*)-4-(*tert*-Butyl-dimethylsilyloxy)-4-((benzyloxy)carbonyl)-1-butansäure-(2'-Azido-1'-carbonsäuremethylester)thioester (13)



Ansatz: Rohprodukt (0.154 mmol) α -Azidocysteinmethylesters **79**
 93.7 (0.200 mmol, 1.3 eq.) Glutaminsäure **11**
 26 μ l (0.20 mmol; 1.3 eq.) Isobutylchloroformat
 39 μ l (0.35 mmol, 2.3 eq.) *N*-Methylmorpholin

Die Glutaminsäure **11** wurde in THF (2 ml) gelöst und unter Argonatmosphäre auf $-20\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Zu dieser Lösung wurde Isobutylchloroformat (26 μ l, 0.20 mmol, 1.3 eq.) über 5 Minuten zugetropft und anschließend 25 Minuten gerührt. Anschließend wurde *N*-Methylmorpholin zugegeben und weiter im Kühlbad gerührt. Zu dieser Lösung wurde der α -Azidocysteinmethylester **79** (0.154 mmol) in Dichlormethan (3 ml) getropft. Die Lösung ließ man langsam auf RT erwärmen und nach 12 h wurde der bei der Reaktion gebildete weiße Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel im Filtrat i. Vak. entfernt. Zur Aufarbeitung wurde der Rückstand in Ethylacetat (5ml) aufgenommen, mit 5%iger Zitronensäure-Lsg. (2 \times 5 ml) und mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Die organische Phase wurde mit $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Durch Chromatographie an Kieselgel (14 g) mit Cyclohexan/Ethylacetat (6 : 1) ergab den Thioester **13** als Isomerengemisch im Verhältnis von 3 : 2 (32 mg, 52 μ mol, 34%) als farbloses Öl.

DC: $R_f = 0.40$ (Cyclohexan/EtOAc 4 : 1).

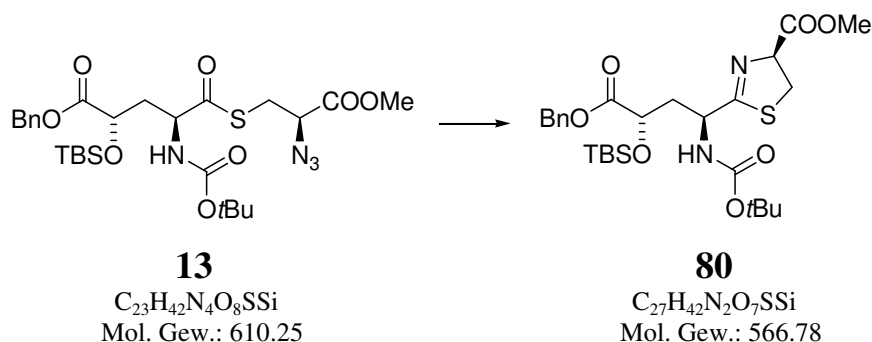
$^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, C_6D_6)
 $\delta = 0.07, 0.08, 0.09, 0.10$ (je s, 6H, TBS-Si(CH_3) $_2$), 0.99 (s, 9H, TBS-Si(CH_3) $_3$), 1.43, 1.44 (je s, 48 : 52, 9H, Boc-C(CH_3) $_3$), 1.90 –

Experimenteller Teil

1.96 (m, 1H, 3-H₂), 2.23 – 2.30 (m, 1H, 3-H₂), 2.89 – 3.12 (m, 2H, S-CH₂), 3.16, 3.18 (je s, 3H, OMe), 3.53 – 3.60 (m, 1H, CH-N₃), 4.29 – 4.32 (m, 1H, 4-H), 4.72 – 4.76 (m, 1H, 2-H), 4.92 (s, 2H, Bn-CH₂), 5.23 – 5.27 (bm, 1H, NH), 7.01 – 7.18 (m, 5H, Bn).

LC-MS: $R_t = 11.91$ min.; m/z: gef.: 633.2 [M + Na]⁺, 511.0 [M-CO₂-tBu]⁺,
ber.: 633.24 [M + Na]⁺.

Darstellung von *N*-Boc-(*S*)-Methyl-2-((1*S*,3*S*)-3-((benzyloxy)carbonyl)-1-amino-3-(*tert*-Butyl-dimethylsilyloxy))-4,5-dihydrothiazol-4-carboxylat (**81**)



Ansatz: 27 mg (0.044 mmol) Thioester **13**
17 mg (66 μmol, 1.5 eq.) Triphenylphosphin

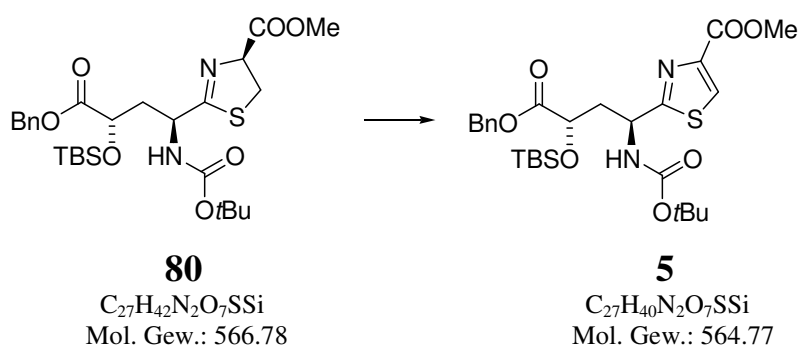
Der Thioester **13** (27 mg, 0.044 mmol) wurde unter Argonatmosphäre in THF (2 ml) gelöst und auf -20 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde eine Lösung von Triphenylphosphin (17 mg, 66 μmol, 1.5 eq.) in THF (2 ml) über 5 Minuten zugetropft. Die Reaktionslösung wurde 30 Minuten bei -20 °C gerührt und dann auf RT erwärmt. Anschließend wurde 14 h bei 40 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde nach dieser Reaktionszeit i. Vak. bei RT entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Chromatographie an Kieselgel (4 g) mit Cyclohexan/Ethylacetat (5 : 1) gereinigt und ergab das Thiazolin **80** (24 mg, 42 μmol, 96%, Isomerengemisch) als farbloses Öl.

DC: $R_f = 0.14$ (Cyclohexan/EtOAc).

¹H-NMR: (400 MHz, C₆D₆)
 δ = 0.13, 0.14, 0.15, 0.16 (je s, 6H, TBS-Si(CH₃)₂), 1.02 (s, 9H, Boc-C(CH₃)₃), 1.43, 1.45 (je s, 9H, Boc-C(CH₃)₃), 2.06 – 2.21 (m, 1H, 3-H₂), 2.39 – 2.45 (m, 1H, 3-H₂), 2.68 – 2.76 (m, 1H, S-CH₂), 3.16 – 3.21 (m, 1H, S-CH₂), 3.23, 3.24, 3.25 (je s, 34 : 44 : 22, 3H, OMe), 4.54 – 4.60 (m, 1H, CHCOOMe), 4.67 – 4.74 (m, 1H, 4-H₃), 4.88 – 5.01 (m, 1H, 4-H₂), 4.91, 4.92 (je 2 × s, 2H, Bn-CH₂), 5.03 – 5.11 (m, 1H, NHCH), 5.24 – 5.29 (bm, 1H, NH).

LC-MS: Hauptkomponenten:
 1) R_t = 11.73 min.; m/z: gef.: 567.1 [M + H]⁺, 589.2 [M + Na]⁺.
 2) R_t = 12.15 min.; m/z: gef.: 567.1 [M + H]⁺, 589.3 [M + Na]⁺.
 ber.: 566.26 [M + H]⁺, 589.24 [M + Na]⁺.

Darstellung von *N*-Boc-(*S*)-Methyl-2-((1*S*,3*S*)-3-((benzyloxy)carbonyl)-1-amino-3-(*tert*-Butyl-dimethylsilyloxy))-thiazol-4-carboxylat (5**)^[58]**



Ansatz: 19 mg (34 μ mol) Thiazolin **80**
 10 μ l (67 μ mol, 2 eq.) DBU
 37 μ l (37 μ mol, 1.1 eq.) Bromtrichlormethan

Zu einer Lösung des Thiazolins **80** (19 mg, 34 μ mol) in Dichlormethan (2 ml) wurde unter Argonatmosphäre bei -20 °C DBU (10 μ l, 67 μ mol, 2 eq.) über 5 Minuten zugetropft und weitere 5 Minuten gerührt. Anschließend wurde Bromtrichlormethan (37 μ l, 37 μ mol, 1.1 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde weiter bei -20 °C gerührt und kontinuierlich auf RT erwärmt. Nach Beendigung des Reaktion (DC-Kontrolle) wurde die

Experimenteller Teil

Lösung mit 0.1 M Salzsäure-Lsg. (3 ml) gewaschen und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 × 5 ml) extrahiert. Die organischen Extrakte wurden mit ges. NaCl-Lsg. (10 ml) gewaschen und mit MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und das Rohprodukt mittels Chromatographie an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (6 : 1) gereinigt. Man erhielt das Thiazol **5** (17 mg, 30 μmol, 91%, Isomerengemisch 9 : 1) als farbloses Öl.

DC: $R_f = 0.18$ (Cyclohexan/EtOAc 4 : 1).

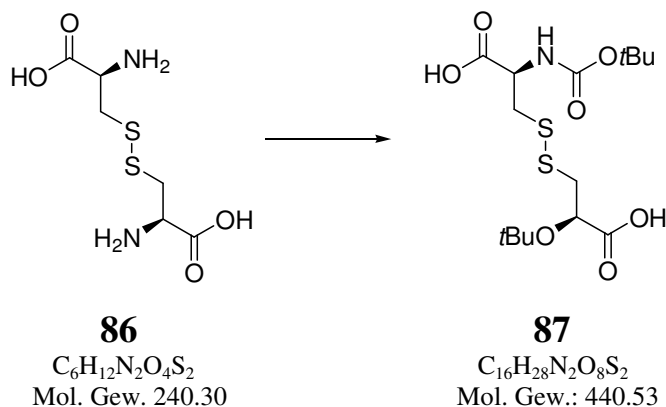
¹H-NMR: (400 MHz, C₆D₆)
 $\delta = 0.09, 0.14$ (2xs, 6H, TBS-Si(CH₃)₂), 1.04 (s, 9H, TBS-SiC(CH₃)₃), 1.47 (s, 9H, Boc-C(CH₃)₃), 2.31 – 2.35 (m, 1H, 3-H₂), 2.54 – 2.60 (m, 1H, 3-H₂), 3.50 (s, 3H, OMe), 4.52 (dd, $J = 1.6, 5.2$ Hz, 1H, 2-H₃), 4.95 (d, $J = 10$ Hz, 1H, Bn-CH₂), 5.00 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, Bn-CH₂), 5.40 – 5.48 (m, 1H, 4-H₃), 7.08 – 7.30 (m, 5H, Bn), 7.60 (s, 1H, Thiazol-H).

¹³C-NMR: (100 MHz, C₆D₆)
 $\delta = -5.4, -4.7$ (je s, TBS-Si(CH₃)₃), 18.7 (TBS-SiC(CH₃)₃), 26.0 (TBS-SiC(CH₃)₃), 28.4 (Boc-C(CH₃)₃), 50.3 (C-3), 51.5 (C-2), 63.2 (OMe), 66.9 (Bn-CH₂), 69.9 (C-4), 78.7 (Boc-C(CH₃)₃), 127.6 (CHS), 128.5, 128.7, 128.9 (je s, Bn), 136.1 (Bn), 147.5 (CCOOMe), 155.4 (Boc-C=O), 161.6 (COOMe), 172.5 (C-5), 173.7 (C=N).

LC-MS: $R_t = 11.82$ min.; m/z: gef.: 1150.8 [2×M + Na]⁺, 587.3 [M + Na]⁺, 565.2 [M + H]⁺.
ber.: 1151.45 [2×M + Na]⁺, 587.22 [M + Na]⁺, 565.24 [M + H]⁺.

5.2.2 Synthese von Cystinderivaten für die selektive Darstellung von Dehydroazidoalanin **85**

Darstellung von *N,N'*-Boc-Cystin (**88**)

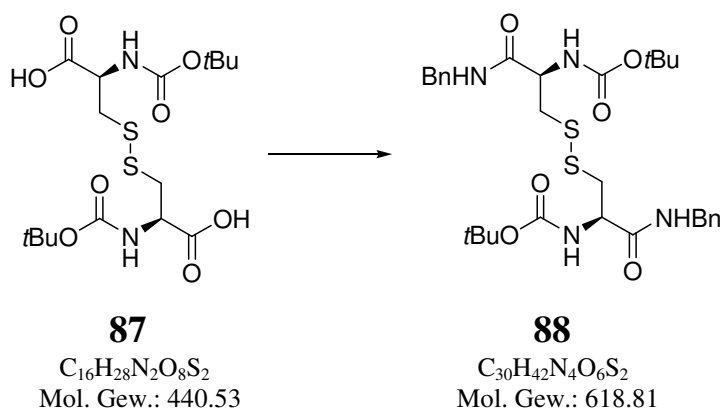


Ansatz: 500 mg (2.08 mmol) Cystin **86**
 908 mg (4.16 mmol, 2 eq.) Di-*tert*-Butoxy-dicarbonat
 854 μ l (6.13 mmol, 2.95 eq.) Triethylamin

Cystin (500 mg, 2.08 mmol) wurde in Dioxan/Wasser (1 : 1, 4 ml) gelöst und anschließend mit Di-*tert*-Butoxy-dicarbonat (908 mg, 4.16 mmol, 2 eq.) und Triethylamin (854 μ l, 6.13 mmol, 2.95 eq.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 15 h gerührt und danach mit 1 M Salzsäure-Lsg. auf pH 1 gebracht. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 \times 25 ml) extrahiert, die organischen Extrakte wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Boc-geschützte Cystin **87** (719 mg, 1.63 mmol, 79%) wurde als farbloser Feststoff erhalten und ohne weitere Reinigung in den folgenden Syntheseschritten verwendet.

1 H-NMR: (400 MHz, CD_3OD)
 δ = 1.45 (s, 9H, Boc-C(CH_3) $_3$), 2.98 (dd, J = 13.4, 8.8 Hz, 1H, CH_2),
 3.25 (dd, J = 14, 3.6 Hz, 1H, CH_2), 4.42 (m, 1H, CH).

Darstellung von *N,N'*-1,1'-Dibenzylamid-cystin (88**)**



Ansatz: 730 mg (1.66 mmol) Boc-Cystin **87**
 1.03 ml (6.64 mmol, 4 eq.) Diisopropylcarbodiimid
 1.02 g (6.64 mmol, 4 eq.) *N*-Hydroxybenzotriazol
 363 μ l (3.32 mmol, 2 eq.) Benzylamin

Zu einer Lösung des Boc-Cystins **87** (730 mg, 1.66 mmol) in Dichlormethan (40 ml) wurde bei RT unter Argon Diisopropylcarbodiimid (1.03 ml, 6.64 mmol, 4 eq.) zugetropft und *N*-Hydroxybenzotriazol (1.02 g, 6.64 mmol, 4 eq.) zugegeben. Anschließend wurde Benzylamin (363 μ l, 3.32 mmol, 2 eq.) über 5 min zugetropft und die Reaktionsmischung 1.5 h weiter gerührt. Die Mischung wurde mit 1 M Salzsäure-Lsg. angesäuert (pH 2) und mit Ethylacetat (3 \times 30 ml) extrahiert. Die organischen Extrakte wurden mit 1 M Na_2CO_3 -Lsg. (40 ml), mit ges. NaCl-Lsg. (50 ml) gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Durch Chromatographie über Kieselgel (43 g) mit Cyclohexan/Ethylacetat (1 : 1) wurde das Diamid **88** (701mg, 1.13 mmol, 68%) als farbloser Feststoff erhalten.

Schmp.: 169 – 170 °C

DC: $R_f = 0.68$ (Cyclohexan/EtOAc 1 : 1)

1H -NMR: (400 MHz, $CDCl_3$)
 $\delta = 1.24$ (s, 9H, Boc-C(CH_3) $_3$), 2.91 (dd, $J = 10.4, 3.6$ Hz, 1H, S- CH_2), 3.01 (dd, $J = 10.4, 4$ Hz, 1H, S- CH_2), 4.35 (dd, $J = 5.6, 9.2$ Hz,

Experimenteller Teil

1H, Bn-CH₂), 4.56 (dd, *J* = 6.4, 8.8 Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.88 – 4.95 (m, 1H, NHCH) 5.53 (bm, 1H, NH).

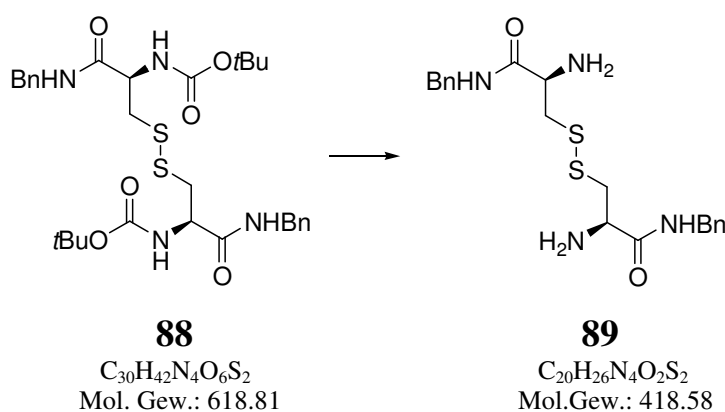
LCMS:

*R*_t = 9.97 min.

m/z: gef.: 618.9 [M + H]⁺, 641.1 [M + Na]⁺.

ber.: 619.26 [M + H]⁺, 641.24 [M + Na]⁺.

Darstellung von 1,1'-Dibenzylamid (89)



Ansatz: 249 mg (0.40 mmol) Boc-Cystin **88**

Das Boc-geschützte Cystin **88** (249 mg, 0.402 mmol) wurde in Dichlormethan (4 ml) gelöst und unter Argon auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde über 5 Minuten Trifluoressigsäure (4 ml) zugegeben. Nach 45 Minuten wurde Toluol (10 ml) zugegeben und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung in der Diazotransferreaktion eingesetzt.

DC:

*R*_f = 0.17 (DCM/MeOH 20 : 1)

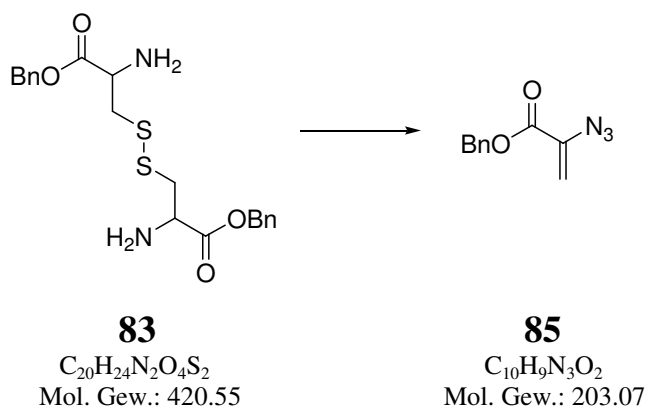
¹H-NMR:

(400 MHz, CD₃OD)

δ = 3.00 (dd, *J* = 4, 6.4 Hz, 1H, S-CH₂), 3.29 (m, 1H, S-CH₂), 4.18 (dd, *J* = 4, 7.6 Hz, 1H, CHNH₂), 4.36 (s, 2H, Bn-CH₂), 7.19 – 7.25 (m, 5H, Bn).

LCMS: $R_t = 4.76$ min
 m/z: gef.: 419.1 [M + H]⁺
 ber.: 419.16 [M + H]⁺

Darstellung von α -Azidodehydroalanin (85**)^[59]**



Ansatz: 250 mg (0.46 mmol) Cystinbenzylester **83**
 179 mg (2.76 mmol, 6 eq.) Natriumazid
 232 μ l (1.38 mmol, 3 eq.) Trifluormethansulfonsäureanhydrid
 192 μ l (1.38 mmol, 3 eq.) Triethylamin
 1 mg (5 μ mol, 1 mol%) Kupfersulfat Pentahydrat

Zu einer Lösung von Natriumazid (179 mg, 2.76 mmol, 6 eq.) in Wasser (0.7 ml) wurde unter Argonatmosphäre bei 0 °C Dichlormethan (0.7 ml) gegeben und Trifluormethansulfonsäureanhydrid (232 μ l, 1.38 mmol, 3 eq.) zutropft. Nach 2 h wurde die wässrige Lösung mit Dichlormethan (8 ml) extrahiert und die organischen Extrakte mit ges. NaHCO₃-Lsg. (5 ml) gewaschen. Die Tf-N₃-Lsg. wurde schnell zu einer Mischung des Cystinbenzylesters **83** (250 mg, 0.46 mmol), Kupfersulfat (1 mg, 5 μ mol, 1 mol%) und Triethylamin (192 μ l, 1.38 mmol, 3 eq.) in Wasser gegeben (14 ml). Die Reaktionsmischung wurde mit 14 ml Methanol versetzt und über Nacht gerührt. Die organischen Lösungsmittel wurden mit i. Vak. entfernt und die wässrige Suspension mit der gleichen Menge Wasser (ca. 8 ml) versetzt. Es wurde mit Ethylacetat (3 \times 5 ml) extrahiert, mit ges. NaCl-Lsg. (10 ml) gewaschen und die Extrakte mit Na₂SO₄ getrocknet. Die Lösung wurde dann auf ca. 5 ml eingengt und mit Chromatographie an Kieselgel

Experimenteller Teil

(30 g) mit Cyclohexan/Ethylacetat (15 : 1) gereinigt. Man erhielt das Dehydroalaninderivat **85** (18 mg, 89 μmol , 19 %) als hellgelbes Harz.

DC: $R_f = 0.42$ (Cyclohexan/EtAOc 15 : 1)

$^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3)
 $\delta = 5.19$ (s, 2H, Bn- CH_2), 5.30 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, 3- $\text{H}_{\text{a}2}$), 5.81 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, 3- $\text{H}_{\text{b}2}$), 7.29 – 7.33 (m, 5H, Bn).

$^{13}\text{C-NMR}$: (100 MHz, CDCl_3)
 $\delta = 29.9$ (C-2), 67.9 (Bn- CH_2), 111.4 (C-3), 128.6, 128.8, 128.9 (je s, Bn), 141.2 (Bn).

IR: KBr. $\tilde{\nu} = 2924$ s, 2853 s, 2110 ($-\text{N}_3$) s, 1730 s, 1614 s, 1538w, 1503 m, 1455 m, 1380 m, 1337 m, 1244 s, 1143 s, 1029 w, 904 m, 795 m, 751 m, 697 m.

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------------|---|
| Abb. | Abbildung |
| Ac | Acetyl |
| AK | Arbeitskreis |
| ber. | berechnet |
| Bn | Benzyl |
| Boc | Benzyloxycarbonyl |
| Bu | Butyl |
| BuLi | Butyllithium |
| DC | Dünnschichtchromatographie |
| DCM | Dichlormethan |
| DMF | <i>N,N</i> -Dimethylformamid |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |
| eq. | Äquivalent |
| Et | Ethyl |
| Et₂O | Diethylether |
| EtOAc | Ethylacetat |
| FAB | <i>Fast Atom Bombardment</i> |
| Fmoc | 9-Fluorenylmethyl-oxycarbonyl |
| FT | Fourier-Transformation |
| GCMS | Gaschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie |
| gef. | gefunden |
| ges. | gesättigt |
| h | Stunde |
| HPLC | Hochdruckflüssigchromatographie |
| HRMS | <i>High Resolution Mass Spectrometry</i> |
| HSQC | <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> |
| IR | Infrarot |
| i. Vak. | im Vakuum |
| LCMS | Flüssigphasenchromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie |
| Lsg. | Lösung |
| Me | Methyl |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------------------|-----------------------------------|
| MeOH | Methanol |
| min | Minute |
| Mol. Gew. | Molekulargewicht |
| MS | Massenspektrometrie |
| MTBE | <i>tert</i> -Butyl-methylether |
| NMR | <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> |
| PE | Petrolether |
| Ph | Phenyl |
| R_f | Retentionsfaktor |
| R_t | Retentionszeit |
| RT | Raumtemperatur |
| Schmp. | Schmelzpunkt |
| Spezif. | Spezifisch |
| T | Temperatur |
| TBS | <i>tert</i> -Butyl-dimethylsilyl |
| TCE | Trichloroethyl |
| THF | Tetrahydrofuran |

Literaturverzeichnis

- [1] Walsh, C.; Wright, G. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 391-393.
- [2] a) Bagley, M. C.; Dale, W.D.; Eleanor, E.A.; Xiong, X. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 685-714; b) Benazet, F.; Cartier, M.; Florent, J.; Godard, C.; Jung, G.; Lunel, J.; Mancy, D.; Pascal, C.; Renaut, J.; Tarridec, D.; Theilleux, J.; Tissier, R.; Dubost, M.; Ninet, L. *Experientia* **1980**, *36*, 414.
- [3] Prange, T.; Ducruix, A.; Pascard, C. *Nature* **1977**, *265*, 189-190.
- [4] Casteels, M.; Bekaert, H.; Buysse, F.X. *Rev. Agric.* **1980**, *33*, 1069.
- [5] Tanaka, T.; Sakaguchi, K.; Yonehara, H. *J. Antibiot.* **1970**, *23*, 401.
- [6] a) Xing, Y.; Draper, D. E. *Biochemistry* **1990**, *213*, 275; b) Blyn, L. B.; Risen, L. M.; Griffey, R.H.; Draper, D. E. *Nucl. Acids Res.* **2000**, *28*, 1778; c) Wimberly, B.T.; Guymon, R.; McCutcheon, J. P.; White, S. W.; Ramakrishnan, V. *Cell* **1999**, *97*, 491.
- [7] Umemura, K.; Noda, H.; Yoshimura, J.; Konn, A.; Yonezawa, Y.; Shin, C. G. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3539-3542.
- [8] Bentley, D. J.; Fairhurst, J.; Gallagher, P. T.; Manteuffel, A. K.; Moody, C. J.; Pinder, J. L. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 701-708.
- [9] Riedrich, Matthias, geplante Dissertation, Universität Dortmund.
- [10] Zhang, X.; Schmitt, A. C.; Jiang, W. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5335-5338.
- [11] Harada, S.; Kishimoto, S; Itoh, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, *39*, 1199-1212.
- [12] Michniak, B. B.; Player, M. R.; Sowell, J. W. *J. Pharm Sci.* **1996**, *85*, 150-154.
- [13] Mandal, P. K.; Kaluarachchi, K. K.; Ogrin, D.; Bott, S. G.; McMurray, J. S. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 10128-10131.
- [14] a) Ikota, N. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2553-2556; b) Rosset, S.; Célérier, J. P.; Lhomme, G. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7521-7524.
- [15] Van Betsbrugge, J.; Van Den Nest, W.; Verheyden, P. Tourwé, D. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 1753-1762.
- [16] Hanessian, S.; McNaughton-Smith, G.; Lombart, H.; Lubell, W. D. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789-12854.
- [17] Cai, C.; Yamada, T.; Tiwari, R.; Hrubby, V. J.; Soloshnok, V. A. et al. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6855-6858.
- [18] Greenwood, E. S., Hitchcock, P. B., Parsons, P. J. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 3307-3314.

- [19] Mitsunobu, O. Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 2380-2382.
- [20] Mitsunobu, O.; Makoto, W.; Sano, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 679-680.
- [21] Loibner, H.; Zbiral, E. *Helv. Chim. Acta* **1976**, *59*, 2100-2113.
- [22] a) Mattingly, P. G.; Kerwin Jr., J. K.; Miller, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 3983-3985; b) Brain, C. T.; Chen, A.; Nelson, A.; Tanikkul, N.; Thomas, E. J. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1247-1250.
- [23] Kurihara, T.; Sugizaki, M.; Kime, I. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, *54*, 2107-2112.
- [24] Brückner, R.: *Reaktionsmechanismen*, 2. aktualisierte u. erw. Aufl.; Heidelberg, Berlin; Spektrum Akad. Verl., **2003**, S. 96f.
- [25] Plietker, B. *Synthesis* **2005**, *15*, 2453-2472.
- [26] a) Mireia, P.; Castejón, P.; Moyano, A.; Pericàs, M. A.; Riera, A. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6033-6037; b) Carlsen, P. H. J.; Katsuki, T.; Martín, V. S.; Sharpless, K. B. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3936-3938.
- [27] Sharpless, B.; Akashi, K.; Oshima, K. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *29*, 2503-2506.
- [28] a) Shing, T. K. M.; Tai, V. W.-F.; Tam, E. K. W. *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2408-2409; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2312-2313; b) Naota, T.; Takaya, H.; Murahashi, S. I. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2599-2660.
- [29] Plietker, B. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 289-291.
- [30] a) Booker-Milburn, K. I.; Cowell, J. K.; *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2177-2180; b) Schuda, P. F.; Cichowicz, M. B.; Heimann, M. R. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *36*, 3829-3830.
- [31] Bakke, J. M.; Frøhaug, A. E. *J. Phys. Org. Chem.* **1996**, *9*, 310-318.
- [32] Escribano, A. M.; Ezquerro, J.; Pedregal, C. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3801-3808.
- [33] McMurry, J. *Organic Reactions* **1976**, *24*, 187-223.
- [34] a) Corey, E. J.; Székely, I.; Shiner, C. S. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *40*, 3529-3532; b) Dayal, B.; Salen, G.; Toome, B.; Tint, G. S.; Shefer, S.; Padia, J. *Steroids* **1990**, *55*, 233-237; c) Pámies, O.; Bäckvall, J.-E. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1261-1265.
- [35] Dean, P. D. G. *J. Chem. Soc.* **1965**, 6655.
- [36] Seebach, D.; Thaler, A.; Blaser, D.; Ko, S. Y. *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 1102-1118.
- [37] a) Keinan, E.; Eren, D. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3165-3169; b) Sharma, L.; Nayak, M. K.; Asit, K. C. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 9595-9600.
- [38] Dolby, L. J.; Biere, H. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 3843.

- [39] a) Papot, S.; Rivault, F.; Tranoy, I.; Gesson, J.-P. *Synlett* **2002**, *1*, 164-166; b) Bascop, S.-I.; Laronze, J.-Y.; Sapi, J. *Synthesis* **2002**, *12*, 1689-1694; c) Moser, J.; Sherrill, J.; Guy, R. K. *Synlett* **2004**, *13*, 2391-2393.
- [40] a) Evans, D. A. *Aldrichimica Acta* **1982**, *15*, 23-32; b) Evans, D. A. *Org. Synth. Coll. Vol. VIII* **1993**, 339.
- [41] a) Nicolaou, K.C.; Estrada, A. A.; Zak, M. *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1402-1406; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1378-1382; b) Salomon, C. J.; Mata, E. G.; Mascaretti, O. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1996**, 995-999.
- [42] Kula, M. R., in *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*, Band 1, 2nd Ed.; Waldmann, H., Drauz, K., Hrsgg.; Wiley-VCH, Weinheim, **2002**, Kapitel 1.
- [43] a) Palomo, J. M.; Mateo, C.; Fernandez-Lorente, G.; Solares, L. F.; Diaz, M.; Sanchez, V. M.; Byod, M.; Gotor, V.; Guisan, J.; Fernandez-Lafuente, R. *Tetrahedron: Asym.* **2003**, *14*, 429-438; b) Lundhaug, K.; Overbeeke, P. L. A.; Jongejan, J. A.; Anthonsen, T. et al. *Tetrahedron: Asym.* **1998**, *9*, 2851-2856; c) Conde, S.; López-Serrano, P.; Fierros, M.; Biezma, M. I.; Martinez, A.; Rodriguez-Franco, M. I. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 11745-11752.
- [44] Kula, M. R., in *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*, Band 1, 2nd Ed.; Waldmann, H., Drauz, K., Hrsgg.; Wiley-VCH: Weinheim, **2002**, S.351-398.
- [45] Lam, L.K.P.; Hui, R. A.H. F.; Jones, J. B. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2047-2050.
- [46] a) Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective groups in organic synthesis*, 3rd ed.; New York; Jon Wiley & Sons, **1999**, S. 397; b) Woodward, R. B.; Heusler, K.; Gosteli, J.; Naegeli, P.; Oppolzer, W.; Ramage, R.; Ranganat, S.; Vorbrugg, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 852-853.
- [47] Bowers-Nemia, M. M.; Joullié, M. *Heterocycles* **1983**, *20*, 817-828.
- [48] a) Just, G.; Grozinger, K. *Synthesis* **1976**, *7*, 457-458; b) Pearson, A. J.; Lee, K.J. *Org. Chem.* **1994**, *59*, 2304-2314; c) Jou, G.; González, I.; Albericio, F.; Lloyd-Williams, P.; Giralt, E. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 354-366.
- [49] a) Milne, J. C.; Eliot, A. C.; Kelleher, N. L.; Walsh, C. T. *Biochemistry* **1998**, *37*, 13250-13261; b) Kelleher, N. L.; Hendrickson, C. L.; Walsh, C. T. *Biochemistry* **1999**, *38*, 15623-15630; c) Roy, R. S.; Gehring, A. M.; Milne, J. C.; Belshaw, P. J.; Walsh, C. T. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 249-263.
- [50] Aoyagi, Y.; Katano, K.; Suguna, H.; Primeau, J.; Chang, L.-H.; Hecht, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5537-5538.
- [51] Brasier, A. R.; Tate, J. E.; Habener, J. F. *Biotechniques* **1989**, *10*, 1116-1122.

- [52] a) Gilchrist, T. L. *Heterocyclic Chemistry*, 3rd ed.; Essex; Addison Wesley Longman, **1997**, S. 819-828. b) Nishio, T.; Mayuko, O. *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 2347-2354.
- [53] a) Dondoni, A.; Merino, P. in *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Katritzky, A. R., Rees, C. W., Scriven, E. F. V. Hrsg.; Pergamon Press: Oxford, **1996**, Vol. 3, S. 373; b) Egan, R. S.; Tadanier, J.; Garmaise, D. L.; Gaunce, A. P. *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 4422-4426.
- [54] a) Lambert, P. H.; Vaultier, M.; Carrié, R. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, *21*, 1224-1225. b) Eguchi, S.; Matsushita, Y.; Yamashita, K. *Org. Prep. Proced. Int.* **1992**, *2*, 209-243. c) Fresneda, P.M.; Molina, P. *Synlett* **2004**, *1*, 1-17.
- [55] a) Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635-646. b) Kirsanov, A. V. *Izv. Nats. Akad. Nauk. Resp. Kaz., Ser. Khim.* **1950**, *4*, 426-437.
- [56] Takeuchi, H.; Yanagida, S.; Ozaki, T.; Hagiwara, S.; Eguchi, S. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 431-434.
- [57] Pearson, D. A.; Blanchette, M.; Baker, M. L.; Guindon, C. A. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 2739-2742.
- [58] Williams, D. R.; Lowder, P. D.; Gu, Y.-G.; Brooks, D. A. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 331-334.
- [59] a) Alper, P. B.; Hung, S.-H.; Wong, C.-H. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6029-6032. b) Lundquist, IV, J. T.; Pelletier, J. C. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 781-783.
- [60] a) Koch, A. L. *Crit. Rev. Microbiol.* **2000**, *26*, 205-220. b) Chatterjee, C.; Paul, M.; Xie, L.; van der Donk, W. A. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 633-683. c) Casely-Hayford, M. A.; Pors, K.; James, C.H.; Patterson, L. H.; Hartley, J. A.; Searcey, M. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3585-3589.
- [61] a) Fife, T. H.; Przystas, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 1041-1047. b) Scrimin, P.; Tecilla, P.; Tonellato, U.; Valle, G.; Veronese, A. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 527-538. c) Mortallero, M. A.; Bleisch, T. J.; Duerr, B. F.; Kang, M. S.; Huang, H.; Czarnik, A. W. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7238-7246.
- [62] a) Li, K. W.; Wu, J.; Xing, W.; Simon, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7237-7238. b) Burrage, S.; Raynham, T.; Williams, G.; Essex, J. W.; Allen, C.; Cardno, M.; Swali, V.; Bradley, M. *Chem. – Eur. J.* **2000**, *6*, 1455-1466. c) Miao, Z.; Tam, J. P. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3711-3713.
- [63] a) Schmidt, U.; Lieberknecht, A.; Wild, J. *Synthesis* **1988**, *3*, 159-172. b) Bonauer, C.; Walenzyk, T.; König, B. *Synthesis* **2006**, *1*, 1-20.

- [64] Leonard, J.; Lygo, B.; Procter, G.: *Advanced Practical Organic Chemistry*, 2nd ed.; London; Chapman & Hall, **1995**, S. 149.