

**Entwicklung eines *ortho*-Iodoxybenzoesäure-
Polymerreagenzes zur Parallelsynthese von
Peptidylaldehyden**

DISSERTATION

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

2003

vorgelegt von

Gerhard Sorg

Tag der mündlichen Prüfung 29.10.2003

Dekan: Prof. Dr. H. Probst

1. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Jung

2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. E. Maier

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Anleitung von

Herrn Prof. Dr. Günther Jung

in der Zeit von Februar 1999 bis September 2003 am Institut für Organische Chemie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. Günther Jung danke ich sehr herzlich für seine intensive Förderung, die Freiheit in der Bearbeitung des gestellten Themas und sein mir entgegengebrachtes Vertrauen.

Herrn Dr. Jörg Rademann danke ich für die Bereitstellung des IBX-Projektes und die Co-Betreuung der Arbeit.

Danksagungen

Besonders herzlich bedanken möchte ich mich bei Dr. Joachim Smerdka und Dr. Bernd Thern für ihre Freundschaft, ihre wertvollen Anregungen und die vielen heiteren Momente innerhalb und besonders ausserhalb von 10M37.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei den Laborkollegen Tobias Seyberth, Dr. Felix Reutter, Dr. Teresa Mujica-Fernaud und Andrea Grechi für das angenehme Arbeitsklima und zahlreiche Diskussionen.

Dr. Bernd Thern danke ich für die erfolgreiche Zusammenarbeit beim Peptidylaldehyd-Projekt.

Dr. Dietmar Schmid danke ich für seine Mühe und die Bereitschaft bei der Durchführung von LC-MS-Untersuchungen und FTICR-MS-Einzelmessungen immer sein Bestes zu geben.

Dr. Bernd Thern, Dr. Felix Reutter und Tobias Seyberth danke ich für Routine ES-MS-Messungen.

Nicole Sessler danke ich für Peptidsynthesen und immer wieder erfrischende Unterhaltungen während des Laboralltags.

Jörg Bauer danke ich für seine Mithilfe bei der Bewältigung der mir zugefallenen allgemeinen Aufgabe.

Nils Clausen danke ich für viele hilfreiche Diskussionen und Informationen in chemischen Belangen, Aldi-technischen Neuerungen sowie für seine Harzspenden.

Adeeb El-Dashan danke ich für seine Mithilfe im Rahmen seines Wahlpflichtfach-Praktikums und viele interessante Einblicke in eine andere Welt.

Graeme Nicholson danke ich für die Durchführung von GC-MS-Analysen.

Wolfgang Bock danke ich für die Durchführung von Elementaranalysen.

Ursula Becker-Sanzenbacher danke ich für ihre unendliche Geduld und Hilfsbereitschaft alle bürokratischen Hürden betreffend. Die positive Stimmung im Arbeitskreis war zum Großteil ihr Verdienst.

Allen Kolleginnen und Kollegen, die nicht namentlich erwähnt worden sind, danke ich für das gute Klima im Arbeitskreis.

Dr. Joachim Smerdka danke ich für sein intensives und kritisches Korrekturlesen dieser Arbeit.

Ein König ist der Mensch, wenn er träumt; ein Bettler, wenn er denkt.

(Friedrich Hölderlin)

Inhaltsverzeichnis

1	ALLGEMEINER TEIL	1
1.1	EINLEITUNG.....	1
1.2	Festphasensynthese und Kombinatorische Chemie	3
1.2.1	Das Prinzip der Kombinatorischen Chemie.....	3
1.2.2	Das Prinzip der Festphasensynthese.....	4
1.2.3	Kombinatorische Lösungssynthese.....	5
1.2.4	Polymerunterstützte Lösungssynthese (PASP-Synthese).....	6
1.2.5	Prinzipien der PASP-Synthese	7
1.2.6	Konzepte der PASP-Synthese und deren Einsatzgebiete.....	8
1.2.6.1	Polymerunterstützte Reagenzien	8
1.2.6.2	Polymerunterstützte Katalysatoren	9
1.2.6.3	Polymerunterstützte Scavenger	9
1.2.6.4	„Catch and Release“	10
1.2.7	PASP-Synthese am Beispiel von (+)-Plicamin	11
1.3	CHEMIE AN FESTER PHASE	13
1.3.1	Trägermaterialien	13
1.3.2	Linkermoleküle.....	16
1.3.3	Analytik.....	18
1.4	HYPERVALENTE IODVERBINDUNGEN	20
1.4.1	Hypervalenz	20
1.4.2	Historisches	21
1.4.3	Geometrie und elektronische Struktur	21
1.4.4	Die wichtigsten Vertreter hypervalenten Iodverbindungen	24
1.4.5	Physikalische und chemische Eigenschaften	25
1.4.6	Reaktivität.....	25
1.4.6.1	Homolytische Reaktionen.....	26
1.4.6.2	Heterolytische Reaktionen	26
1.4.7	λ^5 -Iodinane oder Periodinane	29
1.4.7.1	IBX und Derivate	30
1.5	PEPTIDYLALDEHYDE UND PEPTIDYLKETONE ALS PROTEASEINHIBITOREN	38
1.5.1	Bedeutung der Peptidylaldehyde	40
1.5.1.1	Peptidylaldehyde als Proteasom-Inhibitoren	41
1.5.1.2	Peptidylaldehyde als Caspase-Inhibitoren	42
1.5.1.3	α -Aminoaldehyde und Peptidylaldehyde als Syntheseintermediate	45
1.5.1.4	Peptidylketone	45

1.5.2	Synthese von Peptidylaldehyden	47
1.5.2.1	Lösungssynthesen	47
1.5.2.2	Festphasensynthesen	50
2	AUFGABENSTELLUNG	53
3	POLYMERGEBUNDENE REAGENZIEN.....	54
3.1	WEGE ZUR DARSTELLUNG VON ALDEHYDEN UND KETONEN AUS PRIMÄREN UND SEKUNDÄREN ALKOHOLEN.....	54
3.2	ENTWICKLUNG EINES POLYMERGEBUNDENEN IBX-HARZES	55
3.2.1	Der Linker	56
3.2.1.1	Linkerauswahl.....	56
3.2.2	Synthese der hydroxyfunktionalisierten 2-Iod-benzoesäure.....	57
3.2.2.1	Syntheseversuche zur Darstellung von 4-Hydroxy-2-iod-benzoesäure.....	57
3.2.2.2	Synthese von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure.....	58
3.2.3	Synthese von polymergebundenem 1,5-Dihydroxy-1-oxo-1 <i>H</i> -1 λ^5 -benzo[d][1,2]iodoxol-3-on (IBX-Harz) (16).....	59
3.2.3.1	Belegung des polymeren Trägers mit 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester.....	60
3.2.3.2	Verseifung des Methylesters	61
3.2.3.3	Oxidation zu polymergebundenem IBX (1,5-Dihydroxy-1-oxo-1 <i>H</i> -1 λ^5 -benzo[d][1,2]iodoxol-3-on)	65
3.2.3.4	Synthesen und Testsystem.....	66
3.3	OXIDATION VON ALKOHOLEN.....	79
3.3.1	Oxidation von Benzylalkoholen	80
3.3.2	Oxidation von Terpenen, Steroiden sowie anderen aliphatischen, alicyclischen und heterocyclischen Alkoholen	81
3.3.3	Cyclisierung von Aniliden.....	84
3.3.4	Oxidation von N-geschützten β -Aminoalkoholen	85
3.3.5	Oxidation von Alamethicin (F30) mit IBX-Harz.....	86
3.3.6	Oxidation schwefelhaltiger Verbindungen	87
3.3.7	Synthese von α -Benzochinonen mit IBX-Harz	88
3.4	IBX-SYNTHESE AUF ULTRA-HARZ.....	90
3.4.1	Synthese von Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester.....	90
3.4.2	Synthese von polymergebundenem IBX an ULTRA-Harz	91
4	PEPTIDYLALDEHYDE.....	95
4.1	FESTPHASENGESTÜTZTE SYNTHESE VON PEPTIDYLALDEHYDEN.....	95
4.1.1	Darstellung von Fmoc- β -Aminosäurealkoholen aus den Carbonsäuren	95
4.1.2	Analytik der Aminoalkohole.....	98
4.1.2.1	NMR-Analytik	98

4.1.3	Synthese der Peptidylalkohole.....	99
4.1.4	Analytik der Peptidylalkohole.....	100
4.1.5	Auswahl chemisch und biologisch interessanter Sequenzen.....	101
4.1.6	Oxidation der Peptidylalkohole mit IBX-Harz	102
4.1.7	Scavenging.....	103
4.1.8	Reinigung der Peptidylaldehyde via Capture-Release.....	104
4.1.9	HPLC und MS-Analytik der Peptidylaldehyde	107
4.1.9.1	Z-LLI-H	108
4.1.9.2	Ac-WEHD-H.....	109
4.1.10	NMR-Untersuchungen	111
4.1.10.1	Epimerisierungsuntersuchungen.....	111
4.1.10.2	Zusätzliche NMR-Analytik	114
4.1.10.3	NMR-Auswertung von Z-LLV-H	115
5	ZUSAMMENFASSUNG	117
6	EXPERIMENTELLER TEIL.....	120
6.1	CHEMIKALIEN UND LÖSUNGSMITTEL.....	120
6.2	GERÄTE UND ANALYTISCHE METHODEN	120
6.2.1	Dünnschichtchromatographie.....	120
6.2.2	FT-ATR-IR-Spektroskopie	121
6.2.3	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	121
6.2.4	GC-EI-MS Analytik	121
6.2.5	ES-Quadrupol-Massenspektrometrie	122
6.2.6	FTICR-Massenspektrometrie.....	122
6.2.7	NMR-Spektroskopie.....	122
6.2.8	Mikrowellenunterstützte Synthesen.....	123
6.2.9	Kaisertest.....	123
6.2.10	Chloraniltest.....	124
6.2.11	Automatisierte Synthese von Peptidylalkoholen	124
6.2.12	UV-Spektrometer	124
6.2.13	Ermittlung der Harzbelegung durch UV -spektrometrische Fmoc- Bestimmung	124
6.3	SYNTHESEN IN LÖSUNG.....	125
6.3.1	Darstellung von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure	125
6.3.2	Darstellung von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester	126
6.3.3	Darstellung von 5- <i>tert.</i> -Butoxycarbonylmethoxy-2-iodbenzoesäure-methyl- ester.....	127
6.3.4	Darstellung von 5-Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester	127
6.3.5	Darstellung von Fmoc- β -Aminoalkoholen aus Fmoc- α -Aminosäuren.....	128

6.4	FESTPHASENSYNTHESEN	129
6.4.1	Synthese von polymergebundenem 1,5-Dihydroxy-1-oxo-1H-1 ⁵ -benzo[d]- [1,2]-iodoxol-3-on an Merrifield-PS-Harz	129
6.4.1.1	Harzbelegung	129
6.4.2	Verseifung des Methylesters	129
6.4.3	Oxidation polymergebundener 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure	130
6.4.4	Synthese von polymergebundenem 1,5-Dihydroxy-1-oxo-1H-1 ⁵ -benzo[d]- [1,2]-iodoxol-3-on an ULTRA-Harz	130
6.4.4.1	Harzbelegung (ULTRA-Harz).....	130
6.4.4.2	Verseifung (ULTRA-Harz).....	130
6.4.4.3	Oxidation (ULTRA-Harz).....	131
6.4.5	Synthese von Peptidylalkoholen.....	131
6.4.5.1	Belegung von TCP-Harz mit Fmoc-β-Aminoalkoholen	131
6.4.5.2	Allgemeine Vorschrift zur Fmoc-Abspaltung.....	131
6.4.5.3	DIC/HOBt-Kupplung	132
6.4.5.4	Abspaltung	132
6.5	PASP-SYNTHESEN	132
6.5.1	Oxidation von Alkoholen.....	132
6.5.1.1	Dehydrogenierung von Cyclohexanon zu Cyclohexenon.....	134
6.5.2	Cyclisierung von Aniliden.....	134
6.5.3	Oxidation schwefelhaltiger Verbindungen	135
6.5.4	Synthese von o-Benzochinonen	135
6.5.5	Oxidation von (seitenkettengeschützten) Peptidylaldehyden mit IBX-Harz	136
6.5.6	Capture-Release Reinigung.....	136
7	LITERATUR.....	138
8	ANHANG.....	148
8.1	BERECHNUNG DER HARZBELADUNG NACH EINEM SYNTHESCHRITT	148
8.2	¹³ C-NMR-DATEN ZUR CHARAKTERISIERUNG VON FMOC-AMINOSÄURE-ALKOHOLEN	150
8.3	NMR-ANALYTIK VON Z-LLV-H	154

Abkürzungsverzeichnis

Für Aminosäuren wurden die Vorschläge der IUPAC-IUB-Kommission für biologische Nomenklatur [Eur. J. Biochem. **1984**, 138, 9-37] des Ein- oder Dreibuchstaben-Code verwendet.

abs.	wasserfrei
Ac	Acetyl
ACN	Acetonitril
AcOH	Essigsäure
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
a.i.	absorbtion intensity
amu	atom mass unit
Boc	<i>tert.</i> -Butyloxycarbonyl
BTI	[Bis(trifluoracetoxy)iod]benzol
Bzl	Benzyl
COSY	Correlation Spectroscopy
d	dublett
d	chemische Verschiebung
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
DIB	Diacetoxyiodbenzol
DIBAH	Diisobutylaluminiumhydrid
DIEA	N-Ethyl-diisopropylamin
DME	Dimethoxyethan
DMF	Dimethylformamid
DMP	Dess-Martin-Periodinan
DMSO	Dimethylsulfoxid
DVB	Divinylbenzol
EA	Elementaranalyse
EI-MS	Elektronenstoßionisations-MS
eq.	Äquivalente
ES-MS	Electrospray-MS
Et ₂ O	Diethylether
EtOH	Ethanol

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
FT-ATR-IR	Fourier-Transform-Attenuated-Total-Reflection-IR
FTICR-MS	Fourier-Transform-Ion-Cyclotron-Resonance-MS
GC	Gaschromatographie
HFIP	1,1,1,3,3,3-Hexafluorisopropanol
HIV	human immunodeficiency virus
HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	High-Performance-Liquid-Chromatographie
HSQC	Heteronuclear single quantum correlation
HTI	[Hydroxy(tosyloxy)iod]benzol
IBA	Iodosobenzoensäure
IBX	Iodoxybenzoensäure
IR	Infrarot
IOB	Iodosobenzol
kat.	katalytisch
λ	Wellenlänge
M	Molarität
M	Merrifield-(Harz)
Maldi-MS	Matrix-Assisted-Laser-Desorption/Ionisation-MS
MAS-NMR	magic-angle-spinning-NMR
MeOH	Methanol
mIBX	modified IBX
MO	Molekülorbital
MS	Massenspektrometrie
m/z	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
NCS	N-Chlorsuccinimid
NMM	N-Methylmorpholin
NMP	N-Methylpyrrolidinon
NMR	Kernresonanzspektroskopie
Pam ₃ Cys-OH	N ^a -Palmitoyl-S-[2,3-bis-(palmitoyloxy)-(2RS)-propyl]-(R)-cystein
PASP	Polymer-Assisted-Solution-Phase
Pbf	2,2,5,7,8-Pentamethyl-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl
PE	Petrolether
PEG	Polyethylenglycol
pH	potentia hydrogenii (pH-Wert)
ppm	parts per million

PS	Polystyrol
q	Quadruplett
R	Rest
rel. int.	Relative Intensität
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SET	single-electron-transfer
SIMS	Sekundärionenmassenspektrometrie
SPOS	Solid-Phase-Organic-Synthesis
SPPS	Solid-Phase-Peptide-Synthesis
t	Triplett
t	Zeit
t _R	Retentionszeit
tBu	<i>tert.</i> -Butyl
TEMPO	Tetramethyl-pyrrolidin-N-oxid
THF	Tetrahydrofuran
TIC	Totalionenchromatogramm
TIS	Triisopropylsilan
TFA	Trifluoressigsäure
TFMSA	Trifluormethansulfonsäure
TMS	Tetramethylsilan
TOF	time-of-flight
Trt	Trityl
ÜZ	Übergangszustand
UV	Ultraviolett
V	Volumen
W	Wang-(Harz)
Z	Benzyloxycarbonyl (Cbz)

1 Allgemeiner Teil

1.1 Einleitung

Die chemische Synthese hat dank der menschlichen Kreativität inzwischen einen bemerkenswerten Entwicklungsstand erreicht. Obwohl es inzwischen viele exzellente Methoden gibt, Zielverbindungen mit immer komplexer werdenden Strukturen zu konstruieren, muss das Hauptaugenmerk dennoch darauf liegen, strategisch wichtige Ziele umweltfreundlicher, effizienter, in größerer struktureller Vielfalt und in kürzeren Zeitabständen zu erreichen. Die Erfordernisse und der Anspruch der modernen Gesellschaft nach neuen und nützlichen chemischen Produkten haben dazu geführt, dass neue Technologien in einer niemals für möglich gehaltenen Geschwindigkeit entwickelt werden konnten. Die sich daraus ergebenden Veränderungen haben weitreichende Konsequenzen auf den Pharma- und Agrarbereich [Ley00].

Die Fortschritte in der Molekularbiologie, der Genetik und der Automatisierungstechnik haben dazu geführt, dass eine Vielzahl neuer Proteine und anderer Naturstoffe als potentielle biologische Targets entdeckt und isoliert wurden. Neue Assaytechnologien, stark miniaturisiert und voll automatisiert, ermöglichen es, im sog. High-Throughput-Screening bis zu 100 000 neue Substanzen pro Woche auf ihre biologische Wirksamkeit zu untersuchen. Neue Kenntnisse über die Ursachen vieler Krankheiten auf molekularer Ebene, führten zum rationalen Wirkstoffdesign (rational drug design). Um die große Anzahl sich daraus ergebender, potentiell wirksamer Substanzen zu synthetisieren, mussten „High-Throughput Synthesis“ Verfahren entwickelt werden. Dies war die Kombinatorische Chemie [Jun99, Her97, Bal96, Frü96, Her96, Jun96, Tho96, Gal94]. Zu Beginn wurden vor allem Peptid-, Nucleotid- und Oligosaccharidsynthesen an fester Phase durchgeführt [Bea92, Sch94, Jun92]. Der Festphasensynthese gelang mit den Publikationen durch Merrifield im Jahr 1963 der Durchbruch [Mer63]. Sie hat sich in den Folgejahren sehr stark verbreitet und ist heute als Methode etabliert. Ein Vorteil der Festphasensynthese ist, dass Zwischenprodukte nicht gereinigt werden müssen. Ausserdem ist diese Methode automatisierbar. Nachteile sind der hohe Entwicklungsaufwand einer gut ausgearbeiteten und hoch parallelisierten Festphasensynthese und die hohen damit verbundenen Kosten. Deshalb rückte in der letzten Zeit die kombinatorische Synthese in Lösung immer mehr in den Vordergrund. Möglich wurde dies u.a. durch die Verwendung polymergebundener

Reagenzien. Die polymerunterstützte kombinatorische Lösungssynthese (Polymer-Assisted-Solution-Phase Synthesis; PASP Synthese) bietet ebenfalls die Möglichkeit zur Automation und damit die Möglichkeit zur parallelen Synthese kleiner bis mittelgroßer Verbindungsbibliotheken in Lösung [She01, Ley00, Rad00, Wen99, Fly98, Ake81, Heu77].

In jüngerer Zeit gelang es, mit dem Peptid T20 (FuzeonTM), einem Fusionsinhibitor bei HIV-1, ein mittels Festphasenchemie in großem Maßstab synthetisiertes Medikament auf den Markt zu bringen [Ota02, Kan00, Kil98].

Die Vorgehensweise der pharmazeutischen Wirkstoffforschung bei der Suche neuer Leitstrukturen ist in Abb. 1-1 noch einmal schematisch dargestellt. Diese Stufe der Pharmaentwicklung bis zur Auffindung von Entwicklungssubstanzen benötigt heute lediglich 1 – 2 Jahre. Der Flaschenhals mit extrem hohen Kosten sind nach wie vor die klinischen Studien der Phasen 1 – 3 mit Zeiträumen von 4-10 Jahren.

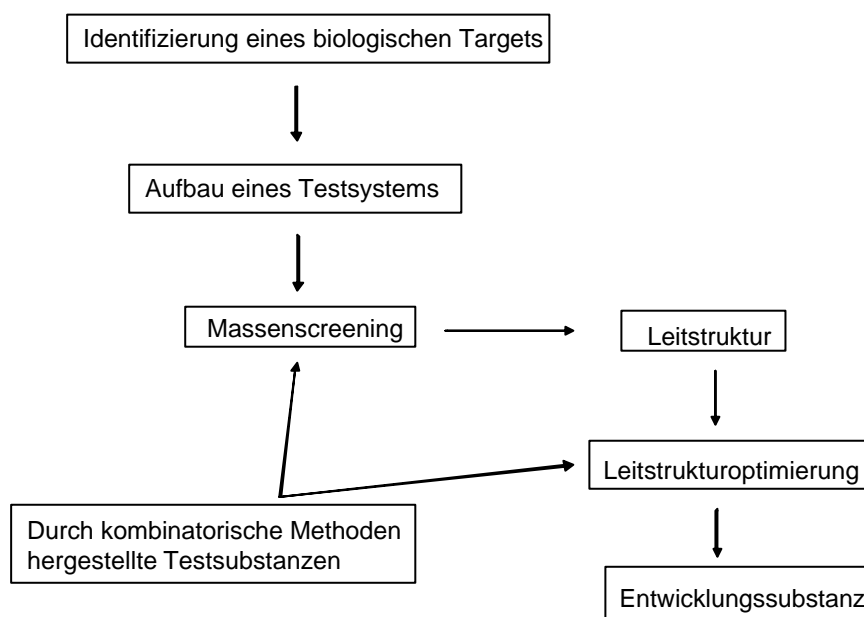


Abb. 1-1 Das Prinzip der Leitstruktursuche.

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in zwei Teile. Der erste Teil beschreibt die Entwicklung, Synthese und Validierung eines polymergebundenen Reagenzes in der PASP Synthese. Es handelt sich dabei um eine modifizierte Iodoxybenzoesäure. Sie enthält Iod in der Oxidationsstufe +V. Iodoxybenzoesäure stellt ein äußerst mildes und selektives Oxidationsmittel dar. Der zweite Teil beschreibt die Synthese von Peptidylaldehyden, wichtigen Proteaseinhibitoren, unter Verwendung polymergebundener Iodoxybenzoesäure.

1.2 Festphasensynthese und Kombinatorische Chemie

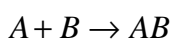
1.2.1 Das Prinzip der Kombinatorischen Chemie

Polymergebundene Reagenzien werden für die Kombinatorische Chemie in Lösung immer wichtiger. Daher soll auch das Prinzip der Kombinatorik kurz beschrieben werden.

Wie die Natur, die aus lediglich 20 α -Aminosäuren eine nahezu unbegrenzte Anzahl von Peptiden und Proteinen aufbaut, versucht man in der Kombinatorischen Chemie mit möglichst wenig Reaktionsschritten, möglichst diverse Strukturen zu erzeugen, die den gewünschten Strukturraum, sowohl in elektronischer als auch sterischer Hinsicht ideal auszufüllen vermögen. Es werden also im Gegensatz zur klassischen Synthese nicht zwei Edukte (A, B) zu einem Produkt umgesetzt, sondern es werden sogenannte „building blocks“ Eduktbausteine A_m , B_n miteinander kombiniert (Abb. 1-2). Dazu werden entweder definierte Mischungen der „building blocks“ miteinander umgesetzt, was zu sog. Verbindungsbibliotheken führt. Bei Durchführung paralleler Ansätze in einzelnen Kompartimenten ist es ebenfalls möglich die entsprechenden Bausteine A_m und B_n miteinander zu kombinieren, und auf diese Weise Arrays von Einzelverbindungen zu erhalten.

Auf die sich daraus ergebenden Synthesekonzepte wird nicht näher eingegangen (siehe Lit. [Jun99, Jun96]).

Klassische Synthese:



Kombinatorische Synthese:

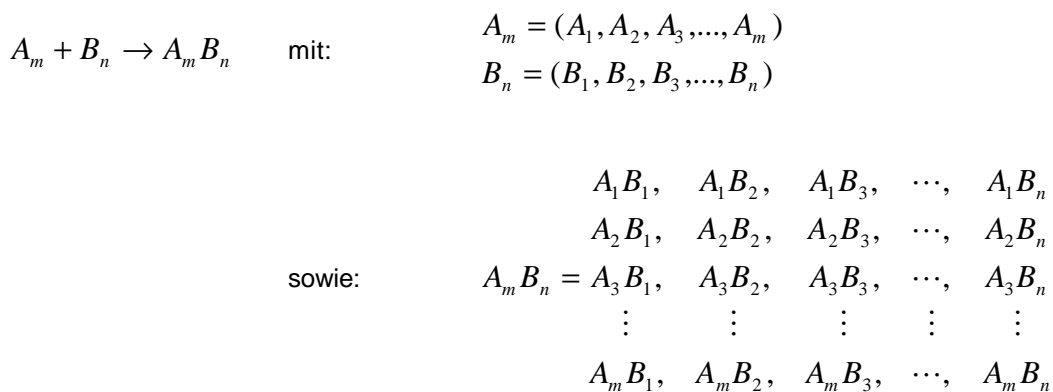


Abb. 1-2 Schematischer Vergleich zwischen klassischer und kombinatorischer Synthese. A_m und B_n bezeichnen die „building blocks“ zur Erzeugung einer großen Anzahl Verbindungen.

1.2.2 Das Prinzip der Festphasensynthese

Die Festphasensynthese kann in zwei große Bereiche unterteilt werden. Das von Merrifield 1963 publizierte Prinzip der Festphasensynthese fand zuerst Anwendung in der Peptidsynthese (Solid Phase Peptide Synthesis, SPPS) und Oligonucleotidsynthese [Mer63]. Mit der von Bunin und Ellman im Jahr 1992 vorgestellten Festphasensynthese von Benzodiazepinderivaten begann die Synthese nichtoligomerer, organischer Verbindungen [Bun92]. Sie hat sich als Methode der Wahl zur Synthese kombinatorisch hergestellter Substanzbibliotheken etabliert [Zar00, Bun98, Frü96, Tho96, Bal96].

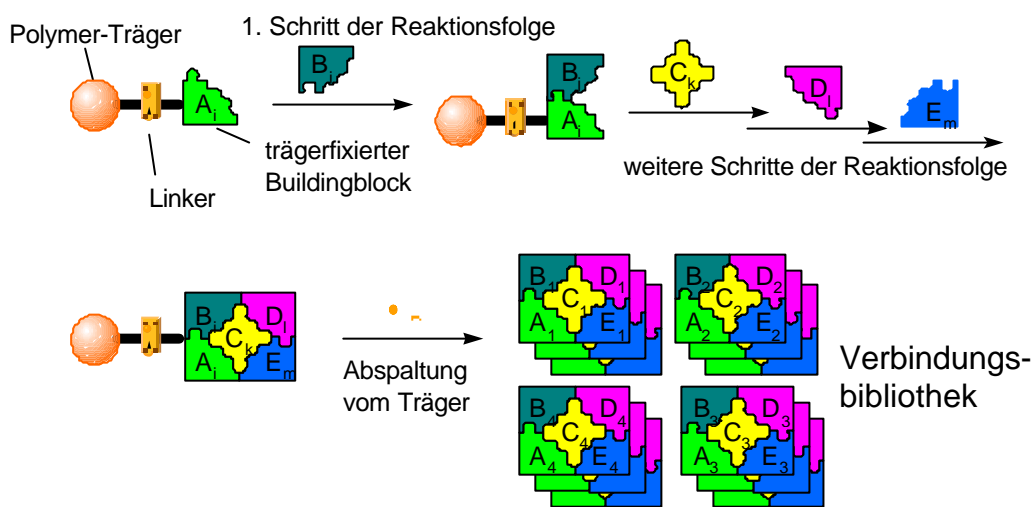


Abb. 1-3 Schematische Darstellung einer Bibliothekssynthese an fester Phase. Der Linker ermöglicht nach der Synthese die Freisetzung der Produkte vom polymeren Trägermaterial.

Zur Synthese an fester Phase wird ein Edukt über einen sogenannten Linker kovalent an das polymere Trägermaterial gebunden. Die Bindung sollte inert gegenüber den folgenden Syntheseschritten sein. Sobald das Produkt harzgebunden vorliegt, muss die Bindung zum Linker spezifisch spaltbar sein, der Linker selbst aber nicht mit abgespalten werden.

Die Vorteile der Festphasensynthese gegenüber der klassischen Lösungssynthese sind im Folgenden zusammengefasst:

- Reaktionsbeschleunigung durch hohe Reagenzienüberschüsse.
- Erhöhung von Ausbeute und Reinheit pro Reaktionsschritt durch Reagenzienüberschüsse.

- Reinigung der Reaktionsmischung durch einfaches Abfiltrieren der Reaktionslösung und Waschen des Polymers mit Lösungsmitteln verschiedener Polarität. Dadurch sind keine aufwändigen Reinigungsschritte notwendig.
- Möglichkeit zur Automatisierung mit hohem Parallelisierungsgrad.
- Durch die räumliche Trennung der Produkte kommt das Verdünnungsprinzip zum Tragen. Es treten im Idealfall weder Wechselwirkungen zwischen den beteiligten Reaktanden noch eine Quervernetzung der Produktmoleküle auf. Dies ermöglicht eine deutlich einfachere Schutzgruppenstrategie (z.B. im Bereich der Peptidsynthese).

Die Nachteile der Festphasenchemie sind:

- Reagenzien und Reaktionsbedingungen sind aufgrund der physikalischen und chemischen Eigenschaften des Polymers und des Linkers etwas eingeschränkt.
- Die Ausarbeitung und Optimierung einer Festphasenreaktion ist zeitaufwändig, da Syntheseprotokolle aus Lösungssynthesen oft nicht zu übernehmen sind. Für die meisten Probleme gibt es allerdings inzwischen Standardprotokolle, wodurch diese Problematik häufig nicht mehr auftritt.
- Die "on-bead" Analytik während der Reaktion ist eingeschränkt auf spezielle Methoden oder erfordert die Abspaltung der Zwischenstufen.
- Trotz hoher Reagenzienüberschüsse sind oft keine vollständigen Umsetzungen möglich. Dies mindert die Reinheit und die Ausbeute [Bay91].
- Schlechte Atomökonomie. Eine hohe Beladung des Trägermaterials mindert dieses Problem, jedoch können dann Vorteile wie das Verdünnungsprinzip nicht mehr ohne weiteres vorausgesetzt werden [Dol02, Per01, Dol01, Dol00, Fra00, Boo98, Her97, Her96].

1.2.3 Kombinatorische Lösungssynthese

Die kombinatorische Lösungssynthese hat in den letzten Jahren erheblich an Bedeutung zugenommen, trotz geringerer Parallelisierungsmöglichkeit [Bal00, Aus99].

Vorteile der Lösungssynthese sind zum einen der Wegfall der Substratimmobilisierung und Produktabspaltung vom polymeren Träger, also zweier Reaktionsschritte. Zum anderen muss auf die Stabilität der Polymere und Linker keine Rücksicht genommen werden. Es

sind also auch Temperaturen jenseits von 150°C möglich. Ein einfaches „Upscaling“ ist ebenso möglich wie die Verwendung der aus der klassischen Synthese bekannten Syntheseprotokolle. Somit können heterogen katalysierte Reaktionen unter Nutzung aller notwendigen Reagenzien, z.B. mit Mikrowellenerhitzung, durchgeführt werden. Auf der analytischen Seite sind klassische Reaktionskontrollen und die Nutzung moderner hochdurchsatzfähiger instrumenteller Analytik einsetzbar.

Die Nachteile sind im Wesentlichen dieselben wie bei klassischen Lösungssynthesen, insbesondere unvollständige Umsetzungen, großer Zeitaufwand bei der Aufarbeitung und Reinigung der Produkte. Deshalb kann auch nicht, wie bei Festphasensynthesen üblich, mit hohen Reagenzienüberschüssen gearbeitet werden. Eine Möglichkeit diese Probleme zu vermeiden oder teilweise zu lösen ist das Arbeiten mit polymergebundenen Reagenzien (Abschnitt 1.2.4). Die PASP-Synthese läßt hinsichtlich Automatisierbarkeit und Parallelisierung von Reaktionsabläufen auf weiteres Entwicklungspotential hoffen, was bei der kombinatorischen Lösungschemie kaum der Fall sein dürfte. Durch die Verwendung polymergebundener Reagenzien und polymergebundener Scavenger lassen sich die in Lösungssynthesen auftretenden Nebenprodukte und Eduktrückstände größtenteils entfernen oder sogar ganz vermeiden. Die Reinigung der Zwischenprodukte beschränkt sich dann im Idealfall auf einfache Extraktionen.

1.2.4 Polymerunterstützte Lösungssynthese (PASP-Synthese)

Seit den Arbeiten von Merrifield in den 60er Jahren haben sich polymere Trägermaterialien in der Organischen Chemie sehr stark verbreitet [Zar00, Mer63]. Zuerst revolutionierten sie die Peptid- und Nucleotidsynthese und ab Beginn der 90er Jahre waren sie eine wesentliche Erleichterung für die Kombinatorische Chemie.

Ein vermehrter Einsatz von polymergebundenen Reagenzien und Katalysatoren innerhalb der Organischen Synthese begann in den letzten zehn Jahren [Kir01]. Die große Anzahl an Publikationen demonstriert eindrucksvoll die Anstrengungen, die auf diesem Gebiet unternommen worden sind. Die Verwendung polymergebundener Reagenzien und Katalysatoren reicht hierbei von einzelnen Reaktionsschritten bis zur vollständigen Synthese von Naturstoffen inklusive deren Reinigung und Isolierung (siehe Abb. 1-8). Einen Überblick gibt der Übersichtsartikel von Ley et al. [Ley00].

1.2.5 Prinzipien der PASP-Synthese

Bei der PASP-Synthese wird das Substrat zu keinem Zeitpunkt dauerhaft am polymeren Träger immobilisiert. Die Umsetzung des Substrates erfolgt in Lösung. Das polymere Material dient hierbei als Reagenz, Katalysator oder Scavenger. Mit letzteren lassen sich sowohl ungewünschte Nebenprodukte und überschüssige Reagenzien entfernen, als auch gewünschte Produkte aus der Reaktionsmischung isolieren. Die polymerunterstützte Lösungsschemie nutzt und verbindet somit die Vorteile der Fest- und der Flüssigphasenchemie. Die verschiedenen Konzepte der PASP werden in Abschnitt 1.2.6 detailliert behandelt.

Die Eigenschaften des PASP-Synthesekonzeptes lassen sich wie folgt zusammenfassen.

Vorteile:

- Die einfache Abtrennung der immobilisierten Spezies durch Filtrieren und Waschen.
- Der Einsatz eines Reagenzienüberschusses, um das Reaktionsgleichgewicht auf die Produktseite zu verschieben, und um einen möglichst quantitativen Umsatz zu ermöglichen.
- Nach der Reaktion ist eine Regeneration des Reagenzes möglich; im Idealfall ohne Aktivitätsverlust.
- Eine Verwendung in der automatisierten Synthese ist möglich. Es sind auch Synthesen in Durchflussreaktoren möglich.
- Aufgrund der Anbindung an polymere Träger wird die Toxizität giftiger Reagenzien stark erniedrigt, da das resultierende Reagenz nicht mehr flüchtig oder hautgängig ist.
- Vor allem im Bereich der polymerunterstützten Katalysatoren ist eine verlängerte Haltbarkeit und Aktivität sowie Selektivität im Vergleich zum löslichen Analogon festzustellen [Kir01].
- Im Vergleich zur Festphasensynthese ist von Vorteil, dass aufgrund der verwendeten Überschüsse nicht jedes Reaktionszentrum im Reaktionsverlauf zur Reaktion kommen muss [Kir01].

Nachteile:

- Hohe Kosten.
- Nur wenige polymergebundene Reagenzien sind in validierter Form kommerziell erhältlich.
- Geringere Aktivitäten aufgrund diffusionsbedingter Einschränkungen und chemisch leicht veränderter Eigenschaften wegen der Notwendigkeit einer Anbindungsstelle zum polymeren Träger. Hierbei ist die Löslichkeit des Substrates und die Quellbarkeit des modifizierten Polymers im entsprechenden Lösungsmittel zu beachten.
- Die Reaktionsbedingungen aus einer optimierten Lösungssynthese sind manchmal nicht übertragbar.
- Schwierigkeiten bei der analytischen Charakterisierung des immobilisierten Reagenzes.
- Es gibt oft keine Möglichkeit polymergebundene Verunreinigungen abzutrennen. Diese sind nach der Reaktion eventuell in der Reaktionslösung vorhanden [Kir01].

1.2.6 Konzepte der PASP-Synthese und deren Einsatzgebiete

Im Folgenden werden kurz die verschiedenen Konzepte der PASP-Synthese und die verschiedenen Einsatzgebiete vorgestellt. Einteilung und Definitionen sind weitgehend dem Review von Ley et al. entnommen [Ley00]. Es wird darauf verzichtet, konkrete Synthesebeispiele für die verschiedenen Konzepte zu geben, da inzwischen die Anzahl an publizierten Reagenzien so groß ist, dass für nahezu jedes chemische Problem eine Lösung mit Hilfe der PASP-Synthese gefunden wurde. Die Beispielsynthese in Abschnitt 1.2.7 zeigt exemplarisch den derzeitigen Entwicklungsstand.

Auf die Besonderheiten bei der Synthese an der festen Phase sowie die Trägermaterialien wird in Abschnitt 1.3 eingegangen.

1.2.6.1 Polymerunterstützte Reagenzien

Polymerunterstützte Reagenzien stellen die weitaus häufigste Anwendung bei PASP-Synthesen dar. Es handelt sich um reaktive Verbindungen die fest an einen polymeren Träger gebunden sind. Sie wandeln das Substrat in ein neues chemisches Produkt um.

Nach der Reaktion werden überschüssiges sowie verbrauchtes Reagenz durch Waschen und Filtrieren entfernt [Ley00].

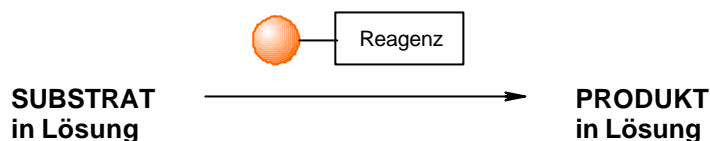


Abb. 1-4 Schematische Darstellung einer Reaktion mit polymerunterstützten Reagenzien.

Wenn die immobilisierte reaktive Verbindung oder deren Edukt wertvoll sind und das Reagenz nach der Reaktion zu einer einheitlichen Verbindung abreagiert, ist eine Regeneration sinnvoll. Als gut regenerierbar kann ein Reagenz dann gelten, wenn es wenigstens fünf Mal ohne merklichen Aktivitätsverlust erneut verwendbar ist.

1.2.6.2 Polymerunterstützte Katalysatoren

Polymerunterstützte Katalysatoren sind reaktive Verbindungen, die an einem Polymer gebunden sind und in katalytischen Mengen (< 1 eq.) eingesetzt werden. Sie sind in der Lage chemische Umwandlungen zu katalysieren. Durch einfaches Filtrieren wird der Katalysator entfernt (Abb. 1-5). Im Unterschied zu Polymerreagenzien werden sie im Unterschuss eingesetzt und sind im Idealfall ohne Regeneration wiederverwendbar [Kir01].

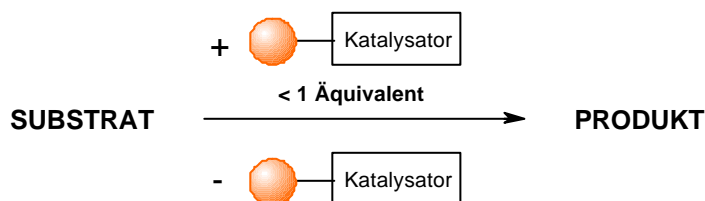


Abb. 1-5 Verwendung eines polymerunterstützten Katalysators.

1.2.6.3 Polymerunterstützte Scavenger

Polymerunterstützte Scavenger sind festphasengebundene Verbindungen, die dazu verwendet werden, Reaktionen zu „quenchen“, Nebenprodukte oder überschüssige und

nicht abreagierte Edukte vom gewünschten Reaktionsprodukt abzutrennen (Abb. 1-6). Durch Waschen und Filtrieren lassen sie sich aus dem Reaktionsgemisch entfernen. Die polymerunterstützten Scavenger lassen sich in zwei Klassen aufteilen. Zum Einen in ionische (saure und basische Scavenger) und zum Anderen in kovalente (elektrophile und nukleophile) Scavenger [Eam01].

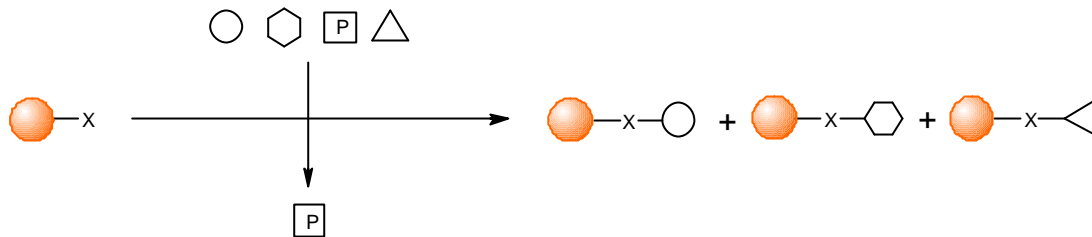


Abb. 1-6 Verwendung eines polymerunterstützten Scavengers. Überschüssiges Substrat sowie Nebenprodukte werden aus der Reaktionsmischung entfernt; das Produkt „P“ verbleibt in Lösung. Nach Abfiltrieren der Polymere und Entfernen des Lösungsmittels soll das Produkt in reiner Form anfallen.

1.2.6.4 „Catch and Release“

„Catch and release“ bezeichnet die Technik, das Produkt nach einer Reaktion in Lösung selektiv an ein entsprechend funktionalisiertes Polymer zu binden und damit aus dem Reaktionsgemisch zu entfernen (Abb. 1-7). Nach Filtrieren und Waschen des Polymers kann das Produkt vom Träger abgespalten werden.

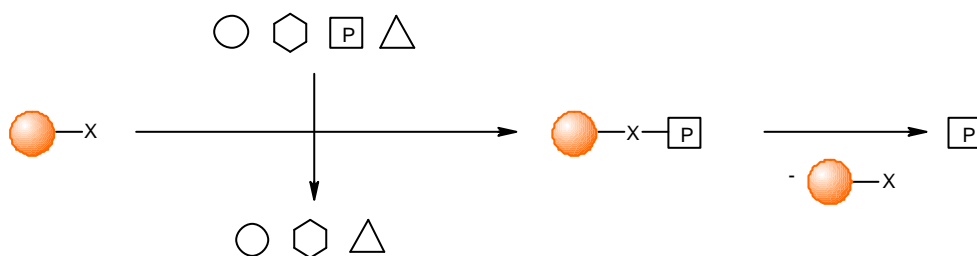


Abb. 1-7 Verwendung eines polymerunterstützten Scavengers. Das gewünschte Produkt „P“ wird selektiv an ein entsprechend funktionalisiertes Polymer gebunden. Nach der Filtration des Polymers wird mit geeigneten Methoden das Produkt abgespalten.

1.2.7 PASP-Synthese am Beispiel von (+)-Plicamin

Im Jahre 2002 publizierte Baxendale aus der Gruppe von Ley die Totalsynthese des (+)-Plicamins (**7**), eines Alkaloids aus der türkischen Amayllidacea *Glanthus plicatus byzantinus* [Bax02]. Die Synthese wurde fast ausschliesslich mit Hilfe polymergebundener Reagenzien durchgeführt. Die jeweiligen Zwischenprodukte mussten keiner Reinigung wie z.B. der Säulenchromatographie, einer Flüssig/Flüssig-Extraktion oder einer Umkristallisierung unterzogen werden. Die drei Endprodukte wurden jedoch säulenchromatographisch oder durch Umkristallisieren gereinigt.

Der entscheidende Schritt dieser Synthese ist ein oxidativer Ringschluss mit polymergebundenem Diacetoxyiodbenzol (DIB) (**5**). Damit zeigt die Synthese eine Anwendung hypervalenter Iodverbindungen, die in Abschnitt 1.4 genauer beschrieben werden. Als Ausgangsverbindungen wurden Piperonal (**1**) und *N*-Methylphenylglycin (**2**) verwendet. Nach Iminbildung (**3**), Reduktion der C=N Doppelbindung mit polymergebundenem Borhydrid und Trifluoracetylierung des α -Stickstoffs war das Grundgerüst zur oxidativen Cyclisierung aufgebaut (**4**). Diese erfolgt wie bereits erwähnt mit polymergebundenem DIB (**5**) unter Ausbildung einer chinoiden Struktur (**6**). Wichtig ist, dass der Aromat elektronenreich, also leicht oxidierbar ist. In der beschriebenen Synthese war dies ein Phenol (Abb. 1-8), welches nach der Oxidation unter Ausbildung einer Spiro-Verbindung weiterreagiert und daraufhin einen Sechsring bildet. Dieser Teil der Synthese ist in Abb. 1-8 grafisch hervorgehoben. Die weiteren Syntheseschritte werden an dieser Stelle nicht näher beschrieben [Bax02].

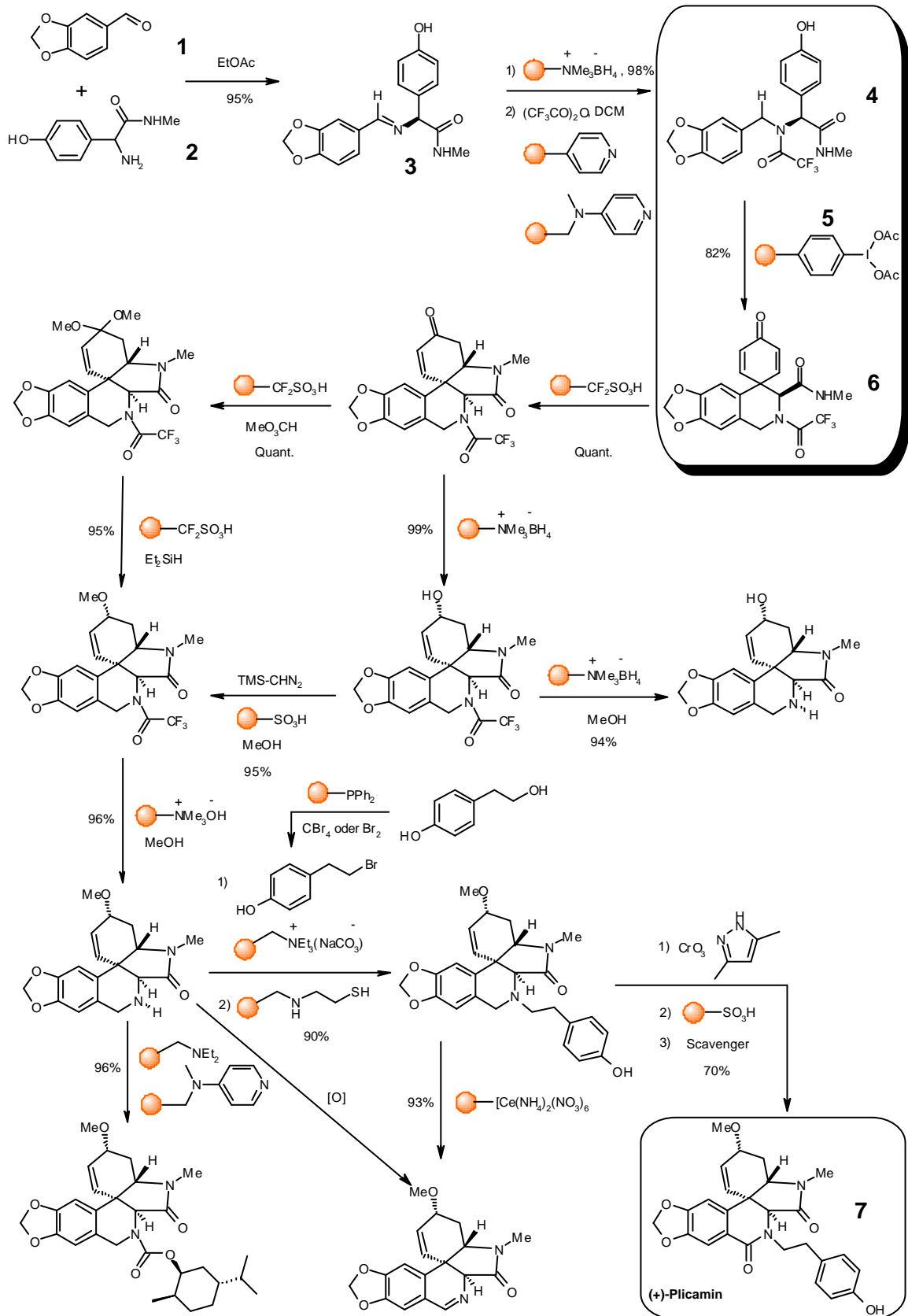


Abb. 1-8 Synthese von (+)-Plicamin (**7**) unter Verwendung von polymergebundenen Reagenzien und Scavengern [Bax02].

1.3 Chemie an fester Phase

Im vorangehenden Abschnitt wurden die Prinzipien der Festphasenchemie behandelt. In diesem Abschnitt soll nun auf die verwendeten Materialien wie Polymere und Linker aber auch auf die Analysemethoden eingegangen werden.

1.3.1 Trägermaterialien

Reaktionen an fester Phase finden im Gegensatz zur organischen Lösungssynthese immer in einem Zweiphasensystem statt. Den physikalischen und chemischen Eigenschaften der Festphase kommt somit eine große Bedeutung zu.

Die wichtigsten Parameter sind:

Beladung: Eine hohe Beladung (eine große Anzahl an Substratbindungsstellen) ist von Vorteil, da sie die Produktmenge im Verhältnis zur eingesetzten Harzmenge steigert. Sie wird in mmol/g angegeben. Niedrige Beladungen sind dann vorzuziehen, wenn die immobilisierten Substratmoleküle durch einen zu geringen Abstand der Reaktionszentren miteinander in Wechselwirkung treten können.

Quelleigenschaften: Der Zugang zu den Reaktionszentren im Inneren des Harzbeads hängt wesentlich von der Quellbarkeit des Polymers im verwendeten Lösungsmittel ab.

Druckstabilität: Dieser Parameter ist vor allem bei Reaktionen im Durchflußverfahren von Bedeutung.

Thermische Stabilität: Das Polymer sollte möglichst temperaturstabil sein. Dies vergrößert die Zahl der verwendbaren Reaktionen.

Mechanische Stabilität: Die Filtrierbarkeit hängt davon ab, ob das Polymer nach der Reaktion strukturell intakt ist. Da häufig mit Magnetrührern gearbeitet wird, die eine zermahlende Wirkung auf das Polymer haben, ist die mechanische Stabilität von großer Bedeutung.

Chemische Stabilität: Das Polymer sollte weitgehend inert gegenüber den verwendeten Reagenzien sein.

Funktionalisierbarkeit: Das Polymer sollte sich möglichst vielseitig chemisch modifizieren lassen. Durch unterschiedliche Linker erhöht sich die Zahl der anwendbaren chemischen Reaktionen.

Tab. 1 Trägermaterialien in der Festphasensynthese.

Trägermaterial	Eigenschaften
Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymer (Quervernetzungsgrad 1-5%) [Mel92, Bay91, Gut71].	Gute Quellbarkeit in DCM, DMF, THF, DMSO, NMP, Dioxan und Pyridin; schlechte oder keine Quellung in Methanol, Wasser und Diethylether [San98]. Thermisch stabil bis ca. 150°C. Beladung liegt zwischen 0,5 - 4,5 mmol/g. Meistgenutztes Trägermaterial in SPOS.
TentaGel, Propfcopolymer aus PS/DVB und Polyethylenglycol (PEG) [Bay91, Bay86, Bay85].	polares Harz; gute Quelleigenschaften in DCM, DMF, THF, DMSO, NMP, Pyridin, Dioxan, Methanol und Wasser; keine Quellung in Ethanol und Diethylether. Beladung 0,1 - 0,5 mmol/g. Schwierig von Wasser zu befreien.
POEPOP, POEPS; Copolymerisat aus PEG und Epichlorhydrin (POEPOP) oder Vinylbenzylchlorid (POEPS) [Rad99, Ren96,].	Hohe chemische und mechanische Stabilität. Einsatz insbesondere bei enzymatischen Umsetzungen von polymergebundenen Substraten.
Fractogel, Copolymer aus Methylacrylat und Vinylalkohol [Red94].	Stabil im Bereich $1 < \text{pH} < 14$. Druckstabil bis 7 bar. Thermisch stabil bis 100°C. Beladung 0,001 - 0,125 mmol/g.
PolyHIPE (High Internal Phase Emulsion), Copolymer aus PS/DVB und Polydimethylacrylamid [Sma89].	Druckstabil; Einsatz in Durchfluss-Peptid-Synthesen. Beladung bis 5,0 mmol/g.
Pepsyn K oder Macrosorb SPR, Polydimethylacrylamid in Kieselgurmatrix [Dry86, Ath81].	druckstabil, Einsatz in Durchfluss-Peptid-Synthesen. Beladung 0,05 - 0,2 mmol/g.

Tab. 1 Trägermaterialien in der Festphasensynthese (Fortsetzung).

Trägermaterial	Eigenschaften
PEGA, Polyacrylamid-PEG Copolymer [Me192].	quellbar in polaren Lösungsmitteln. Verwendung für SPOS, Enzym-katalysierte Reaktionen [Me194], sowie „on bead“ Enzym-Assays [Hi198]. Beladung 0,2 - 0,8 mmol/g.
ULTRA-hochbeladene Harze, Copolymer aus Polyethylenimin und Terephthalaldehyd [Rad02].	sehr gutes Quellverhalten in Wasser und in organischen Lösungsmitteln. Hohe Kapazität und gute Atomökonomie.
CPG (controlled pore glass), LCAA-CPG (long chain alkylamine CPG), Silicia.	keinerlei Quellung, aber erhältlich in Porengrößen von 25 - 300 nm. Hoher Preis. Sehr hydrophil, daher schwer zu trocknen. Geringe Beladung (LCAA-CPG bis 0,1 mmol/g). Besonders für Oligonucleotidsynthesen

In der Literatur zur Kombinatorischen Chemie ist noch eine Fülle weiterer Trägermaterialien zu finden.

Das am häufigsten verwendete Polymer in der organischen Festphasensynthese ist das bereits von Merrifield beschriebene Polystyrol [Mer63]. Dieses wird mit 1 - 5% Divinylbenzol (DVB) als Quervernetzer angeboten. Einen guten Kompromiss zwischen mechanischer Stabilität und Quellbarkeit stellt mit 1% DVB quervernetztes Polystyrol dar. Wenn in polaren protischen Lösungsmitteln wie Methanol oder Wasser gearbeitet werden muss, in welchen das verwendete Polymer schlechte bis keine Quellbarkeit besitzt, kann durch Zugabe von Cosolventien die zu einer hohen Quellung des Polymers führen, ein funktionierender Mittelweg gefunden werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Festphasensynthesen an mit 1% DVB quervernetztem Polystyrol durchgeführt. Ausserdem wurden Versuche an ULTRA-Harz mit einem Quervernetzungsgrad von 1,34 durchgeführt. Dieser ist definiert als Quotient der Äquivalente des Quervernetzers Terephthaldialdehyd zum verwendeten Polyethylenimin bezogen auf die möglichen aktiven Funktionen.

1.3.2 Linkermoleküle

Als Linker wird die verknüpfende Einheit zwischen Substrat und polymerem Träger bezeichnet [Jam99]. Ausserdem ist der Linker die Schnittstelle zur Abspaltung des Produktes. Es handelt sich um bifunktionelle Moleküle. Eine Funktion dient zur Anbindung an das Trägermaterial, die andere zur Knüpfung der Substrat-Linker Bindung und der Abspaltung des Produktes. Seit den Anfängen der Festphasenchemie wurden viele Linker entwickelt, die den Anforderungen unterschiedlichster Reaktionen gerecht werden. Zum Teil wurden Linker auf die Erfordernisse einer ganz bestimmten Reaktion hin entwickelt.

An den Linkerbaustein sind einige Anforderungen zu stellen.

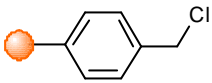
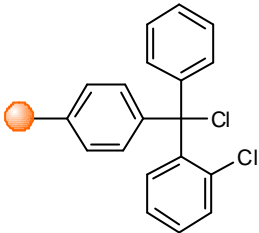
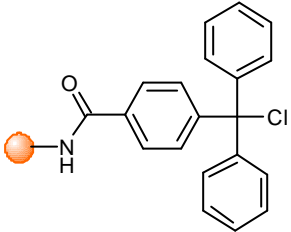
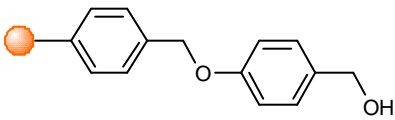
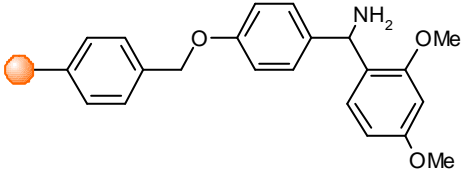
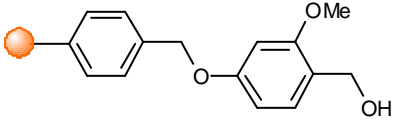
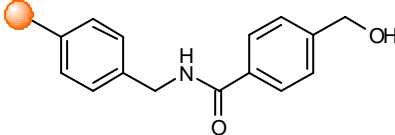
- Die Anbindung des Substrats sollte einfach durchführbar sein.
- Der Linker darf sich hierbei chemisch nicht verändern oder zumindest nur so, dass eine Abspaltung des Produkts möglich ist.
- Während der Reaktionssequenz darf keine Abspaltung des Produkts stattfinden. Bei der Abspaltung sollte der Linker intakt bleiben, um eine Verunreinigung des Produkts zu vermeiden.

Die Einteilung der Linker wird gewöhnlich nach den Abspaltbedingungen der Produkte vorgenommen:

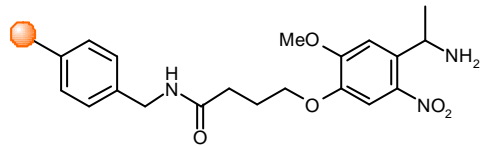
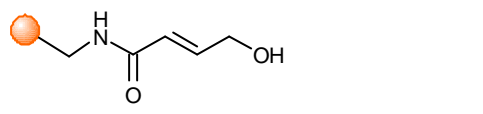
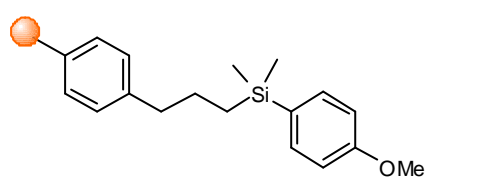
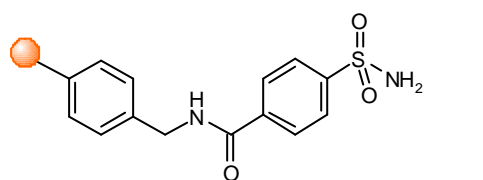
- säurelabile Linker (Abspaltung unter sauren Bedingungen)
- basenlabile Linker (Abspaltung unter basischen Bedingungen)
- photolabile Linker (Abspaltung durch Bestrahlung mit UV-Licht einer bestimmten Wellenlänge)
- Allyl-Linker (Abspaltung mit $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$)
- Silyl-Linker (Abspaltung ohne Verbleib einer funktionellen Gruppe am Produkt; Beispiel eines „traceless“ Linkers)
- „Safety-Catch“-Linker (Abspaltung nach vorhergehender chemischer Modifikation, also einer Aktivierung des Linkermoleküls)

In Tab. 2 sind die wichtigsten Vertreter der oben genannten Klassen dargestellt. In der Literatur zur Festphasensynthese ist noch eine Vielzahl weiterer Linker beschrieben.

Tab. 2 Linker in der Festphasenchemie.

Linker	Eigenschaften
 <p>Chlormethyl-Linker [Fei74]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren und Phenolen. - Abspaltung mit HF, TFMSA, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.
 <p>2-Chlorotritylchlorid-Linker [Bar89, Bar89a]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Aminen, Alkoholen, Carbonsäuren, Hydrazinen, Phenolen und Thiolen. - Abspaltung mit 1 - 10% TFA/DCM, Eisessig, Hexafluorisopropanol.
 <p>TCP-Linker</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung wie 2-Chlorotritylchlorid-Linker. - Abspaltung mit 1 - 10% TFA/DCM, Eisessig Hexafluorisopropanol. Etwas säurestabiler als der 2-Chlorotritylchloridlinker. - Bester Linker für konventionelle Peptidsynthese.
 <p>Wang-Linker [Wan73]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren und Phenolen. - Abspaltung mit 20 - 40% TFA/DCM.
 <p>Rink-Amid-Linker [Rin87]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren und Sulfonsäuren. - Abspaltung mit 20 – 95% TFA/DCM zum entsprechenden Säureamid.
 <p>SASRIN-Linker (Super Acid Sensitive Resin) [She82]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren und Phenolen. - Abspaltung mit 0,5% TFA/DCM.
 <p>HMBA (Hydroxymethylbenzoesäure)-Linker [Ath81a]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren. - Abspaltung mit Nukleophilen wie Aminen, Hydrazinen, Alkoholen als entsprechendes Carbonsäurederivat.

Tab. 2 Trägermaterialien in der Festphasenchemie (Fortsetzung)

Linker	Eigenschaften
 <p>Aminoethyl-Photolinker [Hol95]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren. - Stabil gegenüber Piperidin und TFA. - Abspaltung durch Bestrahlung mit UV-Licht ($\lambda = 365 \text{ nm}$) als Carbonsäureamid.
 <p>HYCRAM (Hydroxycrotonylamido)-Linker [Kun88]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren. - Abspaltung mit $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$.
 <p>Silyl-Linker [Woo97]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Aktivierung mit HCl zu R_3SiCl. - Immobilisierung von Lithiumorganyle. - Abspaltung mit Bu_4NF, TFA.
 <p>4-Sulfamylbenzoyl-Linker [Bac96, Bac94, Ken71]</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Carbonsäuren. - Nach Aktivierung mit Diazomethan oder Iodacetonitril: Abspaltung durch Nucleophile als Carbonsäurederivat.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden der TCP-Linker, der Chlormethyl-Linker sowie ein Brom-substituierter Wang-Linker eingesetzt.

1.3.3 Analytik

Bei Lösungssynthesen wird üblicherweise jedes Zwischenprodukt isoliert und mit DC, HPLC, MS, NMR und Gravimetrie beurteilt. Bei Synthesen an fester Phase wird für gewöhnlich eine Abspaltung von einer kleinen Menge Harz durchgeführt. Anschließend wird das Abspaltungsprodukt analysiert. Bei der Peptid- und Oligonucleotidsynthese wird bei Vorhandensein einer UV-aktiven Fmoc- oder Trt-Schutzgruppe, der Grad der Umsetzung des zuletzt gekuppelten Substrats mittels UV-Spektroskopie quantifiziert (siehe Abschnitt 6.2.13). Eine schnelle Möglichkeit der Peptidanalytik ist die Massenspektrometrie. Die „on-bead“-Analysemethoden sollen nun im Folgenden kurz vorgestellt werden.

Elementaranalyse: Die Elementaranalyse wird überwiegend zur Analyse von Stickstoff, Schwefel und Halogenen eingesetzt [Str97]. Möglich sind auch Beladungsbestimmungen oder Nachweise zur Vollständigkeit einer Halogensubstitution durchzuführen.

Farbreaktionen: Die am häufigsten angewandte Farbreaktion ist der Kaiser-Test, eine Reaktion von Ninhydrin mit primären Aminen, die zu einem tiefblauen Farbstoff führt [Kai70]. Er wird besonders in der Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS) zur Überprüfung der Vollständigkeit eines Kupplungs- oder Acylierungsschrittes eingesetzt. Von geringerer Bedeutung sind Tests auf sekundäre Amine [Voj95], Alkohole [Att01, Att00], Aldehyde [Váz01] und Carbonsäuren [Att00a].

FT-ATR-IR Spektroskopie: FT-ATR-IR Spektroskopie ist eine sehr schnelle und einfache Methode zur qualitativen Bestimmung einer Reihe funktioneller Gruppen mit charakteristischen Absorptionen an polymeren Trägern [Ban99, Haa97]. Mit Hilfe der FT-ATR-IR-Spektroskopie und der FT-IR-Mikroskopie sind darüber hinaus IR-Spektren einzelner Harzkugeln messbar [Haa98, Yan96, Yan95]. Bei der ATR-Technik müssen keine KBr-Presslinge hergestellt werden. Durch Bildung von Differenzspektren des belegten und unbelegten Polymers können störende Polymerbanden beseitigt werden.

Gelphasen-NMR-Spektroskopie: Bei der Gelphasen-NMR-Spektroskopie wird das Harz in einem geeigneten Lösungsmittel suspendiert und wie eine flüssige Probe vermessen [Bay90, Gir84]. Die Methode erlaubt die Untersuchung von Kernen mit großer chemischer Verschiebung wie ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F und ^{31}P . ^1H -NMR-Spektren sind wegen der starken Linienverbreiterung meist schlecht interpretierbar. Mit Hilfe der ^1H - und ^{13}C -MAS-NMR-Spektroskopie werden deutlich besser aufgelöste Spektren erhalten [Gar96, Kei96, Weh96, And95]. Unter optimalen Bedingungen sind ^1H -NMR-Spektren guter Qualität erhältlich [Mat81].

MALDI-TOF-Massenspektrometrie: Bei der Verwendung photolabiler Linker kann eine direkte MS-Analytik polymergebundener (Zwischen)Produkte mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie erfolgen [Ruh98]. Sollte das Substrat nicht photolabil angebunden sein, kann mittels TOF-SIMS direkt analysiert werden [Nic98].

Gravimetrische Analyse: Das Auswiegen des Polymers vor und nach der Reaktion zur Bestimmung der Massenänderung wird selten durchgeführt, da die Ergebnisse häufig sehr ungenau sind.

UV/VIS-Spektroskopie: Bei Kupplung von Fmoc-geschützten Aminosäuren kann nach Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe über eine photometrische Bestimmung des Fmoc-Gehaltes die Beladung bestimmt werden.

Eine Synthese mit vollständiger „on-bead“-Charakterisierung der polymergebundenen Substrate wurde von Grice et al. sehr anschaulich beschrieben [Gri00]. Es wurden sowohl die ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektroskopie als auch die FT-IR-Spektroskopie gemeinsam angewandt.

Üblicherweise werden die vom Polymer abgespaltenen Syntheseprodukte mit HPLC und ES-Massenspektrometrie analysiert. An die Stelle der Elementaranalyse tritt in zunehmendem Maße die hochauflösende und äußerst massengenaue ES-FTICR-Massenspektrometrie gekoppelt mit HPLC [Sch02, Sch01a].

Bei der Analytik von Verbindungsmischungen kommt die Hochdurchsatz-HPLC-MS-Kopplung zum Einsatz. [Bau02, Lee02, Zha00, Jun99, Süs99]. Eine neuere Arbeit beschreibt die Analytik von Verbindungskollektionen mit Mikro-HPLC an monolithischen Kapillaren gekoppelt mit FTICR-MS. Monolithische Trennphasen erlauben bei gleicher Auflösung eine Reduktion der Trennzeiten um 50% gegenüber herkömmlicher Technologie [Lei03b].

1.4 Hypervalente Iodverbindungen

1.4.1 Hypervalenz

Hypervalente Moleküle und Ionen sind Verbindungen der Elemente der fünften bis achten Hauptgruppe des Periodensystems, die Verbindungen bilden, welche über deren niedrigste stabile Wertigkeit (3, 2, 1, 0) hinausgehen. Sie werden als hypervalent bezeichnet, weil Donoratome beteiligt sind und deshalb die nach der Oktettregel, der Theorie von Lewis und Langmuir [Lan19, Lew16], gestatteten Valenzen zur Stabilisierung überschritten werden [Mus69]. Beschreibungen solcher Systeme in der Betrachtungsweise der MO-Theorie führten schließlich zur Theorie der 3-Zentren-4-Elektronen-Bindung (3c-4e-Bindung) über die heute Bindungsverhältnisse beschrieben werden.

1.4.2 Historisches

Organoiodverbindungen werden seit Mitte des 19. Jahrhunderts verwendet. Besonders bekannt und wichtig sind sie seit langem bei der Hofmann-Alkylierung von Aminen, der Williams'schen Ethersynthese und bei Wurtz-Kupplungsreaktionen [Gre84].

Die erste synthetische hypervalente Iodverbindung mit einer Iod-Kohlenstoff-Bindung war Iodosobenzoldichlorid oder (Dichlor)iodbenzol. Es wurde von Willgerodt bereits im Jahre 1885 dargestellt [Wil14, Wil86]. Durch die Oxidation von 2-Iodobenzoesäure mit rauchender Salpetersäure wurde 1892 durch Meyer und Wachter die erste Iodosoverbindung, die 2-Iodosobenzoesäure dargestellt [Mey92].

Das heutige Interesse an Organoiodverbindungen liegt vor allem an den Eigenschaften des dreiwertigen Iod, das ähnliche chemische Eigenschaften und Reaktivitäten (z. B. bezüglich reduktiver Eliminierungs- oder Ligandenaustausch-Reaktionen) zeigt wie Hg(II), Tl(III) oder Pb(IV) Verbindungen, allerdings ohne deren Toxizität und der damit verbundenen Umweltproblematik [Sta96]. Es existiert eine Vielzahl von Reviews und Büchern zu hypervalenten Iodverbindungen. [San43, Ban66, Mas35, Mas37, VarR81, Var96, Var98, Kos83, Kos95, Mor99, Mor01, Wir03a]

1.4.3 Geometrie und elektronische Struktur

Unter den Organohalogenverbindungen sind diejenigen, in denen das Halogenatom nur einen Liganden trägt und somit die Oxidationsstufe +I besitzt, die weitaus häufigsten und bekanntesten. Neben diesen ist eine große Vielzahl anderer hypervalenter Organohalogenverbindungen bekannt, in denen das Halogen acht bis zwölf Valenzelektronen besitzt und zwischen zwei und fünf Liganden trägt. Die Fähigkeit des Halogens, Verbindungen mit höherer Oxidationszahl zu bilden, wächst mit der Größe des Halogenatoms. Iod bildet deshalb mit Abstand die meisten hypervalenten Verbindungen, während hypervalente Fluorverbindungen unbekannt sind [Kos83].

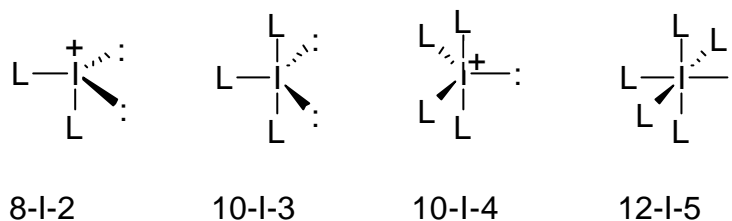


Abb. 1-9 Strukturvarianten hypervalenter Iodverbindungen. Die N-X-L Terminologie (Bsp.: 8-I-2) dient der Beschreibung einer hypervalenten Verbindung. Dabei steht N für die Zahl der Valenzelektronen, X für das Zentralatom und L für die Anzahl der Liganden.

Die vier wichtigsten Strukturvarianten nach der von Martin und Arduengo vorgeschlagenen N-X-L Terminologie sind in Abb. 1-9 gezeigt [Per80]. Die ersten beiden Spezies, 8-I-2 und 10-I-3 zeigen die Strukturtypen der λ^3 -Iodinane. Hier sitzt der am schwächsten elektronegative Ligand (meistens ein Phenylrest) in der äquatorialen Position. Die Iod-Ligand Bindung ist eine normale kovalente Bindung. Die beiden axialen Substituenten sind über zwei 3c-4e Bindungen über dasselbe 5p-Orbital des Iods gebunden. Die hypervalenten Bindungen sind länger und schwächer als die kovalente Bindung. Es resultiert eine T-förmige Struktur.

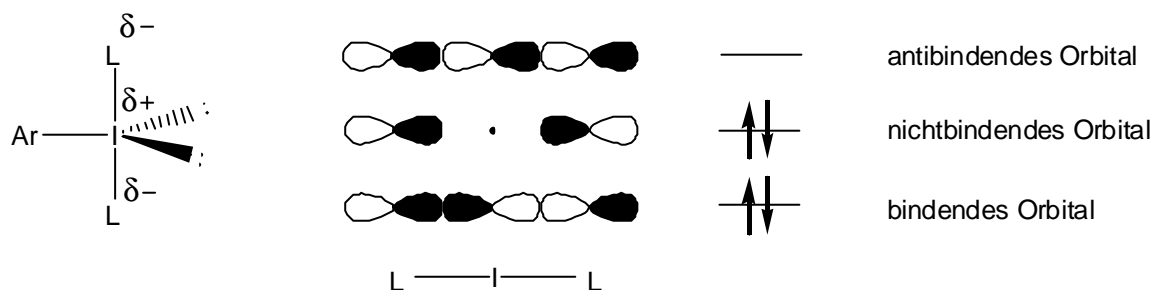


Abb. 1-10 Pseudo-trigonale bipyramidale Struktur und Molekülorbitale der L-I-L 3c-4e Bindung [Och03].

Die Spezies 10-I-4 (pseudo-trigonal bipyramidal) und 10-I-5 (quadratisch pyramidal) sind die am häufigsten vorkommenden Strukturtypen bei λ^5 -Iodinanen (Abb. 1-11). Hier werden vier Strukturklassen definiert [Kos83]:

- ArIO₂ (Strukturklasse I);
 - Ar₂OL (Strukturklasse II),
 - ArOL₂ (Strukturklasse III)
- und
- ArL₄ (Strukturklasse IV)

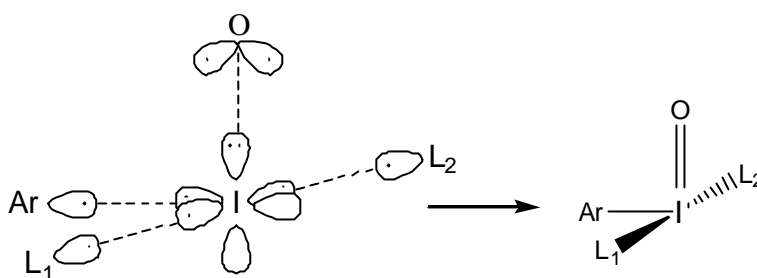


Abb. 1-11 Bindungsverhältnisse von Organoperiodinanen der Strukturklasse III [Kos83].

Bei Verbindungen, die formal eine Doppelbindung enthalten (die einfachste Verbindung ist das Iodosobenzol (Abb. 1-12)) kommt diese durch Bildung einer 2c-4e-Bindung zustande. Sie entsteht durch Überlappung der beiden einfach besetzten Orbitale des bivalenten Liganden (in diesem Fall Sauerstoff) mit einem 5p Orbital des Iods. Sie ist stark polarisiert und hat eher zwitterionischen Charakter. Trotzdem werden diese Bindungen gewöhnlich als Doppelbindungen formuliert [Var96].

In hypervalenten Iodverbindungen ist die größte Elektronendichte auf linearen L-I-L Achsen verteilt. Deshalb wirken elektronegative Gruppen stabilisierend. Die häufigsten Substituenten sind Fluor-, Chlor-, Carboxy- und Organosulfonylsubstituenten sowie einige stickstoffhaltige funktionelle Gruppen. Wenn Substituenten stark unterschiedlicher Elektronegativität vorhanden sind, bekommen die Bindungen zunehmend ionischen Charakter. Dies kann so weit führen, dass keine Hypervalenz mehr vorhanden ist (Beispiel: $\text{Ph}_2\text{I}^+\text{BF}_4^-$). Dennoch sind die meisten derartigen Verbindungen nicht ionisch [Var92, Var96].

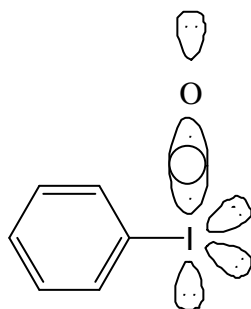
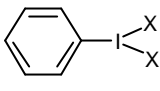
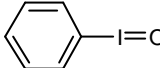
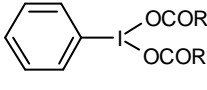
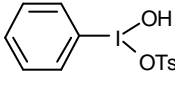
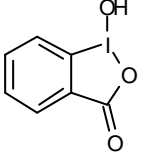
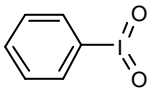
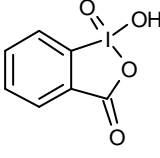
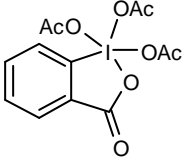


Abb. 1-12 Die elektronische Struktur von Iodosobenzol [Var96].

1.4.4 Die wichtigsten Vertreter hypervalenten Iodverbindungen

Im Folgenden ist eine Übersicht der wichtigsten Vertreter hypervalenter Iodverbindungen gezeigt.

Tab. 3 Die wichtigsten Vertreter gebräuchlicher hypervalenter Iodverbindungen [Var96].

Pos.	Strukturformel	Bezeichnung	Abkürzung
<i>?³-Iodinane</i>			
1	 X = F, Cl	(Difluor)iodbenzol, (Dichlor)iodbenzol	-
2		Iodosobenzol	IOB
3	 R = CH ₃ , CF ₃	(Diacetoxy)iodbenzol R=CH ₃ und [Bis(trifluoracetoxy)iod]benzol R=CF ₃	DIB BTI
4		[Hydroxy(tosyloxy)iod]benzol	HTI
5		Iodosobenzoessäure	IBA
<i>?⁵-Iodinane</i>			
6		Iodoxybenzol	-
7		Iodoxybenzoessäure	IBX
8		Dess-Martin Periodinan	DMP

Bis auf Iodosobenzoensäure (Pos. 5) und Iodoxybenzol (Pos. 6) sind die in Tab. 3 aufgeführten Verbindungen gleichzeitig die populärsten Oxidationsmittel aus dem Bereich der hypervalenten Iodverbindungen. In der Literatur nehmen aber die λ^3 -Iodinane den deutlich größeren Umfang ein.

1.4.5 Physikalische und chemische Eigenschaften

Die meisten hypervalenten Iodverbindungen werden aus leicht zugänglichen Edukten dargestellt. Die einfachsten sind Iodbenzol und substituierte Analoga. Die Darstellung ist in den meisten Fällen weder gefährlich noch besonders zeitaufwändig.

Alle hypervalenten Iodverbindungen sind farblose, geruchlose, amorphe oder kristalline Feststoffe. Sie sind bei Raumtemperatur stabil und unempfindlich gegenüber atmosphärischem Sauerstoff und Luftfeuchtigkeit. Die Verbindungen müssen lichtgeschützt und bei tiefen Temperaturen aufbewahrt werden. Weniger stabile Verbindungen lassen sich *in situ* erzeugen und müssen nicht isoliert werden, wodurch sich im Umgang keine größeren Probleme ergeben.

1.4.6 Reaktivität

Die reichhaltige Chemie hypervalenter Iodverbindungen beruht hauptsächlich auf ihrem stark elektrophilen Charakter und der Eigenschaft des Phenyljodid-Restes als hervorragende Abgangsgruppe zu fungieren. Dies führt zu mannigfaltigen Reaktionen mit oft unerwarteten Ergebnissen. Generell kann zwischen Reaktionstypen mit heterolytischer und homolytischer Bindungsspaltung unterschieden werden. Bei ähnlicher Reaktivität bezüglich derselben Reaktion reagiert eine hypervalente Iodverbindung im Vergleich zu einem „klassischen Reagenz“ effizienter, chemoselektiver und häufig stereoselektiver. Durch geringe Variationen der sich am Benzolring von Aryljodverbindungen befindenden Substituenten kann eine „massgeschneiderte“ Änderung der Reaktivität des Reagenzes erzeugt werden. Dies ermöglicht es eine Art „Feintuning“ durchzuführen.

Die Reaktivität der Iodinane wird durch cyclische Strukturen verringert, da in diesem Fall das Iod weniger elektrophil ist. Die Chemie dieser Verbindungen leitet sich von der o-Iodoxybenzoensäure (IBX) ab.

Man kann die Reaktionstypen nach der Bindungsspaltung in homolytische und heterolytische Reaktionen teilen.

1.4.6.1 Homolytische Reaktionen

Halogenierungen, Dehydrierungen, Addition an Mehrfachbindungen, die Oxidation von Alkoholen über Alkoxyradikale sowie Azidsynthesen sind die häufigsten Reaktionen mit homolytischer Bindungsspaltung. Bei Oxidationen ist das Vorhandensein zweier Heteroatomliganden zwingend erforderlich [Wir03b]. Iodonium Salze übertragen Perfluoralkyl-, Vinyl-, Alkinyl-, oder Cyanogruppen auf Nucleophile. Diaryliodonium Salze sind Arylierungsreagenzien. Diese geschieht durch Arylradikale.

Die Chemie der σ^5 -Iodinane ist in jüngerer Zeit durch Nicolaou et al. stark erweitert worden. Bei vielen dieser neuen Reaktionen ist ein SET (single electron transfer) Mechanismus sehr wahrscheinlich [Nic02a-e]. Diese Untersuchungen sind im Abschnitt 1.4.7.1.3 dargestellt.

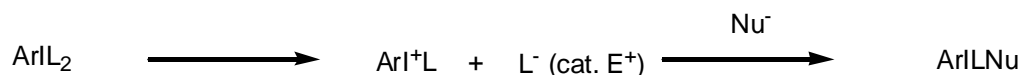
1.4.6.2 Heterolytische Reaktionen

Heterolytische Reaktionswege verlaufen assoziativ oder dissoziativ. Sind an der Reaktion ausschließlich Nucleophile beteiligt, bildet sich die Iod-(III)- oder Iod-(V)-Spezies ausschließlich über den assoziativen Weg, da bei der Dissoziation eines Liganden L eine hochenergetische, zweifach koordinierte [8-I-2] Spezies entstehen würde. Der dissoziative Weg benötigt elektrophile Katalysatoren, welche die Dissoziation des Liganden erleichtern. Hierbei entstehen zweifach koordinierte Iodoniumionen, die anschließend mit dem Nucleophil reagieren (Abb. 1-13) [Var03].

assoziativer Weg:



dissoziativer Weg:



L ist meistens F^- , Cl^- , OAc^- , OTs^- ; Nu^- sind meistens O-Nukleophile

Abb. 1-13 Heterolytische Reaktionswege hypervalenter Iodverbindungen am Beispiel des Typs ArIL_2 [Och03].

Iod ist sowohl in I^3 - als auch I^5 -Iodinanen ein starkes, weiches, elektrophiles Zentrum und reagiert mit einer großen Anzahl von Nukleophilen. Zur Bindung des Nukleophils wird das freie antibindende $\text{C-I } s^*$ Orbital der $3\text{c-}4\text{e}$ -Bindung, unter Ausbildung einer intermediären, quadratisch planaren $[\text{I}2\text{-I-}4]$ -Spezies verwendet (Abb. 1-14).

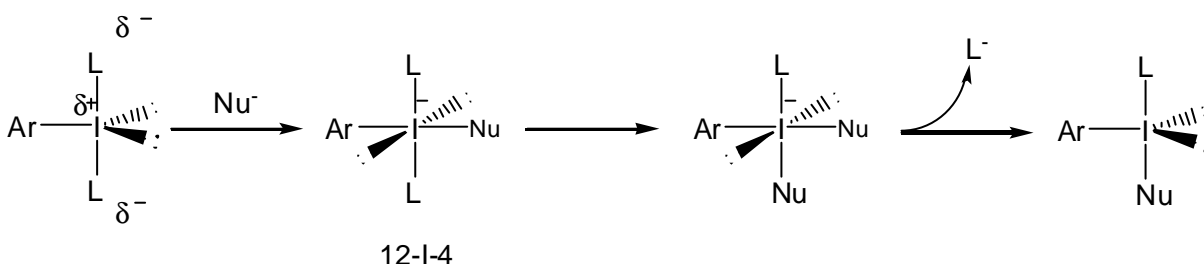


Abb. 1-14 Geometrische Betrachtungen während der Reaktion eines Nukleophils mit einer ArIL_2 Spezies.

Abhängig von den verwendeten Substraten und Reaktionsbedingungen bilden sich Iodverbindungen unterschiedlicher Stabilität. Die entstehenden Intermediate, beispielsweise bei der Reaktion von ICl_3 mit Benzyltrimethylammoniumchlorid das ICl_4^- , sind häufig isolierbar. Die Bandbreite reicht von einfachen Kohlenwasserstoffen ohne funktionelle Gruppen bis hin zu komplexen Naturstoffen. Bei heterolytischen Reaktionen bildet neben dem Ligandentausch die reduktive Eliminierung die zweite wichtige Elementarreaktion. Diese ist aufgrund der schwachen hypervalenten Iod-Ligand-Bindungen energetisch bevorzugt. Aryl- I^3 -Iodine werden als Hypernukleofuge bezeichnet. Die Geschwindigkeitskonstanten dieser „Superabgangsgruppen“ betragen bis

zum 10^6 -fachen des Triflatrestes. Es entstehen dabei univalente Iodverbindungen, meistens Iodbenzol. Die Ausbildung einer Valenz mit Oktettstruktur ist die treibende Kraft dieser Reaktionen [Och03].

Die reduktive α -Eliminierung stellt eine Möglichkeit zur Erzeugung von Carbenen dar. Die reduktive β -Eliminierung von γ^3 -Iodinanen an C-Atomen liefert C=C-, C=N- und C=O-Doppelbindungen und damit auch die Möglichkeit zur Oxidation von Alkoholen.

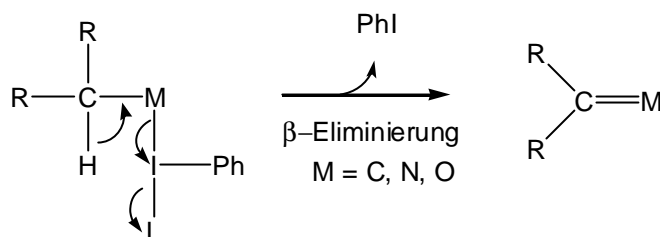


Abb. 1-15 Reduktive β -Eliminierung bei γ^3 -Iodinanen.

Schon Iodosobenzol oxidiert allylische und benzyllische Alkohole in Dioxan unter Rückfluss. Nach Zugabe von KBr können auch aliphatische primäre und sekundäre Alkohole in Wasser oxidiert werden [Tho00].

Die Oxidation von Aminen und Sulfiden ist mit γ^3 -Iodinanen ebenfalls beschrieben worden [Wir03a].

Die Dehydrogenierung von Carbonyl-Verbindungen, unter anderem von Steroiden, wurde von Nicolaou et al. 2002 vorgestellt (Abb. 1-16) [Nic02c]. Primäre Alkohole werden ebenfalls zu den entsprechenden α,β -ungesättigten Verbindungen umgesetzt. Obwohl bislang ein ionischer Mechanismus, unter Ausbildung vinyloger Strukturen diskutiert wurde, geht man heute von einem Single-Electron-Transfer (SET)-Mechanismus aus. Die Reaktion gehört also zu den homolytischen Reaktionen. Die „IBX-Chemie“ wird in Abschnitt 1.4.7 ausführlich erläutert.

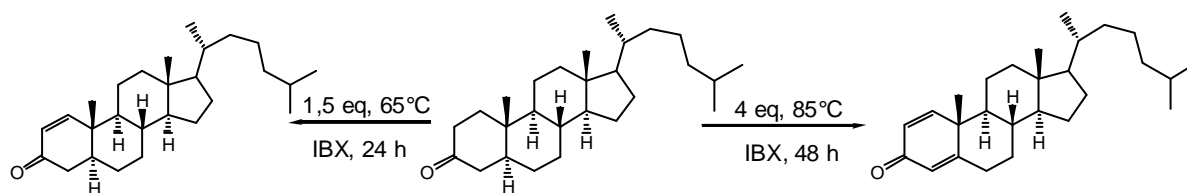


Abb. 1-16 Dehydrogenierung von 5-Cholestan-3-on mit IBX nach Nicolaou et al. [Nic02c].

1.4.7 λ^5 -Iodinane oder Periodinane

Im Jahre 1893 durch Meyer und Hartmann wurde erstmalig die Iodoxybenzoesäure (IBX) durch Oxidation von Iodosobenzoesäure mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung dargestellt [Har93].

Das bekannteste λ^5 -Iodinan ist das Dess-Martin-Periodinan DMP, 1,1,1-Triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1*H*)-one. Es kann durch eine einfache Ligandenauschreaktion aus IBX dargestellt werden [Des83]. Ausserdem zeichnet es sich gegenüber IBX durch eine deutlich bessere Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln aus. Dies ist der wichtigste Grund für die verbreitete Anwendung von DMP als Oxidationsmittel. Beide – IBX und DMP – erlauben sehr selektiv verlaufende Oxidationen in Gegenwart vieler funktioneller Gruppen, unter milden Bedingungen und ohne Oxidation zur Carbonsäure. Ein Unterschied besteht allerdings darin, dass DMP geminale Dirole unter Spaltung der C-C Glykolbindung oxidiert, während die entsprechenden IBX-Oxidationen unter Bildung von α -Ketolen oder α -Diketalen verlaufen [Fri95, Fri94]. Sulfide, Enoether, Furane und sekundäre Amine werden durch DMP nicht angegriffen [Spe96]. Ebenso ist es möglich stark desaktivierte Systeme, wie fluoralkylsubstituierte Alkohole, zu oxidieren [Des91, Lin89]. Die Effizienz und Selektivität von DMP ist am Beispiel der Darstellung eines Purin-2'-deoxy-3'-ketonucleosids gezeigt (Abb. 1-17).

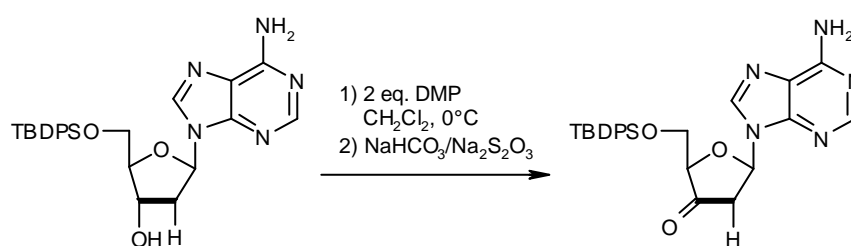


Abb. 1-17 Darstellung eines Purin-2'-desoxy-3'-ketonucleosids mit DMP [Sam90].

Eine Beschleunigung der DMP-Reaktion durch Spuren von Wasser wurde von Meyer et al. im Jahre 1994 berichtet [Mey94]. Dabei werden ein oder mehrere Acetylgruppen von DMP durch Hydroxygruppen substituiert, wodurch eine aktivere, elektronenärmere Spezies entsteht.

1.4.7.1 IBX und Derivate

In jüngerer Zeit gab es einige Veröffentlichungen, die durch die Einführung hydrophiler Substituenten am Aromaten die Löslichkeit verbessern. Dies gelang Thottumkara et al. mit dem sogenannten mIBX (m = modified) im Jahr 2002 [Tho02].

Leider wurde nur die Oxidation von allylischen und benzyllischen Alkoholen gezeigt. Die Ausbeuten lagen zwischen 60 und 96%, was für aktivierte Alkohole wie Allyl- und Benzylalkohole nicht überzeugend ist.

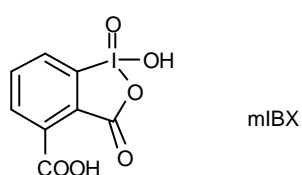


Abb. 1-18 mIBX [Tho02].

Ebenfalls 2002 erschien eine Veröffentlichung von More et al., die Oxidationen mit gewöhnlichem IBX in vielen organischen Lösungsmitteln wie Chloroform, Ethylacetat, Acetonitril und Aceton bei 80°C durchführten. Die erhöhte Temperatur gewährleistete eine ausreichende Löslichkeit von IBX. Die Ergebnisse entsprachen denen, die bei Oxidationen unter herkömmlichen Bedingungen mit IBX in DMSO und bei Raumtemperatur erhalten werden. Fmoc-a-Aminoalkohole zersetzten sich allerdings unter diesen Bedingungen [Mor02].

Schon 1991 wurden von Dess und Martin IBX-Derivate synthetisiert, die sich durch eine deutlich erhöhte Löslichkeit auszeichneten. Sie substituierten dabei die Carbonylgruppe des Fünfrings durch zwei Trifluormethylgruppen [Des91]. Viele Alkohole liessen sich hervorragend oxidieren, bei anderen konnte nur eine mittelmäßige Ausbeute erhalten werden. Im Jahre 1995 wurden von Stickley und Martin weitere Modifikationen an diesem System (Abb. 1-19) vorgenommen. Die Verbindungen waren oft leicht zersetzlich oder schwer zugänglich [Sti95].

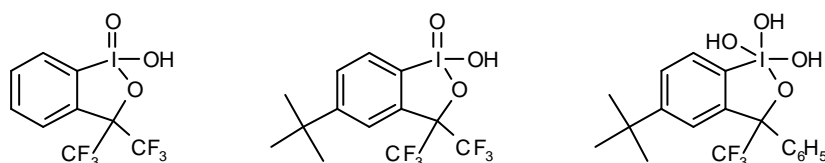


Abb. 1-19 IBX-Derivate von Stickley, Dess und Martin [Sti95].

1.4.7.1.1 Polymergebundenes IBX

Zeitgleich mit der Veröffentlichung des in dieser Arbeit beschriebenen polymergebundenen IBX-Reagenzes [Sor01] erschien eine Arbeit von Mühlbauer et al. die ebenfalls ein polymergebundenes IBX-Reagenz jedoch auf Silicagel-Polymeren entwickelten [Müh01]. Da Silicagel in Wasser quellbar sind, wurde die Oxidationsmethode von Ireland et al., mit Oxon in Wasser, verwendet [Ire93]. Die Beladung des Polymers mit IBX lag bei 0,3 – 0,4 mmol/g [Müh01].

Im Jahr 2002 erschien von Reed et al. eine nahezu gleichartige Synthese auf drei unterschiedlichen polymeren Trägern [Ree02]. Dabei wurde IBX auf gelartigem *JandaJel*, makroporösem ArgoPore-Harz und auf PEG3400-Polymeren dargestellt. Letztere sind zum Teil löslich, was Probleme bei der Rückgewinnung des Reagenzes mit sich bringt.

Eine weitere Publikation erschien 2003 von Lei und Denecker aus den Gruppen von Sherrington und Sutherland [Lei03]. Sie stellten makroporöses *p*-Methylstyrol-Harz her. Anschließend wurde der Aromat iodiert, was zu ortho- und meta-Produkten führte. Nur die ortho-Produkte sind oxidierbar und damit nutzbar. Nach Oxidation der Methylgruppe zur Carbonsäure und Oxidation zu polymergebundenem IBX, unter denselben Bedingungen wie in Abschnitt 3.2 beschrieben, lag die Aktivität des Polymers zwischen 0,2 und 0,5 mmol/g.

1.4.7.1.2 Interessante IBX- Synthesen

Erwähnt seien die stereoselektive Synthese ungesättigter Ketosulfide [Zol99], die Spaltung von Triethylsilylethern in Gegenwart von *tert*.-Butyldimethylsilylethern [Wu02], die Spaltung von Oximen und Tosylhydrazonen zu den Carbonylverbindungen [Sub98], sowie die nach der Oxidation von Alkoholen zu den entsprechenden Carbonylverbindungen sich anschließende Wittig-Reaktion unter Verwendung stabiler Wittig-Ylide [Mai01].

Die Oxidation elektronenreicher Phenole zu den entsprechenden *o*-Benzochinonen in DMF ist deshalb interessant, da ein IBX-Molekül das Produkt zweifach oxidiert und anstatt zum γ -Iodinan IBA abzureagieren *o*-Iodbenzoesäure gebildet wird (Abb. 1-20) [Mag02].

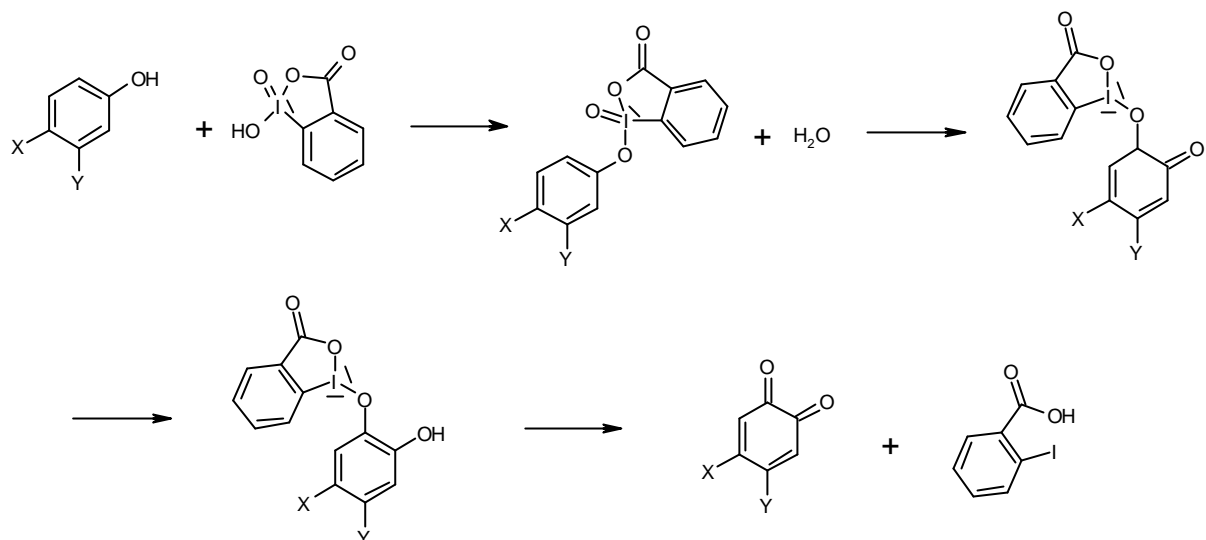


Abb. 1-20 Mechanismus der Darstellung von o-Benzochinonen mit IBX

Ein weiteres Beispiel für die Selektivität von IBX zeigt die Veröffentlichung von Corey et al., die eine selektive Oxidation von 1,4-Diolen zu Lactolen beschreibt [Cor95].

1.4.7.1.3 Synthesen von Nicolaou

Nicolaou stellte in den letzten drei Jahren eine Vielzahl neuer Anwendungsmöglichkeiten von IBX und DMP vor [Nic02a-g, Nic01a-c, Nic00a-d]. Diese Synthesen sollen im Folgenden kurz skizziert werden, da sie die Anwendbarkeit der η^5 -Iodinane IBX und DMP deutlich erweitert haben.

Wichtigstes Merkmal all dieser neuen Anwendungen ist die erhöhte Temperatur im Bereich von 80 – 90°C, bei der diese Reaktionen durchgeführt werden müssen um die gewünschten Produkte zu erhalten. Als Lösungsmittel werden fast ausschließlich DMSO oder THF/DMSO Mischungen verwendet.

Cyclisierung von Aniliden

Bei der Umsetzung von Aniliden mit IBX in THF/DMSO bei 90°C bildet sich ein γ -Lactam in Ausbeuten zwischen 70 und 93%. Inzwischen gilt als sicher, dass es sich beim Mechanismus dieser Reaktion nicht um einen ionischen, homolytischen Prozess sondern

um einen Single-Electron-Transfer (SET)-Mechanismus handelt. Ohne THF als Lösungsmittel wird keine Umsetzung beobachtet, weshalb eine Beteiligung von THF am Mechanismus als sicher gilt. Dieser Mechanismus ist in Abb. 1-26 und Abb. 1-27 dargestellt und erläutert. Bei der Umsetzung von Aniliden mit DMP bilden sich hingegen Benzomorpholine, die pharmakologisch interessante Heterocyclen darstellen. Der Mechanismus verläuft ionisch. Nach Substitution einer Acetylgruppe am DMP durch das

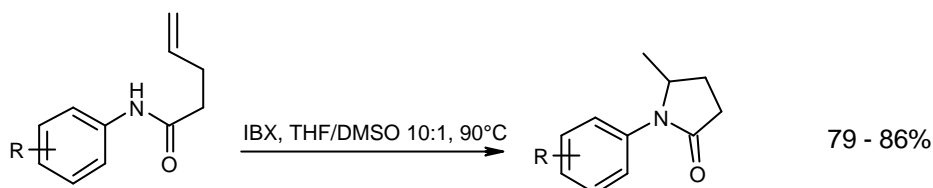


Abb. 1-21 Cyclisierung von Aniliden mit IBX in THF/DMSO [Nic02f, Nic01a, Nic00b].

Substrat kommt es zur Bildung eines Imins und zur Eliminierung von Acetyl-IBA. Ein zweites DMP-Molekül greift am Aromaten an und oxidiert diesen in ortho-Position. Eine intramolekulare [4+2]-Cycloaddition führt schließlich zum Produkt [Nic00a].

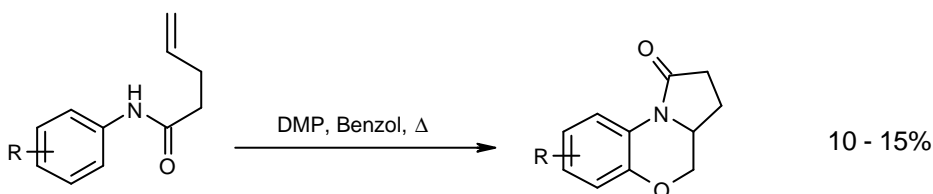


Abb. 1-22 Cyclisierungsreaktionen von Aniliden mit DMP [Nic02d, Nic00a].

Dehydrogenierung von Alkoholen

Die Dehydrogenierung von Alkoholen, Ketonen und Aldehyden zu deren α,β -ungesättigten Analoga ist ein weiteres Beispiel für einen SET-Mechanismus. Das Auftreten radikalischer Intermediate wurde durch Cyclopropylaldehyde als Substrate und der nach der Ringöffnung in den Produkten gefundenen Konfiguration bestätigt [Nic02g]. Abb. 1-23 zeigt, wie durch die Wahl der Temperatur und der Anzahl verwendeter Äquivalente eine Steuerung der Reaktion zu den einfach oder sogar zweifach ungesättigten Produkten möglich ist. Als Lösungsmittel wurden vor allem Fluorbenzol/DMSO oder Toluol/DMSO verwendet [Nic00d].

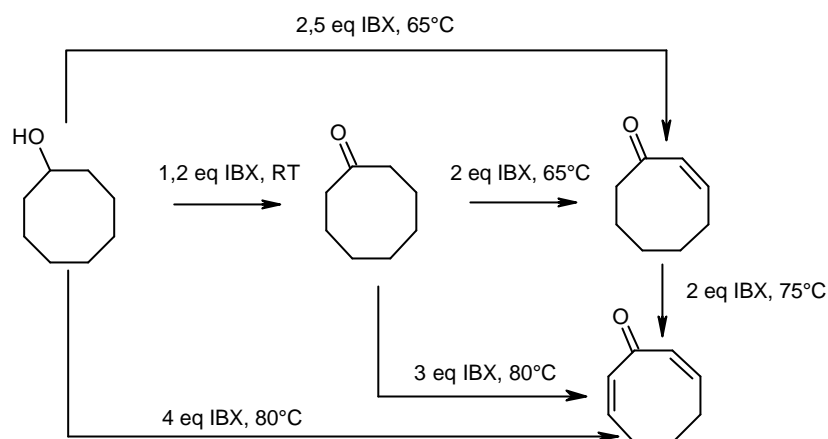


Abb. 1-23 Oxidation von Alkoholen und Ketonen zu α,β -ungesättigten Verbindungen mit IBX [Nic02g, Nic00d].

Oxidation benzylicher C-Atome

Die Oxidation unfunctionalisierter, benzylicher C-Atome gelingt ebenfalls mit IBX in DMSO oder DMSO/Fluorbenzol (1:2) als Lösungsmittel. Die Ausbeuten der gezeigten Produkte liegen zwischen 70 und 90%. Auch hier ist ein SET-Mechanismus sehr wahrscheinlich. Nicolaou diskutiert vier mögliche Mechanismen. Ein möglicher Mechanismus verläuft über einen Charge-Transfer-Komplex der aromatischen Molekülteile womit IBX nicht nur für den SET-Transfer verantwortlich ist, sondern auch den Sauerstoff für das entstehende Produkt liefert [Nic02g].

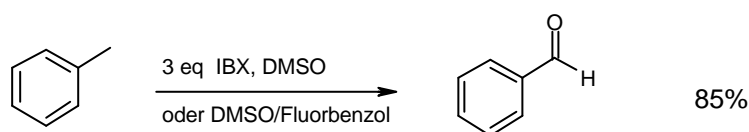


Abb. 1-24 Oxidation benzylicher C-Atome mit IBX in THF [Nic02g, Nic01c].

Synthese von Aminozuckern

Ausgehend von allylischen Alkoholen oder Desoxyzuckern bilden sich mit *p*-Methoxyisocyanat Anilide. Diese können mit IBX zum Oxazolidinon oxidiert werden. Mit Hilfe von Cerammoniumnitrat wird der *p*-Methoxyphenylrest abgespalten, anschließend mit NaOH der Ring geöffnet und nach Decarboxylierung selektiv der *cis*-1,2

Aminoalkohol erhalten. Die Ausbeuten dieser Synthesen (Abb. 1-25) liegen zwischen 40 und 90% [Nic02f, Nic00c]. Bei der Synthese von L-Vancosamin wurde dieses mit einer Ausbeute von 49% erhalten.

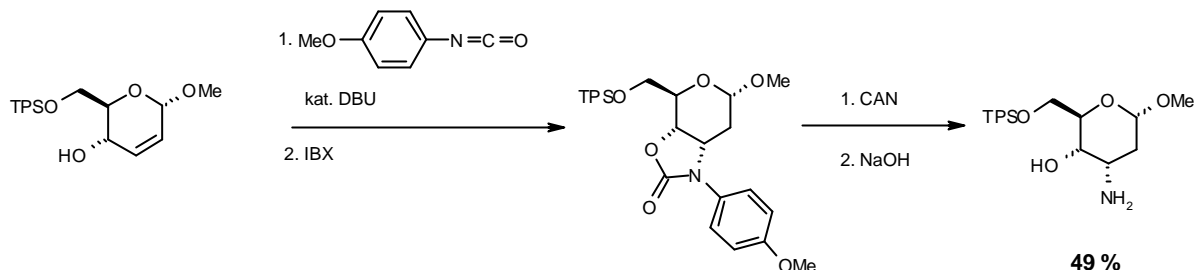


Abb. 1-25 Synthese von Aminoazuckern mit IBX am Beispiel des L-Vancosamins [Nic02f].

Weitere Synthesen

Die Darstellung von p-Benzochinonen mit DMP hat Nicolaou ebenfalls vorgestellt [Nic02e, Nic01b]. Die Substitution des OH-Liganden von IBX durch THF, Ac, DMSO und verschiedener N-Oxide ergab angepasste Reaktionsprofile, die den vorgestellten Reaktionen zu mehr Effizienz verhalf [Nic02a, Nic02b]. Zu erwähnen ist noch die Verwendung von HIO₃ und I₂O₅ mit DMSO als „atomeffizientes“ Oxidationsmittel. Die Iodverbindungen bilden mit DMSO Addukte, bei denen Iod tetraedrisch koordiniert ist. Sie zeigen bei der Dehydrogenierung von Alkoholen die gleiche Effizienz wie IBX. Da IBX jedoch explosiv ist, wird es trotz dieser Vorzüge nicht im großtechnischen Maßstab eingesetzt. Vor kurzem wurde über einen Unfall berichtet, bei dem Reaktionsmischungen mit HIO₃•DMSO verwendet wurden. Auch I₂O₅ steht im Verdacht unter den gegebenen Bedingungen explosiv zu sein [Nic03a]. Somit ist die Verwendung dieser Iodverbindungen im Industriemaßstab vorerst nicht zu realisieren [Nic02c].

Single-Electron Transfer (SET)-Mechanismus

Der SET-Mechanismus verläuft je nach Reaktion unterschiedlich. Exemplarisch ist hier der Mechanismus zur Cyclisierung von Aniliden herausgegriffen (Abb. 1-26 und Abb. 1-27). Der Amidstickstoff überträgt ein Elektron auf das IBX-Iodatome (I? II). Die Iminoform und die Delokalisierung des ungepaarten Elektrons ins aromatische System

stabilisieren dieses Intermediat (II). Nach Abstraktion des Amidprotons und Rearomatisierung (III) bildet sich nach Cyclisierung (5-exo-trig) (IV) und Absättigung des Radikals durch Abstraktion eines Wasserstoff-Atoms das Aryl- γ -Lactam als Produkt (V) [Nic02f, Nic01a].

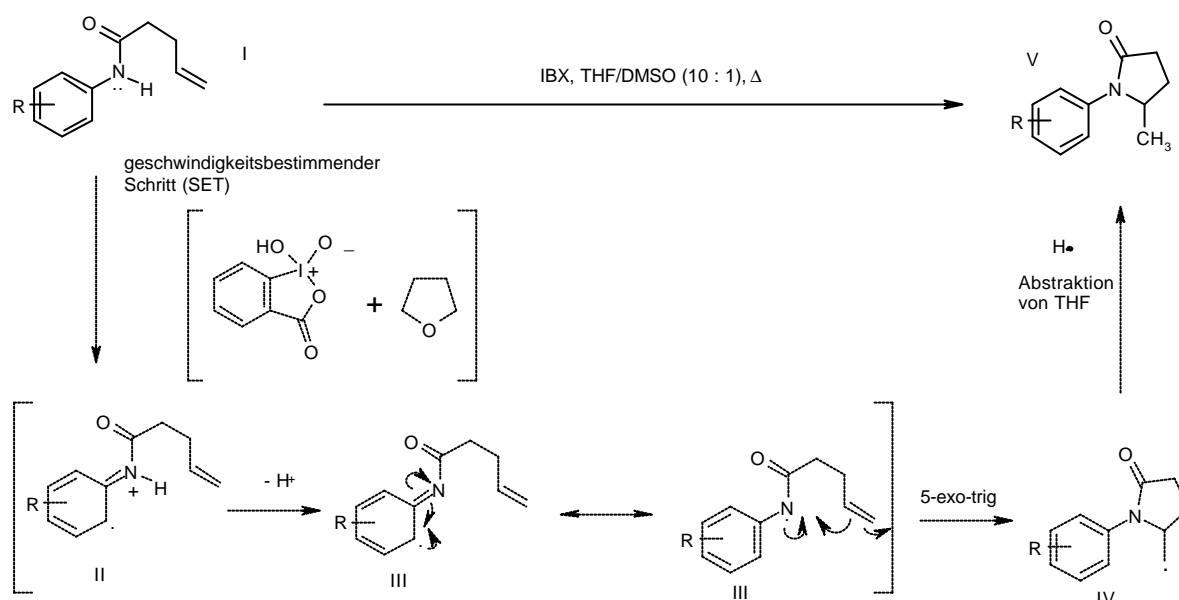


Abb. 1-26 SET-Mechanismus am Beispiel der Cyclisierung von Aniliden mit [Nic02f].

Dem Lösungsmittel THF kommt beim SET-Mechanismus der IBX vermittelten Anilidcyclisierung eine entscheidende Rolle zu. Wie in Abb. 1-27 dargestellt, entsteht durch Ligandentausch die reaktive IBX-Spezies (B). Durch den Elektronentransfer vom Stickstoff auf das Iodat (B? C) kommt es zur Öffnung des Tetrahydrofuranrings und zur Ausbildung einer positiv geladenen Oxoniumspezies mit gleichzeitigem Auftreten eines nicht-stabilisierten Methylradikals (D). Zur Stabilisierung wird ein Wasserstoffatom freigesetzt und auf die radikalische γ -Lactam-Spezies (IV) übertragen. Es entsteht eine ungesättigte Oxoniumverbindung (E), die sich durch eine reduktive β -Eliminierung stabilisiert. Es entstehen IBA und 1-Butenal. Dieser Mechanismus wurde mit Hilfe von THF- d_8 Markierungsexperimenten untersucht [Nic02f].

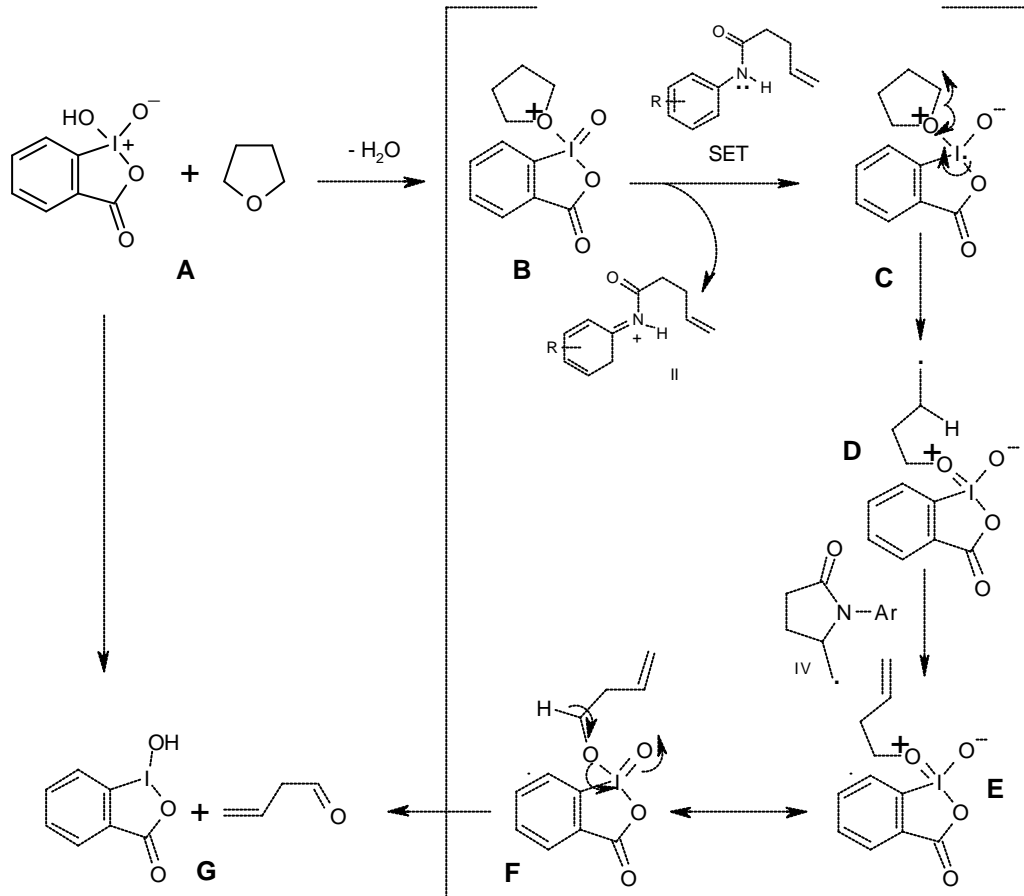


Abb. 1-27 Die Rolle von THF beim SET-Mechanismus der Cyclisierung von Aniliden [Nic02f].

1.5 Peptidylaldehyde und Peptidylketone als Proteaseinhibitoren

Proteasen sind Enzyme, die in der Lage sind Peptidbindungen zu hydrolysieren. Meist werden von einer Protease ganz bestimmte Peptidbindungen angegriffen, die N- und/oder C-terminal von Peptidsequenzen flankiert sind. Aufgrund ihrer Wechselwirkung mit der Protease sind sie für deren Schnittspezifität verantwortlich. Die Hydrolyse selbst erfolgt meist durch den nucleophilen Angriff einer deprotonierten Seitenkette eines Cystein-, Aspartat- oder Serin-Restes im aktiven Zentrum des Enzyms am Amid-Kohlenstoff. Dementsprechend werden diese Proteasen als Cystein-, Aspartat- oder Serin-Proteasen bezeichnet. Daneben existieren noch Metalloproteasen, bei denen ein Zn^{2+} -Ion in der Bindungsstelle ein Wassermolekül komplexiert und als Lewis-Säure die zu spaltende Peptidbindung aktiviert [Gan94]. Abb. 1-28 zeigt die Funktionsweise am Beispiel der Cystein-Protease Caspase 1.

Proteaseinhibitoren bestehen üblicherweise aus einem peptidischen oder peptidomimetischen Teil, der aufgrund seiner strukturellen Ähnlichkeit zum natürlichen Substrat die Affinität zur Protease vermittelt. Am Ort der zu hydrolysierenden Amidbindung im natürlichen Substrat kann außerdem eine reaktive Gruppe sitzen, die durch den nucleophilen Angriff kovalent an das Enzym gebunden wird und dieses somit dauerhaft deaktiviert. In diesem Fall spricht man von irreversiblen Inhibitoren. Befindet sich anstelle des im natürlichen Substrat sp^2 -hybridisierten Amid-Carbonylkohlenstoffatoms ein sp^3 -hybridisiertes Kohlenstoffatom, das als solches dem tetraedrischen Übergangszustand ähnelt, der durch den nucleophilen Angriff des Enzyms auf das natürliche Substrat resultiert, so spricht man von einem „Übergangszustandsanalogon“ (Abb. 1-28). Der tetraedrische Übergangszustand zeigt häufig eine besonders hohe Bindungsaffinität zum Enzym auf. Da keine kovalente Bindung zum Enzym vorliegt, handelt es sich hier um reversible Inhibitoren, die zwar die Enzymaktivität senken, das Enzym jedoch nicht dauerhaft schädigen.

Aldehyde nehmen bei dieser Einteilung eine gewisse Sonderstellung ein. Die jeweiligen hydratisierten Formen können in der eben genannten Weise als Übergangszustandsanaloga wirken. Daneben können die nicht hydratisierten Carbonylverbindungen durch einen nucleophilen Angriff des Enzyms in (Thio-)Acetale bzw. (Thio-)Ketale überführt werden, die ebenfalls ein tetraedrisch koordiniertes Kohlenstoffatom im aktiven Zentrum präsentieren und gleichzeitig durch eine kovalente Bindung vergleichsweise stark

gebunden sind. Diese kovalente Bindung ist unter physiologischen Bedingungen leicht hydrolysierbar, sodass auch hier eine reversible Inhibierung resultiert.

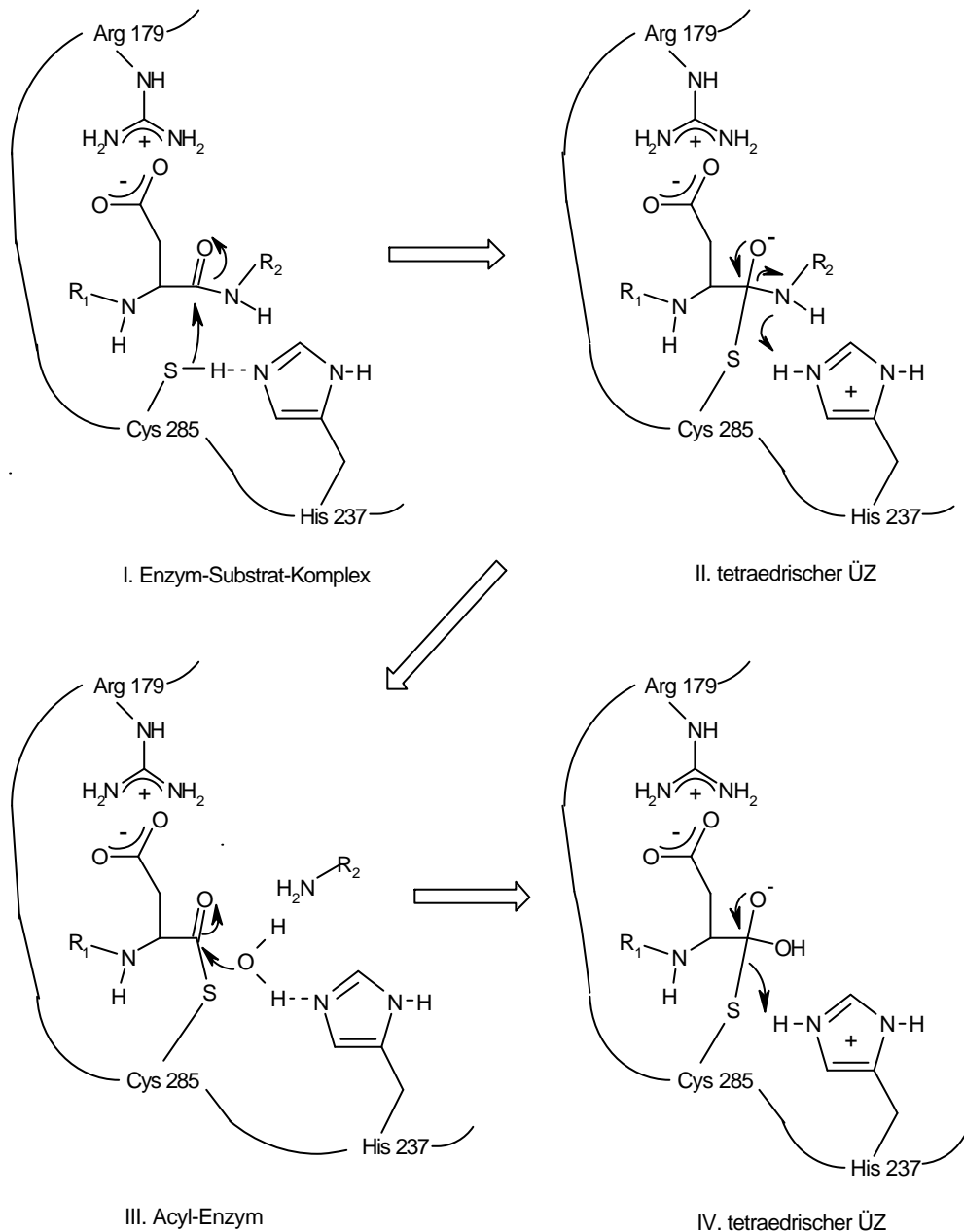


Abb. 1-28 Bei der Hydrolyse von Peptidbindungen durch Proteasen wird ein tetraedrischer Übergangszustand durchlaufen. Hier gezeigt am Beispiel von Caspase-1.

Neben Inhibitoren, die direkt am aktiven Zentrum des Enzyms wirken, existieren auch allosterische Effektoren, die aufgrund ihrer Bindung an das Enzym konformative Änderungen induzieren und dadurch die Proteaseaktivität beeinflussen [Mal87].

Um die Spezifität von Proteasen systematisch zu erfassen, wurde von Schlechter und Berger eine Nomenklatur eingeführt, nach der die Aminosäuren N-terminal zur

Schnittstelle mit P, diejenigen C-terminal zur Schnittstelle mit P' bezeichnet und fortlaufend nummeriert werden (Abb. 1-29) [Sch67].

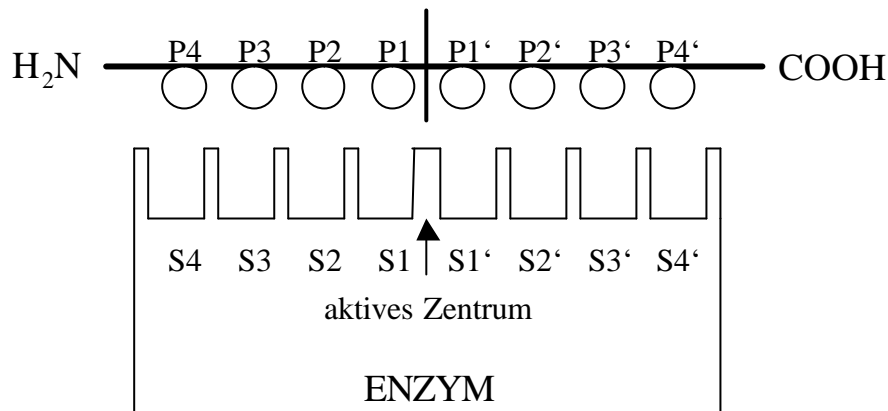


Abb. 1-29 Terminologie der Protease-Spezifität nach Schlechter und Berger [Sch67].

1.5.1 Bedeutung der Peptidylaldehyde

Peptidylaldehyde kommen als Inhibitoren für Cystein- und Serin-Proteasen in Frage. Zahlreiche Vertreter dieser Substanzklasse sind natürlichen Ursprungs und wurden hauptsächlich aus verschiedenen Streptomyces-Spezies isoliert [Aoy⁷⁵]. Dazu zählen beispielsweise die Leupeptine [Fro79], Chymostatine, Antipain, Elastinal oder β -MAPI (Abb. 1-30) [Ume⁸³].

Ein grundsätzliches Problem ist, dass Peptidylaldehyde keine selektiven Inhibitoren darstellen; sie inhibieren sowohl Serin- als auch Cysteinproteasen. So ist beispielsweise Leupeptin ein guter Inhibitor für Papain, Cathepsin B, Calpain als auch Trypsin [Ott97]. Eine gewisse Selektivität lässt sich aber über die Sequenz des Peptidylaldehyds erreichen, so dass Substratspezifitäten des Enzyms in P'-Richtung (Abb. 1-29) bei C-terminalen Peptidylaldehyden grundsätzlich nicht berücksichtigt werden können. Dennoch existiert eine Vielzahl von Anwendungsmöglichkeiten für Peptidylaldehyde, von denen im Folgenden die Verwendung als Inhibitoren des Proteasoms und der Caspasen genauer behandelt werden sollen.

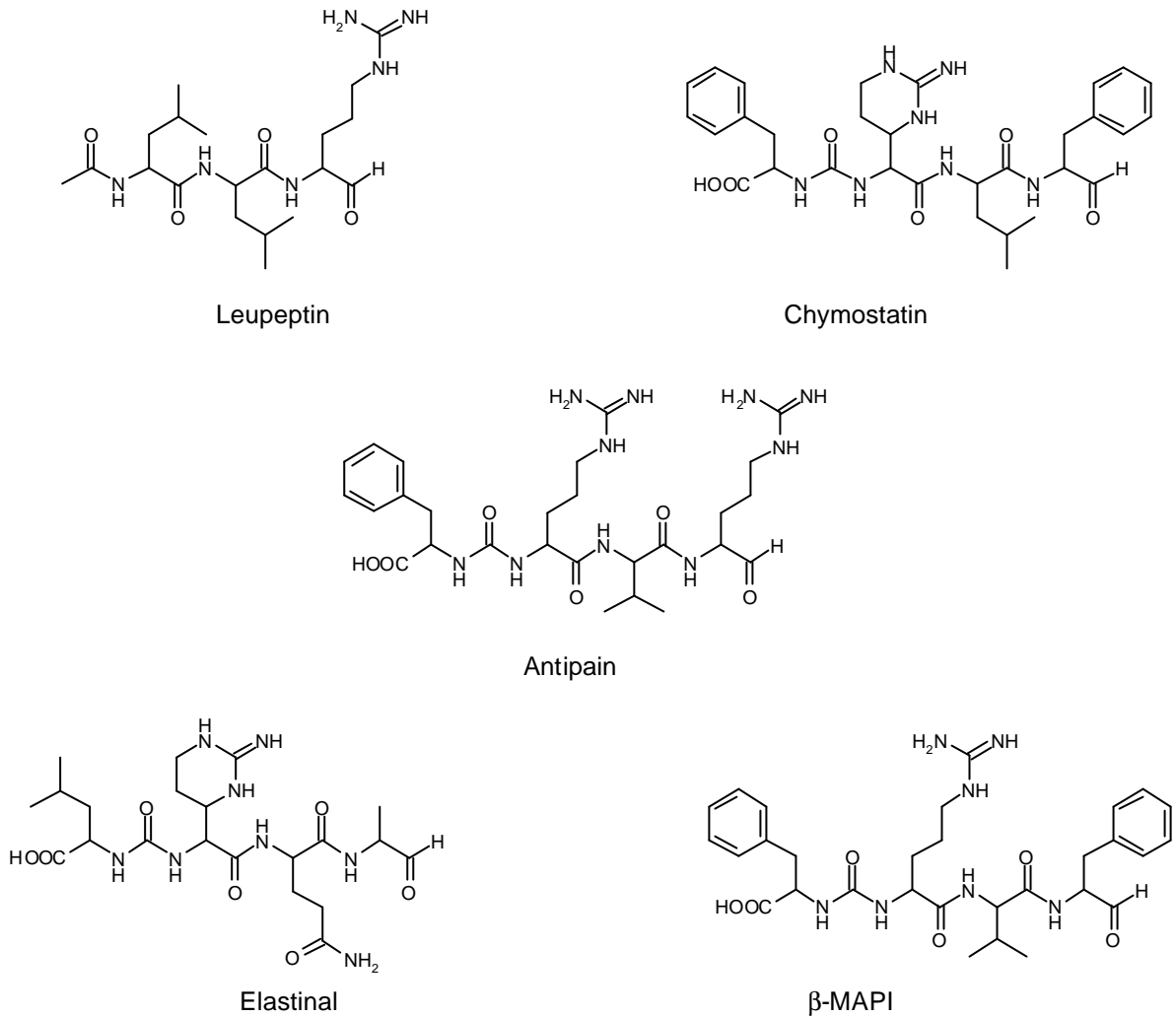


Abb. 1-30 Natürlich vorkommende Peptidylaldehyde mit inhibitorischer Wirkung gegen Cystein- und Serin-Proteasen.

1.5.1.1 Peptidylaldehyde als Proteasom-Inhibitoren

Ein neueres Einsatzgebiet für synthetische Peptidylaldehyde ist die Erforschung des Proteasoms. Hierbei handelt es sich um einen Multienzymbkomplex mit drei unterschiedlich ausgeprägten Schnittspezifitäten. Es wurden aktive Zentren sowohl mit einer chymotrypsinartigen Spezifität gefunden, die Amidbindungen C-terminal zu hydrophoben Aminosäuren hydrolysieren, als auch solche mit einer trypsinartigen Spezifität, die den Bindungsbruch nach basischen Seitenketten bewirken. Ausserdem gibt es sogenannte Post-Glutamyl-Peptidasen, die eine hohe Spezifität für saure Seitenketten besitzen [Orl90, Wil83, Riv89].

Peptidylaldehyde waren die erste Substanzklasse, die zur Inhibition einzelner Teilaktivitäten innerhalb des Proteasoms verwendet werden konnten. So wurde das lipophile Ac-Leu-Leu-Norleucinal zur reversiblen Inhibition der chymotrypsinartigen Aktivität des Proteasoms eingesetzt, während Leupeptin (Abb. 1-30) als schwacher Inhibitor der trypsinartigen Aktivität verwendet wurde. [Wil93, Car92] Für die erste Strukturaufklärung eines Proteasom-Inhibitor-Komplexes mit Hilfe der Kristallstrukturanalyse wurde ebenfalls Ac-Leu-Leu-Norleucinal verwendet [Löw95]. In neueren Arbeiten wurden zwei Peptidylaldehyde über ihre N-Termini mit einer PEG-Kette verknüpft, um so bivalente Inhibitoren zu erhalten, die zwei aktive Zentren des Proteasoms gleichzeitig inhibieren konnten [Loi00].

1.5.1.2 Peptidylaldehyde als Caspase-Inhibitoren

Caspasen gehören zu den Cystein-Proteasen. Allen Caspasen gemeinsam ist ihre hohe Spezifität für Asparaginsäure in Position P1 ihrer Substrate (Abb. 1-29; Caspase = „cysteine-dependent, aspartic acid-directed protease“) [Aln96]. Als erster Vertreter dieser Enzymfamilie wurde 1989 ICE (Interleukin-1 β -converting enzyme) charakterisiert, das als Mediator von Entzündungsreaktionen fungiert [Kos89, Bla88]. Nach der Entdeckung einer Reihe von Enzymen mit hoher Sequenzhomologie zu ICE wurden diese Enzyme als Caspasen zusammengefasst. ICE wurde als Caspase-1 bezeichnet [Aln96]. Heute sind über 20 Caspasen bekannt. Allein 14 wurden im Menschen gefunden. Neben ihrer Rolle bei Entzündungsreaktionen (Caspasen 1, 4, 5) sind die meisten Caspasen als Effektoren der Apoptose von Bedeutung (Caspasen 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10). Diese Rolle der Caspasen weckte die Hoffnung hinsichtlich möglicher Krebstherapien durch eine gezielte Steigerung ihrer Aktivität oder gegen neurodegenerative Erkrankungen wie Alzheimer, Parkinson oder Schlaganfall durch Begrenzung der hier übermäßig auftretenden Apoptose.

Bei der Untersuchung der Substratspezifität von neun dieser zehn Caspasen unter Benutzung von „positional scan-libraries“ wurden in einigen Fällen sehr ähnliche Peptidsequenzen gefunden, sodass nicht ausgeschlossen werden kann, dass manche Caspasen redundante Funktionen übernehmen [Tho97, Tal97, Mar97]. Tab. 4 zeigt die Substratspezifitäten auf der P-Seite zur hydrolysierten Peptidbindung. Auf der P'-Seite ist im Fall der Caspasen keine ausgeprägte Spezifität feststellbar.

Auch bei Caspase-1 wurde, ähnlich wie beim Proteasom, ein Peptidylaldehyd zur Kristallstrukturanalyse des Enzym-Inhibitor-Komplexes eingesetzt, hier Ac-Tyr-Val-Ala-Asp-H. Die Inhibition von Caspase-1 war für die Durchführung der Kristallstrukturanalyse unabdingbar, da Caspasen autoproteolytische Aktivität zeigen [Wil94].

Tab. 4 Substratspezifität der Caspasen auf der P-Seite zur hydrolysierten Peptidbindung.

Caspase	natürl. Substrate	bevorzugtes Peptidsubstrat [Tal97]	bevorzugtes Peptidsubstrat [Tho97]
Caspase-1	TPLD FEDD	YEVD	WEHD
Caspase-2	DQQD EESD	VDVAD	DEHD
Caspase-3	IETD ESMD	DMQD	DEVD
Caspase-4	WVRD LEED	LEVD	(W/L)EHD
Caspase-5	WVRD LEAD	–	(W/L)EHD
Caspase-6	DVVD TEVD	VEID	VEHD
Caspase-7	IQAD DSVD	DEVD	DEVD
Caspase-8	VETD LEMD	IETD	LETD
Caspase-9	PEPD DQLD	–	LEHD
Caspase-10	IEAD SQTD	IEAD	–

Basierend auf diesen Arbeiten wird eine Vielzahl N-terminal acetylierter Peptidylaldehyde als Caspaseinhibitoren kommerziell angeboten. Es handelt sich meist um Tetrapeptide.

Viele dieser Tetrapeptidinhibitoren haben bereits in den Anfängen der Caspase-Forschung eine wichtige Rolle gespielt. So war die Beobachtung, dass der Caspase-1-Inhibitor Ac-YVAD-H die Ausschüttung von Interleukin-1 β aus Monocyten verhindert, ausschlaggebend dafür, dass dieses Enzym mit ICE identifiziert werden konnte [Tho92].

Trotz dieser Erfolge sind bis heute noch keine hochspezifischen Inhibitoren für einzelne Caspasen gefunden worden. So inhibiert Ac-YVAD-H Caspase-1 mit $K_i = 0,76 \text{ nM}$, und Caspase-3 (wichtigster Vertreter der apoptotisch wirkenden Caspasen) mit $K_i > 10 \text{ }\mu\text{M}$. Für Caspase-3 stellt Ac-DEVD-H in Übereinstimmung mit Thornberry et al. einen wirksamen Inhibitor mit einem Wert von $K_i = 0,23 \text{ nM}$ dar [Tho97]. Gegen Caspase-1 besitzt Ac-DEVD-H mit $K_i = 18 \text{ nM}$ aber ebenfalls eine sehr gute und damit wenig selektive Wirkung [Gar98]. Um die Selektivität zu erhöhen wurden peptidomimetische Strukturen getestet. Der erste selektive Inhibitor für Caspase-3 enthält ebenfalls C-terminal einen Aspartylaldehyd (Abb. 1-31) [Kar98]. Die strukturelle Ähnlichkeit mit Ac-DEVD-H ist offensichtlich. Die Aktivität gegen Caspase-3 beträgt $K_i = 18 \text{ nM}$, diejenige gegen Caspase-1 $K_i = 10,4 \text{ nM}$. Damit besteht bei diesem Inhibitor eine etwa 580-fach größere Präferenz für Caspase-3.

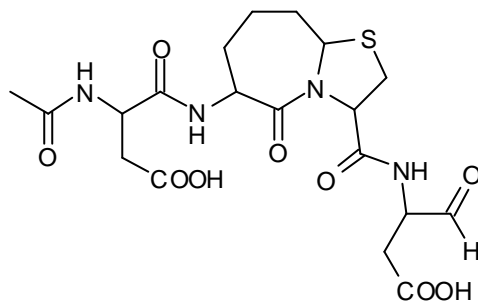


Abb. 1-31 Der erste selektive Inhibitor für Caspase-3 ist ein konformativ fixierter Peptidylaldehyd [Kar98].

Caspasen zeigen häufig überlappende Funktionalitäten mit daraus folgenden Substratspezifitäten. Als Beweis wurde bei Caspase-3 defizienten Mäusen festgestellt, dass ein Apoptosedefekt nur im Gehirn feststellbar war. In anderen Geweben übernahmen Caspase-1 und Caspase-7 deren Funktion. Durch den Einsatz redundanter Enzyme ist die Natur besser auf verschiedenartige Entzündungsursachen und andere Stimuli, die zur Apoptose führen, vorbereitet. Allerdings führt die funktionelle Überlappung dazu, dass ein Verlust der Substratspezifität in Kauf genommen werden muss [Tal97].

1.5.1.3 α -Aminoaldehyde und Peptidylaldehyde als Syntheseintermediate

Die C-terminale Aldehydfunktion eignet sich für zahlreiche Umsetzungen, aus denen weitere Verbindungen mit Protease hemmenden Eigenschaften hervorgehen können. So führt die Wittig-Horner-Emmons-Reaktion von β -Aminosäurealdehyden mit Sulfonylphosphonaten zu Vinylsulfonen. Nach Aufbau der Peptidsequenz sind sie als irreversible Inhibitoren von Cysteinproteasen von Bedeutung [Pal95]. Im Jahre 2000 gelang die Synthese von Tripeptidylvinylsulfonen an fester Phase ausgehend von C-terminalen Peptidylaldehyden, die durch inverse Peptidsynthese an Boc-Harz [Red97] dargestellt wurden [Ban00].

Durch reduktive Alkylierung von Aminosäuren oder Peptiden lassen sich Pseudopeptide mit reduzierter Amidbindung ($Y(CH_2-NH)$) herstellen, die eine inhibitorische Wirkung auf Enzyme ausüben können [Mar85]. Daneben existiert eine Vielzahl von Möglichkeiten zur Erzeugung weiterer peptidomimetischer Strukturen ausgehend von Peptidylaldehyden, von denen einige in [Jur89] und [Gan94] zusammengefasst sind.

1.5.1.4 Peptidylketone

Peptidylketone der allgemeinen Formel Peptidyl-CO-CH₂-X, wobei X ein Halogenatom oder eine Diazogruppe darstellen kann, sind im Gegensatz zu den Aldehyden irreversible Inhibitoren. Der nucleophile Angriff des Enzyms erfolgt nicht am Carbonyl-Kohlenstoff sondern am Methylene-Kohlenstoff-Atom mit X als Abgangsgruppe. Einige Peptidylketone sind kommerziell erhältlich und deshalb neben den Peptidylaldehyden wichtige Inhibitoren für Cystein-Proteasen, wie die Caspasen.

Der Mechanismus der Inhibierung ist meistens ähnlich wie bei den Peptidylaldehyden. Es wird ebenso ein Hemi(thio)ketal zum Enzym ausgebildet bzw. das Hydrat des Ketons nähert sich dem Übergangszustand des Enzym-Substrat Komplexes an. Die Bindungen sind weniger stark als bei den entsprechenden Aldehyden. Allerdings ist es bei den Ketonen auf der P' Seite möglich die Struktur zu variieren. Somit ist es durch das Einführen elektronegativer Substituenten möglich, die Elektrophilie am Carbonyl-Kohlenstoff Atom zu erhöhen, um den Angriff des Enzyms zu erleichtern. Dies wurde beispielsweise bei den Di- und Trifluormethylketonen versucht. Diese zeigen jedoch

häufig trotz erhöhter Nucleophilie ein schlechteres Bindungsverhalten mit deutlich höherem K_i -Wert. Es ist also nicht möglich, einfache mechanistisch-chemische Modelle wie das der Polarisierung des Carbonyl-Kohlenstoff-Atoms als Kriterium für die Enzym-Inhibitor-Wechselwirkung heranzuziehen. Als Beispiel kann der Vergleich der Bindungskonstanten von Z-Phe-Ala-H, Z-Phe-Ala-CH₃ und Z-Phe-Ala-CF₃ gegen Cathepsin B angeführt werden [Woo95, Smi88]. Sie betragen für den Aldehyd $K_i = 45$ nM, für das Keton $K_i = 31$ μ M und für das Trifluormethylketon $K_i > 300$ μ M. Heute gilt der Grundsatz, dass aliphatische Alkylketone bessere Cystein-Proteaseinhibitoren, ihre fluorierten Analoga dagegen bessere Serin-Proteaseinhibitoren sind. Aldehyde haben dagegen immer die besseren Bindungskonstanten.

Wie bereits in Abschnitt 1.5.1.2 beschrieben, zeigen Peptidylaldehyde häufig keine Selektivität gegenüber unterschiedlichen Enzymen. Bei den entsprechenden Ketonen ist dies nicht der Fall. Peptidylketone wurden auch als Inhibitoren gegen Caspase-3 getestet. Dabei wurde festgestellt, dass Ac-DEVD-CH₃ im Gegensatz zu Ac-DEVD-H (siehe Abschnitt 1.5.1.2) neben einer ausgezeichneten Aktivität gegen Caspase-3 auch eine ausgeprägte Selektivität für diese Protease aufweist. Sie beträgt im Fall von Caspase-3 $K_i = 1,1$ nM und im Fall von Caspase-1 $K_i = 10$ mM [Tho99]. Die Ergebnisse sind in Tab. 5 zusammengefasst.

Tab. 5 Vergleich der Bindungskonstanten der Peptidylaldehyde Ac-YVAD-H, Ac-DEVD-H mit dem Peptidylmethylketon Ac-DEVD-CH₃ für Caspase-1 und Caspase-3. Erstaunlich ist der Unterschied der Bindungskonstanten von Ac-DEVD-H und Ac-DEVD-CH₃ und damit deren Enzympräferenz.

	Ac-YVAD-H	Ac-DEVD-H	Ac-DEVD-CH ₃
Caspase-1	0,76 nM	18 nM	10 000 nM
Caspase-3	10 000 nM	0,23 nM	1,1 nM

Während die Aktivität des Inhibitors gegen Caspase-3 durch Ersatz eines Protons durch eine Methylgruppe nur wenig zurückgeht, steigt im Gegenzug die Selektivität gegenüber Caspase-1 stark an. Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, dass es im Fall von Enzyminhibitoren nicht ausreicht Strukturvariationen allein aufgrund rationaler Überlegungen durchzuführen. Peptidylketone scheinen jedenfalls hinsichtlich ihrer Selektivität gegenüber Caspasen großes Potential als Inhibitoren zu besitzen.

1.5.2 Synthese von Peptidylaldehyden

Die Aldehydfunktion ist entweder auf direktem Wege durch Reduktion von Carbonsäurederivaten oder auf indirektem Wege durch die Oxidation der zuvor erzeugten Alkoholfunktion zugänglich. Für beide Ansätze gibt es in der Literatur eine Fülle von Beispielen, sowohl Lösungs- als auch Festphasensynthesen.

1.5.2.1 Lösungssynthesen

Bei der ersten Synthese von Leupeptin (Abb. 1-30) im Jahre 1969 wurde die Aldehydfunktion durch Oxidation des entsprechenden Peptidylalkohols mit DMSO/DCC erzeugt [Kaw69]. Der Alkohol war zuvor durch Reduktion des Peptidylmethylesters mit LiBH_4 dargestellt worden. Dieses generelle Reaktionsschema wird häufig benutzt, lediglich die verwendeten Reduktions- und Oxidationsmittel variieren. Eine Variante von Scheidt et al. zeigt Abb. 1-32 bei der NaBH_4 als Reduktionsmittel und $\text{DMSO}/(\text{COCl}_2)_2$ als Oxidationsmittel verwendet werden [Sch98].

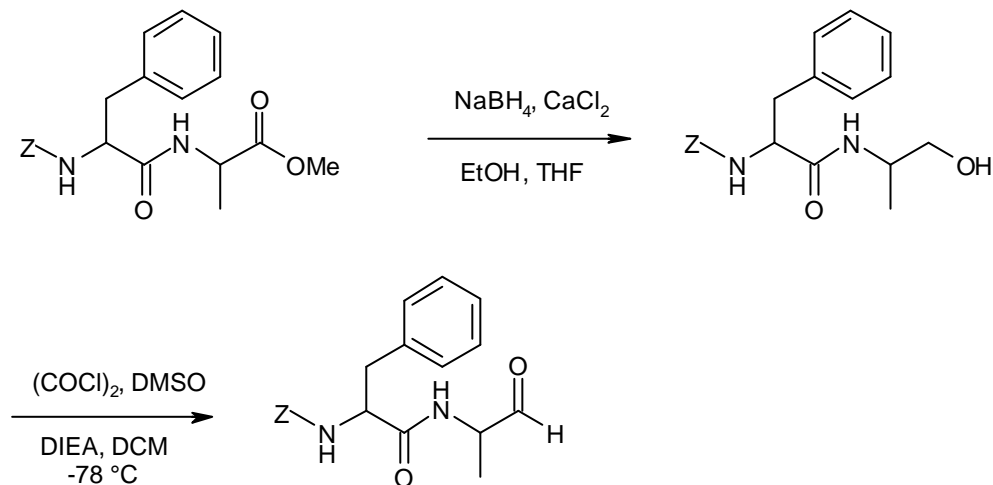


Abb. 1-32 Darstellung eines Peptidylaldehyds über den entsprechenden Alkohol durch Swern Oxidation [Sch98].

Um eine möglichst schonende Reduktion von Peptidsäuren zum Peptidylalkohol zu ermöglichen, muß die Carboxyfunktion zunächst durch Reaktion mit einer

elektronenziehenden Gruppe aktiviert werden. Dies geschieht im Fall der Soai-Reduktion durch Bildung eines gemischten Anhydrids mit Chlorameisensäureethylester [Kok90]. Eine andere Möglichkeit besteht in der Bildung eines Aktivesters mit Pentafluorphenol [War95]. In beiden Fällen ist die Reduktion geschützter Aminosäuren mit NaBH_4 ohne signifikanten Angriff an der Fmoc- bzw. *tert.*-Butyl-Schutzgruppe möglich.

Eine Vielzahl an Methoden zur Oxidation des Peptidylalkohols, die aus mechanistischen Gründen auf der Stufe des Aldehyds bleiben, besteht in den Oxidationen mit aktiviertem Dimethylsulfoxid [Man81]. Zur Aktivierung von DMSO können unterschiedliche Reagenzien wie beispielsweise Diisopropylcarbodiimid, Trifluoressigsäureanhydrid, Oxalylchlorid oder Pyridin-Schwefeltrioxid-Komplex eingesetzt werden.

In allen Fällen führt diese Aktivierung zu einer Dimethylsulfonium-Spezies, bei der der dritte Substituent neben den beiden Methylgruppen am Sulfonium-Schwefel durch den Alkoxy-Rest des zu oxidierenden Alkohols gebildet wird. Deprotonierung mit einer Base, meist Triethylamin, führt zu einem Ylid, das sich durch Eliminierung von Dimethylsulfid zum Aldehyd stabilisiert (Abb. 1-28).

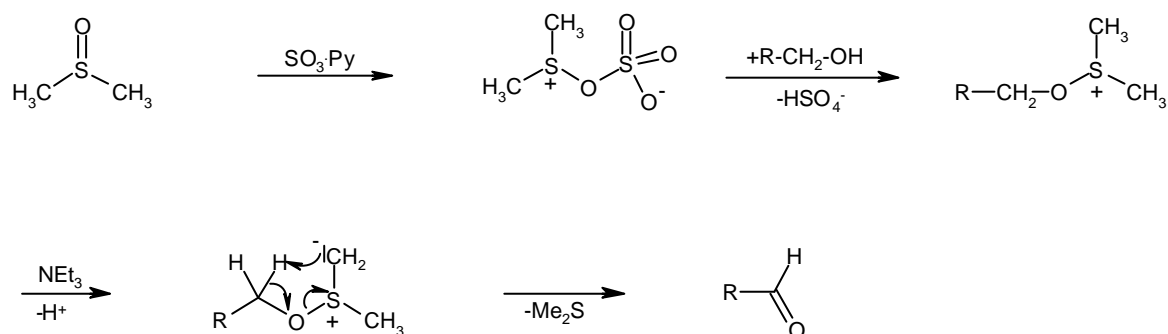


Abb. 1-33 Mechanismus der Oxidation mit aktiviertem DMSO am Beispiel der Parikh-Doering-Oxidation (Aktivierung mit Pyridin-Schwefeltrioxid).

Erste Versuche zur direkten Reduktion von *Z*-geschützten α -Aminosäureestern zu den entsprechenden Aldehyden ohne den Umweg über die Alkoholstufe wurden mit Diisobutylaluminiumhydrid (DIBALH) als Reduktionsmittel durchgeführt [Ito75]. Diese Methode erfordert eine äusserst genaue Reaktionsverfolgung, da die Gefahr einer Weiterreduktion des entstandenen Aldehyds zum Alkohol sehr groß ist. Eine deutliche Verbesserung dieser reduktiven Synthesevariante wurde durch die Einführung der sogenannten Weinreb-Amide erreicht [Nah81]. Hierbei handelt es sich um N,O-Dimethylhydroxylamide, die bei Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid eine

Weiterreduktion zum Alkohol durch Ausbildung eines stabilen Metall-Chelates auf der Oxidationsstufe des Aldehyds verhindern (Abb. 1-34).

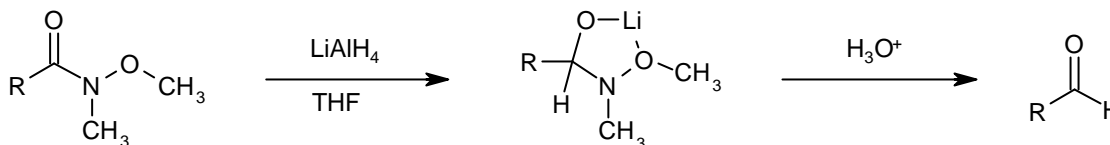


Abb. 1-34 Die Reduktion der Weinrebamide liefert fast ausschließlich den entsprechenden Aldehyd, da die Weiterreduktion durch Ausbildung eines Metallchelates verhindert wird [Nah81].

Problematisch bleibt allerdings die Reduktion von Peptidyl-Weinreb-Amiden mit Esterschutzgruppen in den Seitenketten, die durch Lithiumaluminiumhydrid leichter zu reduzieren sind als die Weinreb-Amide. Auch hier ist eine genaue Reaktionsverfolgung unerlässlich. Zusätzlich muß abhängig von der Anzahl polarer Funktionen im Peptid die Menge des eingesetzten Reduktionsmittels variiert werden, da diese in der Lage sind, das Reduktionsmittel durch Komplexierung teilweise zu deaktivieren [Mar85]. Durch den Einsatz von sterisch gehinderten komplexen Metallhydriden, wie beispielsweise $\text{LiAl}(\text{O}t\text{Bu})_3\text{H}$, kann das Ausmaß der Reduktion von Esterfunktionen in den Seitenketten zurückgedrängt werden. Allerdings muss mit der Anwesenheit von nicht umgesetztem Weinreb-Amid im Produktgemisch gerechnet werden [Par98a].

Unabhängig davon, welche Synthesestrategie gewählt wird, ist ein Reinigungsschritt zur Abtrennung von nicht umgesetztem Ausgangsmaterial oder von Nebenprodukten meist unumgänglich. Im günstigsten Fall läßt sich der Peptidylaldehyd kristallisieren. Da dies meist nicht möglich ist, muß eine säulenchromatographische Aufreinigung durchgeführt werden, die zu erheblicher Epimerisierung am α -Kohlenstoff des C-terminalen α -Aminoaldehyds führt [Ito75]. Eine Verbesserung bringt der Zusatz von 0,1% Pyridin zum Laufmittel [Ho93]. Beinahe vollständig umgehen läßt sich die Epimerisierung während der Aufarbeitung durch Überführung des Aldehydes in das Semicarbazon, das nach der Chromatographie mit Formaldehyd wieder gespalten wird [Ito75]. Allerdings ist dieser Weg vergleichsweise aufwändig.

1.5.2.2 Festphasensynthesen

In der Literatur werden zwei Syntheseansätze beschrieben. In einen Fall wird eine N^α-geschützte Aminosäure über eine Ester- oder Amidbindung immobilisiert und nach Aufbau der gewünschten Peptidsequenz eine reduktive Abspaltung durchgeführt, bei der der Peptidylaldehyd direkt freigesetzt wird. Im anderen Fall wird ein zuvor in Lösung dargestellter, N^α-geschützter Aminoaldehyd immobilisiert, im harzgebundenem Zustand durch Festphasenpeptidsynthese verlängert und das Endprodukt wieder abgespalten.

Besonders die Reduktion von immobilisierten Estern, meist Phenylestern, bringt die Gefahr der Überreduktion mit sich, sodass die gewonnenen Rohprodukte häufig einen hohen Anteil des entsprechenden Peptidylalkohols enthalten [Feh97, Zla94]. Im Vergleich dazu liefert die im Jahr 1995 von Fehrentz et al. erstmals beschriebene Reduktion harzgebundener Weinreb-Amide deutlich bessere Ergebnisse (Abschnitt 1.5.2.1) [Feh95]. Hierfür wurde ein Weinreb-Linker entwickelt, wo die N-Methylfunktion des N,O-Dimethylhydroxylamins durch eine N-Alkylkette substituiert und über diese mit dem polymeren Träger verbunden wird (Abb. 1-35).

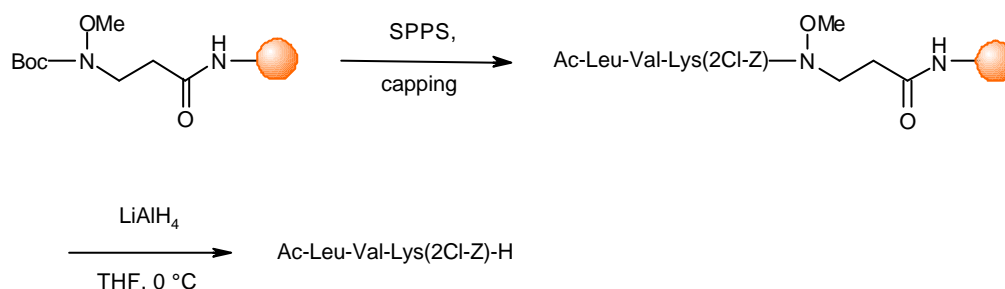


Abb. 1-35 Synthese von Peptidylaldehyden mit Hilfe des Weinreb-Harzes [Feh95].

Mit Ausnahme des in Abb. 1-35 gezeigten Beispiels war die Anwendbarkeit dieser Methode zunächst ausschließlich auf Peptide mit aliphatischen Seitenketten beschränkt. Außerdem muß auch hier die eingesetzte Menge an LiAlH₄ je nach Länge des Peptids unterschiedlich gewählt werden, was ein paralleles Arbeiten erschwert. In einer im Jahr 1998 erschienenen Publikation der Fehrentz-Gruppe wurde zur Synthese von Aspartyl- und Glutamylaldehyden wieder auf die Reduktion von Weinreb-Amiden in Lösung mit sterisch gehinderten Lithiumaluminiumhydriden zurückgegriffen [Par98a]. Im Jahre 2000 erschien eine Publikation zur Festphasensynthese von entschützten Peptidylaspartylaldehyden auf einem Weinreb-Linker. Allerdings waren die erzielten Ausbeuten vergleichsweise gering

und die Produkte mussten nach der reduktiven Abspaltung mittels Säulenchromatographie oder präparativer HPLC gereinigt werden [Ton00].

Diese Aufreinigung ist nicht nur aufgrund unzureichender Reinheit der Rohprodukte notwendig, sondern auch zur Entfernung von Nebenprodukten des Lithiumaluminiumhydrids, die in biologischen Systemen toxisch wirken können. Ausserdem stellt es einen zusätzlichen Arbeitsaufwand dar und bringt stets ein gewisses Maß an Racemisierung mit sich. Da die Reduktion der Weinrebamide racemisierungsfrei verläuft, wird durch die Aufreinigung ein Hauptvorteil dieser Synthesestrategie wieder zunichte gemacht.

Es existiert eine Vielzahl von Publikationen zur Immobilisierung in Lösung hergestellter, urethangeschützter Aminoaldehyde mit anschließender Peptidsynthese. Dabei sind zum Teil sehr aufwändige Vorsynthesen notwendig, bei denen der Aldehyd noch vor der Immobilisierung mit dem entsprechenden Linkersystem verbunden werden muß. Dies ist beispielsweise bei der Immobilisierung des Aldehyds als Semicarbazon [Mur92], Thiazolidin [Gal97] oder Acetal [Yao01] der Fall. In jüngerer Zeit wurde ein Linker zur Festphasensynthese von Semicarbazonen beschrieben, der die direkte Anbindung von geschützten Aminoaldehyden erlaubt [Pat99]. Nach der Peptidsynthese werden die Semicarbazone vom polymeren Träger abgespalten. Sie lassen sich ohne Racemisierung aufreinigen und sind im Gegensatz zu Peptidylaldehyden über längere Zeit stabil zu lagern. Die Freisetzung des Aldehyds mit Brenztraubensäure verursacht kaum Racemisierung. Allerdings mußten auch hier die erzeugten Peptidylaldehyde nochmals mit präparativer HPLC gereinigt werden.

Vergleichsweise wenig Nebenproduktbildung wird bei der Festphasensynthese von Peptidylaldehyden durch Ozonolyse von harzgebundenen Olefinen beobachtet [Par98b, Hal98]. Letztere werden durch Wittig-Reaktion eines geschützten Aminoaldehydes mit einem immobilisierten Phosphorylid bzw. durch Wittig-Horner-Reaktion mit einem Dialkylphosphonat an fester Phase erzeugt. Die Ozonolyse wird bei tiefen Temperaturen (-78°C) durchgeführt. Während in beiden Arbeiten Produkte mit hoher HPLC-Reinheit (ca. 90%) erhalten werden, sind die Angaben zur Diastereomerenreinheit nicht einheitlich. Hall und Sutherland fanden im C-terminalen Aldehyd ausschließlich die L-Konfiguration vor [Hal98], während Fehrentz et al. bei einigen Peptidylaldehyden in Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen nahezu quantitative Racemisierung fanden [Feh98, Feh97]. Im günstigsten Fall wurde ein Anteil von 7% D-Form des C-terminalen Aminoaldehydes nachgewiesen.

Ein besonders eleganter Ansatz zur Anbindung von Aminoaldehyden als Oxazolidin besteht in der Verwendung von Serin oder Threonin als Linker, das C-terminal auf Aminomethylharz gekuppelt wird [Ede97]. Die Immobilisierung des Aldehyds gelingt in schwach basischem, wasserfreiem Medium bei 60°C. Nach Aufbau des Peptides mit der DIC/HOBt-Strategie kann das Produkt hydrolytisch abgespalten werden (Abb. 1-36). Als Trägermaterial wurden „Synphase Crowns“ genutzt, die aus einem Copolymer von Methylacrylsäure, Dimethylacrylamid und Polyethylen bestehen.

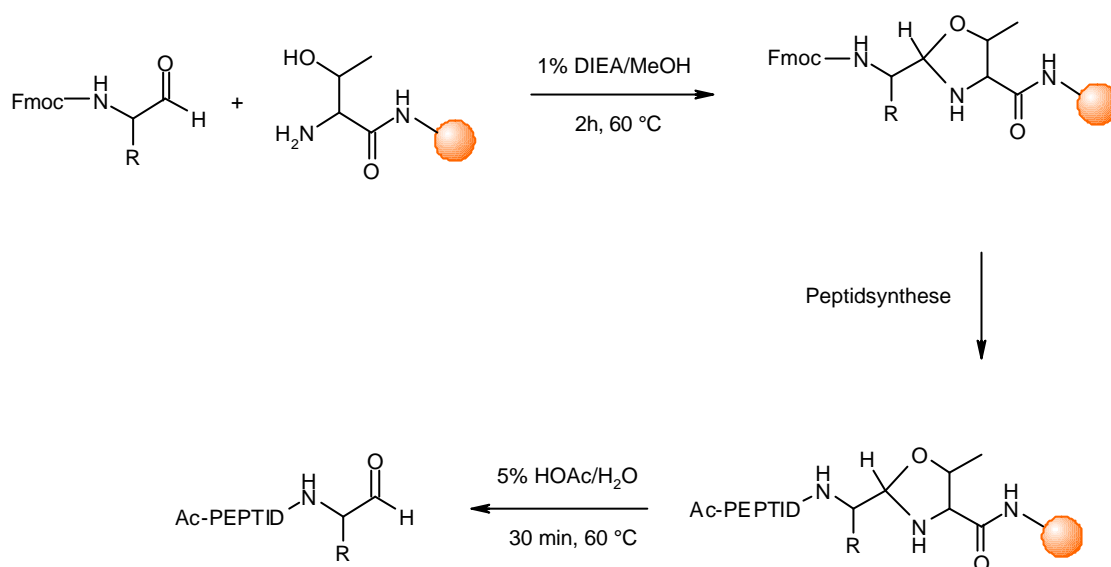


Abb. 1-36 Festphasensynthese von Peptidylaldehyden auf Threonin-derivatisiertem polymerem Träger [Ede97].

2 Aufgabenstellung

Im ersten Teil der Arbeit sollte die Synthese von polymergebundenem 1,5-Dihydroxy-1-oxo-1*H*-1 λ^5 -benzo[d][1,2]iodoxol-3-on (IBX) ausgearbeitet und dessen Einsatzmöglichkeiten untersucht werden. IBX ist ein mildes und selektives Oxidationsreagenz, das bei der Oxidation von Alkoholen keine Überoxidation zur Säure bewirkt. Deshalb stellt es für die polymerunterstützte Lösungssynthese (PASP-Synthese) eine wertvolle Bereicherung dar. Harze mit verschiedenen hohen Ausgangsbeladungen sollten eingesetzt und die optimale Harzbeladung ermittelt werden. Anschließend sollte das entwickelte Reagenz bei der Oxidation verschiedener Alkohole untersucht werden. Die Oxidation N- und S-haltiger Verbindungen, sowie die Anwendbarkeit auf neuere Reaktionen wie der Dehydrogenierung von Carbonylverbindungen und der Cyclisierung von Aniliden zu Arylpyrrolidinonen sollten untersucht werden.

Peptidylaldehyde sind Inhibitoren in vielfältigen biologischen Systemen. Im zweiten Teil dieser Arbeit sollten die oxidativen Möglichkeiten des IBX-Reagenzes in Kombination mit einem neuartigen Threonin-Scavenger-Harz zur parallelen Synthese einer Peptidylaldehydkollektion verknüpft werden. Eine neue Synthesevorschrift zur parallelen Herstellung, einer großen Anzahl strukturell unterschiedlicher Peptidylaldehyde sollte entwickelt werden, die racemisierungsfreie Produkte in guter Reinheit liefert.

3 Polymergebundene Reagenzien

3.1 Wege zur Darstellung von Aldehyden und Ketonen aus primären und sekundären Alkoholen

Die Darstellung von Aldehyden und Ketonen ist in der organischen Synthese ein wichtiger Schritt auf dem Wege zur Erschaffung komplexer Strukturen. Neben der Reduktion von Carbonsäuren und Carbonsäurederivaten ist der oxidative Weg ausgehend von Alkoholen von großer Bedeutung. Die Umwandlung dieser Alkohole zu Aldehyden und Ketonen kann im Wesentlichen auf fünf verschiedene Arten erreicht werden [Mar01].

a) mit Hilfe starker Oxidationsmittel:

Beispiele sind Br_2 , OCI , MnO_4^- , RuO_4 , OsO_4 , SeO_2 , Cr^{6+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} , Ag^+ -Verbindungen. Als Beispiel sei die Mischung aus Chromsäure und Schwefelsäure (Jones-Reagenz) erwähnt. Mit dessen Hilfe lassen sich sekundäre Alkohole auch in Gegenwart von Doppel- und Dreifachbindungen zu Ketonen oxidieren. Selbst allylische Alkohole sind auf diese Weise oxidierbar. Die Nachteile dieser Reagenzien sind ihre Toxizität und mangelnde Selektivität. Letzteres führt dazu, dass die Alkohole häufig bis zur Carbonsäure oxidiert werden.

b) durch katalytische Dehydrierung

Es handelt sich hierbei vielfach um großtechnisch angewandte Verfahren. Bekannte Labormethoden sind die Verwendung von Silber- und Kupferoxid, Raney-Nickel oder Palladiumacetat.

c) durch Oppenauer-Oxidation

d) mit DMSO-basierten Reagenzien

Beispiele: Moffatt-Oxidation (DMSO , DCC , P_2O_5), Swern-Oxidation (DMSO , Oxalylchlorid), DMSO und SO_3 -Pyridin-Triethylamin usw.

e) mit elektrochemischen Methoden durch anodische Oxidation und ggf. mit Mediatoren.

f) mit hypervalenten Iodverbindungen

Bei der Entwicklung des polmergebundenen IBX-Reagenzes ist die Frage der Löslichkeit nicht mehr von Bedeutung. Es muss lediglich eine gute Quellbarkeit des Polymers in den zur Reaktion verwendeten Lösungsmitteln gewährleistet sein. Somit sind auch Reaktionen in DCM und THF möglich.

3.2.1 Der Linker

Zur Anbindung an einen polymeren Träger musste IBX um eine Linkerfunktion erweitert werden, die die elektronischen Zustände nicht zu stark verändert, also das Oxidationspotential möglichst nicht verringert. Die Linkerfunktion muss außerdem eine ausreichende thermische und chemische Stabilität zeigen. Eine Etherbindung zum Polymer zeigt diese Eigenschaften. Retrosynthetisch betrachtet muss die Darstellung einer hydroxyfunktionalisierten 2-Iod-benzoesäure erfolgen (Abb. 3-3).

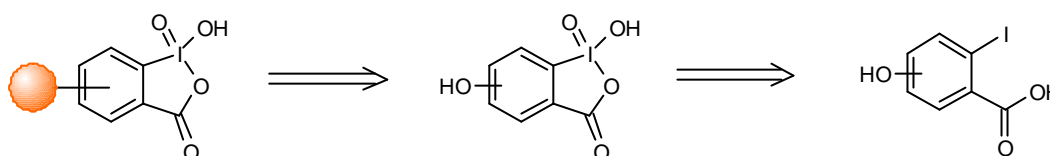


Abb. 3-3 Retrosynthese von IBX-Harz ausgehend von hydroxyfunktionalisierter Iodbenzoesäure.

3.2.1.1 Linkerauswahl

Auf Polystyrol (PS) basierende Polymere sind die am häufigsten verwendeten, polymeren Träger. Es zeigt eine gute thermische Stabilität bei Reaktionen im Temperaturbereich bis etwa 100°C und chemische Stabilität gegenüber Lösungsmitteln wie Dichlormethan, Tetrahydrofuran, Dimethylformamid oder Toluol. Ebenso ist PS-Harz säure- und basenstabil. Zur Anbindung einer hydroxyfunktionalisierten 2-Iod-benzoesäure kommen in erster Linie halogenfunktionalisierte Linker, wie der Brommethyl-Linker, Chlormethyl-Linker oder der Brom-substituierte Wang-Linker in Frage.

3.2.2 Synthese der hydroxyfunktionalisierten 2-Iod-benzoesäure

In Frage kommende Verbindungen sind 4-Hydroxy-2-iodbenzoesäure und 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure (Abb. 3-3). Bei Immobilisierung von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure wird durch den +M-Effekt der Alkoxygruppe das Oxidationspotential des polymergebundenen IBX erniedrigt. Immobilisierte 4-Hydroxy-2-iodbenzoesäure dagegen erhöht nur die Elektronendichte am Carbonylkohlenstoff. Polymergebundene 4-Hydroxy-2-iodbenzoesäure sollte nach diesen Überlegungen ein höheres Oxidationspotential haben als polymergebundene 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure (**5**). Aus diesem Grund wurden zunächst Syntheseveruche zur Darstellung von 4-Hydroxy-2-iodbenzoesäure unternommen.

3.2.2.1 Syntheseveruche zur Darstellung von 4-Hydroxy-2-iodbenzoesäure

Der Syntheseweg geht von 3-Iodphenol (**3**) aus, das zuerst nach Reimer-Tiemann formyliert wird (**4**) [Kob63]. Mit Cs_2CO_3 als Base erfolgt anschließend die Immobilisierung (**5**) an den polymeren Träger. Anschließend wird an fester Phase mit Natriumchlorit und Sulfaminsäure zur Carbonsäure (**6**) oxidiert (Abb. 3-4) [Li99].

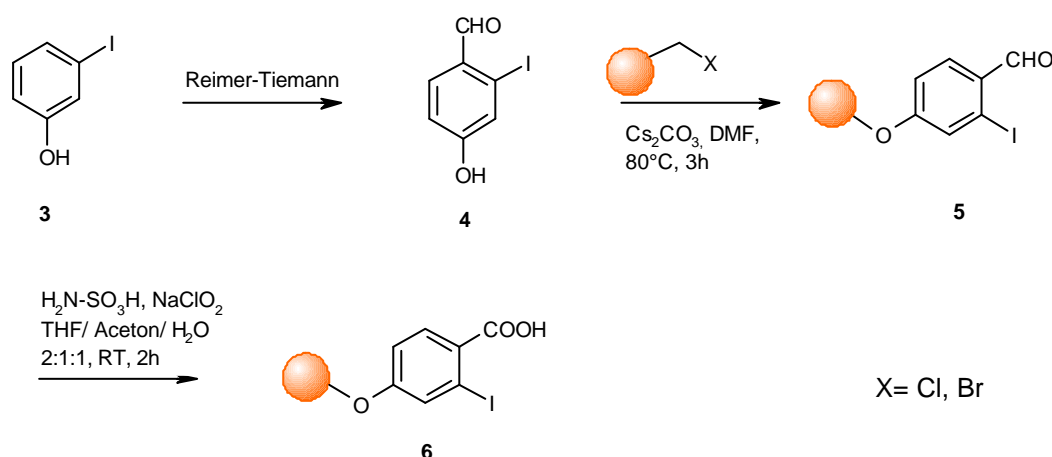


Abb. 3-4 Syntheschema von 4-Hydroxy-2-iodbenzoesäure an fester Phase

Die Reimer-Tiemann-Reaktion ergibt in erster Linie das para-Produkt [Rei76, Sin83]. Die Synthese von 4-Hydroxy-2-iodbenzaldehyd (ortho-Produkt) lieferte Ausbeuten im Bereich

von 1%. In vernünftigen Mengen konnte nur 2-Hydroxy-6-iodbenzoesäure isoliert werden. Deshalb wurde der Weg über die 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure gewählt.

3.2.2.2 Synthese von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure

Nach den schlechten Resultaten bei der Synthese von 4-Hydroxy-2-iodbenzoesäure (Abschnitt 3.2.3.2) musste auf die Synthese von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure ausgewichen werden. Wie bereits in Abschnitt 3.2.2 diskutiert, ist das Einführen der Hydroxyfunktion in 5-Stellung hinsichtlich der elektronischen Eigenschaften nach Oxidation zum polymergebundenen IBX ungünstiger, da sich so am I(V)-Atom über mesomere Effekte die Elektronendichte verringert, und deshalb diese Oxidationsstufe stabilisiert wird. Folglich nimmt das Redoxpotential gegenüber freiem IBX geringfügig ab.

Darstellungsmöglichkeiten von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure sind die Methoden von Frank et al. [Mos84] oder Moss et al. [Fra48] (Abb. 3-5). Dabei geht man von 3-Hydroxybenzoesäure (**7**) aus und führt eine Azokupplung mit Phenyldiazoniumchlorid durch. Nach Reduktion der Azoverbindung (**8**) mit Dithionit erhält man 2-Amino-5-hydroxybenzoesäure (**9**) mit 40 % Ausbeute und ausgezeichneter Reinheit in Form hellgelber feiner Nadeln. 5-Amino-2-hydroxybenzoesäure ist kommerziell erhältlich, wodurch die Einführung der Aminogruppe als zusätzlicher Syntheseschritt entfällt. Nach Diazotierung und Verkochung des Diazoniumsalzes (**10**) mit Kaliumiodid erhält man 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure (**11**) mit 27% Ausbeute.

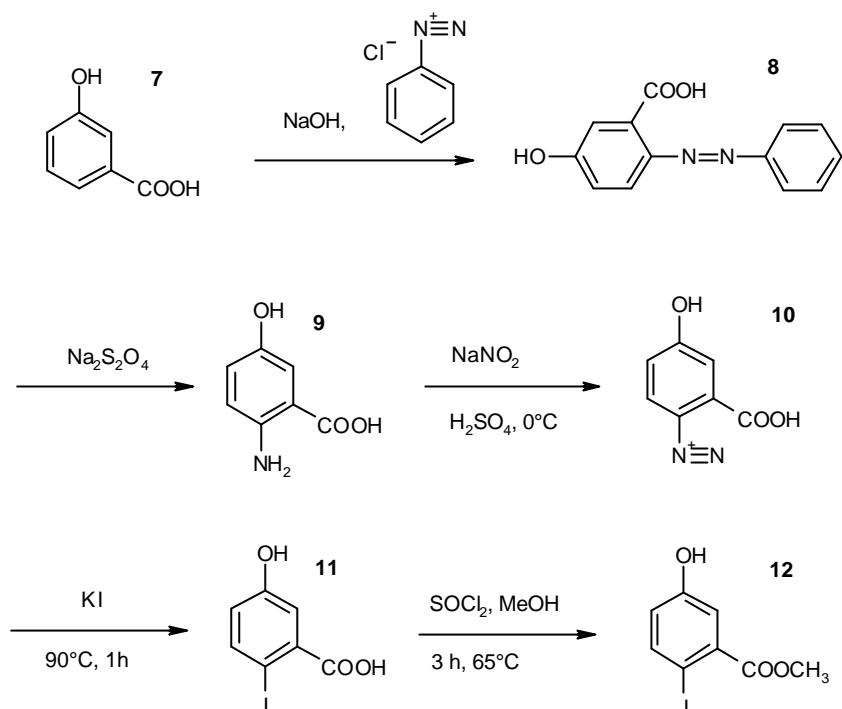


Abb. 3-5 Synthese des 5-Hydroxy-2-iod-benzoesäuremethylesters

Um eine selektive Immobilisierung der Verbindung an halogenfunktionalisierte Polymere über die Hydroxy-Gruppe zu gewährleisten, musste die Carboxy-Gruppe geschützt werden. Als gut geeignet erschien in diesem Fall die Darstellung eines Methylesters, welcher nach der Anbindung an das Polymer basisch hydrolysiert werden kann. Mit Thionylchlorid in Methanol bei 60°C und 3 h Reaktionszeit wurde der 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester in 99% Ausbeute als farblose Verbindung erhalten [Yos97]. Nach Umkristallisieren aus Wasser fiel die Verbindung in Form langer, farbloser Nadeln an. Für die weitere Umsetzung der Verbindung war dieser Schritt nicht notwendig, es wurde das Rohprodukt eingesetzt.

3.2.3 Synthese von polymergebundenem 1,5-Dihydroxy-1-oxo-1*H*- λ^5 -benzo[d][1,2]iodoxol-3-on (IBX-Harz) (**16**)

In Abb. 3-6 ist das vollständige Syntheschema zur Darstellung von IBX-Harz dargestellt. Die einzelnen Schritte und synthetischen Aspekte werden in den folgenden Unterkapiteln besprochen.

Es ist offensichtlich, dass der entscheidende Schritt der Synthese von polymergebundenem IBX-Harz (**16**) die Oxidation ist (**15** \rightarrow **16**) und deshalb wird dieser Schritt besonders

ausführlich behandelt. Wie bereits in Abschnitt 1.4.7.1.1 angesprochen, haben auch andere Gruppen den hier erarbeiteten Weg übernommen und erfolgreich angewendet [Ley03, Ree02].

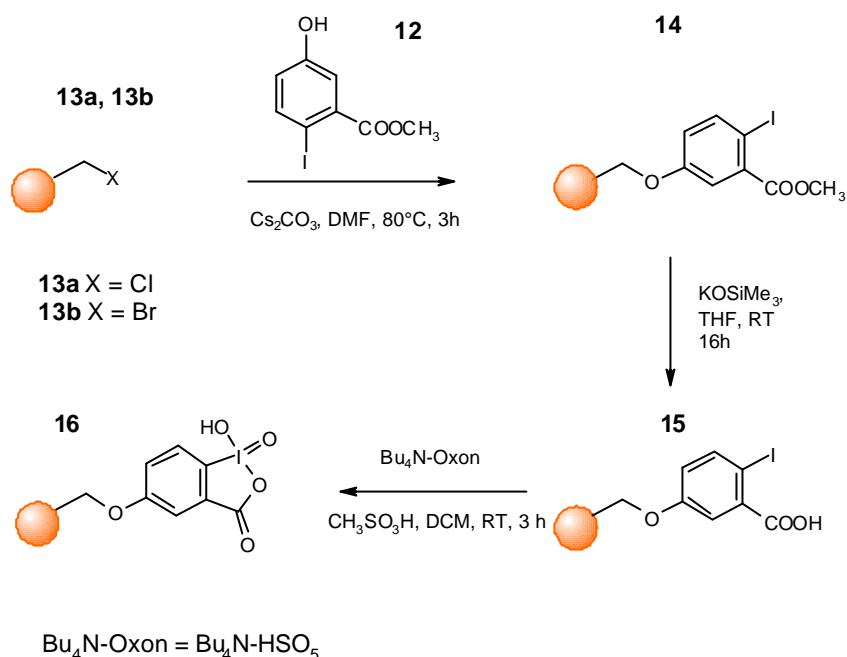


Abb. 3-6 Synthese des polymergebundenem IBX-Reagenzes

3.2.3.1 Belegung des polymeren Trägers mit 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure-methylester

Erste Experimente wurden mit Wang-Bromo-PS-Harzen durchgeführt, um eine Möglichkeit zur Abspaltung von Zwischenprodukten vom polymeren Träger zu haben. Nach wenigen Experimenten wurde dazu übergegangen, das chemisch stabilere Merrifield-PS-Harz zu verwenden.

Als Kupplungsmethode zur Belegung von Merrifield- (**13a**) oder Wang-Bromo-Harze (**13b**) mit Phenolen eignete sich wasserfreies Cäsiumcarbonat in DMF bei 80°C und 3 h Reaktionszeit. Cäsiumcarbonat löst sich nicht in DMF, reagiert also in Suspension. Die dunkel-grüne Farbe, die nach etwa 30 Minuten Kupplungszeit auftrat, war ein charakteristisches Zeichen für die Anwesenheit einer Iodverbindung in Verbindung mit Cäsiumcarbonat. Nach der Reaktion wurde das überschüssige Cäsiumcarbonat mit Essigsäure hydrolysiert. Wichtig war, das Polymer solange mit DMF, THF, DCM und MeOH zu waschen, bis es wieder feinkörnig vorlag. Die Analytik des beladenen Harzes (**14**) erfolgte mit FT-ATR-IR Spektroskopie. Ausserdem wurden Elementaranalysen zur

Bestimmung des Iod-Gehalts durchgeführt, die gleichzeitig der Beladungsbestimmung dienen.

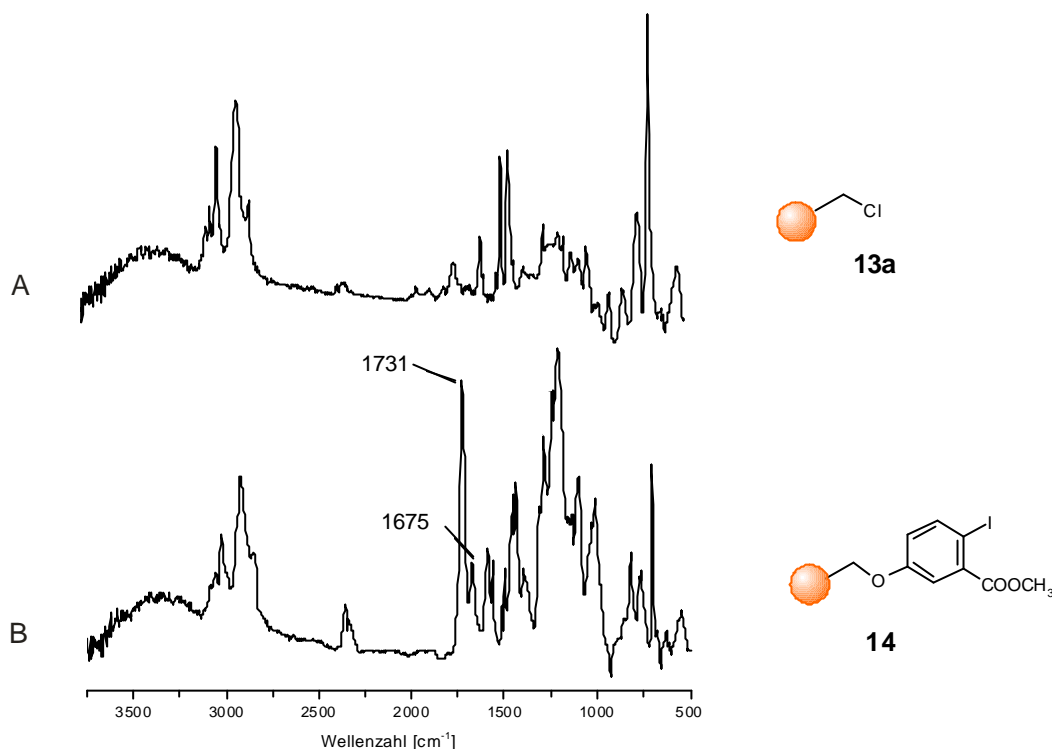


Abb. 3-7 IR-Spektrum von unbelegtem Merrifield-PS-Harz (**A**) und mit 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester belegtem Merrifield-PS-Harz (**B**).

Abb. 3-7 zeigt vergleichend die IR-Spektren von unbelegtem Merrifield-PS-Harz (**A**) und mit 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester belegtem Merrifield-PS-Harz. Bei 1731 cm^{-1} ist die C=O Valenzschwingung des Methylesters als starke Bande zu sehen. Die Bande bei 1675 cm^{-1} deutet auf intramolekulare Wasserstoffbrücken hin [Bro61].

3.2.3.2 Verseifung des Methylesters

Übliche Methoden, aromatische Alkylester in Lösung zu verseifen, sind Reaktionen mit Alkalihydroxiden in Wasser, Wasser/THF- oder Wasser/Dioxan-Mischungen. Bei Verseifungen an Polystyrol-Harzen können THF- und Dioxan-Wasser Lösungsmittelgemische verwendet werden [Sve96, Ben98]. Wichtig für die Verseifung ist, dass das Polymer ausreichend quellbar ist.

In Abb. 3-8 sind FT-ATR-IR Spektren des polymergebundenen Esters vor und der polymergebundenen Säure nach der Verseifung gezeigt. Der interessante Bereich der

Carbonyl-Valenzschwingung des Esters ist mit einem Kasten markiert. Zu beachten ist, dass bei Verseifung unter alkalischen Bedingungen (b) - d)) das Carboxylat-Anion entsteht. Unter sauren Reaktionsbedingungen wie bei Methode e) entsteht jedoch die Säure. Arylcarboxylat-Anionen absorbieren in den Wellenzahlbereichen von 1610 – 1550 cm^{-1} und 1420 – 1300 cm^{-1} . Aromatische Carbonsäuren absorbieren dagegen zwischen 1710 und 1680 cm^{-1} [Hes91]. Deshalb ist bei Methode e), der Verseifung des Methylesters unter sauren Bedingungen mit Kaliumtrimethylsilanolat, eine Bande mit dem Maximum bei 1706 cm^{-1} zu sehen, während bei den Methoden b) – d) in diesem Wellenzahlbereich keine Bande mehr zu erkennen ist. Das Kaliumtrimethylsilanolat wurde als 1 molare Lösung in wasserfreiem THF eingesetzt. Zuvor wurde das Polymer zweimal mit dieser Lösung gewaschen, um Feuchtigkeitsreste zu entfernen. Anschließend wurde bei Raumtemperatur durch Umesterung innerhalb von 16 h zuerst der entsprechende Silylester gebildet, der dann mit Essigsäure/THF 1:4 innerhalb von 5 h bei Raumtemperatur quantitativ zur Säure verseift werden konnte [Ric98, Sam99].

Die Verseifung mit Kaliumtrimethylsilanolat zeigte sich als die beste Methode, auch wenn die IR-Spektren dies nicht direkt ersichtlich machen. Es wurden jedoch Kontrollexperimente mit Wang-Bromo-PS-Harz durchgeführt. Der Wang-Linker erlaubt die Abspaltung von **12** mit 25% TFA in DCM. Das HPLC-Chromatogramm und das zugehörige Massenspektrum von **11** und **12** nach Verseifung mit KOH und Abspaltung mit 25 % TFA/DCM (Abb. 3-9) zeigen aber deutlich, dass neben der Säure mit $m/z = 262,82$ noch sehr viel Ester mit $m/z = 276,84$ polymergebunden vorlag.

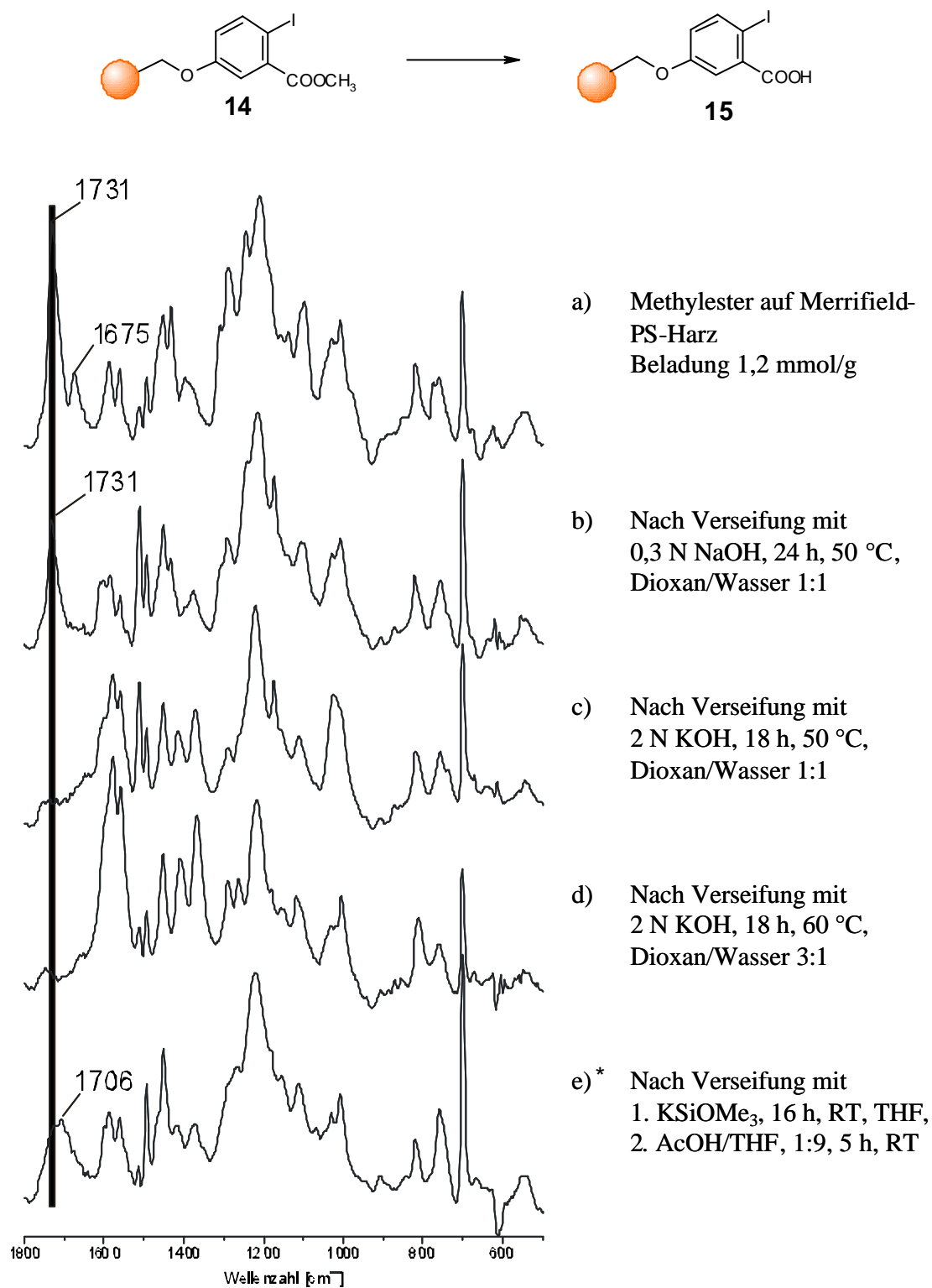


Abb. 3-8 Verseifung von polymergebundenem 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremylester (**14**) an Merrifield-PS-Harz, (1,2 mmol/g Ausgangsbeladung) mit Hilfe der FT-ATR-IR-Spektroskopie. C=O-Valenzschwingung des Esters bei 1731 cm^{-1} . C=O Valenzschwingung der Carbonsäure bei 1706 cm^{-1} ; * beste Methode.

Nach Abspaltung zeigten nur Umsetzungen mit Kaliumtrimethylsilanolat einen quantitativen Umsatz. Als Erklärung kann hier die mangelhafte Quellbarkeit des Polymers in organisch-wässrigen Lösungsmittelgemischen dienen. Die Quellbarkeit des Polymers war bei der Kaliumtrimethylsilanolatmethode gewährleistet, da sie in THF ohne Wasser durchgeführt wurde. Aber auch in diesem Fall war nach der Reaktion ein deutlich schlechteres Quellverhalten des Polymers in THF und anderen Lösungsmitteln mit guten Quelleigenschaften wie DCM zu beobachten. Erst durch intensives Waschen des Polymers mit DCM und Methanol (zehnmals) konnte dieser Effekt behoben werden. Wenn man diese Beobachtung auf die Verseifung mit KOH in Dioxan/Wasser anwendet, in der die Quellbarkeit des Polymers weit geringer ist als in THF, kann davon ausgegangen werden, dass nach einem gewissen Umsatz des Esters die Zugänglichkeit der restlichen Estergruppen so stark eingeschränkt wird, dass keine weitere Verseifung mehr erfolgen kann.

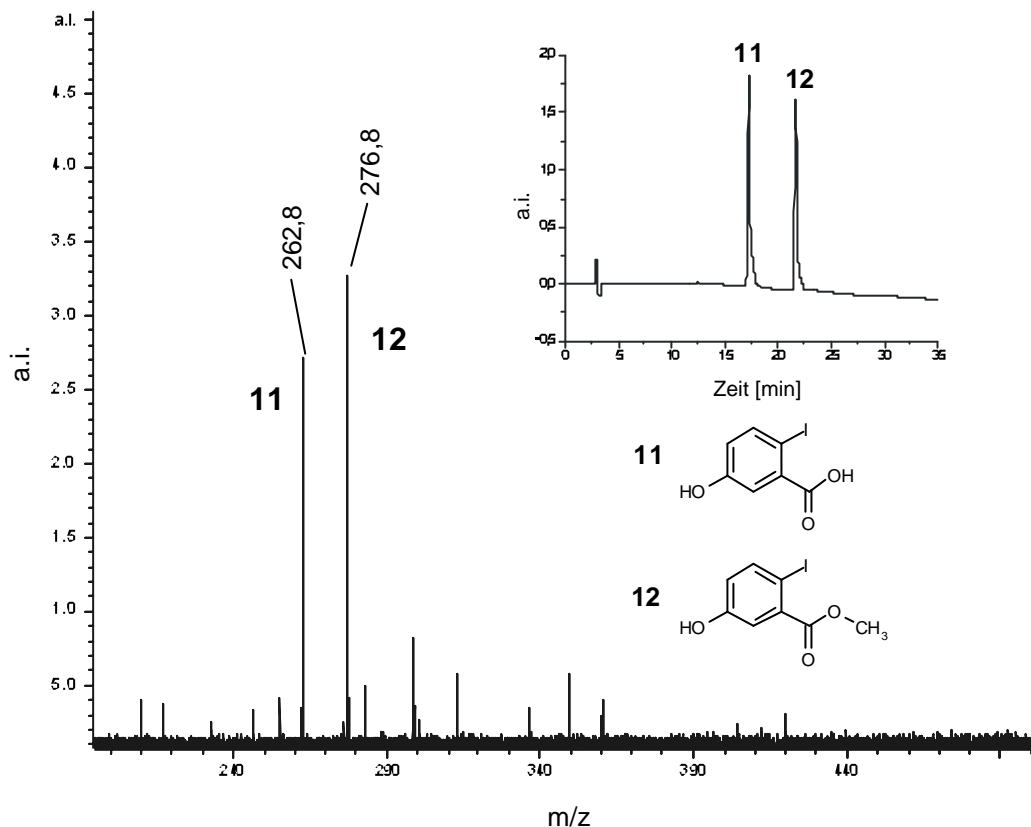


Abb. 3-9 ES-FTICR-MS-Spektrum (große Abbildung) und HPLC Chromatogramm ($\lambda = 214 \text{ nm}$) nach Verseifung des Methylesters mit KOH an Wang-Bromo-PS-Harz und Abspaltung mit 25 % TFA/DCM. Die $[M+H]^+$ Peaks der Säure **11** und des Esters **12** sind bei $m/z = 262.8$ (Säure) und $m/z = 276.8$ (Ester) zu sehen. Die Verseifung war also unvollständig.

3.2.3.3 Oxidation zu polymergebundem IBX (1,5-Dihydroxy-1-oxo-1*H*-1 λ^5 -benzo[d][1,2]iodoxol-3-on)

Um die polymergebundene Iodbenzoesäure zu hypervalentem IBX zu oxidieren, ist es wünschenswert, die in Lösung beschriebenen Synthesen nach Dess und Martin, Ireland et al. oder Frigerio et al. an die Festphase übertragen zu können (Abb. 3-10) [Des83, Fri99, Ire93, Kat89]. Der folgende Abschnitt zeigt die Evaluierung der geeigneten Oxidationsmittel und die Entwicklung eines entsprechenden Testsystems zur Bestimmung der erhaltenen Harzaktivität.

Die ersten Oxidationsversuche wurden sowohl an Merrifield- als auch Wang-PS-Harz durchgeführt und sollten zeigen, welche Oxidationsmittel mit Polystyrol kompatibel sind, und ob damit Iod in die Oxidationsstufe (V) überführt werden kann. Im ersten Schritt wurden die bisher in Lösung beschriebenen Synthesen von IBX als mögliche Festphasenreaktionen getestet.

Die bekannten Lösungssynthesen sind in Abb. 3-10 dargestellt.

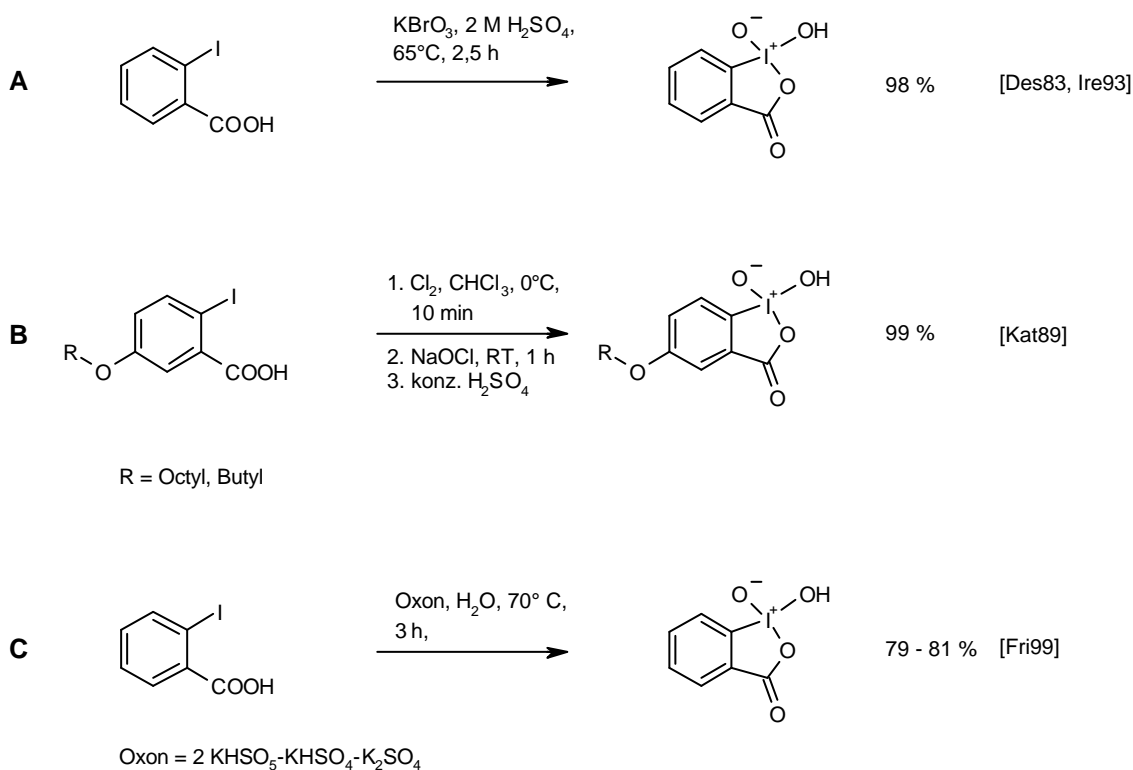
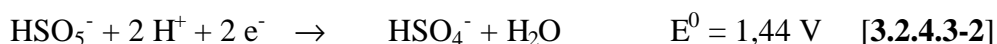
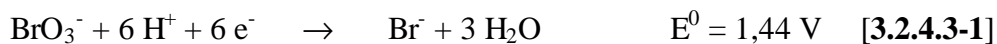


Abb. 3-10 Literaturbekannte Synthesen von IBX und 5-alkoxysubstituiertem IBX in Lösung.

3.2.3.3.1 Redoxpotentiale

Der maßgebliche Faktor für die Oxidationseigenschaften von Oxidations-Reagenzien sind die relevanten Redox-Potentiale [How95]:



In Gleichung 3.2.4.3-4 ist als Referenz die Oxidation von I^{I} nach I^{V} gezeigt. Bei einem Oxidationspotential von $E^0 = 1,13 \text{ V}$ liegen also die Oxidationssysteme 3.2.4.3-1 - 3.2.4.3-3 deutlich über dem erforderlichen Oxidationspotential.

3.2.3.4 Synthesen und Testsystem

3.2.3.4.1 Testsystem zur Bestimmung der Harzaktivität

Als Testsystem zur Bestimmung der Harzaktivität wurde die Oxidation von Piperonylalkohol zu Piperonal verwendet. Piperonylalkohol ist als benzylicher Alkohol gegenüber Oxidationen aktiviert, aber nicht so leicht flüchtig wie Benzylalkohol. Alle zur Erstellung dieser Arbeit dargestellten und verwendeten IBX-Harze wurden mit Hilfe dieses Testsystems auf ihre chemische Aktivität getestet. Dazu wurde Piperonylalkohol in Dichlormethan gelöst, und im Überschuss (meist 2 eq. Piperonylalkohol) zum jeweiligen IBX-Harz gegeben und bei Raumtemperatur geschüttelt. Bei höheren Temperaturen wurde vorsichtig gerührt, so daß keine mechanische Beschädigung des Polymers stattfand. Piperonylalkohol und Piperonal haben im verwendeten HPLC-Gradientensystem eine Retentionszeitendifferenz von etwa 4 min.

In Abb. 3-11 sind Reaktionsschema und HPLC-Chromatogramm abgebildet. Da der Alkohol im definierten Überschuss zugegeben wurde, konnte aus dem Verhältnis der Peakflächen des HPLC-Chromatogramms die Aktivität bestimmt werden. Zur Berechnung des Ansatzes wurde die theoretisch mögliche maximale Beladung des Harzes

herangezogen. Bezogen auf diesen Wert wurden zwei Äquivalente Piperonylalkohol zugegeben und anschließend die Aktivität berechnet. Die Extinktionskoeffizienten der Verbindungen bei $\lambda = 214$ nm wurden zur Korrektur der Fläche der HPLC-Peaks nicht berücksichtigt. Da Alkohol und Aldehyd ähnliche Extinktionskoeffizienten bei der Detektionswellenlänge ($\lambda = 214$ nm) besitzen, konnten die Peakflächen von Edukt und Produkt ohne Korrektur verglichen werden.

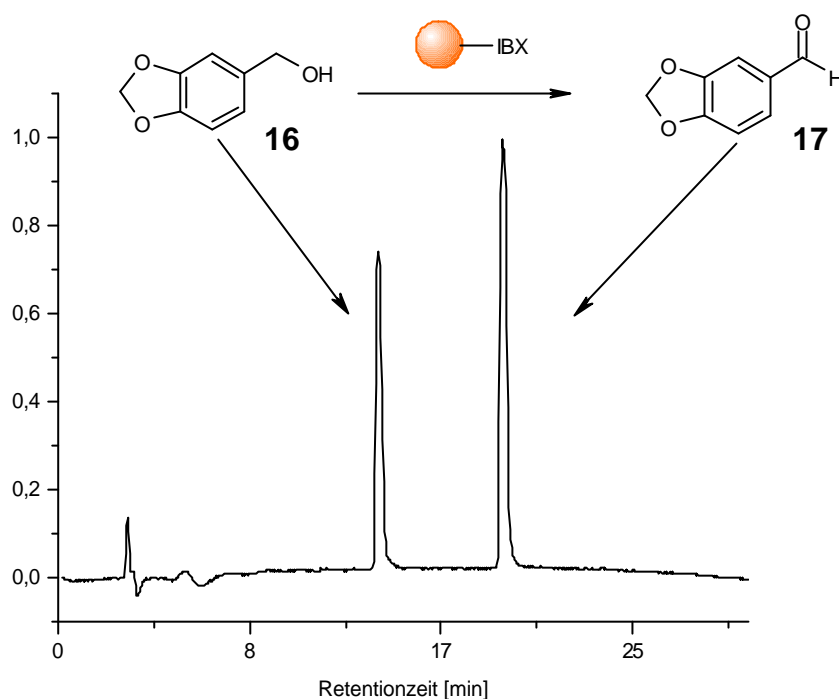


Abb. 3-11 HPLC-Chromatogramm nach teilweiser Oxidation von Piperonylalkohol mit IBX-Harz zu Piperonal ($\lambda = 214$ nm).

Zusätzlich zur HPLC-Chromatographie wurden vom IBX-Harz Iod-Elementaranalysen angefertigt, um die gefundene Menge polymergebundenen Iods, mit der aus HPLC-Chromatogrammen bestimmten Aktivität aus Testoxidationen von Piperonylalkohol zu vergleichen und daraus wiederum die Stoffmenge an Iod (V) zu bestimmen. Es zeigte sich, dass die Elementaranalyse nur begrenzt von Nutzen war, da es häufig vorkam, dass Iod nur in Spuren um 0,3% - 2% gefunden wurde, was den durchgeführten Testoxidationen widersprach. Lieferte die Elementaranalyse aber vernünftige Werte, zwischen 8% und 12% bei Harzen mit 1,2 mmol/g Anfangsbeladung, so stimmte dies sehr gut mit den Ergebnissen der Testoxidationen überein.

3.2.3.4.2 Veränderung des Iodgehalts und der Harzbeladung im Verlauf der Darstellung des IBX-Harzes

Die Beladungsänderung des verwendeten Polymers ist im Verlauf der Synthese des IBX-Harzes (Abb. 3-6) bei der Ansatzberechnung zu berücksichtigen. Die dazu benutzten Formeln sind in Anhang (Abschnitt 8.1) ausführlich gezeigt.

Tab. 6 Beladungsänderung von sieben PS-Harzen mit steigender Anfangsbeladung im Verlauf der IBX-Harz Synthese (Abb. 3-6).

Anfangsbeladung [mmol/g]	1,07	1,20	1,40	1,45	2,90	2,99	4,40
Nach Belegung [mmol/g]	0,85	0,93	1,05	1,07	1,71	1,74	2,13
Nach Verseifung [mmol/g]	0,86	0,94	1,06	1,09	1,75	1,78	2,20
Nach Oxidation [mmol/g]	0,84	0,92	1,03	1,05	1,66	1,68	2,05

Man sieht, dass selbst bei hochbeladenem Merrifield-Harz (4,4 mmol/g), nur etwa 2 mmol/g Iod(V)-Atome vorhanden sein können (Tab. 6; graues Feld.). In diesem Fall besteht das polymere Reagenz wegen des hohen Iod-Atomgewichts von 126,9 amu zu fast 30% aus Iod (Tab. 7). Dieser Wert wurde jedoch nie erreicht. Hochbeladene Harze brachten meist schlechte Ergebnisse in Form unsauberer Oxidationsprodukte. Harze mit einer Anfangsbeladung von 1,07 oder 1,2 mmol/g ergaben dagegen die saubersten Produkte. Deshalb wurden in fast allen Anwendungen Harze mit einer Anfangsbeladung von 1,07 mmol/g oder 1,2 mmol/g verwendet.

Tab. 7 Iodgehalt von sieben PS-Harzen im Verlauf der IBX-Harz Synthese (Abb. 3-6).

Anfangsbeladung [mmol/g]	1,07	1,20	1,40	1,45	2,90	2,99	4,40
Iodgehalt nach Belegung [%]	10,79	11,81	13,28	13,63	21,65	22,04	27,08
Iodgehalt nach Verseifung [%]	10,92	11,96	13,48	13,84	22,18	22,59	27,91
Iodgehalt nach Oxidation [%]	10,63	11,61	13,03	13,37	21,00	21,37	26,08

3.2.3.4.3 Synthese von IBX-Harz – Methode A

Erste Versuche wurden nach der Methode von Dess und Martin unternommen [Des83]. Um eine gute Quellbarkeit zu erreichen, wurden die Synthesen in CCl_4 durchgeführt. Die sonstigen Reaktionsbedingungen wurden an die Lösungssynthese angelehnt. Das bedeutet dass konz. Schwefelsäure und Kaliumbromat als Oxidationsmittel verwendet wurden. Ein Experiment wurde ohne organisches Lösungsmittel ausschließlich in konzentrierter Schwefelsäure durchgeführt (Tab. 8; Pos.1). Diese Methode war mit Polystyrolharz aber nicht kompatibel. Die Qualität des Polystyrolharzes bezüglich Aussehen und Quellbarkeit war nach der Reaktion immer deutlich beeinträchtigt. KBrO_3 als Oxidationsmittel führte bis zur vollständigen Zerstörung des Polymers (Tab. 8; Pos.2). Eine oxidative Aktivität des Polymers konnte nur in einem Fall beobachtet und nicht wieder reproduziert werden (Tab. 8; Pos.3).

Tab. 8 Oxidationen von **15** mit KBrO_3 , an Merrifield-Harz und dessen Umsetzung (3 h) mit Piperonylalkohol zu Piperonal.

Pos.	Oxidationsmittel	Lösungs- mittel	Temp. [°C]	Reaktions- zeit [h]	Reinheit Piperonal ⁽¹⁾ [%]	eq. IBX- Harz
1	KBrO_3 (3 eq.)	H_2SO_4 konz.	65	2,5	0	1
2	KBrO_3 , 2M (3 eq.) H_2SO_4 (70 eq.)	CCl_4	65	3	Harz zerstört	-
3	KBrO_3 (10 eq.) 18-Krone-6 (1 eq.)	CCl_4	65	2	0,5	1

⁽¹⁾ Peakfläche im HPLC Chromatogramm.

3.2.3.4.4 Synthese von IBX-Harz – Methode B

Katritzky et al. beschrieben im Jahre 1989 eine Oxidationsmethode bei der unter Verwendung von Cl_2 -Gas im ersten Schritt 2-(Dichloriod)-benzoesäure gebildet wird, welche anschließend mit hypochloriger Säure zu IBX oxidiert wird (**B**). Da das direkte Einleiten von Chlorgas bei Polymerreaktionen kompliziert ist, wurde Chlor *in situ* erzeugt. Hierzu wurde N-Chlorsuccinimid (NCS) mit einer HCl /Dioxan-Lösung versetzt und 5 min voraktiviert. Nach kurzer Zeit bildete sich unter Gelbfärbung der Lösung Chlor.

Anschließend gab man diese Lösung auf das Polymer und ließ das Gemisch 30 min

reagieren. Danach wurde wässrige NaOCl-Lösung zugegeben. Nach 1 h wurde das Polymer mit Wasser, Dichlormethan und Diethylether gewaschen. Es konnte schon früher gezeigt werden, dass die *in situ* Erzeugung von Chlor der Reaktion durch Einleiten gasförmigen Chlors äquivalent ist [Wei00].

Tab. 9 Oxidationen von **15** mit Cl_2/OCl^- an Merrifield-Harz und dessen Umsetzung (3 h) mit Piperonylalkohol zu Piperonal.

Pos.	Oxidations mittel	Lösungs- mittel	Temp.	Reaktions -zeit	Ausbeute Piperonal ⁽¹⁾ [%]	eq. IBX- Harz
1	N-Chlorsuccinimid, (4 eq.), HCl, NaOCl	Dioxan	RT	0,5 h Cl_2 , 1 h NaOCl	60	4
2	N-Chlorsuccinimid, (5 eq.), HCl, NaOCl	Dioxan	RT	0,5 h Cl_2 , 1 h NaOCl	36	2
3	N-Chlorsuccinimid, (5 eq.), HCl, NaOCl	Dioxan	RT	0,5 h Cl_2 , 1 h NaOCl	65 (16 h)	2
4	N-Chlorsuccinimid, (5 eq.), HCl, NaOCl, konz. H_2SO_4 (kat.)	Dioxan	RT	0,5 h Cl_2 , 1 h NaOCl	86 (16 h)	2
5	N-Chlorsuccinimid, (4 eq.), HCl, NaOCl, konz. H_2SO_4 (kat.), Bu_4NHSO_5 (1 eq.)	Dioxan, CH_2Cl_2	RT	0,5 h Cl_2 , 1 h NaOCl	14	7

⁽¹⁾ Entspricht der Peakfläche im HPLC Chromatogramm beim Funktionstest mit Piperonylalkohol/Piperonal.

Wie in Tab. 9 gezeigt, wurden auf Anhieb sehr gute Ergebnisse mit bis zu über 80% Umsatz des Piperonals erzielt (HPLC). Der Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure in katalytischen Mengen ergab mit 86% Umsatz das beste Resultat (HPLC) (Tab. 9; Pos. 4). Die Zugabe von Bu_4NHSO_5 war dagegen kontraproduktiv und führte zu schlechten Ergebnissen (Tab. 9; Pos. 5). Es wurden nur 15% des Piperonals umgesetzt (HPLC).

Trotz der guten Reinheiten, die diese Synthese liefert, ist deren Ausführung vor allem bei grösseren Ansätzen problematisch. So kann es bei der Entstehung des Chlors *in situ* zu starken, lokalen Wärmeentwicklungen kommen, die sich bei Polymerreaktionen sehr nachteilig auf die Struktur des Polymers auswirken können. Weiterführende Optimierungen wurden deshalb nicht durchgeführt.

3.2.3.4.5 Synthese von IBX-Harz – Methode C

Frigerio et al. publizierten im Jahre 1999 eine neuartige IBX-Synthese unter sehr milden Reaktionsbedingungen [Fri99]. Sie verwendeten Oxon ($\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot 2\text{K}_2\text{SO}_4$), das Kalium-Tripelsalz der Caro'schen Säure [Car98]. Lediglich die Verfügbarkeit des Oxons am Reaktionszentrum im Inneren des Polystyrols musste durch entsprechende Lösungsmittelgemische, wie schon im Fall der Verseifung mit NaOH und KOH, erreicht werden. Dazu wurden Dioxan/Wasser-Mischungen verwendet, in denen sich das Oxon noch löste und sowohl Merrifield- als auch Wang-Harze unterschiedlicher Beladung ausreichende bis gute Quellbarkeit zeigten.

Es konnte aber weder durch Variation der Temperatur von RT bis 80°C noch durch Variation der Reaktionsdauer von 3 h bis 10 h bei einem 10-fachen Oxon-Überschuss, eine Oxidation des Harzes erzielt werden. Hier ist anzumerken, dass zu Beginn dieser Optimierungsreihe eine geringe Aktivität beobachtet werden konnte, die aber nicht reproduziert werden konnte (Tab. 10, Pos. 1). Eine Variation der Lösungsmittel, die Verwendung unterschiedlicher Lösungsmittelgemische, Zweiphasensysteme, der Zusatz von Phasentransferkatalysatoren wie 18-Krone-6 zeigten ebenfalls keinen Erfolg.

Ein Oxon-Derivat, bei dem das Kalium-Tripelsalz in sein Tetrabutylammoniumsalz überführt wurde lieferte schliesslich polymergebundenes IBX. Das Tetrabutylammoniumsalz (Bu_4HSO_5) schien also hinsichtlich der oxidativen Eigenschaften genauso geeignet wie das Oxon bei Lösungssynthesen. Es ist gut löslich in polar aprotischen organischen Lösungsmitteln wie DCM und kommerziell erhältlich. Durch die Löslichkeit in DCM war die Verfügbarkeit des Monopersulfat-Anions im Polymer gewährleistet. Schon die erste Oxidation des mit 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure beladenen Harzes durch Bu_4NHSO_5 zeigte bei der Oxidation von Piperonylalkohol eine 33%ige Umsetzung des Piperonylalkohols zum Piperonal (Tab. 10, Pos.10). Weitere Experimente zeigten, dass die Umsetzungsraten zum Piperonal bei RT in DCM als Lösungsmittel am höchsten war. Lange Reaktionszeiten bis zu 24 h führten ebenfalls zu höheren Ausbeuten des Aldehyds. Bei der Verwendung höherer Überschüsse an IBX-Harz erhöhte sich ebenfalls die Umsatzrate zugunsten des Piperonals. Der Einsatz des Phasentransferreagenzes 18-Krone-6 zeigte keine Vorteile. Auf diese Weise konnte ein maximal 50%iger Umsatz (HPLC) des Piperonals bei 3,6 eq. IBX erhalten werden. Durch wiederholte Oxidation des Polymers mit Bu_4HSO_5 konnte ebenfalls eine Steigerung der Aktivität bis zu einem 70%igen Umsatz des Piperonals (HPLC) beobachtet werden.

Die Zugabe von Methansulfonsäure zu BuHSO₅ in äquimolarer Menge führte auf Anhieb bei Raumtemperatur und lediglich 3 h Reaktionszeit zu über 95% HPLC-Reinheit des Piperonals bei 2 eq. IBX-Harz (Tab. 10, Pos.30). Dieser Erfolg kann über die pH-Abhängigkeit des Redoxpotentials (Gl. 3.2.4.3-2) erklärt werden. In den verwendeten organischen Lösungsmitteln waren keine Protonen vorhanden. Weitere wasserfreie H⁺-Säuren zur Einstellung des pH-Werts wurden nicht getestet.

Diese Darstellungsmethode wurde bei allen weiteren IBX-Harz Synthesen in dieser Arbeit verwendet. Wichtig ist, wie bereits bei der Verseifung erwähnt, dass das Polymer nach der Reaktion äußerst sorgfältig gewaschen wird, was schon bei kleinen Ansätzen einen relativ hohen Lösungsmittelverbrauch bedeutet. Nach der Synthese quoll das IBX-Harz selbst in DCM sehr schlecht. Dieses Verhalten konnte aber durch häufiges Waschen mit DCM, THF und Diethylether (15-mal) beseitigt werden.

Primäre Alkohole wie Methanol oder sekundäre Alkohole wie Isopropanol können selbstverständlich nicht zum Waschen des Polymers verwendet werden, da sie zum Aldehyd oder Keton oxidiert werden und damit zur Desaktivierung des Polymers führen

Tab. 10 Oxidationen von **15** mit Oxon und dessen Tetrabutylammoniumsalz Bu₄NHSO₅.

Die beiden letzten Spalten zeigen die Ergebnisse der Harzaktivität in Form der Reinheit des erhaltenen Piperonals und der verwendeten Harzmenge; W = Wang-Harz; M = Merrifield-Harz; Reg = regeneriertes Harz; Die Anfangsbeladung der verwendeten Wang-Harze war 1,4 mmol/g. Die Anfangsbeladung der verwendeten Merrifield-Harze war 1,07 mmol/g, 1,2 mmol/g und 2,99 mmol/g. ⁽¹⁾ Entspricht der Peakfläche im HPLC Chromatogramm.

Pos.	Harz	Oxidations- mittel	Lösungs- mittel	Temp.	Reaktions- zeit	Reinheit Piperonal ⁽¹⁾	eq. IBX- Harz
1	W	Oxon (10 eq.)	Dioxan/ H ₂ O (1:1)	RT	3 h	3,2	2
2	W	Oxon (10 eq.)	Dioxan/ H ₂ O (1:1)	60 °C	3 h	0	2
3	W	Oxon (10 eq.)	Dioxan/ H ₂ O (1:1)	70 °C	3 h	0	2
4	W	Oxon (10 eq.)	Dioxan/ H ₂ O (1:1)	80 °C	3 h	0	2
5	W	Oxon (10 eq.)	Dioxan/ H ₂ O (7:5)	70 °C	10 h	0	2
6	M	Oxon (10 eq.), 18-Krone-6 (0,5 eq)	Dioxan/ H ₂ O 1:1	70 °C	3 h	0	0,2 -0,3

Tab. 10 Oxidationen von **15** mit Oxon und dessen Tetrabutylammoniumsalz Bu₄NHSO₅ (Fortsetzung).

Pos.	Harz	Oxidations- mittel	Lösungs- mittel	Temp.	Reaktions- zeit	Reinheit Piperonal ⁽¹⁾	eq. IBX- Harz
7	M	Oxon (10 eq.), 18-Krone-6 (kat.)	Dioxan/ H ₂ O 1:1	70 °C	3 h	0	2,2
8	M	Oxon (10 eq.), 18-Krone-6 (kat.)	Toluol/ H ₂ O 2:1	70 °C	3 h	0	2,2
9	M	Oxon (10 eq.), 18-Krone-6 (1 eq)	CCl ₄ / H ₂ O 3:1	70 °C	3 h	0	2,2
10	M	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CH ₂ Cl ₂	RT	3 h	33,3	2,2
11	M	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	Dioxan/ DMF (4:1)	65 °C	2 h	>0,1	2
12	M	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	DMF	65 °C	2 h	0,8	2
13	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CH ₂ Cl ₂	RT	2 h	18	2
14	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CH ₂ Cl ₂	RT	4 h	16	2
15	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CH ₂ Cl ₂	50 °C	16 h	36	2
16	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CHCl ₃	45 °C	2 h	0	2
17	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CHCl ₃	45 °C	4 h	5	2
18	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CHCl ₃	45 °C	16 h	19	2
19	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CCl ₄	60 °C	2 h	0	2
20	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CCl ₄	60 °C	4 h	2	2
21	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CCl ₄	60 °C	16 h	13	2
22	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CH ₂ Cl ₂	37 °C	24 h	50	3,6
23	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CH ₂ Cl ₂	60 °C (Druck)	16 h	0	3
24	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CH ₂ Cl ₂	70 °C (Druck)	16 h	0	2

Tab. 10 Oxidationen von **15** mit Oxon und dessen Tetrabutylammoniumsalz Bu₄NHSO₅ (Fortsetzung).

Pos.	Harz	Oxidationsmittel	Lösungsmittel	Temp.	Reaktionszeit	Reinheit Piperonal ⁽¹⁾	eq. IBX-Harz
25	W	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	1,2-Dichlorethan	70 °C	3 h	0	2
26	W Reg.	Bu ₄ NHSO ₅ (10 eq.)	CH ₂ Cl ₂	38 °C	4 h	13; 73	3; 30
27	W, M	Bu ₄ NHSO ₅ (20 eq.)	CH ₂ Cl ₂	RT	3 h	5 W, 13 M	3
28	W	Bu ₄ NHSO ₅ (20 eq.)	CH ₂ Cl ₂	50 °C	3 h	26	3
29	W	Bu ₄ NHSO ₅ (20 eq.)	CH ₂ Cl ₂	70 °C	3 h	8	3
30	M	Bu ₄ HSO ₅ (10 eq.), CH ₃ SO ₃ H (10 eq.)	DCM	RT	3 h	95 – 100	2 - 7

Es zeigte sich, dass das Polymer nach einer Reaktion durch erneute Oxidation mit Bu₄HSO₅ ohne nennenswerten Aktivitätsverlust regenerierbar war. Teilweise führte die direkte mehrfache Oxidation sogar zur höheren Aktivitäten (Tab.11; Pos 26).

3.2.3.4.6 IR-Analytik des IBX-Harzes

Mit der Testoxidation von Piperonylalkohol zu Piperonal wurde ein System zur Quantifizierung der Aktivität des IBX-Harzes gefunden. Die IR-Spektroskopie ist verglichen mit ¹³C-NMR zur *on-bead* Reaktionsverfolgung die beste und schnellste Analysenmethode. Aussagen über die Struktur des polymergebundenem IBX sind schwerer zu treffen als bei den vorangegangenen Stufen des Methylesters und der Säure. Als Hilfe diente hierzu das IR-Spektrum von Iodoxybenzoesäure (IBX). Dazu wurde IBX nach der Methode von Frigerio et al. dargestellt [Fri99]. Die C=O Valenzschwingung von IBX liegt bei 1633 cm⁻¹. Literaturwerte schwanken zwischen 1638 cm⁻¹ und 1640 cm⁻¹. Die Abweichungen sind durch die jeweils verwendete Messmethode erklärbar. Die FT-ATR-IR Technik ermöglicht eine einfache Vermessung fester Substanzen. Die Proben wurden deshalb direkt als Pulver vermessen.

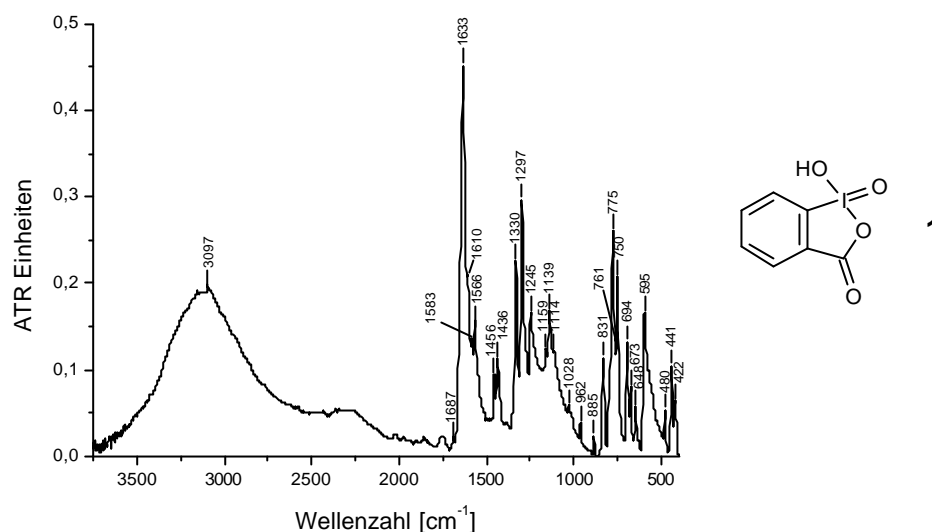


Abb. 3-12 FT-ATR-IR Spektrum von IBX. Die C=O Valenzschwingung liegt bei 1633 cm^{-1} .

In Abb. 3-13 ist das IR-Spektrum von IBX-Harz gezeigt. Das Polystyrol-Harz hatte eine Anfangsbeladung von $2,99\text{ mmol/g}$. Durch die hohe Beladung werden die Banden des Polystyrol-Gerüsts verringert. Es sind alle Banden beschriftet, die nicht im Ausgangsmaterial, vorkommen.

Die C=O-Valenzschwingung liegt hier bei 1662 cm^{-1} . Es ist eine im Vergleich zum freien IBX deutlich weniger intensitätsstarke, aber sehr breite Bande zu sehen. Mülbaier et. al veröffentlichten ein auf Polysiloxanen basiertes polymergebundenes IBX-Reagenz. Dort wurde die Lage der C=O Valenzschwingung mit 1661 cm^{-1} ebenfalls als breite Bande angegeben [Mül01]. Eine genaue Erklärung für den um etwa 20 Wellenzahlen höheren Wert der C=O Bande kann nicht gegeben werden. Die neben der Carbonylvalenzschwingung wichtigen Schwingungsbanden wie die I-O Valenzschwingung sind im Vergleich mit Literaturdaten in dargestellt. Man sieht teilweise deutliche Abweichungen von den IBX-Literaturwerten. Auf der anderen Seite sind charakteristische Schwingungsbanden wie die der I-O Schwingungen sehr ähnlich.

Es handelt sich beim IBX-Harz also tatsächlich um polymergebundenes IBX.

Tab. 11 Vergleich der charakteristischen IR-Banden von IBX und IBX-Harz (FT-ATR-IR Spektren) mit Literaturdaten. Sofern in der Literatur angegeben, wurde eine Zuordnung der Banden vorgenommen.

Zuordnung	OH Valenz	C=O Valenz	C-O	-	-	IO ₂	C-H	-	-	-
IBX [cm ⁻¹]	3097	1633	1330	1297	831	775	750	595	441	422
Lit. [cm ⁻¹] [SIE76]	2920, 2340	1640	1338	1301	833	780	749	629	446	438
IBX-Harz [cm ⁻¹]	3080, 3058, 3026	1662	1323	1282	819	783	760	578	443	437

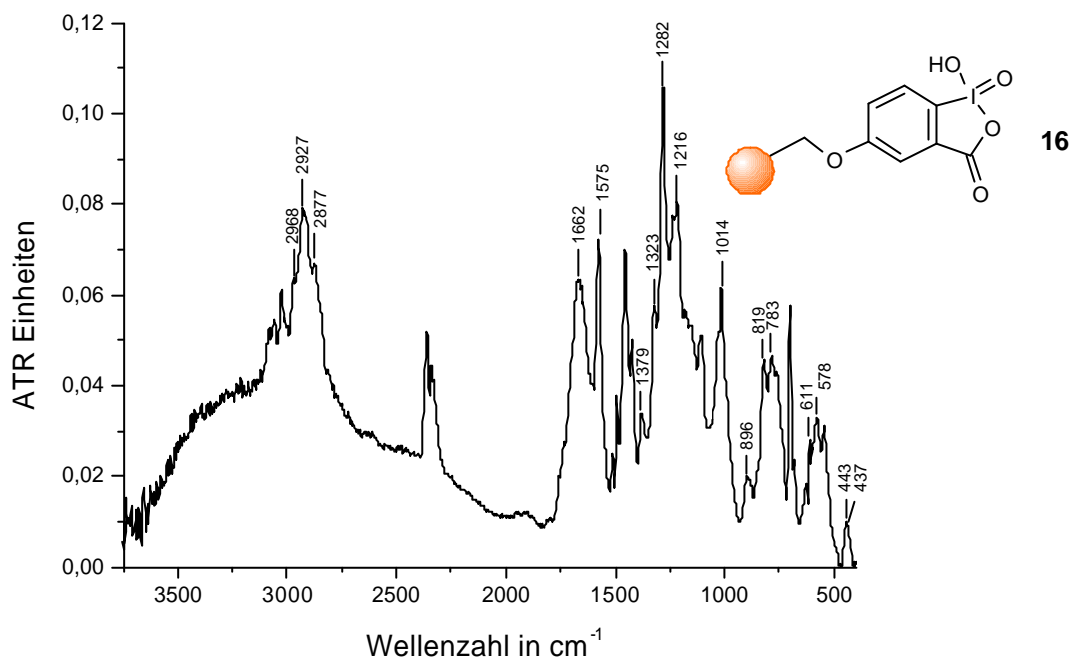


Abb. 3-13 FT-ATR-IR-Spektrum von IBX-Harz (**16**) aus Merrifield-Harz (2,99 mmol/g Anfangsbeladung).

Gelphasen und MAS-Festkörper-¹³C-NMR-Experimente zur Strukturbestimmung des Polymerreagenzes wurden ebenfalls durchgeführt. Die Spektren waren jedoch nicht aussagekräftig und lieferten deshalb keinen weiteren Strukturbeweis.

3.2.3.4.7 Elementaranalyse

Die Iod-Elementaranalyse gibt in erster Linie darüber Auskunft, wieviel Iod in einer Verbindung vorhanden ist, und ob im Verlauf der Synthese neben den Beladungsänderungen, die durch Massenänderungen der immobilisierten Verbindung auftreten [siehe Anhang 8.1], der Iodgehalt während der Reaktionsfolge abnimmt.

In Tab. 12 sind die Elementaranalysen von fünf Parallel-Synthesen gezeigt, die im 200 mg Maßstab durchgeführt wurden. Die Anfangsbeladung des verwendeten Merrifield-Harzes betrug 1,45 mmol/g.

Tab. 12 Iod-Elementaranalysen im Reaktionsverlauf der Darstellung von IBX-Harz und Überprüfung des Iodgehalts auf aktives I(V) mit Hilfe der oben gezeigten Bestimmung zur Harzaktivität. Die Anfangsbeladung des Harzes war 1,45 mmol/g.

Pos.	Reaktion	Beladung theor. [mmol/g] n. Reaktion	Iod theor. [%]	Iod gef. [%]	Quotient $I_{\text{gef}}/I_{\text{theo}}$ [%]	Reinheit Piperonal [%] (HPLC)
1a	Beladung	1,0724	13,61	12,40	91,11	-
1b	Beladung	1,0724	13,61	11,53	84,72	-
1c	Beladung	1,0724	13,61	11,99	88,1	-
1d	Beladung	1,0724	13,61	13,88	101,98	-
1e	Beladung	1,0724	13,61	12,53	92,06	-
2a	Verseifung	1,0887	13,82	8,78	63,53	-
2b	Verseifung	1,0887	13,82	-	-	-
2c	Verseifung	1,0887	13,82	9,61	69,54	-
2d	Verseifung	1,0887	13,82	10,14	73,37	-
2e	Verseifung	1,0887	13,82	10,33	74,75	-
3a	Oxidation	1,0521	13,35	12,45	93,26	50,72
3b	Oxidation	1,0521	13,35	11,30	84,64	55,88
3c	Oxidation	1,0521	13,35	11,07	82,92	57,92
3d	Oxidation	1,0521	13,35	11,11	83,22	57,87
3e	Oxidation	1,0521	13,35	10,90	81,65	61,98

Das verwendete IBX-Harz gehörte zu einer Charge, die erst kurz vor der Analyse hergestellt wurde. Das fehlende Ergebnis bei 2b ist darauf zurückzuführen, dass die

Durchführung der Elementaranalyse fehlerhaft war. Die Elementaranalysen waren, wie in Abschnitt 3.2.3.4.2 erwähnt, nicht immer von guter Qualität. So lag der Wert bei 1d nach der Beladung bei 13,88% was etwa 102% des theoretisch möglichen Iodgehalts entspricht. Dieser Wert kann im Rahmen der Messgenauigkeit noch vertreten werden. Werte der Reihe 1a, 2a, 3a zeigen wiederum einen nicht plausiblen Verlauf des Iodgehalts. Der Anteil an Iod im Polymer fällt von 12,40% nach der Beladung auf 8,78% nach der Verseifung. Nach der Oxidation steigt er wieder auf 12,45% an. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die Anreicherung von Salzen im Polymer nach dem Verseifungsschritt. Die Bestimmung des Iodgehalts erfolgte nach Volhard. Hierbei wird die Probe in einer Sauerstoffatmosphäre verbrannt. Das entstehende I₂-Gas wird aufgefangen und mit Thiosulfat zurücktitriert.

Ein Problem dieser Bestimmungsmethode ist die vollständige Verbrennung des Polymers, die für die quantitative Analyse des Iods erforderlich ist. Offensichtlich war dies nicht immer möglich. Die HPLC-Reinheiten von Piperonal liegen zwischen 50 und 62% bei 1 eq. IBX-Harz. Sie wurden nach der in Abschnitt 3.2.3.4.1 beschriebenen Methode ermittelt. Die Elementaranalyse zeigt allerdings auch, dass eine Diskrepanz zwischen aktivem Iod und vorhandenem Iod besteht. Sie beträgt bis zu 30%. Man erkennt, dass nur Testoxidationen eine verlässliche Aussage zur Aktivität des IBX-Harzes erlauben.

3.2.3.4.8 Einfluss des Reaktionsvolumens auf die Oxidationswirkung

Die Volumenabhängigkeit bei Reaktionen mit Festphasenreagenzien ist ein weiterer interessanter Aspekt. Eine Optimierungsreihe zur Bestimmung des optimalen Äquivalentverhältnisses zwischen Reagenz und Harz wurde zweimal durchgeführt. Zuerst wurde die Reihe mit einem Reaktionsvolumen von 400 µl durchgeführt. Interessant war, dass Piperonylalkohol erst mit 4 eq. IBX-Harz vollständig umgesetzt war. Nach einer Halbierung des Volumens auf 200 µl konnte eine fast quantitative Umsetzung bereits mit 2 eq. IBX-Harz beobachtet werden. Die Versuche wurden mit 30 µmol Alkohol und Harzmengen zwischen 0,25 mg und 3 mg durchgeführt. Der Alkohol wurde zuvor in einer Stammlösung angesetzt und entsprechend zupipettiert. Die Reaktionszeit betrug 3 h bei Raumtemperatur. Dieser Versuch weist sicherlich viele Ungenauigkeiten und mögliche Fehlerquellen auf. Eine große Volumenabhängigkeit bei Oxidationen mit IBX-Harz lässt sich aus den Werten aber eindeutig ableiten.

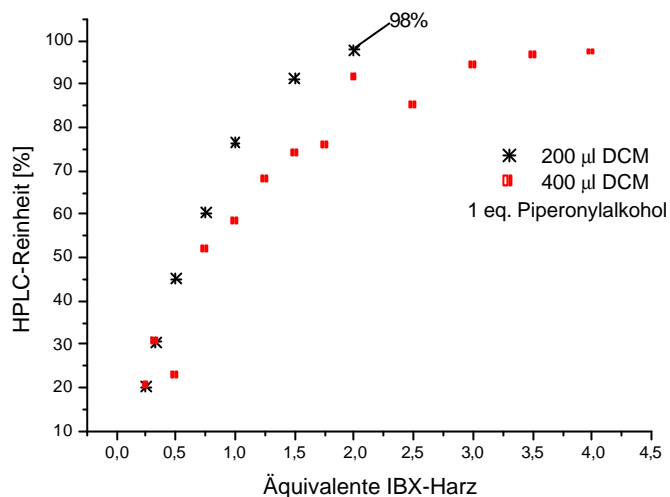


Abb. 3-14 Einfluss des Reaktionsvolumens auf die Oxidationswirkung des IBX-Harzes am Beispiel der Oxidation von Piperonylalkohol. Bei einem Reaktionsvolumen von 200 µl und 2 eq. IBX-Harz werden bereits 98% Umsetzung erreicht. Dieser Wert wird bei 400µl Reaktionsvolumen erst mit 4 eq. IBX-Harz erreicht.

3.3 Oxidation von Alkoholen

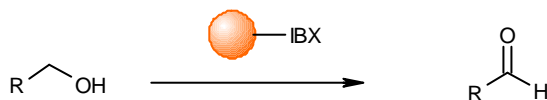


Abb. 3-15 Oxidation von Alkoholen mit IBX-Harz

In den folgenden Abschnitten wird die Oxidation von Alkoholen unterschiedlicher Struktur gezeigt. Diese Ergebnisse sind teilweise bereits publiziert worden [Sor01]. Soweit nicht anders angegeben wurde dasselbe Syntheseprotokoll verwendet wie für die Oxidation von Piperonylalkohol.

Die Reaktionen wurden im µM-Maßstab durchgeführt. Reaktionen in größerem Maßstab sind in der Tabelle gesondert gekennzeichnet. Die Alkohole wurden mit jeweils 2 eq. IBX-Harz (bezogen auf die durch Testoxidation von Piperonylalkohol ermittelte Aktivität) in 400 µl CH₂Cl₂ bei Raumtemperatur 3 h umgesetzt. Danach wurde das IBX-Harz abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Hilfe von HPLC (λ = 214 nm) und GC-EI-MS charakterisiert. Die angegebenen Reinheiten beziehen sich

auf GC-Chromatogramme. Die Aminoalkohole wurden mit Hilfe von HPLC ($\lambda = 214$ nm) und ES-MS charakterisiert. Die Identifizierung der Edukt- und Produkt-Peaks in den GC-Chromatogrammen wurde mit Hilfe der MS-Datenbank HP Mass Spectral Libraries der Firma HP vorgenommen.

3.3.1 Oxidation von Benzylalkoholen

Benzylalkohole lassen sich auf Grund des elektronenreichen Benzyl-Kohlenstoff-Atoms leicht oxidieren. Entsprechend eindrucksvoll sind in diesem Fall die Reinheiten der erhaltenen Aldehyde und Ketone. Da bei den meisten Umsetzungen für eine Ausbeutebestimmung zu geringe Mengen Produkt erhalten wurden, wurde exemplarisch Piperonylalkohol in größerer Menge umgesetzt, isoliert und die Produktausbeute bestimmt. Dazu wurden 100 μmol (15 mg) Alkohol in 1 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit IBX-Harz zu Piperonal oxidiert. Die Flüchtigkeit des Piperonals führte dazu, dass nach dem vorsichtigen Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum nur 84 % des Produktes isoliert werden konnten. Die Reinheit des Piperonals (**17**) betrug wie in Tab. 13 (Pos.1) zu sehen ist, über 99 %. Sie wurde sowohl HPLC-chromatographisch ($\lambda = 214$ nm) als auch mit Hilfe der GC/MS-Analytik (Abb. 3-16) ermittelt.

Tab. 13 Oxidation von Benzylalkoholen mit IBX-Harz

Pos.	Edukt	Produkt	Reinheit [%] ⁽¹⁾
1	Piperonylalkohol (16)	Piperonal (17)	> 99 (84) ⁽²⁾
2	Benzylalkohol (18)	Benzaldehyd (19)	> 99
3	3-Nitrobenzylalkohol (20)	3-Nitrobenzaldehyd (21)	> 99
4	4- <i>tert.</i> -Butoxybenzylalkohol (22)	4- <i>tert.</i> -Butoxybenzaldehyd (23)	> 99
5	Indanol (24)	Indanon (25)	95
6	3-Pyridylmethanol (26)	3-Pyridyl-formaldehyd (27)	65

⁽¹⁾ GC-Reinheiten; ⁽²⁾ Isolierte Ausbeute

In Abb. 3-16 sind die GC-Chromatogramme von Indanol (**24**) und Indanon (**25**) abgebildet. Nach der Oxidation mit IBX-Harz wurde Indanon mit einer Produktreinheit von 95% erhalten.

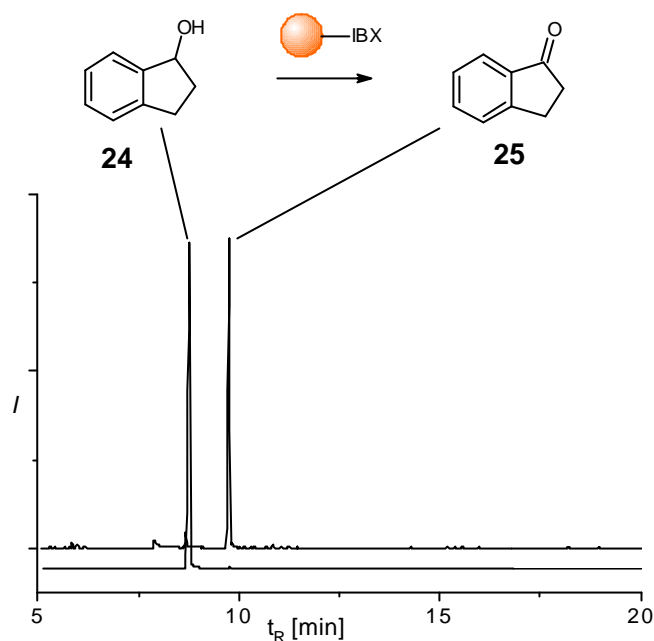


Abb. 3-16 GC-Chromatogramm von Indanol (**24**) und Indanon (**25**). Die Produktreinheit beträgt 95%.

3.3.2 Oxidation von Terpenen, Steroiden sowie anderen aliphatischen, alicyclischen und heterocyclischen Alkoholen

Bei den hier gezeigten Verbindungen handelt es sich um aliphatische gesättigte und ungesättigte und alicyclische Alkohole sowie einen heterocyclischen Alkohol (freundlicherweise von J. Smerdka zur Verfügung gestellt). Es gilt dabei festzuhalten, dass es sich vor allem bei den Aldehyden um meist sehr flüchtige Verbindungen handelt. In Falle von Cyclopentanon und Cyclohexanon (Tab. 14; Pos. 8 und 9) ist dies besonders bedeutsam und hatte großen Anteil an den geringeren Reinheiten der Produkte (Anreicherung des Alkohols aufgrund geringerer Flüchtigkeit im Vergleich zum Aldehyd). Die Reinheiten wurden ebenfalls mittels GC-MS-Analytik ermittelt. Bei Geranial (Tab. 14; Pos.3) wurden neben 90% E-Isomer, auch 7,5% Z-Isomer gefunden. Das GC-Chromatogramm hierzu ist exemplarisch abgebildet (Abb. 3-17). Bei Citronellol (Tab. 14; Pos. 4) wurde bei 3 h Reaktionszeit Isopullegol mit 37% GC-Reinheit als Hauptprodukt gebildet. Nach Verkürzung der Reaktionszeit auf 30 min wurde mit 56% GC-Reinheit Citronellal erhalten. Cholesterol wurde nach anfänglich sehr schlechten Umsetzungen unter Standardbedingungen bei 60°C in DCM umgesetzt. Die Reaktion wurde in

Überdruckgefäßen durchgeführt. Nach der Umsetzung konnte kein Cholesterol mehr detektiert werden. Die drei Hauptprodukte sind in Tab. 15 (Pos. 14) aufgeführt.

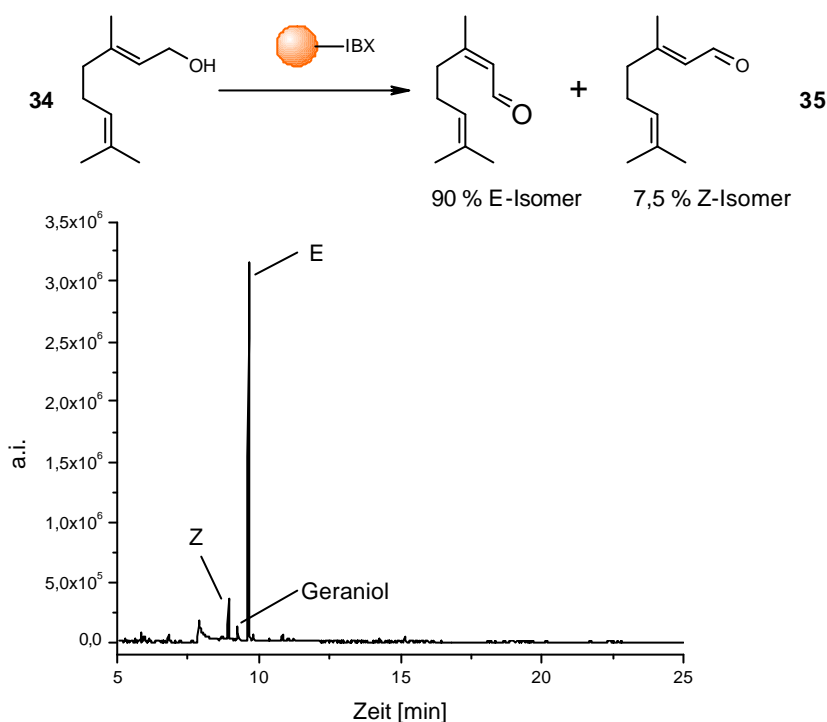


Abb. 3-17 GC-Chromatogramm nach Oxidation von Geraniol (34) mit IBX-Harz. Sowohl Z- und E-Geranial (35) als auch Geraniol (34) wurden gefunden.

Wie schon in Abschnitt 1.4.7.1.3 ausführlich besprochen, haben Nicolaou et al. in den letzten Jahren eine ganze Reihe neuartiger Synthesen mit IBX vorgestellt. Dazu gehörten unter anderem die Cyclisierung von Aniliden und die Dehydrogenierung von Carbonylverbindungen zu α,β -ungesättigten Carbonylverbindungen. Die Eignung von IBX-Harz für diese Reaktionen wurde anhand der Reaktion von Cyclohexanon (43) mit 2,3 eq. IBX-Harz für 3 h bei 65°C in DCM ermittelt. Im GC-MS konnten danach 28% Cyclo-2-hexenon (44) detektiert werden (Tab. 14, Pos.9).

9-(4,5-Bishydroxymethyl-4,5-dihydro-[1,2,3]triazol-1-yl)-nonansäureamid (56, Tab. 14; Pos. 15 und 15b) wurde einmal bei RT, 3 h umgesetzt und zum anderen 5 min bei 80°C in einem SmithSynthesizer der Firma Personal Chemistry (Upsalla, Schweden). Im ES-FTICR-MS-Massenspektrum sind die Oxidationsprodukte, die Isomere des Monoaldehyds und das Dialdehyd mit Massendifferenzen von 2 amu, deutlich aufgelöst. Die Ansatzgröße (3,2 μ mol) war für eine NMR-Untersuchung nicht ausreichend. Deshalb kann keine Aussage darüber gemacht werden, ob sich ein Isomer des Monoaldehyds bevorzugt bildet.

Tab. 14 Oxidation von aliphatischen, heterocyclischen und alicyclischen Alkoholen.

Pos.	Edukt	Produkt	GC-Reinheit [%]
1	3-Phenyl-2-propenol (28)	3-Phenyl-2-propenal (29)	> 99
2	3-Phenylpropanol (30)	3-Phenylpropanol (31)	70
3	Zimtalkohol (32)	Zimtaldehyd (33)	> 99
4	Geraniol (34)	Geranial (35)	90 ⁽¹⁾
5	Citronellol (36)	Citronellal (37)	56 ⁽²⁾
6	Tetradecanol (38)	Tetradecanal (39)	69
7	Cyclohexylmethanol (40)	Cyclohexylformaldehyd (41)	89
8	Cyclohexanol (42)	Cyclohexanon (43)	67
9	Cyclohexanon (43)	Cyclo-2-hexenon (44)	28 ⁽³⁾
10	Cyclopentanol (45)	Cyclopentanon (46)	39
11	(-)-Borneol (47)	D,L-Campher (48)	> 95
12	D,L-Isoborneol (49)	D,L-Campher (48)	> 99
13	(-)-Menthol (50)	(-)-Menthon (51)	26
14	Cholesterol (52)	Cholest-4,6-dien-3-on (53)	45 ⁽⁴⁾
14b	Cholesterol (52)	Cholest-4-en-3-on (54)	15 ⁽⁴⁾
14c	Cholesterol (52)	Cholest-4-en-3,6-dion (55)	26 ⁽⁴⁾
15	9-(4,5-Bishydroxymethyl-4,5-dihydro-[1,2,3]triazol-1-yl)-nonansäureamid (56)	9-(5-formyl-4-hydroxymethyl-4,5-dihydro-[1,2,3]triazol-1-yl)-nonansäureamid (57a, 57b)	18 ⁽⁵⁾ , 20 ⁽⁶⁾
15b	9-(4,5-Bishydroxymethyl-4,5-dihydro-[1,2,3]triazol-1-yl)-nonansäureamid (56)	9-(4,5-Diformyl-4,5-dihydro-[1,2,3]triazol-1-yl)-nonansäureamid (58)	14 ⁽⁵⁾ , 49 ⁽⁶⁾

⁽¹⁾ 7,5 % Z-Isomer; ⁽²⁾ auf 30 min verkürzte Reaktionszeit, bei 2 h Reaktion wurde als Hauptprodukt Isopulegol mit 37% Reinheit gebildet. ⁽³⁾ 2,3 eq. IBX-Harz, DCM, 65°C, 2 h. ⁽⁴⁾ DCM, 60°C, 24 h. ⁽⁵⁾ HPLC-Reinheit bei 3 h, RT. ⁽⁶⁾ HPLC-Reinheit bei 5 min, 80°C, Mikrowelle.

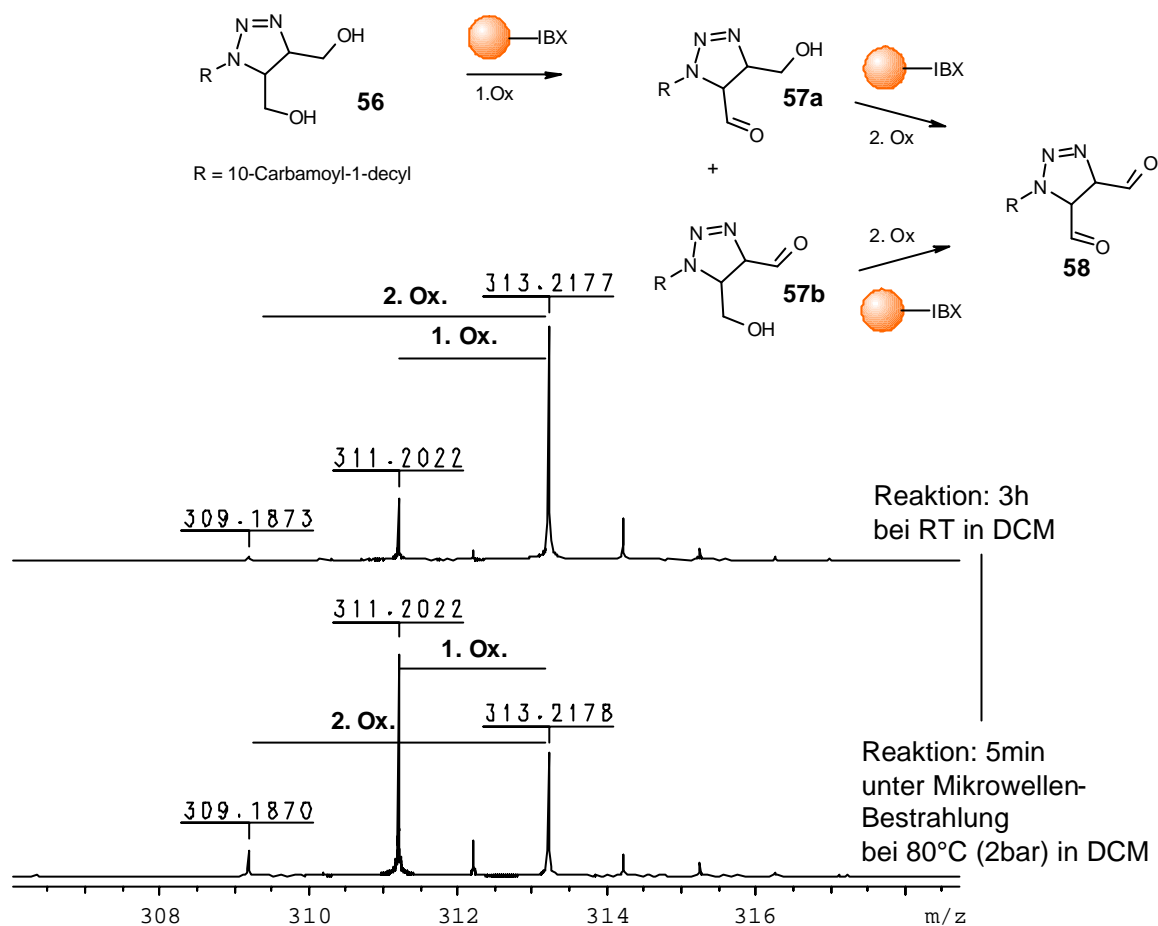


Abb. 3-18 ES-FTICR-MS-Spektrum nach der Umsetzung von 9(5-formyl-4-hydroxy-methyl-4,5-dihydro-[1,2,3]triazol-1-yl)-nonansäureamid (**56**) bei 3 h, RT und nach 5 min, 80°C in einem Smith-Synthesizer. Massensignale mit der Differenz von 2 amu zeigen Edukt, Mono- und Dialdehyd an.

3.3.3 Cyclisierung von Aniliden

Die Reaktion zur Cyclisierung von Aniliden [Nic00b] wurde ebenfalls untersucht. Hierzu wurde Phenylcarbaminsäureallylester (**59**) zu 4-Methyl-2-phenyloxazolidin-2-on (**60**) umgesetzt. Da es sich beim Edukt und Produkt um Konstitutionsisomere handelt, sind Edukt und Produkt isobar. Die Identifizierung des Produkts erfolgte mittels HPLC-MS. Die Reaktion wurde für 12 h bei 90°C durchgeführt. Anschließend war das Polymer deutlich in seiner Struktur geschädigt. Die Zerstörung des Polymers unter diesen harschen Reaktionsbedingungen und die deaktivierende Wirkung des Benzyloxy-Substituenten in 5-Position am aromatischen Ring des IBX-Gerüsts sind vermutlich dafür verantwortlich, dass lediglich 16% Umsatz gefunden werden konnten. Diese Reaktionen wurden deshalb im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter untersucht.

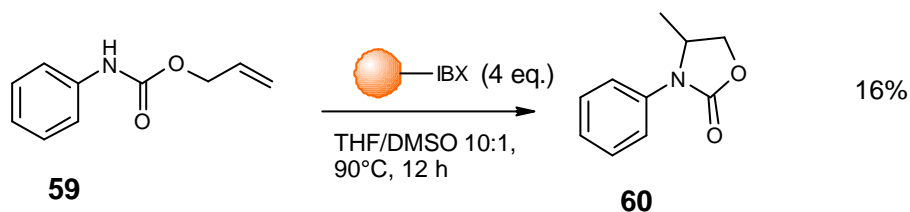


Abb. 3-19 Synthese von 4-Methyl-2-phenyl-oxazolidin-2-on (**60**) durch IBX-Harz-vermittelte Cyclisierung von Phenylcarbaminsäureallylester (**59**).

3.3.4 Oxidation von N-geschützten β -Aminoalkoholen

Die Oxidation von Fmoc- und Z-geschützten α -Aminoalkoholen führte racemisierungsfrei zu den entsprechenden α -Aminoaldehyden. Die Reaktionen wurden mit 2 eq IBX-Harz in DCM, 3 h bei Raumtemperatur durchgeführt. Es wurde nur eine geringe, gerade vorrätige Anzahl von Aminoalkoholen umgesetzt. Die prinzipielle Anwendbarkeit konnte aber gezeigt werden. Der Erfolg der Umsetzungen eröffnete eine neue Methode zur parallelen Synthese von Peptidylaldehyden, die wegen ihrer vielfältigen biologischen Aktivität wertvolle biologische Substrate darstellen (Abschnitt 4). Die Ergebnisse der weiterführenden Untersuchungen hierzu werden in Abschnitt 4 ausführlich diskutiert

Tab. 15 Oxidation von Fmoc-Aminoalkoholen mit IBX-Harz.

Pos.	Edukt	Produkt	HPLC-Reinheit [%]
1	Fmoc-Ala-ol (61)	Fmoc-Ala-H (62)	95
2	Fmoc-Leu-ol (63)	Fmoc-Leu-H (64)	84
3	Fmoc-Ile-ol (65)	Fmoc-Ile-H (66)	83
4	Fmoc-Phe-ol (67)	Fmoc-Phe-H (68)	92 (82) ⁽¹⁾
5	Z-Phe-ol (69)	Z-Phe-H (70)	60

⁽¹⁾ Isolierte Ausbeute

3.3.5 Oxidation von Alamethicin (F30) mit IBX-Harz

Alamethicin (F30) (**71**) ionenkanalbildender 20-Peptidalkohol aus *Trichoderma viride* [Irm77] wurde mit 3 eq. IBX-Harz 3 h bei Raumtemperatur in DCM umgesetzt. Das C-terminale Phenylalaninol wurde hierbei zum entsprechenden Aldehyd oxidiert. Die Peptidsequenz von Alamethicin ist:

Ac-Aib-Pro-Aib-Ala-Aib-Ala-Gln-Aib-Val-Aib-Gly-Leu-Aib-Pro-Val-Aib-Glu-Gln-Phe-ol (**71**)

In Abb. 3-20 ist das ES-FTICR-Massenspektrum nach Dekonvolution [Sch02] abgebildet. Größere Peptide und Proteine zeigen oft komplexe Massenspektren mit einer Vielzahl von Signalen. Aus diesen Signalen kann die Neutralmasse berechnet werden. Das Edukt- und Produktspektrum wurden getrennt vermessen. Vermutlich ist dies der längste bekannte Peptidylalkohol, der ungeschützt zum Aldehyd oxidiert werden konnte.

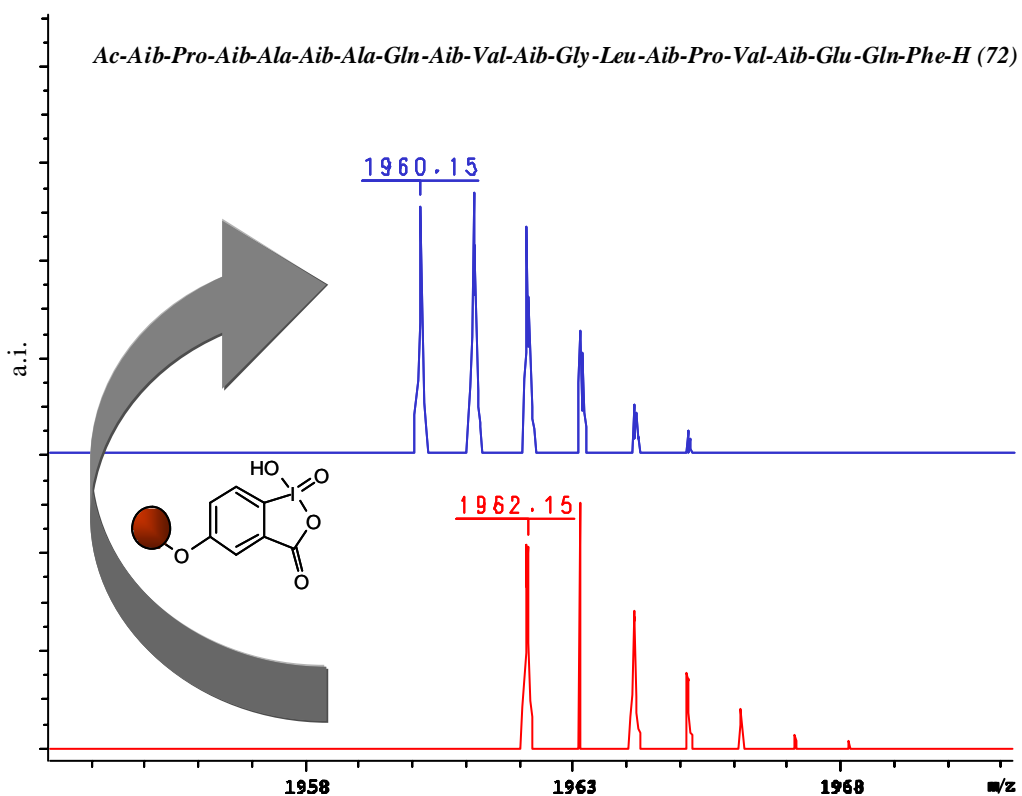


Abb. 3-20 ES-FTICR-Massenspektrum von Alamethicin (F30) (**71**) und des Alamethicin-Aldehyds nach Dekonvolution des Massenspektrums. (Es sind die Peaks der berechneten Neutralmassen zu sehen).

3.3.6 Oxidation schwefelhaltiger Verbindungen

Mehrere schwefelhaltige Verbindungen sollten mit IBX-Harz oxidiert werden. Die abgebildeten Beispiele Gallidermin (**72**) und Pam₃Cys-OH (**74**) haben die größte Aussagekraft bezüglich einer S-Oxidation, da Schwefelatome in Dialkylsulfiden leicht oxidierbar sind.

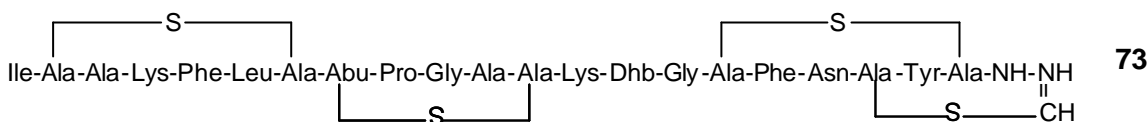


Abb. 3-21 Peptidsequenz von Gallidermin (**73**) (Lantibiotikum aus *Staphylococcus gallinarum*) [Jac97].

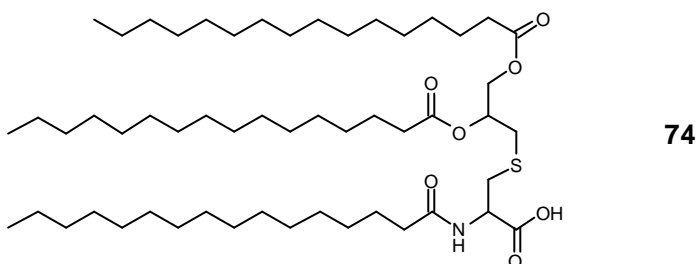


Abb. 3-22 Pam₃Cys-OH (**74**), der N-Terminus des Lipoproteins aus *Escherichia coli* [Wie83].

Die Analytik erfolgte mit höchstauflösender ES-FTICR-Massenspektrometrie und zeigte, dass mit IBX-Harz (2 eq.) in DCM nach 24 h Reaktionszeit und bei Raumtemperatur keine S-Oxidation erfolgt war. Diese Ergebnisse werden durch Untersuchungen von Nicolaou et al. bestätigt [Nic03]. Er beschrieb die Oxidation von stickstoff- und schwefelhaltigen Verbindungen mit IBX, ohne hierbei Schwefeloxide als Produkte zu erhalten.

3.3.7 Synthese von o-Benzochinonen

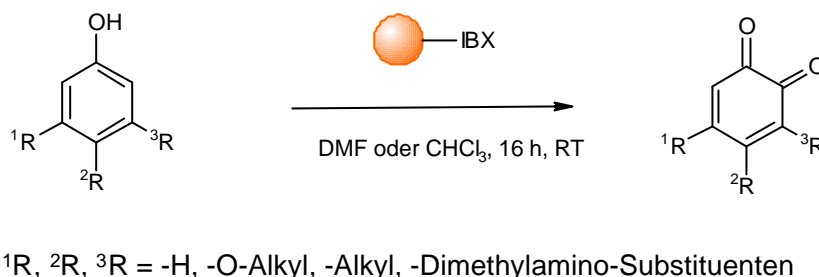


Abb. 3-23 Oxidation von Phenolen zu o-Benzochinonen mit IBX-Harz [Mag02].

Die Oxidation aktivierter Phenole zu o-Benzochinonen mit IBX in Lösung wurde kürzlich von Magdziak et al. beschrieben. Nach Reduktion der Ketofunktionen gelangt man zu den entsprechenden Catecholen, wichtigen Antioxidantien und potentiellen Krebstherapeutika. o-Benzochinone sind wegen ihres hoch reaktiven p-Elektronensystems vielseitig einsetzbare Michael-Akzeptoren [Hus03, Mag02].

Die in Tab. 16 aufgeführten Methoxy- und Alkylaminsubstituierten Phenole wurden mit IBX-Harz umgesetzt. Die Reaktionen wurden in CHCl_3 oder DMF 24 h bei Raumtemperatur durchgeführt. o-Benzochinone sind farbige Verbindungen. So zeigte die Lösung innerhalb weniger Minuten eine intensive Färbung von dunklem orange, über rot bis zu intensivem violett. Die Reaktionen wurden in deuterierten Lösungsmitteln durchgeführt und anschließend direkt mit NMR analysiert. Beim Entfernen der Lösungsmittel im Vakuum kam es durch die Konzentration der Verbindungen zu unbekanntem Nebenprodukten ausserdem aufgrund der Flüchtigkeit der o-Benzochinone zu einer geringen Reinheit der Produkte. Diese Problematik wurde von Magdziak et al. ebenfalls erwähnt. Die Produktidentifikation erfolgte zusätzlich mit HPLC und EI-MS. Einfach substituiertes 4-Methoxyphenol konnte nicht zum o-Benzochinon oxidiert werden. Die Oxidation von 3,5-Dimethoxyphenol führte zu einem unbekanntem Produkt mit der Masse $m/z = 322$ (M^+).

Tab. 16 Oxidation von Phenolen zu o-Benzochinonen mit IBX-Harz.

Pos.	Edukt	Produkt	HPLC [%]	EI-MS
1	4-Methoxy-1-naphthol (75)	4-Methoxy-[1,2]naphthochinon (76)	13	188
2	3,5-Dimethoxyphenol (77)	Produkt unklar	80 ⁽³⁾	322
3	3-Diethylaminophenol (78)	4-Diethylamino-[1,2]benzochinon (79)	64 ⁽¹⁾	179
4	3,4-Methylenedioxyphenol (80)	Benzo[1,3]dioxol-5,6-dion (81)	95 ⁽²⁾	152

⁽¹⁾ in Chloroform; ⁽²⁾ in DMF; ⁽³⁾ unbekanntes Produkt

In Abb. 3-24 sind HPLC-Chromatogramm (**A**) und EI-MS-Analytik (**B**) der Umsetzung von 3-Diethylaminophenol zu 4-Diethylamino-[1,2]-benzochinon (**79**) exemplarisch gezeigt. Die Umsetzung zeigte eine HPLC-Reinheit von 64 % ($\lambda = 214$ nm). Das Produkt konnte im MS-Spektrum bei $m/z = 179$ (M^+) detektiert werden. Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von 4-Methoxy-[1,2]naphthochinon (**76**), 4-Diethylamino-[1,2]benzochinon (**79**) und Benzo[1,3]-dioxol-5,6-dion (**81**) sind in Abschnitt 6.5.4 aufgeführt.

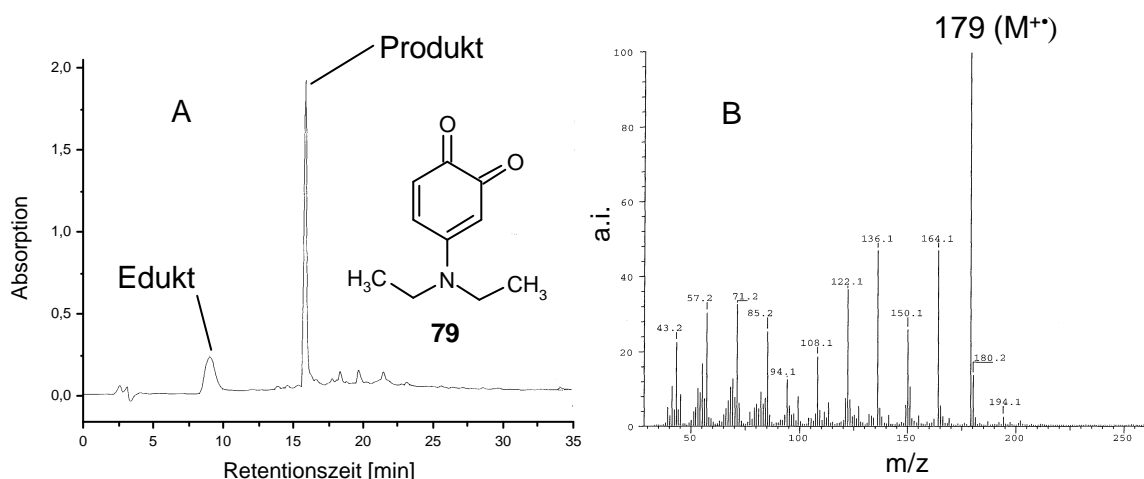


Abb. 3-24 **A:** HPLC-Chromatogramm der Umsetzung von 4-Diethylaminophenol (**78**) zu 4-Diethylamino-[1,2]benzochinon (**79**) mit IBX-Harz (Produktreinheit: ($\lambda = 214$ nm) 64 %). **B:** EI-MS-Spektrum von 4-Diethylamino-[1,2]benzochinon (**79**): $m/z = 179$ (M^+).

3.4 IBX-Synthese auf ULTRA-Harz

Die Grenze der Beladungskapazität auf Merrifield-Harz liegt bei ungefähr 4,5 mmol/g. Zudem ist die Quellbarkeit dieser Harze in polar protischen Lösungsmitteln sehr schlecht. Polymergebundenes IBX auf einem hochbeladbaren Harz mit guten bis sehr guten Quelleigenschaften sowohl in organisch apolaren, in organisch polaren Lösungsmitteln und in Wasser darzustellen verbessert die Atomeffizienz und vergrößert den Anwendungsbereich des Reagenzes. Ein Harz mit diesen Eigenschaften, das sogenannte ULTRA-Harz (**82**), baut auf linearen Polyethylenimin-Einheiten mit Terephthaldialdehyd als Quervernetzer auf. Es wurde im Jahre 2002 vorgestellt [Rad02]. Die Beladungskapazität liegt bei maximal 15 mmol/g.

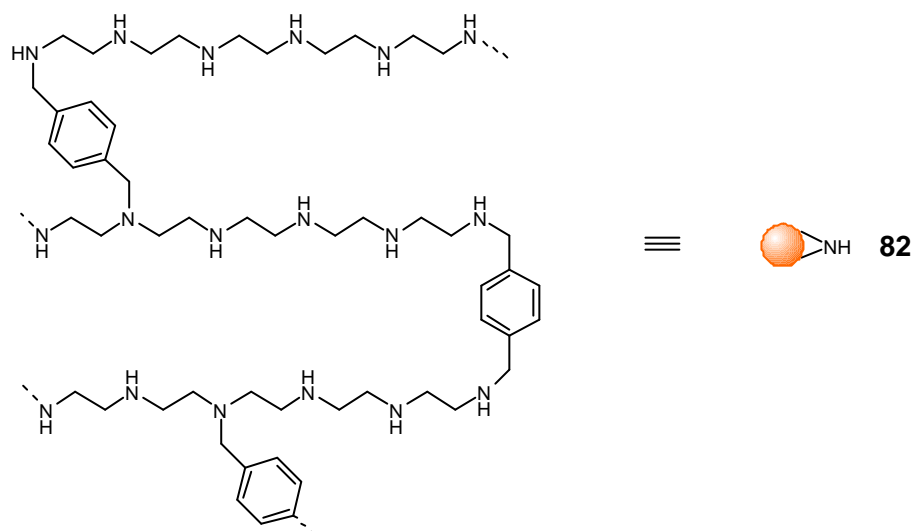


Abb. 3-25 Struktur von ULTRA-Harz: Struktur bestehend aus linearen Polyethylenimin-Einheiten, die über Terephthaldialdehyd quervernetzt, und mit NaBH_4 reduziert wurden [Rad02]. Die Beladung erfolgt über die sekundären Aminogruppen des Polyethylenimins.

3.4.1 Synthese von Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester

Die Synthese von IBX auf ULTRA-Harz erfolgte ausgehend von Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäure, das über eine Amid-Bindung auf dem Harz immobilisiert wurde.

Hierzu wurde 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester (**12**) mit Bromessigsäure-*tert.*-butylester (4 eq.) (**83**) und Cäsiumcarbonat (6 eq.) als Base in DMF eine Stunde bei 80°C und anschließend zwei Stunden bei 60°C umgesetzt. Die Reaktionslösung wurde mit

EtOAc versetzt und mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt (**84**) durch Flash-Säulenchromatographie gereinigt. Der *tert.*-Butylester wurde mit einer Reinheit von 97% (HPLC) isoliert (Ausbeute: 74%). Anschließend wurde mit TFA (100%) bei Raumtemperatur die *tert.*-Butyl-Schutzgruppe abgespalten (**84** – **85**; Abb. 3-25) [Bar00, Rob00]. Der Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester hatte eine Reinheit von 96% (HPLC). Das Rohprodukt (**85**) wurde ohne Reinigung am ULTRA-Harz immobilisiert.

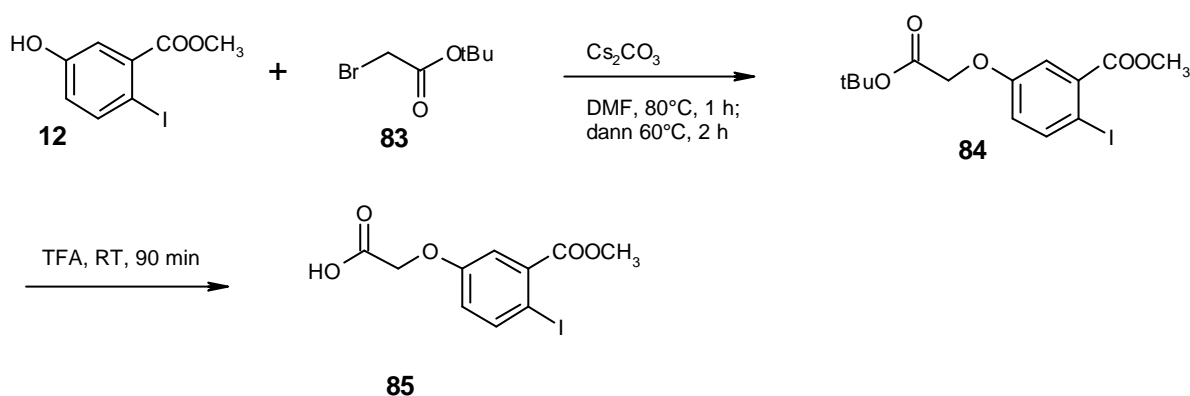


Abb. 3-26 Synthese von Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester (**85**): 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester (**12**) wurde mit Bromessigsäure-*tert.*-butylester und Cäsiumcarbonat in DMF verethert. Anschließend wurde die *tert.*-Butylgruppe des 5-*tert.*-Butoxycarbonylmethoxy-2-iodbenzoesäuremethylesters (**84**) abgespalten und die Säure **85** erhalten.

3.4.2 Synthese von polymergebundenem IBX an ULTRA-Harz

Das verwendete ULTRA-Harz hatte eine Ausgangsbeladung von 12 mmol/g. Dieser Wert gibt die Anzahl primärer und sekundärer Aminofunktionen an, die durch den Gesamtstickstoffgehalt aus der Elementaranalyse und der zugesetzten Menge des Quervernetzters berechnet werden.

Der Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester (1 eq.) (**85**) wurde mit HOAt (0,5 M Lösung in DMF) und DIC als Kupplungsreagenzien in DCM am ULTRA-Harz immobilisiert. HOAt ist bei Kupplungsreaktionen auf sekundäre Aminofunktionen besser geeignet als HOBt [The02]. Das getrocknete Harz wurde anschließend gewogen. Der Massenzuwachs entsprach ungefähr einer Kupplungsausbeute von 70% bezogen auf die theoretisch mögliche Beladung. Der Chloranil-Test auf sekundäre Aminofunktionen war positiv. Die noch freien sekundären und primären Aminofunktionen wurden mit

Acetanhydrid, DIEA, DMF (8:2:1) 2 h bei Raumtemperatur acetyliert. Anschließende FT-ATR-IR-Spektroskopie zeigte bei 1726 cm^{-1} die symmetrische C=O Valenzschwingung des Methylesters und bei 1652 cm^{-1} die symmetrische C=O Valenzschwingung des sekundären Amids (Abb. 3-28).

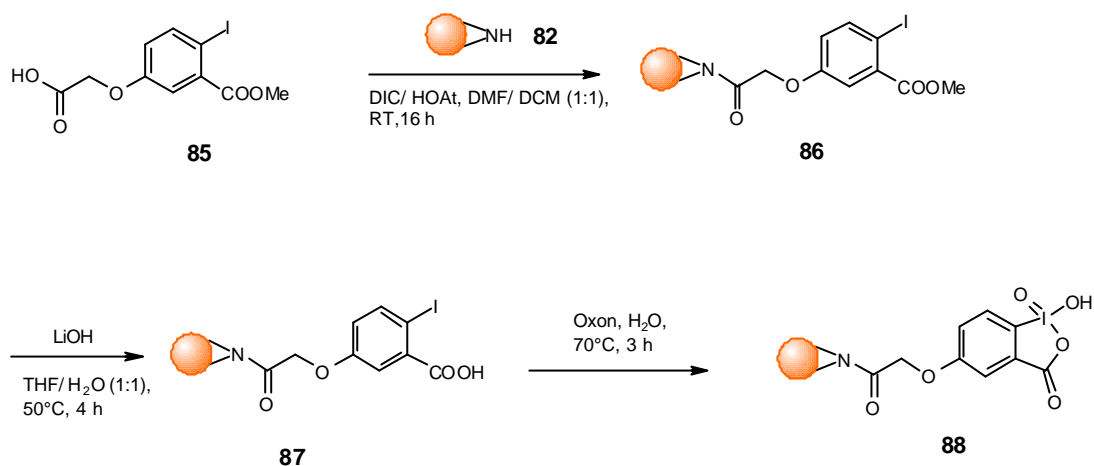


Abb. 3-27 Synthese von polymergebundenem IBX an ULTRA-Harz (**82**). Die Immobilisierung von **85** erfolgte mit DIC/HOAt als Kupplungsreagenzien in DMF/DCM (1:1). Der immobilisierte Methylester (**86**) wurde anschließend mit LiOH in THF/H₂O (1:1) verseift. Die Oxidation der immobilisierten 2-Iodbenzoesäure (**87**) wurde mit Oxon in H₂O bei 70°C nach Frigerio et al. durchgeführt [Fri99].

Der polymergebundene 2-Iodbenzoesäuremethylester (**87**) wurde anschließend mit LiOH in THF/Wasser (1:1) 4 h bei 50°C verseift. Die Esterbande war anschließend im FT-ATR-IR-Spektrum nicht mehr sichtbar. Die C=O Valenzschwingung der Säure lag bei 1637 cm^{-1} . Die Bande des N,N-disubstituierten Amids lag bei 1580 cm^{-1} (Abb. 3-28).

Die Oxidation von **87** zu **88** erfolgte mit Oxon in Wasser, 3h bei 70°C. Nach jeweils 30 min wurde die Reaktionssuspension eine Minute bei RT stark durchmischt. Diese Bedingungen entsprechen denen der IBX-Synthese in Lösung von Figerio et al. [Fri99]. Das Harz quoll nach diesem Oxidationsschritt in Wasser sehr schlecht, was darauf hindeutet, dass bei sehr hohen Beladungen die physikalischen Eigenschaften des Polymers gegenüber denen der immobilisierten Spezies nur noch eine untergeordnete Rolle spielen. Die Quellbarkeit in Wasser war bei den vorangegangenen Reaktionsritten noch sehr gut gewesen. Das Harz wurde anschließend mit THF, DCM und Diethylether gewaschen. Das FT-ATR-IR-Spektrum des polymergebundenen Reagenzes ist dem des in Lösung synthetisierten IBX sehr ähnlich (Abb. 3-28). Die C=O Valenzschwingung liegt bei 1643

cm^{-1} (IBX: 1633 cm^{-1} ; vgl. Abschnitt 3.2.3.4.6). Eine weitere charakteristische Bande liegt bei 1576 cm^{-1} (IBX: 1566 cm^{-1} ; vgl. Abschnitt 3.2.3.4.6).

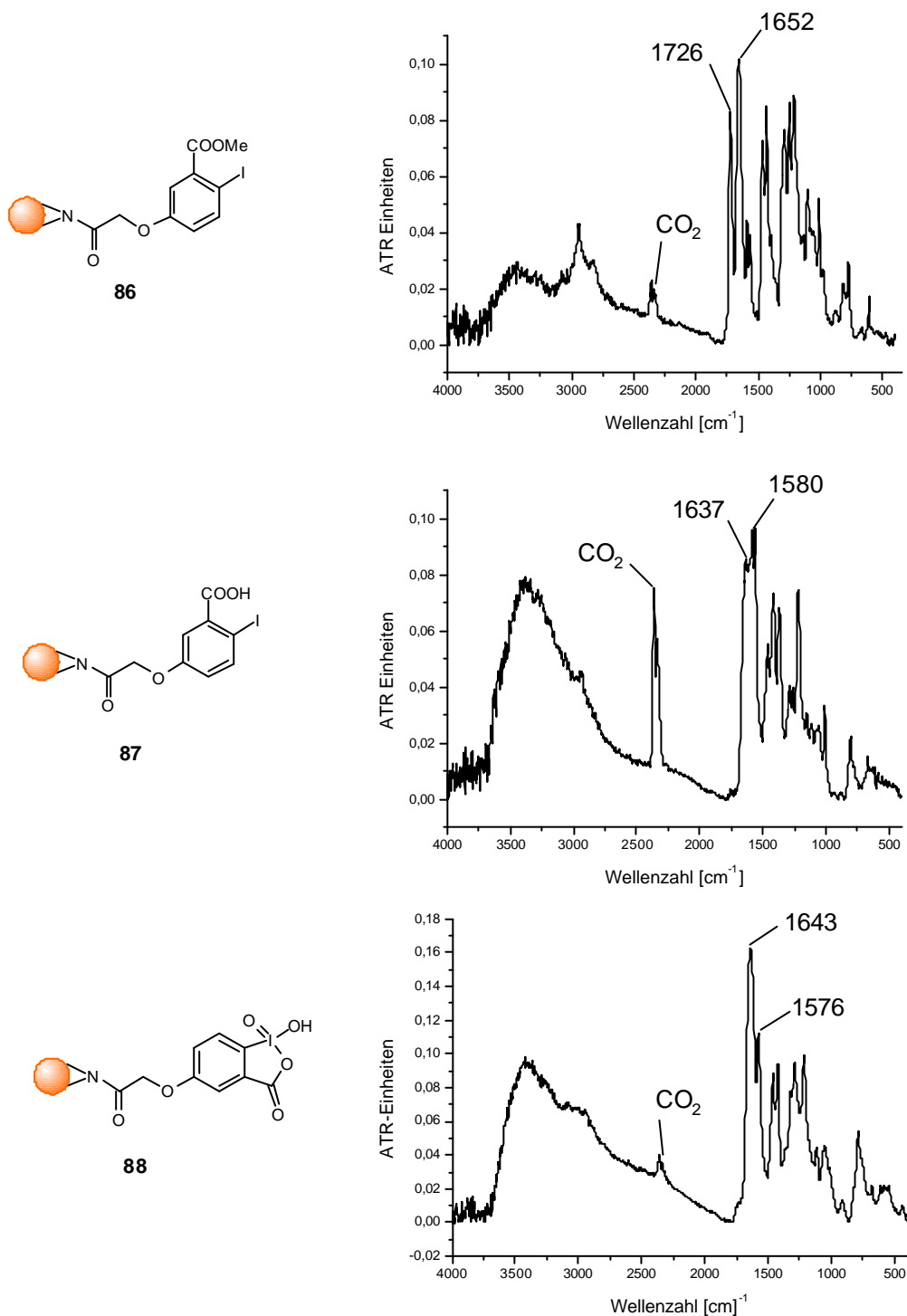


Abb. 3-28 FT-ATR-IR-Spektren der einzelnen Reaktionsschritte der Synthese von polymergebundenem IBX auf ULTRA-Harz. Die Wellenzahlen der für die Synthese wichtigen Banden der immobilisierten Verbindung sind gekennzeichnet: **(86)** Ester C=O Valenzschwingung: 1726 cm^{-1} ; sekundäres Amid C=O Valenzschwingung 1652 cm^{-1} . **(87)** Säure C=O Valenzschwingung 1637 cm^{-1} , sekundäres Amid C=O Valenzschwingung 1637 cm^{-1} . **(88)** Ester C=O Valenzschwingung 1643 cm^{-1} . Die Bande bei 1576 cm^{-1} wurde nicht zugeordnet.

Die IR-Analytik des IBX-ULTRA-Harzes ergab Spektren, die denen von IBX ähnlicher sind als die entsprechenden IR-Spektren nach der Synthese auf Polystyrol-basierten Harzen. Versuche, mit IBX-ULTRA-Harz Oxidationen durchzuführen führten zu keinerlei Umsetzung von Alkoholen zu Aldehyden. Als mögliche Ursachen kommen u.a. die schlechten Quelleigenschaften nach der Oxidation oder eine mögliche Salzbildung der Aminogruppen mit der Iodsäure, infrage. Ebenso ist es möglich, dass die Oxidation nur zur IBA-Stufe (I(+III)) gelingt. Dieser Sachverhalt ist Gegenstand weitergehender Untersuchungen, die im Rahmen dieser Dissertation nicht behandelt werden.

4 Peptidylaldehyde

4.1 Festphasengestützte Synthese von Peptidylaldehyden

Es sind etliche Möglichkeiten zur parallelen Synthese von Peptidylaldehyden beschrieben worden. Dennoch hat sich noch keine dieser Methoden als besonders verlässlich oder einfach handhabbar herausgestellt. Die parallele Synthese größerer Verbindungskollektionen von Peptidylaldehyden zur biologischen Testung stellt auch weiterhin ein gewichtiges Problem dar. Dies gilt besonders, wenn trifunktionelle Aminosäuren in die Verbindungen eingebaut werden sollen.

Es wurde nach einer robusten und einfachen Synthesestrategie für solche Verbindungen gesucht, die im Hinblick auf ihre Verwendung als Caspase-Inhibitoren auch den Einbau geschützter trifunktioneller Aminosäuren erlaubt. Die im Folgenden gezeigte Vorgehensweise ist im Gegensatz zu bereits beschriebenen Methoden, sehr gut für parallele Ansätze geeignet [Yao01, Gal97, Feh95, Mur92].

In Abschnitt 3 wurde die Entwicklung von polymergebundenem IBX beschrieben. Es erwies sich wie IBX als effektives und mildes Oxidationsmittel. Dies führte schließlich zur Synthese der im Folgenden beschriebenen Peptidylaldehydkollektion.

Da Fmoc- β -Aminoalkohole nur zum Teil käuflich oder sehr teuer sind, wurden sie synthetisiert und anschließend auf TCP-Harz immobilisiert. In jüngster Zeit verkauft die IRIS Biotech GmbH (Marktrechwitz, Deutschland) bereits harzgebundene Aminoalkohole. Die Auswahl ist allerdings auf Aminoalkohole ohne funktionelle Gruppen in den Seitenketten begrenzt.

4.1.1 Darstellung von Fmoc- β -Aminosäurealkoholen aus den Carbonsäuren

Die Aktivierung der Säurefunktion vor der Reduktion zum Alkohol wird in der Literatur entweder über die Bildung von Aktivestern (Pentafluorphenylestern [Kis73], N-Succinimidylestern [Nik79]), Säurefluoriden [Kok96], Carboxyanhydriden [Feh94], oder gemischten Anhydriden wie Isobutylanhydriden [Wen98, Boe01]), beschrieben.

Die Synthese über Isobutylanhydride erwies sich als günstige, einfache Methode mit guten Ausbeuten. Die Synthese über Pentafluorphenylaktivester, beschrieben von R. Warrass ist teurer, ohne weitere Vorteile zu bieten [War97].

Die Reduktion der aktivierten Carbonsäuren wurde schließlich mit NaBH₄ durchgeführt [Boe01]. Sie verläuft zügig und toleriert bei RT vorhandene Drittfunktionalitäten wie Säureamide, Carbamate und nichtaktivierte Carbonsäureester. Die Schutzgruppen der Drittfunktionalitäten sind Tab. 17 zu entnehmen.

Tab. 17 Synthetisierte Aminoalkohole

Pos.	Aminoalkohol	Ausbeute	Reinheit [HPLC]	ES-MS [M+H]⁺
1	Fmoc-Cys(Trt)-ol (89)	51% (7,3 g)	> 99% ^[1]	572,2
2	Fmoc-Asp(tBu)-ol (90)	72% (7,2 g)	> 99% ^[1]	398,0
3	Fmoc-Glu(tBu)-ol (91)	85% (8,7 g)	DC-rein	412,0
4	Fmoc-Phe-ol (92)	92% (8,6 g)	> 99%	374,2
5	Fmoc-Gly-ol (93)	94% (7,0 g)	> 99% ^[1]	284,1
6	Fmoc-His(Trt)-ol (94)	62% (9,6 g)	DC-rein	606,2
7	Fmoc-Ile-ol (95)	78% (6,9 g)	DC-rein	340,1
8	Fmoc-Lys(Boc)-ol (96)	80% (9,4 g)	> 99% ^[1]	455,2
9	Fmoc-Leu-ol (97)	73% (6,2 g)	> 99% ^[1]	340,0
10	Fmoc-Met-ol (98)	95 % (8,5 g)	97% ^[1]	358,0
11	Fmoc-Asn(Trt)-ol (99)	25% (3,6 g)	> 99% ^[1]	583,3
12	Fmoc-Arg(Pbf)-ol (100)	62% (9,8g)	96% ^[1]	635,7
13	Fmoc-Ser(tBu)-ol (101)	59% (5,7 g)	DC-rein	370,0
14	Fmoc-Val-ol (102)	70% (6 g)	DC-rein	326,0
15	Fmoc-Trp(Boc)-ol (103)	67 % (8,8 g)	> 99% ^[1]	513,2
16	Fmoc-Tyr(tBu)-ol (104)	75% (8,3 g)	DC-rein	446,1

^[1] säulenchromatographisch gereinigt.

Die Fmoc-geschützten Aminoalkohole (**89** – **104**) wurden in Ansätzen zu je 25 mmol in wasserfreiem Dimethoxyethan (DME) unter Zusatz äquimolarer Mengen von NMM und

Isobutylchlorformiat (**106**) bei -15°C unter N_2 -Atmosphäre dargestellt. Nach vollständiger Umsetzung wurde das ausgefallene NMM-Hydrochlorid abfiltriert und NaBH_4 zur Reduktion zugegeben. In den meisten Fällen fiel das Produkt sofort als Feststoff an und konnte filtriert werden. Bei Ölen wurde das DME im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde anschließend in DCM gelöst. Durch Zugabe von Hexan konnte der Aminoalkohol ausgefällt und filtriert werden. Dieses Syntheseprinzip wurde bei allen in Tab. 17 aufgeführten Aminoalkoholen angewandt. Es wurden Ausbeuten zwischen 30 und 94% erzielt. Eine säulenchromatographische Reinigung wurde ausschließlich bei nicht DC-reinen Produkten durchgeführt. (Tab. 17) Die Säulenchromatographie wurde mit dem Laufmittelgemisch Essigsäureethylester/Dichlormethan (1:1) mit einem Zusatz von 0,3% Triethylamin durchgeführt. Dies gleicht einer Filtration über Kieselgel, da noch vorhandene Aminosäure deprotoniert und deshalb nicht eluiert wird. Nach der Säulenchromatographie zeigten alle Fmoc- β -Aminoalkohole (**89 – 104**) eine HPLC-Reinheit ($\lambda = 214 \text{ nm}$) größer 96%.

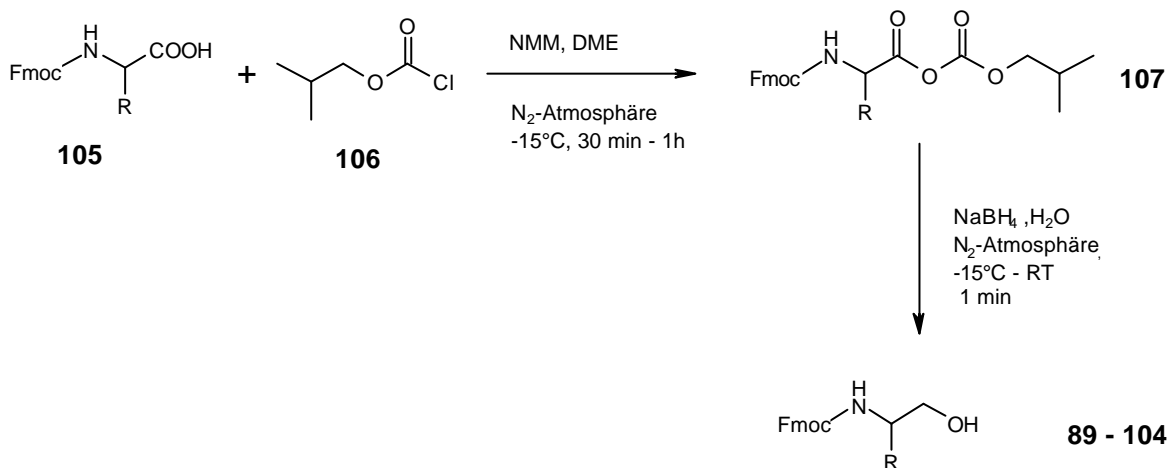


Abb. 4-1 Darstellung von Fmoc- β -Aminoalkoholen (**89 - 104**) aus den Fmoc- α -Aminocarbonsäuren (**105**) nach Boeijen et al. [Boe01].

4.1.2 Analytik der Aminoalkohole

Die weitere Charakterisierung der Aminoalkohole (**89** – **104**) erfolgte durch ES-MS und NMR. Die gefundenen Massen $[M+H]^+$ der protonierten Aminoalkohole sind in Tab. 17 aufgeführt. Nebenprodukte wurden nicht charakterisiert, da sie für die nachfolgende automatisierte Synthese der Peptidylalkohole ohne Bedeutung waren.

4.1.2.1 NMR-Analytik

Von allen Fmoc- β -Aminoalkoholen (**89** – **104**) wurden ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren aufgenommen. Für die Signalzuordnung wurden ausserdem Dept135, ^1H ^1H -COSY und ^1H ^{13}C -COSY Messungen durchgeführt. Die Fmoc-Schutzgruppe zeigt in allen Fällen ein eindeutiges Signalmuster. Die Messungen wurden in d_6 -Aceton, CDCl_3 oder d_6 -DMSO durchgeführt. In Abb. 4-2 ist das ^{13}C -NMR Spektrum von Fmoc-Cys(Trt)-ol (**89**) in CDCl_3 exemplarisch abgebildet.

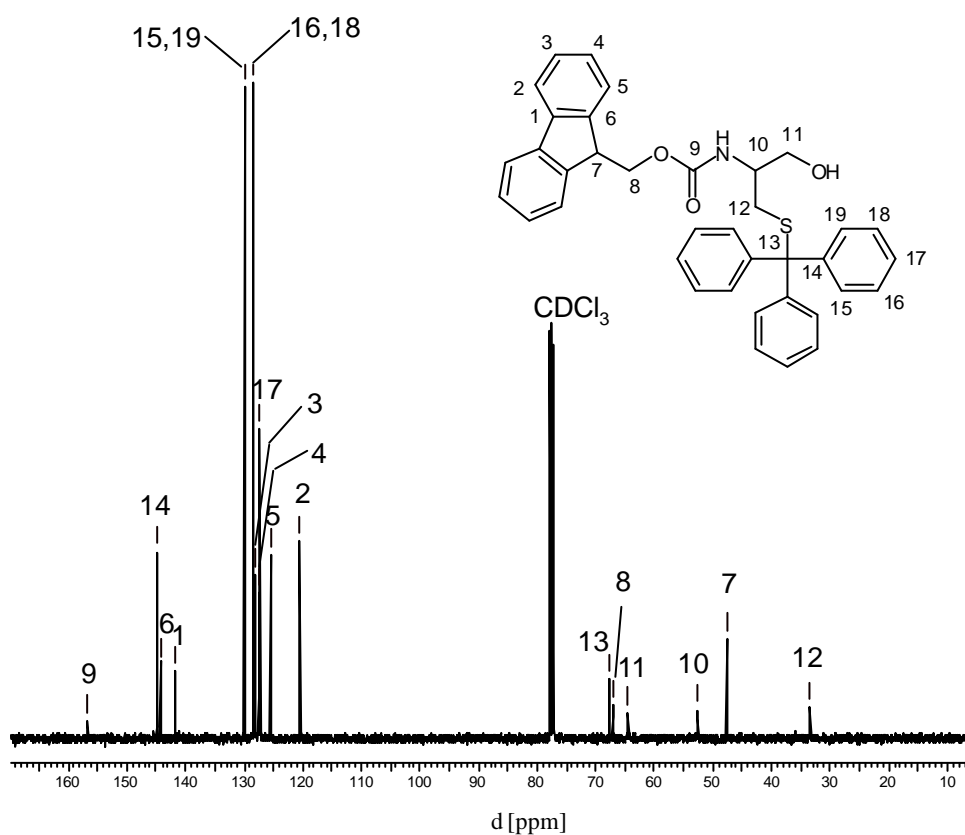


Abb. 4-2 ^{13}C -NMR Spektrum von Fmoc-Cys(Trt)-ol (**89**) ($c = 50$ mg/ml); CDCl_3 .

des Kaiser-Tests auf freie Aminogruppen überprüft [Kai70]. Nach dem Aufbau der Sequenz wurde die terminale Aminogruppe entweder acetyliert oder benzyliert und mit einer Mischung aus Hexafluorisopropanol (HFIP) und Essigsäure in DCM vom Harz abgespalten (**4**). Die Ansatzgröße betrug jeweils 120 μmol .

Die Peptidsynthese wurde, entweder von Hand und mit Hilfe eines Simultanen Multiplen Peptidsynthesizers (SMPS 350, Zinsser Analytic, Frankfurt, Deutschland), parallelisiert durchgeführt.

4.1.4 Analytik der Peptidylalkohole

Die Reinheitskontrolle der Peptidylalkohole erfolgte HPLC-chromatographisch. Die Identifizierung der Verbindungen erfolgte mit ES-MS-Analytik. $^1\text{H-NMR}$ -Analytik bestätigte die Ergebnisse der Massenspektrometrie. Exemplarisch ist in Abb. 4-4 die Analytik von Z-Ile-Glu(tBu)-Ala-Leu-ol (**114**) gezeigt (HPLC-Chromatogramm und ES-MS-Spektrum).

Die dargestellten Peptidylalkoholsequenzen und die analytischen Daten sind in Tab. 18 gezeigt.

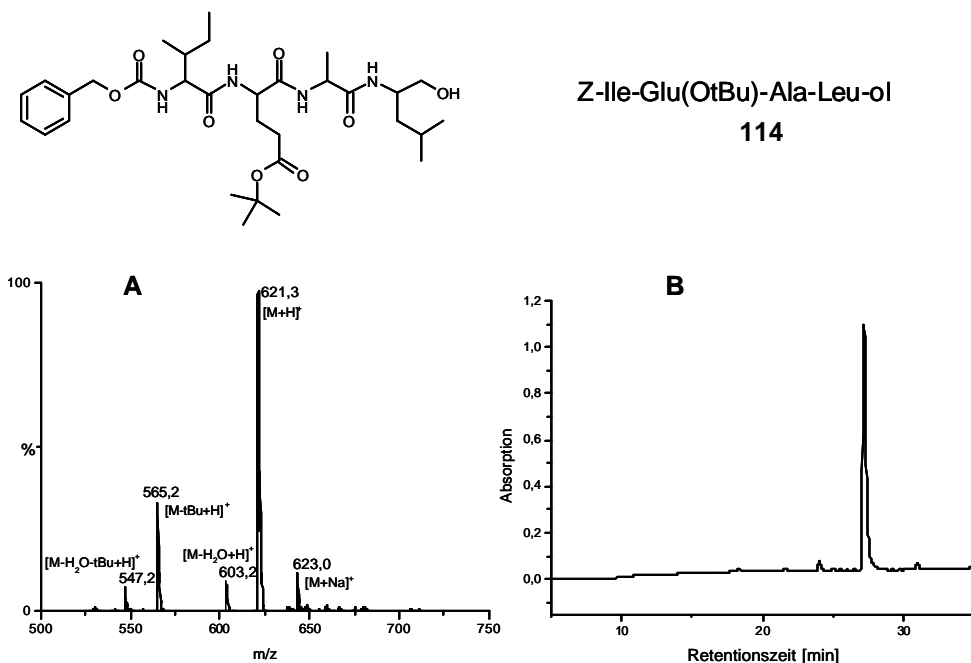


Abb. 4-4 A: HPLC-Chromatogramm (Rohprodukt) von Z-Ile-Glu(tBu)Ala-Leu-ol (**114**) (HPLC-Reinheit: 97%, $\lambda = 214 \text{ nm}$). **B:** ES-MS (Rohprodukt) von Z-Ile-Glu(tBu)-Ala-Leu-ol (**114**) mit $[\text{M}+\text{Na}]^+$: m/z = 623,0; $[\text{M}+\text{H}]^+$: m/z = 621,3; $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$: m/z = 603,2; $[\text{M}-\text{tBu}+\text{H}]^+$: m/z = 565,2; $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{tBu}+\text{H}]^+$: m/z = 547,2.

Tab. 18 Ausbeuten und analytische Daten der seitenkettengeschützten Peptidylalkohole. Die Schutzgruppen sind Tab. 17 zu entnehmen.

Pos.	Peptidylalkohol	Ausbeute	Reinheit [HPLC]	ES-MS [M+H] ⁺
1	Ac-LLL-ol (107)	70% (32,5 mg)	97%	386
2	Ac-FVAV-ol (108)	72% (40,0 mg)	99%	463
3	Z-LLV-ol (109)	88% (49,0 mg)	97%	464
4	Ac-FVAG-ol (110)	58% (29,0 mg)	99%	421
5	Ac-FIW-ol (111)	49% (34,6 mg)	97%	593
6	Ac-WEHD-ol (112)	30% (37,9 mg)	91%	1068
7	Z-GFG-ol (113)	63% (30,0 mg)	> 99%	400
8	Z-IEAL-ol (114)	81% (60,0 mg)	98%	621
9	Ac-FVAL-ol (115)	61% (35,0 mg)	98%	477
10	Z-LLI-ol (116)	75% (43,0 mg)	98%	478
11	Ac-FVAI-ol (117)	91% (52,0 mg)	97%	477
12	Ac-FVAS-ol (118)	71% (43,0 mg)	99%	507
13	Ac-FVAD-ol (119)	50% (32,0 mg)	97%	535
14	Ac-A-Thz-D-ol (120)	70% (36,0 mg)	99%	429
15	Ac-FVAK-ol (121)	65% (46,0 mg)	97%	592
16	Ac-FVAM-ol (122)	55% (33,0 mg)	96%	495
17	Ac-LLM-ol (123)	52% (25,0 mg)	93%	404

4.1.5 Auswahl chemisch und biologisch interessanter Sequenzen

Das biochemische Kriterium für die Auswahl einer bestimmten Peptidylaldehydsequenz zur Synthese ist ihre biologische Relevanz. Für den Chemiker ist ausserdem interessant, welche Anwendungsbreite eine Synthesestrategie aufweist. Aus diesem Grund hatte im Vorfeld eine Auswahl hinsichtlich der bestehenden biologischen und biochemischen Bedeutung stattgefunden. Die Untersuchung der experimentellen Bandbreite wurde durch die Variation des C-terminalen Alkohols mit einer ansonsten gleichbleibenden Sequenz untersucht. Willkürlich wurde dazu die Sequenz FVAX-H gewählt.

Beispiele:

Z-LLL-H, ZIEAL-H (E ist tBu geschützt) sind bekannte Inhibitoren des Proteasoms [Tho97, Fig94].

Ac-DEVD-H, Ac-ESMD-H, Ac-WEHD-H und Ac-YVAD-H sind bekannte Caspase-Inhibitoren [Riv00].

Ac-FVR-H, Ac-LVK-H, Z-GFG-H, Ac-FIW-H und Ac-LLM-H sind bekannte Cathepsin L/B Inhibitoren [McC93].

4.1.6 Oxidation der Peptidylalkohole mit IBX-Harz

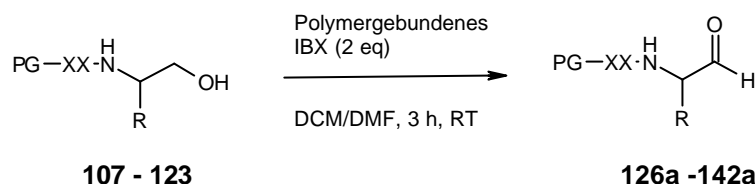


Abb. 4-5 Oxidation der Peptidylalkohole mit polymergebundenem IBX.

Die Löslichkeit der Peptidylalkohole ist in Methanol am größten. Methanol ist aus zwei Gründen jedoch ungeeignet. Erstens oxidiert IBX-Harz Methanol und wird somit selbst deaktiviert, und zweitens ist das Quellverhalten von IBX-Harz in Methanol sehr schlecht. Das Lösen der Peptidylalkohole wurde dadurch erreicht, dass DCM mit DMF, und wenn notwendig mit DMSO versetzt wurde. Wichtig war, dass ein definiertes Volumen nicht überschritten wird um schlechtere Umsetzungen durch Verdünnung zu vermeiden (Abschnitt 3.2.3.4.8).

Die Oxidationen wurden manuell durchgeführt. Das verwendete IBX-Harz stammte aus einer einzigen, kurz zuvor hergestellten Charge (Oxidationskapazität: 0,71 mmol/g).

Nach der Reaktion wurde die Reaktionssuspension filtriert und das Harz mit DCM gewaschen. Die flüchtigen Lösungsmittel wurden im Vakuum entfernt; DMF und DMSO mit Stickstoff abgeblasen. Dies ist aber ungünstig, da hierdurch der Geschwindigkeitsvorteil der parallelen Synthese verloren teilweise geht. Die erhaltenen Rohprodukte (**126a – 142a**) wurden anschließend mehrfach mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O lyophilisiert.

4.1.7 Scavenging

Der rohe Peptidylaldehyd ist nach der Oxidation immer mit nicht oxidiertem Peptidylalkohol verunreinigt. Dies ist am Beispiel einer HPLC-MS Untersuchung des Oxidationsproduktes von Ac-Val-Thz-Asp(tBu)-ol (**124**) in Abb. 4-6 dargestellt. In **A** ist der Totalionenstrom (TIC) gezeigt, der sämtliche detektierten Kationen enthält. In **B** ist die Massenspur des Alkohols und in **C** die Massenspur des Aldehyds abgebildet. Der Peptidylalkohol eluiert sowohl bei $t_R = 16$ min als auch $t_R = 17,3$ min. Der Peptidylaldehyd (**125**) eluiert bei $t_R = 17$ min. Aldehyd und Alkohol koeluiieren also in einem weiten Bereich und sind mit HPLC chromatographisch nicht trennbar. In **D** ist das Massenspektrum dieses koeluiierenden Bereichs abgebildet. Er zeigt sowohl Alkohol- als auch Aldehydsignale. Eventuell erfolgt die Bildung eines Halbacetals aus Peptidylaldehyd und Peptidylalkohol, das im Gleichgewicht mit den Monomeren vorliegt. Das Halbacetal ist im ES-MS-Spektrum mit der Masse $m/z = 713$ (M+H)⁺ detektierbar. Die Oxidation wurde in diesem Fall mit PySO₃•DMSO Komplex durchgeführt, was häufig zu Umsetzungen unter 50% führte. Deshalb war der Peptidylalkohol bei $t_R = 16$ min als isolierter Peak detektierbar.

Ede et al. modifizierten zum ersten Mal Synphase Crowns mit einem Threoninlinker um daran Aminoaldehyde zu immobilisieren und anschließend die Peptidsynthese an Fester Phase durchzuführen [Ede97]. Diese Methodik wurde hier in umgekehrter Reihenfolge angewandt. Wenn man ein Harz mit Threonin als Linker versehen hat und dieses in eine Reaktionslösung mit Aldehyden gibt, reagieren diese mit dem Linker. Dadurch kann der Peptidylaldehyd (**125**) problemlos von Peptidylalkohol (**124**) getrennt und damit auch gereinigt und isoliert werden. Dies ist sehr wichtig, da Peptidylalkohole und deren Aldehyde bei chromatographischen Trennmethoden wie HPLC koeluiieren (Abb. 4-6).

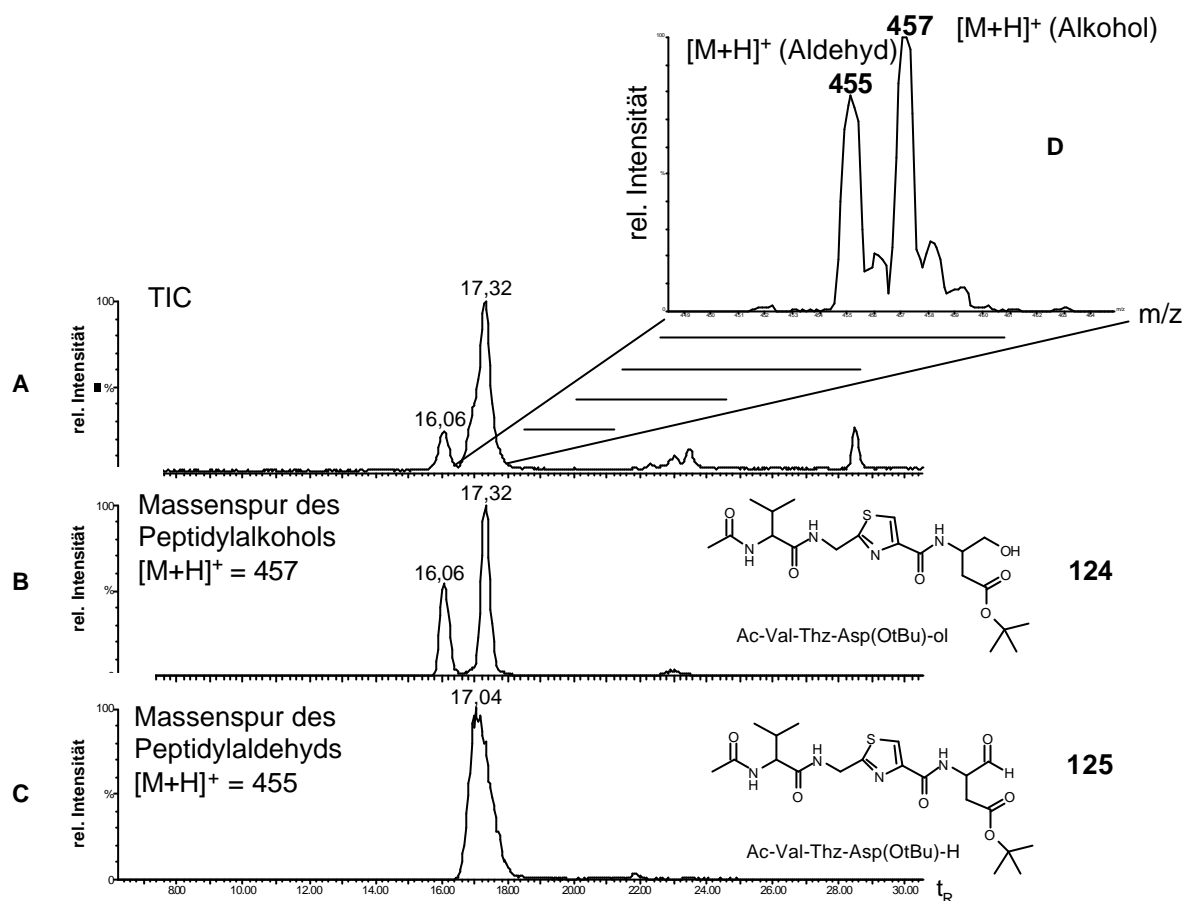


Abb. 4-6 HPLC-MS-Untersuchung des rohen Oxidationsproduktes von Ac-Val-Thz-Asp(OtBu)-ol (**124**). **A**: Totalionenstrom (TIC); **B**: Massenspur des Alkohols (**124**, Edukt); **C**: Massenspur des Aldehyds (**125**, Produkt). **D**: Massenspektrum des koeluiierenden Bereichs. Das Oxidationsprodukt enthält noch etwa 50% Peptidylalkohol.

4.1.8 Reinigung der Peptidylaldehyde via Capture-Release

Im Unterschied zu Ede et al. wurde Aminomethyl-PS Harz statt „Synphase Crowns“ (ein Copolymer aus Methacrylsäure, Dimethylacrylamid und Polyethylen) verwendet und mit Fmoc-Thr(tBu)-OH belegt [Ede97]. Die Beladung der erhaltenen vollgeschützten Scavenger-Harze lag zwischen 1,3 und 1,4 mmol/g. Die Schutzgruppen wurden mit Standardmethoden abgespalten. Die Fmoc-Schutzgruppe mit Piperidin/DMF (20%), die *tert.*-Butyl-Schutzgruppe mit TFA/H₂O/TIS (95:2,5:2,5; v:v:v) (B. Thern persönliche Mitteilung). Die Beladung des Threonin-Harzes betrug anschließend etwa 2 mmol/g.

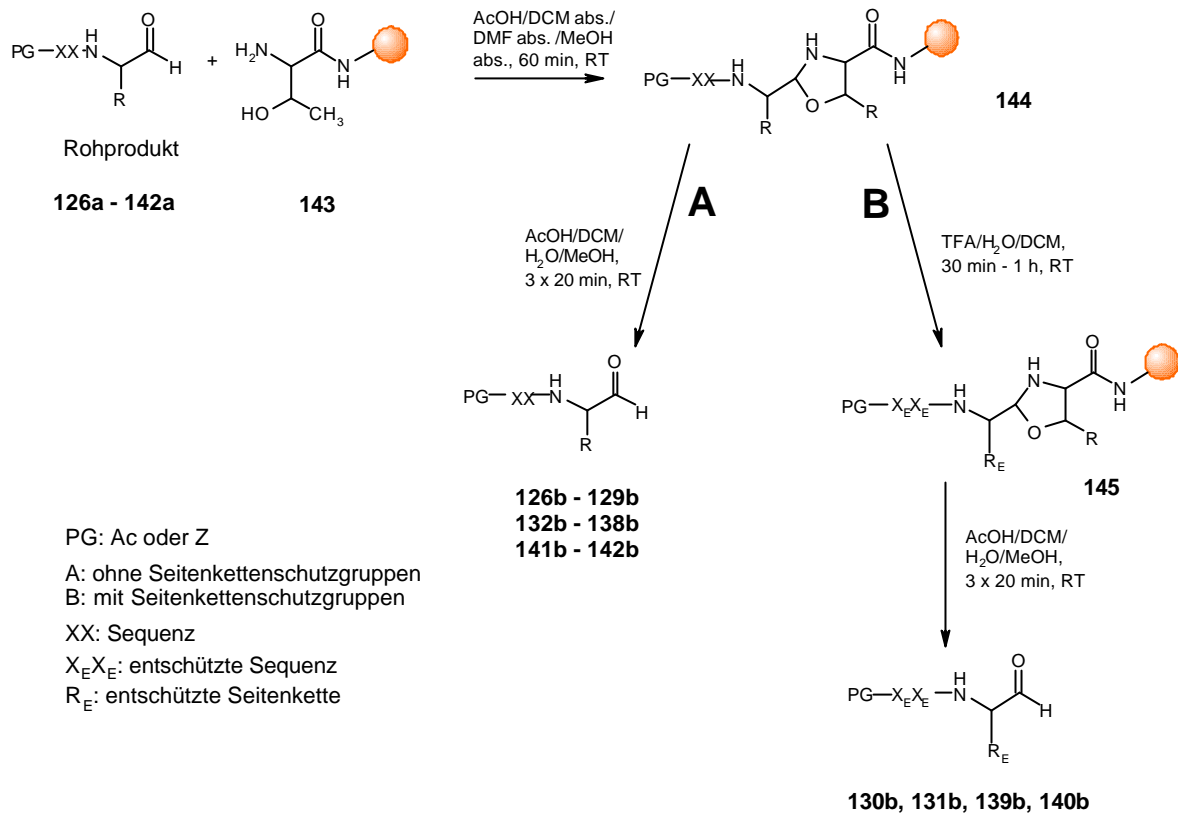


Abb. 4-7 Scavenging von Peptidylaldehyden (**126a – 142a**) mit Threonin-Harz (**143**). **A**: Die Peptidylaldehyde wurden nach Filtration und Waschen des Harzes direkt essigsauer abgespalten (**144** ? **126b – 129b, 132b – 138b, 141b – 142b**). **B**: Peptidylaldehyde mit Boc-, tBu- und Trt-Schutzgruppen der Seitenkettenfunktionen wurden mit TFA bei RT abgespalten (**144** ? **145**). Anschließend wurde der entschützte Peptidylaldehyd essigsauer abgespalten (**145** ? **130b, 131b, 139b, 140b**).

Zum Scavengen der Aldehyde wurden die Rohprodukte (**126a -142a**) in einer Mischung aus absolutem Methanol, DCM, DMF (30:3:2, v:v:v) und Eisessig (1%) gelöst und anschließend 2 eq. des Threoninharzes (**143**) zugegeben. Die Zusammensetzung der Lösungsmittel variierte je nach Löslichkeit des Rohprodukts. Der Anteil Essigsäure war konstant bei 1%. Die Immobilisierungsdauer betrug eine Stunde bei Raumtemperatur. Immobilisierung bei 50 - 60°C brachte zwar eine höhere Ausbeute, führte jedoch zu einer deutlichen Epimerisierung des Aldehyds (Abschnitt 4.1.10.1). Anschließend wurde das Harz filtriert und mit DCM gewaschen. Die HPLC-Analytik des Filtrats zeigte in einigen Fällen restlichen Aldehyd. In diesen Fällen wurde ein zweites Mal „gescavengt“. Bei der Immobilisierung mussten sowohl das Rohprodukt als auch die Lösungsmittel wasserfrei sein, um eine Abspaltung des Aldehyds zu verhindern.

Für die weitere Behandlung der immobilisierten Peptidylaldehyde (**144**) gab es nun zwei Möglichkeiten. Peptidylaldehyde ohne Seitenkettenschutzgruppen wurden nach Filtration und Waschen des Harzes direkt abgespalten. Dazu wurde eine Mischung aus AcOH, H₂O, DCM und MeOH (10:80:5:5, v:v:v:v) verwendet. Diese Prozedur wurde dreimal 20 min bei Raumtemperatur durchgeführt (**A**).

Peptidylaldehyde mit Seitenkettenschutzgruppen wurden am Polymer entschützt (**145**):

Boc- und tBu-Schutzgruppen

wurden mit einer Mischung aus TFA, H₂O und DCM (90:5:5, v:v:v) abgespalten. Die Abspatlösung wurde anschließend mit HPLC und MS untersucht. Es wurde kein oder kaum Aldehyd in der Abspatlösung detektiert. Die Abspaltung wurde drei Stunden bei Raumtemperatur durchgeführt.

Trt-Schutzgruppen

wurden zweimal mit einer Mischung aus TFA, H₂O und TIS (95:2,5:2,5; v:v:v) abgespalten.

Die Abspaltung von **144** vom Polymer erfolgte wie schon unter **A** beschrieben dreimal mit einer Mischung aus AcOH, H₂O, DCM und MeOH (10:5:5:80, v:v:v:v) je 20 min bei Raumtemperatur. Die Peptidylaldehyde **129b** und **131b** wurden anschließend mehrfach aus *tert.*-Butylalkohol/Wasser (4:1, v:v) lyophilisiert.

Die Kinetik der Ringöffnung und damit der Freisetzung des Aldehyds ist sehr stark abhängig vom Säure-Lösungsmittelgemisch. Threoninoxazolidine aus Aceton oder Formaldehyd zeigen in TFA-Wasser Mischungen deutliche Abspaltung (95:5, v:v). Benzaldehydderivate ergeben weniger als 10% Abspaltung. [Wöh96]. Die synthetisierten Peptidylaldehyde zeigten im System TFA-Wasser weniger als 1%, im System AcOH-Wasser aber 100% Abspaltung. Hierdurch wurde die Abspaltung der Seitenkettenschutzgruppen ohne gleichzeitige Aldehydabspaltung an fester Phase möglich.

4.1.9 HPLC und MS-Analytik der Peptidylaldehyde

Tab. 19 Analytik der Peptidylaldehyde nach Reinigung durch „Catch and Release“.

Pos.	Peptidylaldehyd	Ausbeute	Reinheit [HPLC]	ES-MS [M+H] ⁺
1	Ac-LLL-H (126b)	49% (22,5 mg)	> 99%	384
2	Ac-FVAV-H (127b)	36% (20 mg)	> 99%	461
3	Z-LLV-H (128b)	25% (14,0 mg)	> 99%	462
4	Ac-FVAG-H (129b)	30% (15,0 mg)	90%	419
5	Ac-FIW-H (130b)	8% (5 mg)	65%	493
6	Ac-WEHD-H (131b)	3% (2,3 mg)	93%	612
7	Z-GFG-H (132b)	27% (13,0 mg)	> 99%	398
8	Z-IEAL-H ^[3] (133b)	4% (3,0 mg)	85%	619 ^[1]
9	Ac-FVAL-H (134b)	18% (10,0 mg)	96%	475
10	Z-LLI-H (135b)	21% (12,0 mg)	99%	476
11	Ac-FVAI-H (136b)	23% (13,0 mg)	98%	475
12	Ac-FVAS-H (137b)	6% (3,5 mg)	70%	449
13	Ac-FVAD-H (138b)	10% (6,0 mg)	> 99%	477
14	Ac-A-Thz-D-H (139b)	19% (8,4 mg)	96%	371
15	Ac-FVAK-H (140b)	19% (11,3 mg)	88%	490
16	Ac-FVAM-H (141b)	12% (6,0 mg)	92%	418 ^[2]
17	Ac-LLM-H (142b)	7% (4,3 mg)	70%	509 ^[2]

^[1] Z-IEAL-H (**133b**) wurde gescavengt und ohne Schutzgruppenabspaltung freigesetzt.

^[2] Sulfid durch Luftsauerstoff oxidiert.

^[3] Z-Ile-Glu(tBu)-Ala-Leu-H.

Alle in Tab. 19 aufgeführten Peptidylaldehyde wurden mit HPLC und ES-MS analytisch untersucht. Die Reinheiten lagen zwischen 65 und >99%. Besonders zu erwähnen ist Z-IEAL-H, das in seiner biologisch aktiven Form mit tBu-Schutzgruppe abgespalten wurde [Fig94].

Die C-terminal methioninhaltigen Peptidylaldehyde Ac-FVAM-H (**141b**) und Ac-LLM-H (**142b**) zeigten nach der Capture-Release Behandlung im Massenspektrum ausschließlich eine um 16 höhere Masse. Vermutlich hat sich das Sulfoxid durch Oxidation mit Luftsauerstoff gebildet. Die Untersuchungen hierzu sind Gegenstand weiterführender

Untersuchungen. Eine Oxidation durch die Behandlung mit IBX-Harz kann man ausschliessen, da mit diesem keine S-Oxidation erreicht wurde (Abschnitt 3.3.6, Versuch zur Oxidation von Gallidermin (**73**) und Pam₃Cys (**74**)).

Die Ergebnisse des Scavening-Prozesses werden an zwei Beispielen besprochen. Z-LLI-H (**126b**) trägt keine Seitenkettenschutzgruppen, Ac-WEHD-H (**131b**) trägt Boc, tBu, und Trt als Seitenkettenschutzgruppen.

4.1.9.1 Z-LLI-H

Abb. 4-7 zeigt die HPLC-Chromatogramme von Z-LLI-H (**126b**) **a**) nach der Oxidation mit IBX-Harz und **b**) nach der Aufreinigung mit dem Threonin-Scavenger-Harz. Wie in Abschnitt 4.1.7 bereits erläutert, bildet der Aldehyd im Rohprodukt mit vorhandenem Alkohol sehr wahrscheinlich ein Halbacetal. Dieser Halbacetalbereich ist vereinfacht mit Aldehyd gekennzeichnet. Das HPLC-Chromatogramm des Rohproduktes zeigt bei $t_R = 27,16$ min den Alkohol-Peak und bei $t_R = 28,68$ min den Aldehyd-Peak. Nach der Reinigung ist nur noch Aldehyd bei $t_R = 28,64$ min detektierbar.

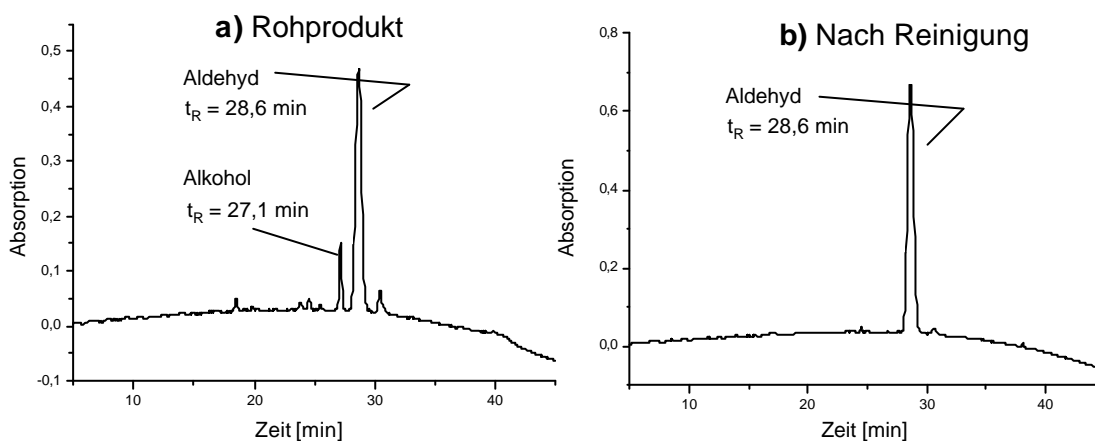


Abb. 4-8 HPLC-Untersuchung von Z-LLI-H (**126b**) nach der Oxidation mit IBX-Harz **a**) Rohprodukt; Reinheit etwa 85%, $\lambda = 214$ nm; $t_R(\text{Alkohol}) = 27,14$ min, $t_R(\text{Aldehyd}) = 28,68$ min und nach Reinigung mit Hilfe des Threonin-Scavenger Harzes **b**) gereinigter Peptidylaldehyd; Reinheit ca. 99%, $\lambda = 214$ nm; $t_R(\text{Aldehyd}) = 28,64$ min.

Das ES-MS-Spektrum (Abb. 4-9) zeigt ausschließlich den Molekülionenpeak des Aldehyds. Es ist kein Alkohol mehr detektierbar.

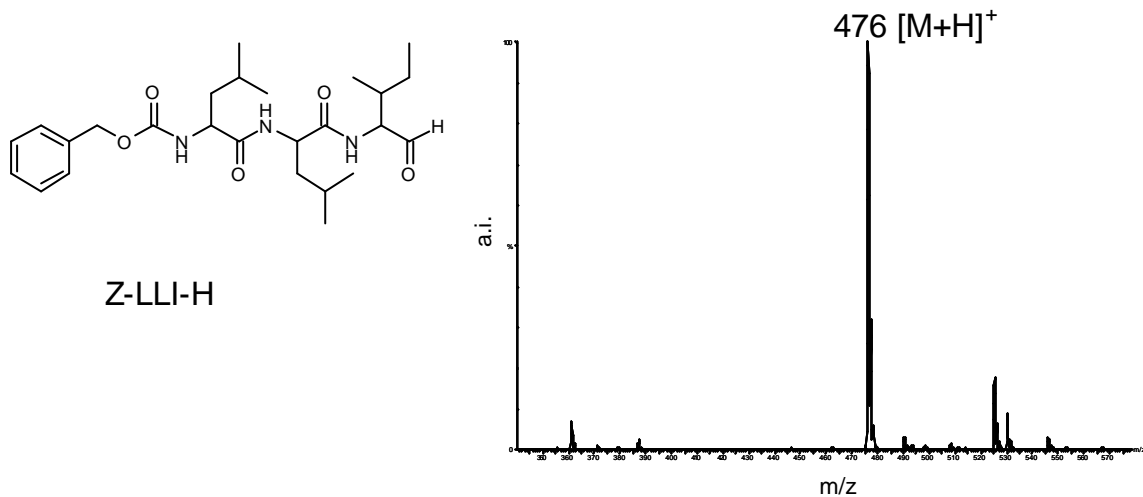


Abb. 4-9 ES-MS-Spektrum von Z-LLI-H (**126b**): $[M+H]^+$ $m/z = 476$.

4.1.9.2 Ac-WEHD-H

Am Beispiel von Ac-WEHD-H (**131b**) wird gezeigt, welches Potenzial die Capture-Release Methode mit Threonin-Harz bei seitenkettenfunktionalisierten und damit geschützten Peptidylaldehyden beinhaltet. Ac-WEHD-H (**131b**) trägt sowohl Boc-, tBu-, als auch Trt-Schutzgruppen. Diese sind säurelabil und können mit 95% TFA abgespalten werden.

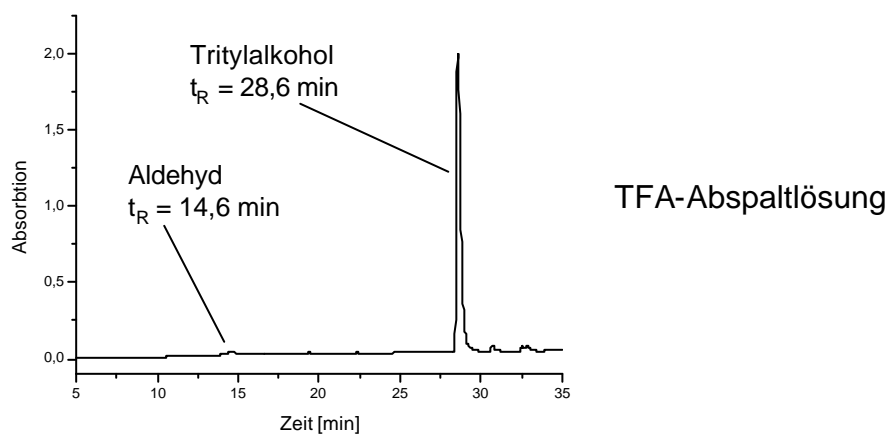


Abb. 4-10 HPLC-Chromatogramm der TFA-Abspaltlösung (95% TFA/DCM) nach Seitenketten-Entschützung. Der Peak bei $t_R = 28,6$ min ($\lambda = 214$ nm) ist dem Abspaltprodukt der Trityl-Schutzgruppe, Tritylalkohol, zuzuordnen. Der immobilisierte Aldehyd bleibt unter diesen Bedingungen immobilisiert. Lediglich 0,5% Aldehyd sind bei $t_R = 14,6$ min detektierbar.

Eine weitere wichtige Untersuchung war, ob bei Abspaltung der Schutzgruppen ein Verlust an Aldehyd auftritt. Das HPLC-Chromatogramm in Abb. 4-10 zeigt den aus der Tritylschutzgruppenabspaltung entstandenen Tritylakohol mit über 96% bei $t_R = 28,6$ min. Der Aldehyd liegt nur in Spuren vor (0,5%).

Es ist also möglich, säurelabile Schutzgruppen vom Peptidylaldehyd abzuspalten, während dieser am Threonin-Harz verbleibt.

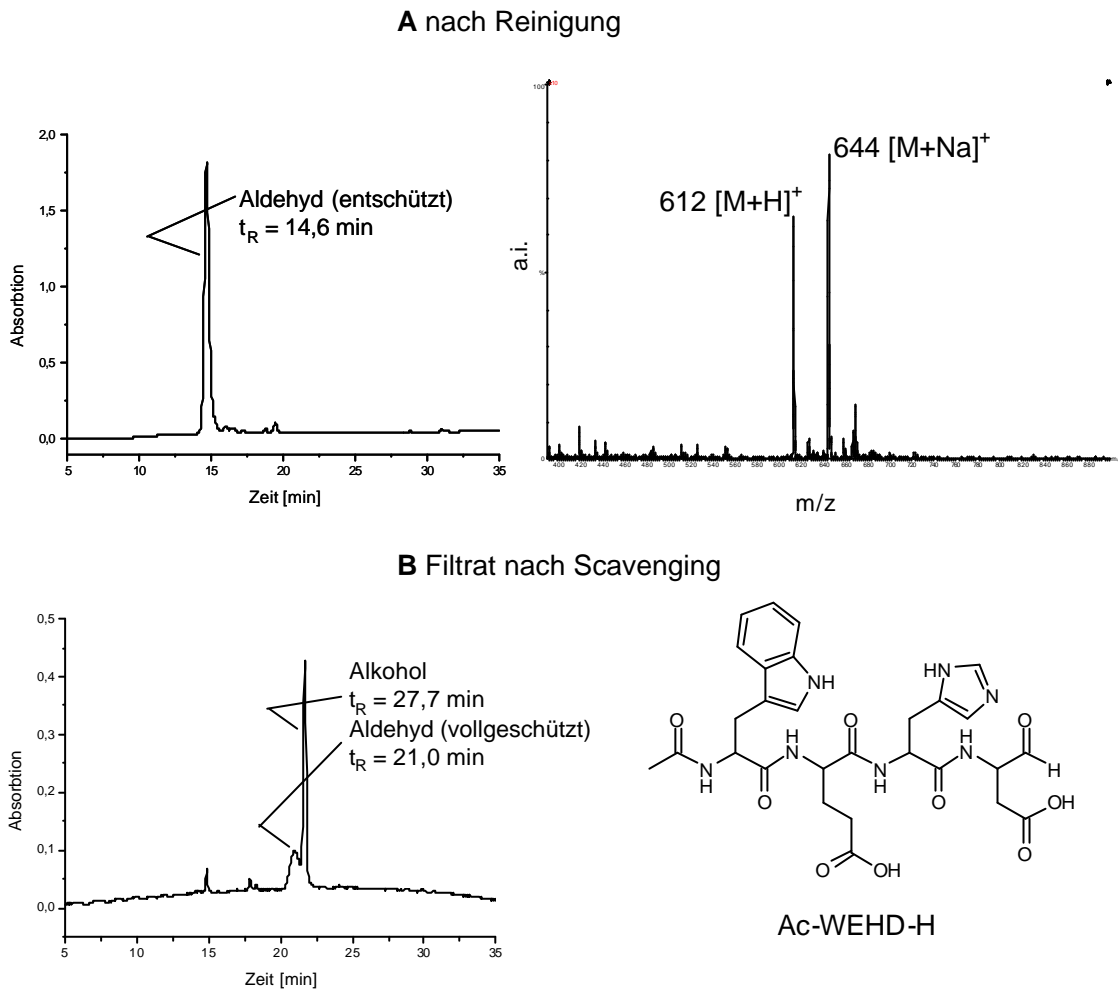


Abb. 4-11 A: HPLC-Chromatogramm (links) des gereinigten entschützten Aldehyds (**131b**); (Reinheit 92%, $\lambda = 214$ nm; $t_R = 14,6$ min) und ES-MS Spektrum ($[M+H]^+$: $m/z = 612$, $[M+Na]^+$: $m/z = 644$). **B** HPLC-Chromatogramm des Filtrats nach drei Stunden Scavenging bei RT. Etwa 30% des Aldehyds sind bei $t_R = 21,0$ min detektierbar. Der Alkohol (Reinheit 63%, $\lambda = 214$ nm) eluiert bei $t_R = 27,7$ min.

Abb. 4-11 zeigt das HPLC-Chromatogramm des gereinigten entschützten Aldehyds ($t_R = 14,6$ min) nach Abspaltung vom Threonin-Harz und das ES-MS Spektrum ($[M+H]^+$: $m/z = 612$; $[M+Na]^+ = 644$). Der Aldehyd wurde mit 92% Reinheit ($\lambda = 214$ nm) erhalten.

Untersuchungen zur Effizienz des Scavengingprozesses bei Raumtemperatur wurden durch HPLC-Chromatographie der Filtrate durchgeführt. In Abb. 4-11 **B** ist am Beispiel Ac-WEHD-H gezeigt, dass etwa 30% des geschützten Aldehyds nach drei Stunden Scavenging bei Raumtemperatur noch im Filtrat detektierbar waren. In diesem Fall war eine Wiederholung des Scavenging-Prozesses notwendig.

4.1.10 NMR-Untersuchungen

4.1.10.1 Epimerisierungsuntersuchungen

Ein großes Problem bereits veröffentlichter Synthesen von Peptidylaldehyden ist die auftretende Epimerisierung am α -C-Atom des C-terminalen Aldehyds [Man81, Ito75]. Mit Hilfe der NMR-Spektroskopie kann einfach untersucht werden, ob eine Epimerisierung stattgefunden hat, da die Aldehydprotonen der beiden Diastereomeren eine unterschiedliche chemische Verschiebung besitzen.

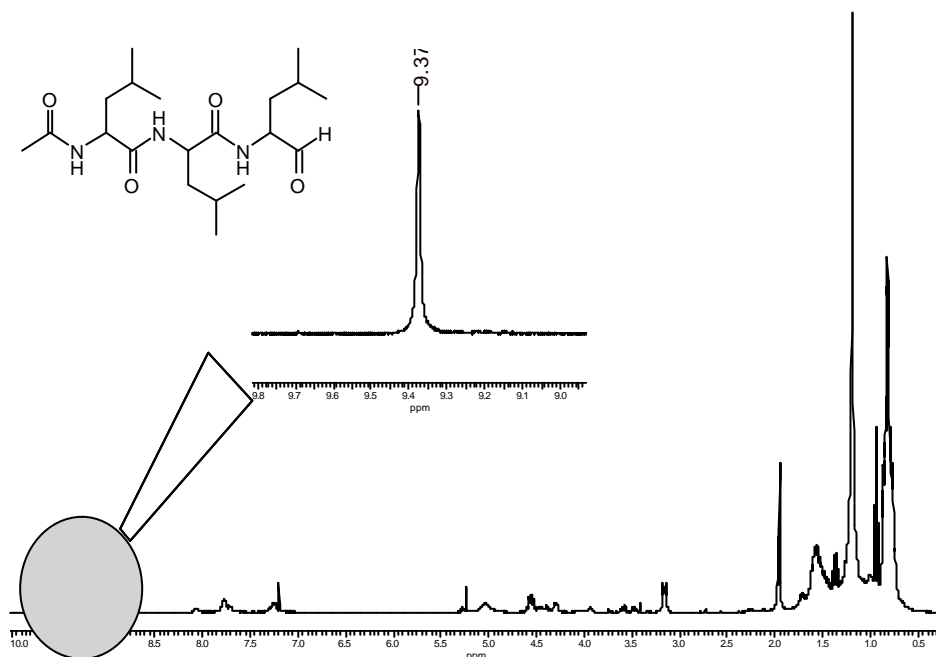


Abb. 4-12 $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Ac-LLL-H (**126a**) nach der Oxidation mit IBX-Harz. Das Signal des Aldehydprotons ist vergrößert dargestellt.

Am Beispiel von Ac-LLL-H wurde mit $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie untersucht, ob die Oxidation ohne Epimerisierung verläuft und wie schnell diese im Verlauf des

nachfolgenden Scavenging-Prozesses vonstatten geht. In Abb. 4-12 ist das $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Ac-LLL-H (**126a**) nach der Oxidation mit IBX-Harz abgebildet. Die Oxidation verläuft demnach epimerisierungsfrei.

Im Folgenden wurden Untersuchungen zur Geschwindigkeit der Epimerisierung und des Epimerisierungsgrades des Aldehyds im gelösten Zustand und bei unterschiedlichen Reaktionsbedingungen während der Abspaltung vom Scavengerharz, durchgeführt. Ac-LLL-H wurde in DCM gelöst und lichtgeschützt zwei Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Das $^1\text{H-NMR}$, zeigt die Aldehydsignale der Diastereomeren LLL und LLD des Ac-LLL-H, dass sich nach zwei Tagen etwa 10% der D-Form aus dem C-terminalen Leu- C_α gebildet hatten (Abb. 4-13).

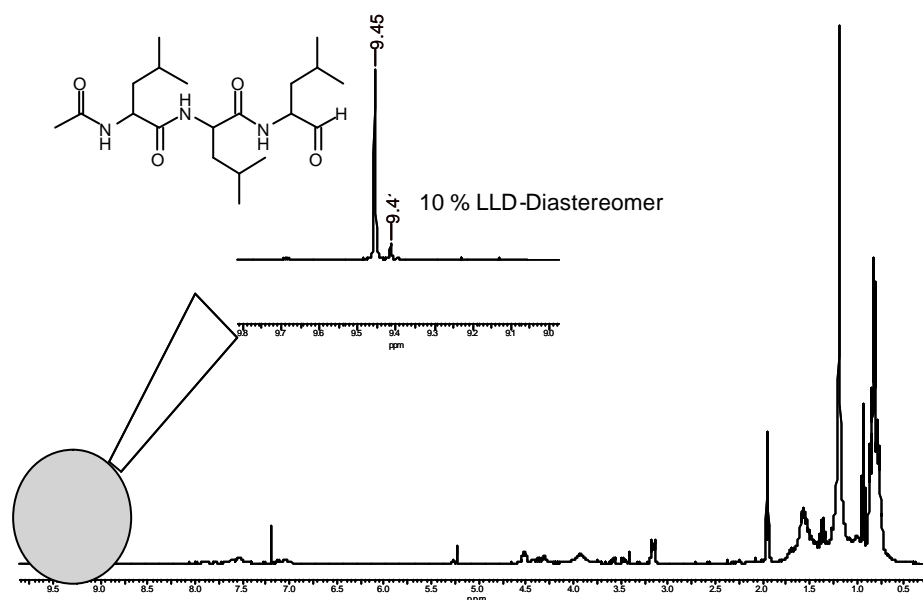


Abb. 4-13 $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Ac-LLL-H (**126a**) nach zwei Tagen Aufbewahrung in Lösung. Es hatten sich etwa 10% des LLD-Diastereomers gebildet (Das Aldehydsignal des LLD-Diastereomers wird bei 9,41 ppm detektiert).

Die in der Literatur beschriebenen Schritte des Capture-Release werden bei 60°C durchgeführt. Dies führt jedoch zu einer Epimerisierung von beinahe 50% am $\alpha\text{-C}$ Atom des C-terminalen Aminoaldehyds (Abb. 4-14). Die NMR-Untersuchung hierzu ist in Abb. 4-14 gezeigt.

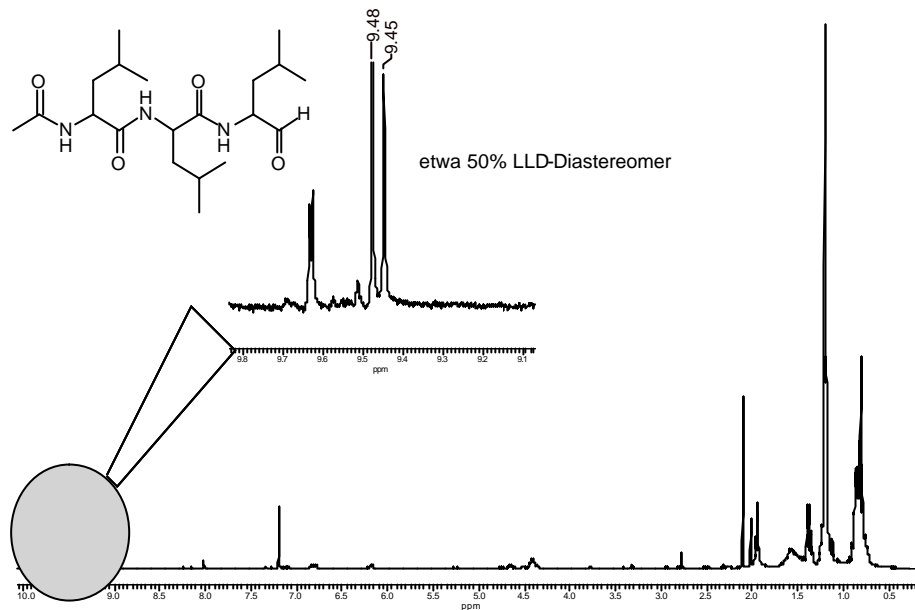


Abb. 4-14 ^1H -NMR von Ac-LLL-H (**126b**) nach Capture-Release bei 60°C. Diese Temperatur führt zu einer Epimerisierung von etwa 50%. (Das Aldehydsignal des LLD-Diastereomers wird bei 9,45 ppm detektiert).

Führt man die Immobilisierung und die Abspaltung bei Raumtemperatur durch, kann die Epimerisierung auf 20% gesenkt werden. Die Reaktion musste zweimal durchgeführt werden, um die Immobilisierung des Peptidylaldehyds am Threonin-Harz zu vervollständigen. Die Abspaltung wurde zur Vervollständigung dreimal wiederholt.

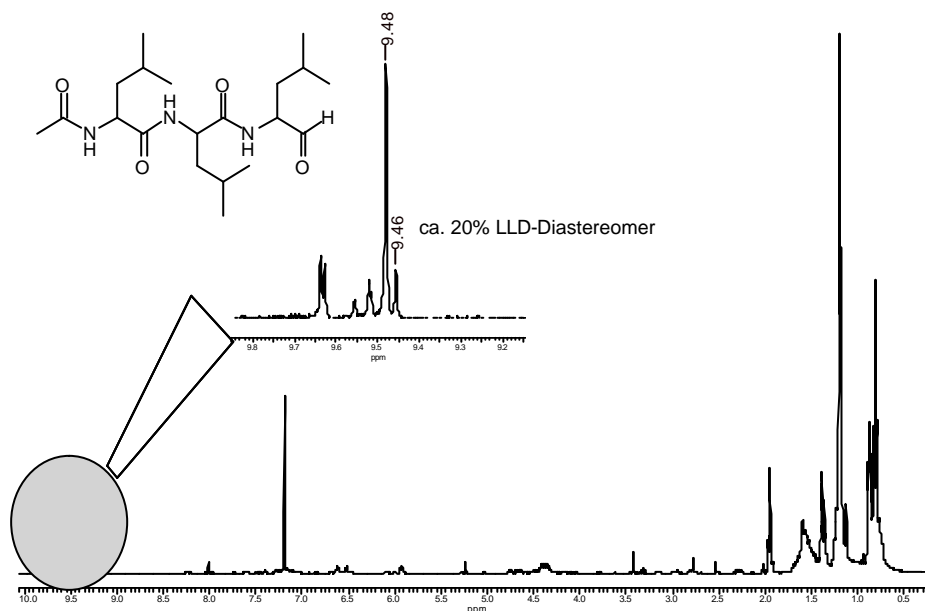


Abb. 4-15 ^1H -NMR von Ac-LLL-H (**126b**) nach Capture-Release bei Raumtemperatur. Die Epimerisierung wird auf 20% des LLD-Diastereomers gesenkt. (Das Aldehydsignal des LLD-Diastereomers wird bei 9,46 ppm detektiert).

4.1.10.2 NMR-Analytik der Peptidylaldehyde

Zur Vervollständigung der Charakterisierung der Peptidylaldehyde wurden ^1H - und ^{13}C -NMR-Untersuchungen durchgeführt. 2D-NMR-Experimente wie $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY und $^{13}\text{C}^1\text{H}$ -COSY (HSQC)-Experimente waren meist nötig, um eine eindeutige Zuordnung der Signale zu ermöglichen. Im Falle von Ac-FIW-H (**130b**), Ac-WEHD-H (**131b**), Z-IEAL-H (**133b**), Ac-FVAS-H (**137b**) und Ac-LLM-H (**142b**) wurden aufgrund zu geringer Mengen oder zu schlechter Reinheiten keine NMR-Experimente durchgeführt. Exemplarisch ist die NMR-Zuordnung von Z-LLV-H (**128b**) gezeigt (Abschnitt 4.1.10.3 und Abschnitt 8.3).

Eine vollständige NMR-Analytik aller Peptidylaldehyde wurde nicht vorgenommen. Die charakteristischsten Veränderungen im NMR-Spektrum im Vergleich zum Peptidylalkohol sind die Signale des Aldehydprotons und die der benachbarten CH-Gruppe. Als Charakteristikum des jeweiligen Peptidylaldehyds sind deshalb in Tab. 20 die chemischen Verschiebungswerte des Aldehydprotons aus den ^1H -NMR-Spektren aufgeführt.

Tab. 20 Chemische Verschiebung (^1H -NMR) des Aldehydprotons der Peptidylaldehyde. (Zeichenerklärung: v = NMR durchgeführt, M = Menge nicht ausreichend; R = Reinheit nicht ausreichend).

Pos.	Peptidylaldehyd	NMR	d [ppm] -CHO	Pos.	Peptidylaldehyd	NMR	d [ppm] -CHO
1	Ac-LLL-H (126b)	v	9,48	10	Z-LLI-H (135b)	v	9,58
2	Ac-FVAV-H (127b)	v	9,52	11	Ac-FVAI-H (136b)	v	9,57
3	Z-LLV-H (128b)	v	9,55	12	Ac-FVAS-H (137b)	M, R	-
4	Ac-FVAG-H (129b)	v	9,50	13	Ac-FVAD-H (138b)	v	9,75
5	Ac-FIW-H (130b)	R	-	14	Ac-A-Thz-D-H (139b)	v	9,58
6	Ac-WEHD-H (131b)	M	-	15	Ac-FVAK-H (140b)	R	-
7	Z-GFG-H (132b)	v	10,70	16	Ac-FVAM-H (141b)	v	9,44
8	Z-IEAL-H ⁽¹⁾ (133b)	M	-	17	Ac-LLM-H (142b)	M, R	-
9	Ac-FVAL-H (134b)	v	10,30				

⁽¹⁾ Glu ist tBu geschützt.

4.1.10.3 NMR-Signalzuordnung von Z-LLV-H

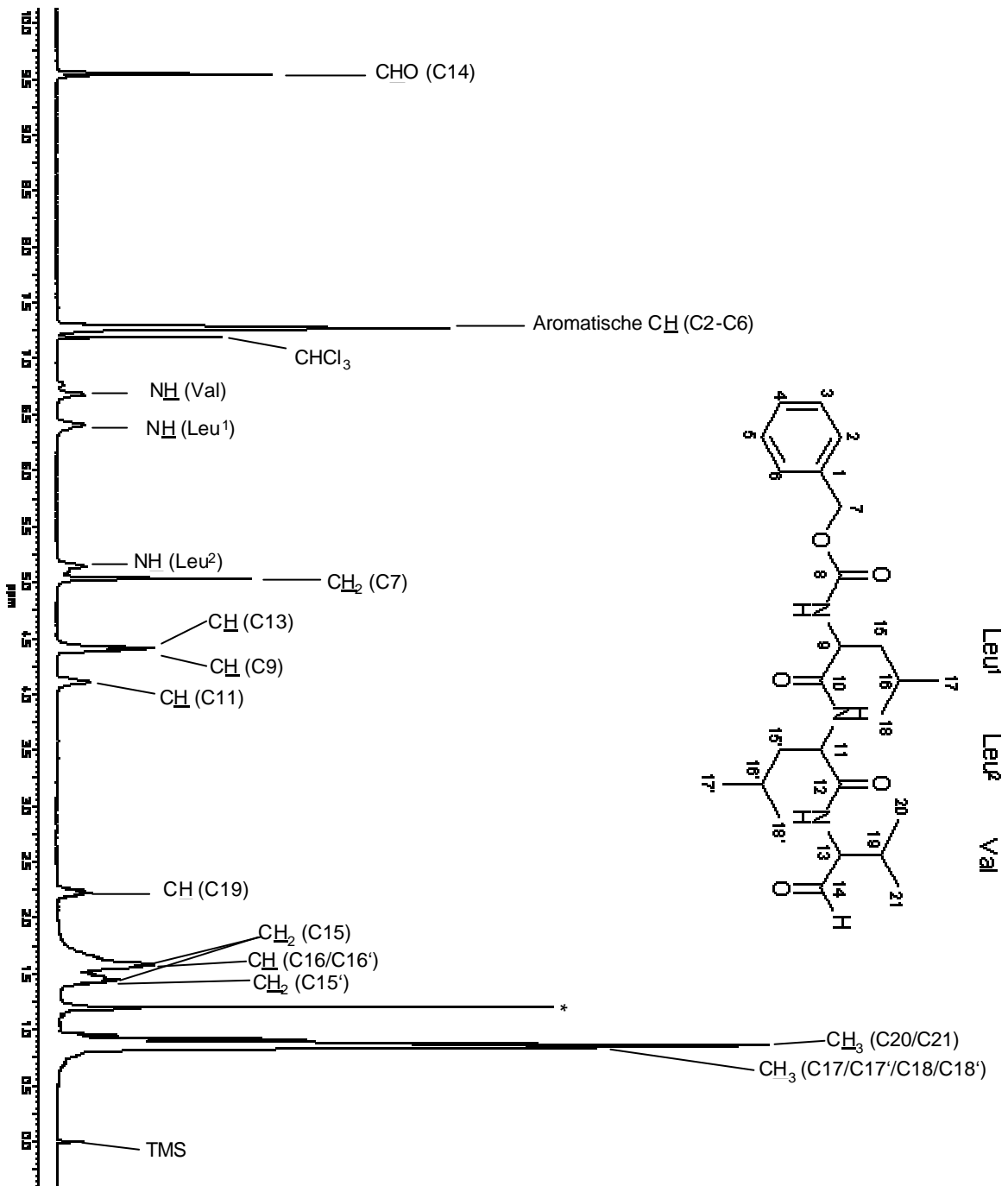


Abb. 4-16 $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Z-LLV-H (128b). Alle Protonen konnten mit 2-D-NMR Experimenten den entsprechenden Signalen zugeordnet werden. Ein nicht identifiziertes Signal ist mit * gekennzeichnet. Die Abbildungen der 2D-Experimente sind im Anhang (Abschnitt 8.3) gezeigt.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 9.55 (s, 1H, CHO (C14)); 7.28-7.19 (m, 5H, CH-Aromaten, C2-C6); 6.69 (d, 1H, J = 6.82 Hz, NH (Val)); 6.40 (s, 1H, NH (Leu¹)); 5.14 (d, 1H, J = 6.06 Hz, NH (Leu²)); 5.03 (d, 2H, J = 4.29 Hz, CH_2 (C7)); 4.43 (m, 1H, CH (C9)); 4.41 (m, 1H, CH (C13)); 4.18 (s, 1H, CH (C11)); 2.29 (m, 1H, CH (C19)); 1.65 (m, 2H, CH_2 (C15)); 1.65 (m, 2H, CH (C16/C16')); 1.52 (m, 2H, CH_2 (C15')); 0.96-0.83 (m, 6H, CH_3 (C20/C21)); 0.96-0.83 (m, 12H, CH_3 (C17/C17'/C18/C18')).

Von Verbindung Z-LLV-H (**128b**) wurde exemplarisch das ^1H -NMR-Spektrum analysiert. Abb. 4-16 zeigt das Spektrum einschließlich aller Signalzuordnungen. Alle erwarteten Signale wurden erhalten. Für alle weiteren Aldehyde wurde deshalb wie in Abschnitt 4.1.10.2 beschrieben, lediglich der charakteristische $-\text{CHO}$ -Verschiebungswert als maßgebliche Größe zur Produktidentifikation genommen. In Abschnitt 8.3 sind die zugehörigen 2D-NMR-Experimente (HH-COSY und HSQC) gezeigt. Auch mit diesen Experimenten gelang eine eindeutige Produktidentifizierung!

5 Zusammenfassung

Der erste Teil der Dissertation beschreibt die Entwicklung und Validierung von polymergebundener *o*-Iodoxybenzoesäure (IBX-Harz) als Oxidationsmittel in der polymerunterstützten Lösungssynthese (PASP-Synthese).

Zunächst wurden Syntheseprotokolle für substituierte *o*-Iodoxybenzoesäuren entwickelt, um über geeignete Linkerfunktionen zur Immobilisierung an das Polymer zu verfügen. Anschließend wurde ein Syntheseprotokoll zur Festphasensynthese von IBX-Harz entwickelt und optimiert. Nach Immobilisierung von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester auf Merrifield- und Wang-Brommethyl-Harze verschiedener Ausgangsbeladungen über die Hydroxygruppe und Verseifung des Methylesters wurde die polymergebundene 2-Iodbenzoesäure zu polymergebundenem IBX oxidiert. Hierzu wurden eine Vielzahl unterschiedlicher Oxidationsprotokolle und Oxidations-Reagenzien eingesetzt. Mit einem Derivat der Caro'schen Säure, dem Tetrabutylammoniumpersulfat gelang es schliesslich, polymergebundenes IBX zu erhalten.

Die Oxidation von Piperonylalkohol zu Piperonal wurde als Testsystem zur Bestimmung der Aktivität des IBX-Harzes eingeführt. Die Aktivität des IBX-Harzes lag bei maximal 0,65 mmol/g. Die Harze mit sehr hohen Ausgangsbeladungen von bis zu 4,4 mmol/g Ausgangsbeladung zeigten schlechtere Reinheiten der Oxidationsprodukte als Merrifield-Harze mit 1,0 – 1,2 mmol/g Ausgangsbeladung. Eine hohe Konzentration des Oxidationsmittels erwies sich jedoch als entscheidender Faktor, um optimale Umsetzungen bei minimalem Einsatz des IBX-Harzes zu erhalten. So bedeutet eine Verdopplung des Reaktionsvolumens eine Verdopplung des einzusetzenden IBX-Harzes, um denselben Umsetzungsgrad zu erreichen.

Der Versuch, polymergebundenes IBX auf hochbeladbarem ULTRA-Harz darzustellen, schlug fehl. Es ist zu vermuten, dass nur die Oxidation zur entsprechenden Iod(III)-Verbindung gelang. Die Entwicklung auf diesem Gebiet ist Gegenstand weiterführender Untersuchungen.

Nach der Optimierung des Herstellungsprozesses und der Reaktionsparameter für Oxidationsanwendungen wurden Alkohole verschiedener Substanzklassen oxidiert. Benzylalkohole wurden mit hervorragenden Produktreinheiten zwischen 65 und 99% erhalten werden. Aliphatische, alicyclische und heterocyclische Alkohole wurden in guten bis ausgezeichneten Produktreinheiten zwischen 26 und 99% oxidiert.

Weitere Anwendungen von polymergebundenem IBX, wie die Dehydrogenierung von Carbonylverbindungen oder die Cyclisierung von Aniliden wurden exemplarisch gezeigt. Die Synthese von o-Benzochinonen (wichtigen Substraten zur Darstellung von Catecholen) aus den entsprechenden Phenolen gelang mit befriedigenden bis sehr guten Produktreinheiten. IBX ist als mildes Oxidationsmittel bekannt und so wurde auch bei Umsetzungen schwefelhaltiger Verbindungen mit IBX-Harz erwartungsgemäß keine S-Oxidation beobachtet.

Stickstoffhaltige Verbindungen wie N-geschützte β -Aminoalkohole, Oligopeptide und sogar das α -helikale 20-Peptidantibiotikum Alamethicin F30 konnten racemisierungsfrei zu entsprechenden Aldehyden oxidiert werden.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden Peptidylaldehyde, Inhibitoren wichtiger biologischer Prozesse wie der Apoptose oder des Proteasomverbaus, synthetisiert.

Zu Beginn wurden 16 Fmoc-geschützte Aminoalkohole in Lösung synthetisiert und charakterisiert. Anschließend wurde parallel (sowohl manuell als auch automatisiert) eine Peptidylalkohol-Kollektion dargestellt. Dazu wurden die Aminoalkohole über die Hydroxyfunktion an TCP-Harz immobilisiert und anschließend das Peptid aufgebaut. Die Peptidylalkohole wurde anschließend mit IBX-Harz zu den Aldehyden umgesetzt. Die chromatographische Aufreinigung von Peptidylaldehyden stellte ein Problem dar, da sie bei der Flüssigchromatographie mit ihren Peptidylalkoholen koeluiieren. Zur Reinigung der „rohen“ Peptidylaldehyde wurde deshalb ein mit Threonin funktionalisiertes Scavenger-Harz eingesetzt. Ein Capture-Release-Protokoll wurde entwickelt, mit dem es möglich war, selektiv die Acetylierten oder Z-geschützten Peptidylaldehyde zu immobilisieren und nach Filtrieren und Waschen des Harzes die polymergebundenen Peptidylaldehyde wieder freizusetzen. Dies wurde am Beispiel von Z-LLI-H und Ac-WEHD-H gezeigt. Peptidylaldehyde mit säurelabilen Seitenkettenschutzgruppen konnten am Threonin-Harz entschützt werden, wobei keine Abspaltung der Aldehyde vom Harz erfolgte. Dies wurde am Beispiel von Ac-WEHD-H mit vier Seitenkettenschutzgruppen eindrucksvoll gezeigt. Die HPLC-Reinheiten der gereinigten Peptidylaldehyde lagen zwischen 65 und 99%. Die gereinigten Peptidylaldehyde wurden bezogen auf die eingesetzten Peptidylalkohole mit Ausbeuten zwischen 4 und 49% erhalten.

Die Oxidation der Peptidylaldehyde mit IBX-Harz verlief auch bei der Synthese der Peptidylaldehyd-Kollektion ohne Epimerisierung. Nach dem Capture-Release Verfahren wurden allerdings zu Beginn bis zu 50% der D-Form erhalten. Die Epimerisierung konnte

auf etwa 20% gesenkt werden, indem die Durchführung der Scavenging- und Release-Prozeduren bei Raumtemperatur statt bei 60°C durchgeführt wurde. Da die Diastereomere unterschiedliche chemische Verschiebungen des Carbonyl-Wasserstoffatoms besitzen, konnte dies NMR-spektroskopisch überprüft werden. Eine vollständige NMR-Analytik wurde am Beispiel von Z-LLV-H gezeigt.

Das neue IBX-Harz stellt eine Bereicherung der bereits vorhandenen, milden und selektiven Oxidationsmittel dar. Es bietet Zugang zu einer neuartigen, parallelen Synthese von Peptidylaldehyden mit ausgezeichneten Reinheiten und geringerem Epimerisierungsgrad als bisherige Methoden. Durch seine Anwendung lassen sich in relativ kurzer Zeit eine Vielzahl neuer potentieller Inhibitoren herstellen.

6 Experimenteller Teil

6.1 Chemikalien und Lösungsmittel

Die Lösungsmittel wurden von Fluka (Neu-Ulm), Merck (Darmstadt), Riedel de Haen (Seelze), Lancaster (Mühlheim am Main), Acros (Ulm) und Aldrich (Taufkirchen) in p.a. Qualität bezogen. Die wasserfreien Lösungsmittel DMF, DCM, THF, DMSO, Methanol, Toluol, Diethylether und Acetonitril wurden von Fluka (Neu-Ulm) bezogen. Acetonitril und Methanol zur HPLC- sowie MS-Analytik wurden in LiChrosolv® Gradient Grade Qualität von Merck (Darmstadt) oder Biosolve (Valkenswaard, Niederlande) verwendet. Wasser für HPLC wurde über eine Milli Q Anlage der Fa. Millipore (Eschborn) gewonnen oder von den Firmen Merck (Darmstadt) oder Fluka (Neu Ulm) bezogen.

Für die NMR-Spektroskopie wurden deuterierte Lösungsmittel der Mittel Merck (Darmstadt) und Deutero GmbH (Herresbach) verwendet.

Trifluoressigsäure der Reinheit Uvasol stammte ebenfalls von der Firma Merck (Darmstadt).

Derivate von Aminosäuren stammten von der Firma Novabiochem (Läufelfingen, Schweiz). Harze wurden von den Firmen Novabiochem (Läufelfingen, Schweiz) und PepChem (Tübingen) bezogen.

Alle anderen Chemikalien und Reagenzien wurden von Aldrich (Steinheim), Fluka (Neu-Ulm), Maybridge (Trevillet, UK), Lancaster (Mühlheim am Rhein) und Merck (Darmstadt) bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt. Merrifield-PS-Harze der Firmen Novabiochem (Läufelfingen, Schweiz), Aldrich (Steinheim) sowie PepChem (Tübingen), TCP-Harz von der Firma PepChem (Tübingen) wurden verwendet.

6.2 Geräte und analytische Methoden

6.2.1 Dünnschichtchromatographie

Alle Dünnschichtchromatogramme wurden auf fluoreszenzbeschichteten Kieselgelplatten 60 F254, 5x10 cm der Firma Merck durchgeführt. Die Verbindungen wurden mit UV-Licht

($\lambda = 254 \text{ nm}$) detektiert und die Kieselgelplatte mit Hilfe wässriger KMnO_4 -Lösung (1g KMnO_4 , 6,5 g Na_2CO_3 und 0,2 g KOH in 100 ml Wasser) entwickelt.

6.2.2 FT-ATR-IR-Spektroskopie

FT-ATR-IR-Spektren der Harze bzw. polymergebundener Verbindungen wurden mit einem Bruker Vector 22 aufgenommen. Das Gerät ist mit einer SplitPea® ATR-Einheit der Firma Harrick versehen. Die Harze wurden direkt durch Aufpressen auf einen Si-Kristall vermessen. Bei einem Meßbereich von $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ wurden die Spektren mit 16 Scans aufgenommen; Background- und ATR-Korrektur erfolgten automatisch. Die im Text angegebenen Wellenzahlen beschränken sich auf die für das jeweilige Reaktionsprodukt charakteristischen Absorptionsbanden.

6.2.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Für analytische HPLC-Trennungen wurde eine Anlage der Firma Waters (Eschborn), bestehend aus einer Steuerungseinheit 600 S, Pumpeneinheit 626, UV-Detektor 486 sowie einem 712 WISP Autosampler, eingesetzt. Die Anlage ist mit einer analytischen Trennsäule Nucleosil C 18 ($5 \mu\text{m}$ Korngröße, $250 \times 2 \text{ mm}$, Grom, Herrenberg) ausgestattet. Für die Trennungen wurde ein Gradient von Wasser/0,1% TFA (v/v) (Laufmittel A) und Acetonitril/0,1% TFA (v/v) (Laufmittel B) bei einer Flußrate von $0,3 \text{ ml/min}$ gefahren. Es wurden, je nach Trennproblem, folgende Gradienten eingesetzt:

- 0% B auf 100% B innerhalb 30 min, 100% B für 5 min.
- 10% B auf 100% B innerhalb 30 min, 100% B für 5 min.
- 10% B auf 100% B innerhalb 30 min, 100% B für 10 min.

Die UV-Detektion erfolgte bei $\lambda = 214 \text{ nm}$ und die Reinheit der Produkte wurde anhand der Peakflächen errechnet. Eine absolute Gehaltsangabe ist jedoch aufgrund der unterschiedlichen Extinktionskoeffizienten der Verbindungen nicht möglich.

6.2.4 GC-EI-MS Analytik

Die Gaschromatographie-Elektronenstoßionisations-Massenspektrometrie wurde auf einer HP 6890/5973 GC-EI-MS-Anlage von Hewlett-Packard (Waldstetten) durchgeführt. Alle Verbindungen konnten underivatisiert vermessen werden.

6.2.5 ES-Quadrupol-Massenspektrometrie

ES-MS-Analysen wurden auf einem Quattro II Triple-Quadrupol-Massenspektrometer der Firma Micromass (Altrincham/UK) in Verbindung mit einer HPLC-Anlage INTEGRAL™ der Firma Perseptive Biosystems (Weiterstadt) durchgeführt. Das HPLC-System wurde so eingestellt, dass während der gesamten Dauer der Analysenserie ein konstanter Fluß von 60 µl/min Acetonitril/Wasser (1:1) (mit 0,1 % Ameisensäure) zum Injektor des GILSON 232X Probengebers der Firma Abimed (Langenfeld) geliefert wurde. Alle 2 min wurden jeweils 10 µl einer Probe (Konzentration ca. 10 µg/ml) injiziert, die durch den konstanten Lösungsmittelfluß zur Quelle des Quattro II ES-MS transportiert wurden. Die Messungen am MS wurden durch Kontaktschluß des Probengebers gestartet. Die Messparameter jeder Probe (Massenbereich, Meßrate, Cone-Spannung (üblicherweise 30-40 V)) wurden zuvor in einer Probenliste der Steuersoftware (MassLynx, Version 2.2, Firma Micromass, Altrincham/UK) des MS editiert. Die Proben wurden in Methanol oder Acetonitril gelöst.

6.2.6 FTICR-Massenspektrometrie

Für höchstauflösende ES-FTICR-MS-Messungen wurde ein Daltonic APEX™ II Spektrometer der Firma Bruker (Karlsruhe) verwendet. Die Probenzufuhr erfolgte über eine HPLC-Anlage HP 1100 der Firma Hewlett-Packard. Dabei wurden 5 µl einer Probe (Konzentration 1-10 µg/ml) injiziert. Die Messzeit betrug jeweils 30 s bei 16 aufsummierten Scans. Als mobile Phase wurde ein Wasser/Acetonitril-Gemisch (40:60) (0,1 % Ameisensäure) verwendet. Für HPLC-FTICR-MS-Messungen wurde die HPLC-Anlage (HP1100), die mit einer Gromsil C 18-Säule (5 µm Korngröße, 100 x 2 mm, Grom, Herrenberg) verbunden war, eingesetzt. Als Flußrate wurden 50 µl/min verwendet, wobei der Fluss direkt der ES-Quelle des Massenspektrometers zugeführt wurde.

6.2.7 NMR-Spektroskopie

Eindimensionale ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren wurden an einem Bruker AC 250 (250 respektive 62,9 MHz) Spektrometer bzw. einem Bruker AVANCE 400 MHz Spektrometer (Bruker Analytik, Bremen) aufgenommen. Als Lösungsmittel wurden Methanol-d₄, Aceton-d₆, DMF-d₆, DMSO-d₆ oder CDCl₃ verwendet. Zweidimensionale NMR-

Experimente wurden am Bruker AVANCE 400 MHz Spektrometer (Bruker Analytik, Bremen) durchgeführt.

Die Spektren wurden bei 25°C aufgenommen.

6.2.8 Mikrowellenunterstützte Synthesen

Mikrowellenunterstützte Synthesen wurden auf einem SmithSynthesizerTM der Firma Personal Chemistry, Uppsala, Schweden durchgeführt. Es handelt sich um ein Single-Mode Gerät, das mit einem automatischen Probengeber ausgestattet ist, und dessen Steuerung softwareunterstützt erfolgt. Das Probenvolumen beträgt zwischen 0,5 und 5 ml in mit Septen verschlossenen druckstabilen Reaktionsgefäßen. Ein Magnetron mit einer Leistung von 15 – 300 W erzeugt Mikrowellenstrahlung bei einer Frequenz von 2,45 GHz. Der Temperaturbereich erstreckt sich von 60 – 250 °C bei einer Heizrate von 2 – 5 °C/min. Der zulässige Druck im Inneren der Reaktionsgefäße beträgt 20 bar. Während der Reaktion wird die Temperatur im Reaktionsgefäß durch kurze Mikrowellenpulse konstant gehalten. Schnelles Abkühlen nach der Reaktion wird mit Druckluft erreicht.

6.2.9 Kaisertest

Die Vollständigkeit von Acylierungsreaktionen auf primäre Amine – Acylierung des Rink-Linkers sowie die Bildung von Peptidbindungen - wurde mittels Kaiser-Test (Nachweis primärer Amine mit Ninhydrin) auf vollständige Umsetzung der freien Aminofunktionen untersucht [Kai70].

Für den Kaiser-Test wurden folgende Reagenzlösungen verwendet:

Kaiser I: 50 µl einer 0,01 M wässrigen KCN-Lösung werden mit Pyridin auf 25 ml aufgefüllt.

Kaiser II: 5 g Ninhydrin werden in 100 ml n-Butylalkohol gelöst.

Kaiser III: 80 g Phenol werden in 20 ml n-Butylalkohol gelöst.

Zur Durchführung werden wenige Harzkugeln in einem Eppendorf-Cup mit je einem Tropfen der drei Reagenzlösungen versetzt und die Suspension 5 min bei 110 °C erhitzt. Sind freie Aminogruppen vorhanden, so tritt Blaufärbung der Harzkugeln oder der Lösung auf.

6.2.10 Chloraniltest

Zur Kontrolle der Kupplungseffizienz von Carbonsäuren auf sekundäre Amine wurde der Chloranil-Test verwendet [Voj95]. Dazu werden einige Harzkörner in einem Eppendorf-Cup mit je einem Tropfen einer Lösung aus Acetaldehyd in DMF (2% (v/v)) und Chloranil in DMF (2% (w/v)) versetzt. Bei Anwesenheit von sekundären Aminen färbt sich das Harz nach 2-10 min blau.

6.2.11 Automatisierte Synthese von Peptidylalkoholen

Die automatisierte Synthese von Peptidylalkoholen wurde an einem Peptidsynthesizer (SMPS 350, Zinsser Analytic, Frankfurt; Software Syro von MultiSynTech, Bochum) durchgeführt. Als Synthesegefäße wurden Einwegspritzen mit Glasfiltereinsätzen verwendet, die in zwei Syntheseblöcken mit Vakuum- und Absaugvorrichtungen angeordnet wurden, so daß parallel bis zu 2 x 48 unterschiedliche Peptide synthetisiert werden konnten.

6.2.12 UV-Spektrometer

Die UV-Spektren zur quantitativen Fmoc-Bestimmung wurden am Lambda-5 UV/VIS-Spektrometer von Perkin-Elmer (Überlingen) aufgenommen.

6.2.13 Ermittlung der Harzbelegung durch UV-spektrometrische Fmoc-Bestimmung

Proben (10 mg) des gewaschenen und getrockneten Harzes werden entnommen und exakt in je einem 10 ml Maßkolben eingewogen. Dazu werden exakt 0,5 ml einer Lösung von Piperidin in DMF (1:4) gegeben und für 30 min geschüttelt. Danach wird mit DMF auf 10 ml aufgefüllt. In einem zweiten 10 ml Maßkolben wird eine Referenzlösung angesetzt, indem ebenfalls exakt 0,5 ml der Piperidin-Lösung zupipettiert und mit DMF auf 10 ml aufgefüllt werden.

Am UV-Spektrometer wird im Wellenlängenbereich von 250 nm bis 320 nm zunächst mit der Referenzlösung eine Hintergrundkorrektur durchgeführt und dann die Abspaltungslösung

gegen diese Referenz vermessen. Die Extinktionswerte an den drei Absorptionsmaxima des UV-Spektrums bei $\lambda_1 = 267 \text{ nm}$, $\lambda_2 = 289 \text{ nm}$ und $\lambda_3 = 301 \text{ nm}$ werden nach folgender Gleichung ausgewertet:

$$x \left[\frac{\text{mmol}}{\text{g}} \right] = \frac{100000 \cdot E_I}{\epsilon_I \cdot (\text{Einwaage})}$$

x = Harzbelegung

E_I = Extinktion

ϵ_λ = Extinktionskoeffizient

(Einwaage) = Harzmenge in [mg]

Dabei werden folgende Extinktionskoeffizienten verwendet:

$$\epsilon_{267} = 17500 \text{ cm}^{-1}$$

$$\epsilon_{289} = 5800 \text{ cm}^{-1}$$

$$\epsilon_{301} = 7800 \text{ cm}^{-1}$$

Die Harzbelegung ergibt sich durch Mittelung über die drei bei den unterschiedlichen Wellenlängen berechneten Werte.

6.3 Synthesen in Lösung

6.3.1 Darstellung von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure

Anilin (37,2 g; 448 mmol) in Wasser (200 ml), wird in einem 1 l Dreihalskolben unter starkem Rühren mit konzentrierter HCl versetzt (65,5 ml; 780 mmol). Anschließend wird Eis (200 g) hinzugefügt. Dann wird Natriumnitrit (30,9 g; 448 mmol) in 180 ml Wasser innerhalb einer halben Stunde zugetropft, wobei die Temperatur nicht über 5°C steigen darf. Gegen Ende der Zugabe wird mit Iodid-Stärke Papier auf freie salpetrige Säure geprüft. Die kalte Lösung des Anilindiazoniumchlorids wird unter starkem Rühren zu einer Lösung von 3-Hydroxybenzoesäure (**7**) (61,8 g; 448 mmol) und NaOH (53,76 g; 448 mmol) in Wasser (400 ml) gegeben. Es bildet sich ein orangeroter Niederschlag, welcher sich beim Erwärmen auf 50°C wieder auflöst. Die resultierende dunkelrote Lösung der Azoverbindung (**8**) wird erhitzt und anschließend langsam unter Rühren NaOH (160 g; 4 mol) gelöst in Wasser (160 ml) zugegeben. Anschließend wird Natriumdithionit (210 g; 1,1 mol) in fester Form zugesetzt. Sobald die Lösung eine Temperatur von 85°C erreicht hat, gibt man in Minutenabständen weiteres Natriumdithionit in Portionen von 5 g zu, bis

die rote Farbe der Lösung verschwindet. Die Lösung wird auf 30°C gekühlt und Eis (500 g) hinzugefügt. Mit konz. HCl wird auf pH = 5,5 eingestellt. 2-Amino-5-hydroxybenzoesäure (**9**) fällt als fahlgelbes Produkt aus. Anschließend wird mit wenig Wasser gewaschen und sofort bei 0°C diazotiert. Es werden Eis (400 g) und konz. H₂SO₄ (67 ml; 1,25 mol) zugegeben. Anschließend wird NaNO₂ (27,6 g; 0,4 mol) gelöst in H₂O (200 ml) zugegeben. Die Temperatur darf hierbei nicht über 5°C steigen. Nach der Diazotierung wird die Reaktionslösung zu KI (84 g; 0,5 mol) gelöst in H₂O (150 ml) gegeben. Anschließend wird eine Stunde auf 90°C erhitzt, auf 0°C abgekühlt und filtriert. Die erhaltenen dunkelvioletten Kristalle werden durch mehrfaches Kochen (drei- bis fünfmal) in Wasser (700 ml) mit Aktivkohle (15 g) entfärbt. Die Lösung wird filtriert und man erhält 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure (**11**) als hellgelbe feine Nadeln.

Fp.: 197°C; (Lit. 201 – 202,5°C).

Ausbeute: 32,5 g (27% der Theorie bezogen auf Anilin).

MS (EI): $m/z = 263,9$.

HPLC (? = 214): 100%.

IR: 3500 – 2600 cm⁻¹ (OH-Absorptionen); 1681 cm⁻¹ (C=O Valenzschwingung).

¹H-NMR (400,16 MHz; DMSO-d₆): d = 6.69 (dd; J = 8.59 Hz; 3.03 Hz; 1 H), 7.14 (d; J = 3.03 Hz; 1 H), 7.71 (d; J = 8.59 Hz; 1 H), 9.99 (s; 1 H), 13.2 (s; 1 H).

¹³C-NMR (100,62 MHz, DMSO-d₆): d = 167.79; 157.29; 141.17; 137.36; 120.10; 117.27; 80.02.

6.3.2 Darstellung von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester

5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure (**11**) (15 g; 56,8 mmol) wird in Methanol (51,6 ml) gelöst und auf 0°C gekühlt. Dann wird unter Rühren tropfenweise Thionylchlorid (4,14 ml; 56,8 mmol) zugesetzt. Die Lösung färbt sich rot. Anschließend wird 1,5 h unter Rückfluss erhitzt, mindestens aber so lange bis die rote Farbe verschwunden ist. Nach dem Abkühlen wird die Reaktionsmischung im Vakuum eingengt und mit 50 ml Wasser versetzt. Der ausgefallene 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester (**12**) wird filtriert und mit Wasser dreimal gewaschen. Anschließend wird aus Methanol-Wasser (1:1) umkristallisiert und das Produkt in Form farbloser Nadeln erhalten.

Fp.: 102°C; (Lit.: 102 – 103°C).

Ausbeute: (98% der Theorie).

MS (EI): $m/z = 278$.

HPLC ($\lambda = 214$): 97%.

IR: 3322 cm^{-1} (OH-Valenzschwingung), 1709 cm^{-1} (C=O Valenzschwingung).

$^1\text{H-NMR}$ (400,16 MHz; CDCl_3): d = 6.65 (dd, $J = 8.59$ Hz, 3.03 Hz, 1 H), 7.26 (d, $J = 3.03$ Hz, 1 H), 7.71 (d, $J = 8.59$ Hz), 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100,62 MHz, CDCl_3): d = 167.52, 156.21, 142.56, 136.26, 121.10, 118.80, 82.53, 53.07.

6.3.3 Darstellung von 5-*tert.*-Butoxycarbonylmethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester

5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester (**12**) (789 mg; 2,84 mmol) wird mit Cs_2CO_3 (5,55 g; 17,04 mmol) und Bromessigsäure-*tert.*-butylester (384 μl ; 11,36 mmol) in 20 ml DMF 1 h bei 80°C gerührt. Die grüne Reaktionslösung wird weitere 2 h bei 60°C umgesetzt. Es wird EtOAc (40 ml) zugesetzt und mit H_2O (dreimal), und NaCl-Lösung (dreimal) gewaschen. Die organischen Lösungsmittel werden anschließend bei 45°C im Vakuum entfernt.

Die Reinigung erfolgt Flash-säulenchromatographisch. Hierbei eluieren mit PE (40/60)/DCM (1:1) sämtliche Verunreinigungen. Anschließend eluiert das Produkt (**83**) mit DCM und wird in reiner Form als farbloses Pulver gewonnen.

DC: $R_f = 0,67$ (DCM).

Ausbeute: 599 mg (72 % der Theorie).

MS (ES): $m/z = 393$.

HPLC ($\lambda = 214$): 97%.

$^1\text{H-NMR}$ (400,16 MHz; CDCl_3): d = 1.41 (s, 9 H), 3.85 (s, 3 H), 4.45 (s, 2 H), 6.69 (dd, $J = 8.84$ Hz, 3.03 Hz, 1 H), 7.28 (d, $J = 3.03$ Hz, 1 H), 7.78 (d, $J = 8.84$ Hz), 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100,62 MHz, CDCl_3): d = 167.65, 166.76, 158.24, 142.45, 136.08, 120.41, 117.61, 84.10, 83.20, 66.18, 52.89, 28.41.

6.3.4 Darstellung von 5-Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester

5-*tert.*-Butoxycarbonylmethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester (**83**) (599 mg, 1,5 mmol) werden 90 min in TFA (100%) bei RT umgesetzt. Anschließend wird die TFA am Vakuum entfernt und das Rohprodukt in *tert.*-Butylalkohol/ H_2O (4:1, v:v) (10 ml) aufgenommen und gefriergetrocknet. Das Produkt (**84**) wird als farbloses Pulver erhalten.

Ausbeute: 499 mg (98 % der Theorie).

MS (ES): $m/z = 335$ (M-H)⁻.

HPLC ($\lambda = 214$): 98%.

¹H-NMR (400,16 MHz; Methanol-d₄): $\delta = 3.91$ (s, 3 H), 4.71 (s, 2 H), 6.87 (dd, $J = 8.72$ Hz, 3.16 Hz, 1 H), 7.33 (d, $J = 3.03$ Hz, 1 H), 7.86 (d, $J = 8.72$ Hz, 1 H).

¹³C-NMR (100,62 MHz, Methanol-d₄): $\delta = 172.42, 168.90, 159.85, 143.42, 138.52, 120.97, 118.61, 83.85, 66.39, 53.49$.

6.3.5 Darstellung von Fmoc- β -Aminoalkoholen aus Fmoc- α -Aminosäuren

Erzeugung des gemischten Anhydrids

Die Fmoc- α -Aminosäure (**105**) (25 mmol; 1 eq.) wird unter Rühren in wasserfreiem Dimethoxyethan (DME) (50 ml) gelöst. Die Lösung wird auf -15°C gekühlt und unter N₂-Atmosphäre werden nacheinander 4-Methylmorpholin (NMM) (2,78 ml; 25 mmol) und Isobutylchloroformiat (ICF) (**106**) (3,4 ml; 25 mmol) tropfenweise zugegeben. Es wird weitere 10 min bei -15°C, dann 20 – 50 min unter Erwärmung auf Raumtemperatur weitergerührt.

Reduktion zum Alkohol

Die Reaktionslösung wird, zur Entfernung des NMM-Hydrochlorids, unter N₂-Atmosphäre, filtriert. Das Filtrat wird auf -15°C gekühlt. Anschließend wird NaBH₄ (1,42 g; 37,5 mmol) gelöst in entgastem H₂O (50 ml) zur Reaktionslösung gegeben. Nach 1 min Rühren wird H₂O (625 ml) zugegeben. Der Fmoc-Aminoalkohol (**89 – 104**) fällt als farbloser Niederschlag aus, wird abfiltriert und mit H₂O (100 ml) und n-Hexan (50 ml) gewaschen. Wenn kein Niederschlag entsteht, sondern sich das Produkt als Öl abscheidet, wird DME im Vakuum entfernt und die Wasserphase mit DCM extrahiert (100 ml; dreimal). Die organische Phase wird mit H₂O und NaCl-Lösung (gesättigt) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Überschichten mit n-Hexan fällt der Fmoc- β -Aminoalkohol in fester Form an. Das Produkt wird säulenchromatographisch gereinigt (EtOAc : DCM (1:1); NEt₃ (0,3%)). Das Eluat wird mit Zitronensäure (10%ige Lösung) gewaschen (dreimal), über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Fmoc- β -Aminoalkohole werden mit DC und/oder HPLC, ES-MS und NMR charakterisiert (¹³C-NMR-Daten vgl. Abschnitt 8.2).

6.4 Festphasensynthesen

Bei den meisten im Folgenden angeführten Syntheseprotokollen handelt es sich um allgemeine Vorschriften; genaue experimentelle Daten zu Ansatzgrößen, Ausbeuten und Produktreinheiten sind dem entsprechenden Abschnitt des Kapitels 3 (Ergebnisse) zu entnehmen. Die Reaktionen wurden, wenn nicht anders erwähnt, in Einwegspritzen oder Polypropylenfiltersäulen mit Kunststoffritten oder Polypropylen-Reagenzgläsern durchgeführt.

6.4.1 Synthese von polymergebundenem 1,5-Dihydroxy-1-oxo-1H-1^H-benzo[d][1,2]iodoxol-3-on an Merrifield-PS-Harz

6.4.1.1 Harzbelegung

Zu Merrifield-PS-Harz (**13a**) (10 g; Beladung 1,2 mmol/g; 12 mmol) wird Cs₂CO₃ (7,8 g; 24 mmol; 2 eq.) gegeben. Anschließend wird 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester (**12**) (10 g; 36 mmol; 3 eq.) gelöst in DMF abs. (45 ml) zugegeben. Es ist darauf zu achten, dass das Polymer gut gequollen vorliegt und das Cs₂CO₃ in regelmäßigen Abständen fein suspendiert wird. Nach 3 h bei 80°C wird mehrfach mit DMF (dreimal), THF (dreimal), AcOH (zweimal), THF (dreimal), MeOH, DCM, MeOH und Et₂O und wieder MeOH solange gewaschen bis das Harz wieder feindispers vorliegt. Dann wird das Harz im Vakuum getrocknet und mit EA und FT-ATR-IR analysiert.

6.4.2 Verseifung des Methylesters

Der immobilisierte Iodbenzoesäureester (**14**) (12 mmol) wird mit KOSiMe₃ (1M in THF abs. 150 ml) 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird das Harz filtriert und mit MeOH (fünfmal) und THF gewaschen (dreimal). Danach wird eine THF/AcOH-Mischung (8:2; 200 ml) zugegeben und weitere 5 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Dann wird mit THF, DCM, MeOH und Et₂O gewaschen (je 7-mal), dann mit DCM und Methanol (je 10-mal). Anschließend wird im Vakuum getrocknet. Das Harz wird anschließend mit EA und FT-ATR-IR analysiert.

6.4.3 Oxidation polymergebundener 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure

Polymergebundene 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäure (**15**) (11,7 g; 11 mmol) wird mit Tetrabutylammoniumpersulfat (Bu_4HSO_5) (77,7 g; 77 mmol; 7 eq.; 1,6% aktiver Sauerstoff), gelöst in DCM (120 ml), versetzt. Anschließend wird Methansulfonsäure (4,98 ml; 77 mmol; 7 eq.) zugegeben und die Suspension 3 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Filtration wird das Harz mit DCM und Et_2O (zehnmal) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Harz wird anschließend mit EA und FT-ATR-IR analysiert. Piperonylalkohol (1 eq.) wird mit IBX-Harz umgesetzt und die Oxidationskapazität ermittelt (vgl. Abschnitt 6.5.1).

6.4.4 Synthese von polymergebundenem 1,5-Dihydroxy-1-oxo-1*H*-1⁵-benzo[d][1,2]iodoxol-3-on an ULTRA-Harz

6.4.4.1 Harzbelegung (ULTRA-Harz)

ULTRA-Harz (123 mg, Beladung 12 mmol/g) wird in MeOH und anschließend in DMF vorgequollen. Zu 5-Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester (**84**) (496 mg, 1,48 mmol; 1 eq.) wird DIC (228,6 μl ; 1,48 mmol; 1 eq.) gelöst in DCM gegeben und 15 min voraktiviert. Anschließend wird zuerst HOAt (0,5 M-Lösung in DMF; 2,9 ml; 1,48 mmol; 1 eq.) dann die DIC/Ester-Lösung zum Harz gegeben. Anschließend wird DCM und DMF (1:1) zugegeben bis ein Gesamtvolumen von 10 ml erreicht ist. Dann wird die Suspension 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Waschen mit DMF, DCM, MeOH, Et_2O wird das Harz im Vakuum getrocknet und mit FT-ATR-IR analysiert.

6.4.4.2 Verseifung (ULTRA-Harz)

Das mit Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäuremethylester belegte ULTRA-Harz (**86**) wird in THF/ H_2O (1:1, v/v) vorgequollen. Dann wird LiOH (208 mg, 5 mmol, 2,5 eq.) gelöst in THF/ H_2O (1:1) zugegeben und 4 h bei 50°C geschüttelt. Anschließend wird mit THF (fünfmal), DCM, MeOH und H_2O (je siebenmal) gewaschen, getrocknet und mit FT-ATR-IR analysiert.

6.4.4.3 Oxidation (ULTRA-Harz)

Polymergebundene Carboxymethoxy-2-iodbenzoesäure (**87**) (11,7g; 11 mmol) wird mit Oxon ($K_2SO_4 \cdot KHSO_4 \cdot KHSO_5$) (614 mg; 1 mmol; 5 eq.) gelöst in H_2O (4 ml) versetzt. Anschließend wird 3 h bei 70°C gerührt. Nach jeweils einer halben Stunde wird das Harz eine Minute bei RT an einem Vortex-Rührer stark suspendiert. Schließlich wird das Harz mit H_2O , THF, DCM, THF, DCM, Et_2O (je fünfmal) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Harz wird anschließend mit FT-ATR-IR untersucht. Piperonylalkohol (1 eq.) wird mit IBX-(ULTRA)-Harz (**88**) umgesetzt und die Oxidationskapazität ermittelt (vgl. Abschnitt 6.5.1).

6.4.5 Synthese von Peptidylalkoholen

Die Ansatzgröße zur Synthese von Peptidylalkoholen wurde so bemessen, dass 120 μmol Produkt erhalten werden.

6.4.5.1 Belegung von TCP-Harz mit Fmoc- β -Aminoalkoholen

Trockenes Tritylchloridpolystyrolharz (TCP-Harz, Kapazität: 1 mmol/g) wird in einer Filtersäule mit Kunststofffritte eingewogen. Der Fmoc- β -Aminoalkohol (1eq.) wird mit wenig DCM unter Zusatz von Pyridin (4 eq.) oder DIEA (4 eq.) gelöst. Diese Lösung wird direkt zum TCP-Harz gegeben. Nach 12 h wird das TCP-Harz filtriert und zum Capping der verbliebenen Tritylchlorid-Funktionen eine Mischung aus DCM/MeOH/DIEA (17:2:1, v:v:v) zugegeben und für weitere 30 min geschüttelt. Danach werden die Lösungsmittel abgesaugt und das Harz mit DMF, DCM MeOH und Et_2O (je dreimal) gewaschen.

Zur Belegungskontrolle wird eine quantitative Fmoc-Bestimmung (vgl. Abschnitt 6.2.13) durchgeführt. Die Belegungen erreichen 0,4 – 0,6 mmol/g.

6.4.5.2 Allgemeine Vorschrift zur Fmoc-Abspaltung

Die polymergebundene Fmoc-geschützte Aminosäure wird mit Piperidin (20% in DMF) versetzt und 20 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Harz wird dreimal mit DMF gewaschen und erneut mit Piperidin (20% in DMF) versetzt. Nach weiteren 20 min

Schütteln wird das Harz sehr gründlich (zehnmal) mit DMF und abwechselnd mit DCM, und MeOH gewaschen und anschliessend im Vakuum getrocknet.

6.4.5.3 DIC/HOBt-Kupplung

Mit Fmoc- β -Aminoalkohol vorbelegtes Harz (100 mg; Belegung ca. 0,5 mmol/g) wird für 30 min mit Piperidin (20% in DMF, 2 ml) geschüttelt und anschließend gewaschen. Eine Lösung der Fmoc-Aminosäure (0,2 mmol; 4 eq.) und HOBt (40 mg; 0,2 mmol; 4 eq.) in wasserfreiem DMF (1 ml) wird zu dem in DMF gequollenen Harz gegeben. Zu der Suspension wird DIC (33 μ l; 0,2 mmol; 4 eq.) gegeben und 1 h geschüttelt. Danach wird das Harz filtriert und mit DMF, DCM, MeOH, DCM und Et₂O (je fünfmal) gewaschen. Die Vollständigkeit der Kupplung wird mit einem Kaiser-Test überprüft.

6.4.5.4 Abspaltung

Zur Abspaltung der Peptidylalkohole (**107 – 123**) wurde eine Mischung aus DCM/HFIP/AcOH (68:30:2, v:v:v) zum Harz gegeben und 24 h bei RT geschüttelt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz jeweils zweimal mit DCM und MeOH gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1, v:v) (3 ml) versetzt und gefriergetrocknet. Anschließend wird das Produkt mit HPLC, ES-FTICR-MS und NMR analysiert.

6.5 PASP-Synthesen

6.5.1 Oxidation von Alkoholen

Benzylalkohole

Eine Lösung des Alkohols (2,5 mg, 7 μ mol) in DCM (300 μ l) wird zu IBX-Harz (2 eq.) gegeben und das Reaktionsgemisch 3 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz mit DCM und MeOH (jeweils zweimal) gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit

tert.-Butylalkohol/H₂O (4:1, v:v) (3 ml) versetzt und gefriergetrocknet. Anschließend wird das Produkt mit GC-(EI)-MS oder ES-(FTICR)-MS und NMR analysiert.

NMR-Daten für Piperonal (17):

¹H-NMR (400,16 MHz; Acetonitril-d₃): d = 9.71 (s, 1 H), 7.40 (dd, ³J = 7.96 Hz, ⁴J = 1.64 Hz, 1 H), 7.23 (d, ⁴J = 1.52 Hz, 1 H), 6.93 (d, ³J = 8.08 Hz, 1H), 6.01 (s, 2 H).

¹³C-NMR (100,62 MHz, Acetonitril-d₃): d = 190.19, 152.86, 148.53, 131.71, 128.23, 107.99, 105.82, 102.31.

Alicyclische und aliphatische Alkohole

Die Umsetzung der alicyclischen und aliphatischen Alkohole erfolgt analog der Vorschrift der Benzylalkohole.

Cholesterol (19 mg, 50 μmol) wird in DCM (1 ml) gelöst und mit IBX-Harz (200 mg; 2 eq.) 24 h bei 60°C umgesetzt. Nach Beendigung der Reaktion erfolgt die Aufarbeitung und Analytik wie bei den Benzylalkoholen beschrieben.

Fmoc-Aminoalkohole

Eine Lösung des Fmoc-β-Aminoalkohols (80 μmol) in DCM (300 μl) wird zu IBX-Harz (2 eq.) gegeben und das Reaktionsgemisch 4 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz mit DCM und MeOH (jeweils zweimal) gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1, v:v) (3 ml) versetzt und gefriergetrocknet. Anschließend wird das Produkt mit HPLC, ES-FTICR-MS und/ oder NMR analysiert.

NMR-Daten für Fmoc-Phe-al (67):

¹H-NMR, ¹H-COSY (400,16 MHz; Dichlormethan-d₂): d = 9.54 (s, 1 H), 7.70 (d, ³J = 7.58 Hz, 2 H), 7.48 (t, ³J = 7.58 Hz, 2 H), 7.33 (t, ³J = 7.45 Hz, 2 H), 7.06 (d, ³J = 7.07 Hz, 2 H), 4.92 (d, J = 8.34 Hz, 1 H), 4.33 (m, ³J = 6.82 Hz, 3 H), 4.12 (m, ³J = 6.82 Hz 1 H), 2.97 (m, ³J = 6.82 Hz, ²J = 13.89 Hz, 2 H).

¹³C-NMR (100,62 MHz, Dichlormethan-d₂): d = 197.89, 167.50, 142.93, 140.37, 135.94, 128.38, 127.74, 126.76, 126.11, 126.09, 124.09, 119.0, 86.54, 65.86, 60.28, 46.29, 34.08.

Oxidation von Alamethicin (F30)

Alamethicin (30 mg, 61,5 μmol) gelöst in DCM (0,5 ml) wird zu IBX-Harz (3 eq.) gegeben und 3 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz mit DCM und MeOH (jeweils zweimal) gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1, v:v) (3 ml) versetzt und gefriergetrocknet. Anschließend wird das Produkt mit HPLC-ES-FTICR-MS analysiert.

Mikrowellenunterstützte Oxidation von 9-(4,5-Bishydroxymethyl-4,5-dihydro-[1,2,3]triazol-1-yl)-nonansäureamid

Eine Lösung des Alkohols (1 mg, 3,2 μmol) in DCM/ THF (600 μl) wird zu IBX-Harz (2 eq.) gegeben und 5 min bei 80°C geschüttelt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz mehrmals mit DCM und MeOH gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1, v:v) (3 ml) versetzt und gefriergetrocknet. Anschließend wird das Produkt mit HPLC, ES-FTICR-MS analysiert.

6.5.1.1 Dehydrogenierung von Cyclohexanon zu Cyclohexenon

Cyclohexanol (**42**) (0,46 mg; 4,7 μmol) wird in DCM (300 μl) gelöst und mit IBX-Harz (2,5 eq.) 2 h bei 65°C oxidiert. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz jeweils zweimal mit DCM und MeOH gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet. Anschließend wird das Produkt mit GC-MS analysiert.

6.5.2 Cyclisierung von Aniliden

Phenylcarbaminsäureallylester (**59**) (4,2 mg; 23,8 μmol) wird in THF/ DMSO (10:1, v:v) (500 μl) gelöst und mit IBX-Harz (4 eq.) 12 h bei 90°C oxidiert. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz jeweils zweimal mit DCM und MeOH gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet. Anschließend wird das Produkt mit GC-MS analysiert.

6.5.3 Oxidation schwefelhaltiger Verbindungen

Gallidermin (**73**) (0,8 mg; 0,83 μmol) oder Pam₃Cys-OH (**74**) (1,6 mg; 1,76 μmol) werden in DCM (250 μl) gelöst, zu IBX-Harz (2 eq.) gegeben, und 24 h bei Raumtemperatur oxidiert. Das Harz wird anschließend mit DCM und MeOH gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1, v:v) (3 ml) versetzt und gefriergetrocknet. Das Lyophilisat wird mit ES-FTICR-MS analysiert.

6.5.4 Synthese von o-Benzochinonen

Das Phenol (20 mg, 115 μmol) wird in DMF (2 ml) gelöst und mit IBX-Harz (1,5 eq.) 24 h bei Raumtemperatur oxidiert. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung filtriert und das Harz mit DCM und MeOH (einmal) gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet. Das Produkt wird mit HPLC, EI-MS und/oder NMR analysiert.

NMR-Daten von 4-Methoxy-[1,2]naphthochinon (76):

¹H-NMR, (400,16 MHz; DMF-d₇): d = 7.82 (m, 1 H), 7.69 (d, ³J = 8.59 Hz, 1 H), 7.63 (t, ³J = 7.58 Hz, 1H), 7.50 (t, ³J = 7.20 Hz, 1 H), 5.87 (s, 1 H), 3.90 (s, 3H).

¹³C-NMR (100,62 MHz, DMF-d₇): d = 185.30, 179.46, 168.53, 139.26, 135.52, 134.58, 131.97, 128.67, 125.01, 103.74, 57.49.

NMR-Daten von 4-Diethylamino[1,2]benzochinon (79):

¹H-NMR, (400,16 MHz; CDCl₃): d = 7.15 (d, ³J = 10.61 Hz, 1 H), 6.42 (d, ³J = 10.61 Hz), 5.63 (s, 1H), 3.44 (q, ³J = 7.07 Hz, 2 H), 1.32 (t, ³J = 7.07 Hz, 3 H).

¹³C-NMR (100,62 MHz, CDCl₃): d = 182.84, 174.33, 154.21, 137.55, 134.13, 102.92, 46.28, 12.19.

NMR-Daten von Benzo[1,3]dioxol-5,6-dion (81):

¹H-NMR, (400,16 MHz; CDCl₃): d = 6.12 (s, 2 H), 6.02 (s, 2 H).

¹³C-NMR (100,62 MHz, CDCl₃): d = 177.83, 161.35, 104.63, 101.68..

6.5.5 Oxidation von (seitenkettengeschützten) Peptidylaldehyden mit IBX-Harz

Eine Lösung des Alkohols (100 μmol) in DCM (300 μl) wird zu IBX-Harz (2 eq.) gegeben und das Reaktionsgemisch 3 h bei Raumtemperatur umgesetzt (Bei schlechter Löslichkeit des Peptidylalkohols in DCM wird DMF oder DMSO zugesetzt, bis eine klare Lösung erhalten wird). Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung filtriert und das Harz mit DCM und MeOH (jeweils zweimal) gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1, v:v) (4 ml) versetzt und gefriergetrocknet (Reinigung vgl. Abschnitt 6.5.6). Anschließend wird das Produkt mit HPLC, ES-MS und NMR analysiert.

NMR-Analytik von Ac-Ala-Thz-Asp(tBu)-H (139a):

¹H-NMR, ¹H-COSY (400,16 MHz; CDCl₃): d = 9.63 (s, 1 H), 8.25 (t, ³J = 8.72 Hz, 1 H), 7.62 (s, 1H), 6.43 (dd, ²J = 16.17 Hz, ³J = 7.33 Hz), 4.75 (dd, ³J = 7.83 Hz, ³J = 2.78 Hz, 1 H), 4.63 (d, ³J = 5.05 Hz, 2 H), 4.52 (dd, ³J = 11.87 Hz, ³J = 6.82 Hz, 1 H), 2.88 (m, 1 H), 1.93 (s, 3 H), 1.38 (d, 6 H), 1.35 (d, ³J = 6.82 Hz, 1 H), 1.20 (s, 9 H).

¹³C-NMR (100,62 MHz, CDCl₃): d = 197.58, 171.82, 169.29, 166.95, 160.06, 147.70, 123.61, 81.21, 68.23, 53.85, 47.68, 39.96, 34.33, 30.20, 27.02, 22.08, 16.68.

6.5.6 Capture-Release Reinigung

Immobilisierung

Der Peptidylaldehyd (100 μmol) wird in einer Mischung aus MeOH/DCM/DMF (30:3:2 + 1% AcOH; v:v:v) (2 ml) aufgenommen, zu entschütztem Threonin-Harz (100 mg, 100 μmol ; 2,05 eq.) gegeben und 1 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung filtriert und das Harz mit DCM (dreimal) gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Schutzgruppenabspaltung (Boc- und t-Bu-Schutzgruppen)

Threonin-Harz (100 mg) mit immobilisiertem, seitenkettengeschütztem Peptidylaldehyd wird mit einer Mischung aus TFA, H₂O, DCM (90:5:5; v:v:v) (2,5 ml) 30 min bis 1 h bei

Raumtemperatur geschüttelt. Das Harz wird filtriert und mit wenig DCM (dreimal) gewaschen.

Schutzgruppenabspaltung Variante (Trt-Schutzgruppe)

Threonin-Harz (100 mg.) mit immobilisiertem, seitenkettengeschütztem Peptidylaldehyd wird zweimal mit einer Mischung aus TFA, H₂O, TIS (90:2,5:2,5; v:v:v) (2,5 ml) 30 min bis 1 h geschüttelt. Das Harz wird filtriert und mit wenig DCM (dreimal) gewaschen.

Abspaltung vom Threonin-Harz

Threonin-Harz (100 mg) wird mit einer Mischung aus AcOH, H₂O, DCM und MeOH (10:5:5:80) (2 ml) 20 min bei Raumtemperatur abgespalten (dreimal). Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung filtriert und das Harz mit DCM (zweimal) gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum getrocknet, mit *tert.*-Butylalkohol/H₂O (4:1, v:v) (4 ml) versetzt und gefriergetrocknet. Anschließend wird das Produkt mit HPLC, ES-MS und NMR analysiert.

7 Literatur

- [Ake81] A. Akelah, D.C. Sherrington, *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 557-587.
- [Aln96] S. Alnemri, D.J. Livingston, D.W. Nicholson, G. Salvesen, N.A. Thornberry, W.W. Wong, J. Yuan, *Cell* **1996**, *87*, 171-172.
- [And95] R.C. Anderson, M.A. Jarema, M.J. Shapiro, J.P. Stokes, M.J. Ziliox, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2650-2651.
- [Aoy75] T. Aoyagi, H. Umezawa in *Proteases and Biological Control*, Eds.: E. Reich, D.B. Rifkind, E. Shaw, Cold Spring Harbor Press, New York, **1975**, 429-454.
- [Ath81] E. Atherton, E. Brown, R.C. Sheppard, A.J. Rosevar, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1981**, 1151-1552.
- [Ath81a] E. Atherton, E. Brown, R.C. Sheppard, A.J. Rosevar, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1981**, 1151-1552.
- [Att00] M.E. Attardi, A. Falchi, M. Taddei, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7391-7394.
- [Att00a] M.E. Attardi, A. Falchi, M. Taddei, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 7395-7399.
- [Att01] M.E. Attardi, M. Taddei, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2927 (Corrigendum zu [Att00]).
- [Aus99] V. Austel, "Solution-Phase Combinatorial Chemistry" in G. Jung (Ed.), "Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analysis, Screening", Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, 77-124.
- [Bal96] F. Balkenhohl, C.v.d. Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2436-2488.
- [Bal00] C.M. Baldino, *J. Comb. Chem.* **2000**, 89-103.
- [Bac94] B.J. Backes, J.A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11171-11172.
- [Bac96] B.J. Backes, A.A. Virgilio, J.A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3055-3056.
- [Ban00] H. Bandel, *Dissertation*, Universität Tübingen, **2000**.
- [Ban66] D.F. Banks, *Chem. Rev.* **1966**, *66*, 243.
- [Ban99] H. Bandel, W. Haap, G. Jung, in G. Jung (Ed.), „Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analysis, Screening“, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, 479-498.
- [Bar89] K. Barlos, D. Gatos, J. Kallitsis, G. Papaphotiou, P. Sotiriu, Y. Wenqing, W. Schäfer, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3943-3946.
- [Bar89a] K. Barlos, D. Gatos, S. Kapolos, C. Poulos, G. Papaphotiou, W. Schäfer, Y. Wenqing, *Tetrahedron. Lett.* **1989**, *30*, 3947-3950.
- [Bar00] P.G. Baraldi, R. Romagnoli, I. Beria, P. Cozzi, C. Geroni, N. Mongelli, N. Bianchi, C. Mischiati, R. Gambari, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2675-2684.
- [Bau02] M. Bauser, *J. Chromatogr. Sci.* **2002**, *40*, 292-296.
- [Bay85] E. Bayer, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1985**, *25*, 178-186.

- [Bax02] I.R. Baxendale, S.V. Ley, M. Nessi, C. Piutti, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6285-6304.
- [Bay86] E. Bayer, W. Rapp, *Chem. Pept. Prot.* **1986**, *3*, 3-8.
- [Bay90] E. Bayer, K. Albert, H. Willisch, W. Rapp, B. Hemmasi, *Macromolecules* **1990**, *23*, 1937-1940.
- [Bay91] E. Bayer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1991**, *30*, 113-129; *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 117-133.
- [Bea92] S.F. Beaucage, R.P. Iyer, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2223-2311.
- [Bel60] R. Bell, K.J. Morgan, *J. Chem. Soc.* **1960**, 1209-1214.
- [Ben98] M. Benaglia, R. Annunziata, M. Cinquini, F. Cozzi, S. Ressel, *J.Org.Chem.* **1998**, *63*, 8628-8629.
- [Bla88] R. A. Black, S. R. Kronheim, M. Cantrell, M. C. Deeley, C. J. March, K. S. Prickett, J. Wingall, P. J. Conlon, D. Cosman, T. P. Hopp, D. Y. Mochizuki, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 9437-9442.
- [Boe01] A. Boeijen, J.v.Ameijde, R.M.J. Liskamp, *J.Org.Chem.* **2001**, *66*, 8454-8462.
- [Bro61] C.J.W. Brooks, G. Eglinton, J.F. Morman, *J.Chem.Soc* **1961**, 106-1166.
- [Bun92] B.A. Bunin, J.A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10997-10998.
- [Bun98] B.A. Bunin (Ed.), "The Combinatorial Index", Academic Press, San Diego, **1998**.
- [Car93] C. Cardozo, A. Vintisky, M. C. Hidalgo, C. Michaud, M. Orlowski, *Biochemistry* **1992**, *31*, 7373-7380.
- [Car98] H. Caro, *Angew. Chem.* **1898**, *11*, 845.
- [Cor95] E.J. Corey, A. Palani, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3485-3488.
- [Des83] D.B. Dess, J.C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4156-4158.
- [Des91] D.B. Dess, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277-7287.
- [Dry86] A. Dryland, R.C. Sheppard, *J. Chem. Soc. Perk. Trans. 1* **1986**, 125-137.
- [Eam01] J.Eames, M. Watkinson, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *7*, 1213-1224.
- [Ede97] N.J. Ede, A.M. Bray, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7119-7122.
- [Feh94] J.-A. Fehrentz, C. Pothion, J.-C. Califano, A. Loffet, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 9031-9034.
- [Feh95] J.-A. Fehrentz, M. Paris, A. Heitz, J. Velek, C.-F. Liu, F. Winternitz, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7871-7874.
- [Feh97] J. A. Fehrentz, M. Paris, A. Heitz, J. Velek, F. Winternitz, J. Martinez, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6792-6796.
- [Feh98] J.A. Fehrentz, M. Paris, A. Heitz, M. Rolland, J. Velek, J. Martinez, *25th European Peptide Symposium* **1998**, Budapest, Hungary.
- [Fei74] R.S. Feinberg, R.B. Merrifield, *Tetrahedron* **1974**, *30*, 3209-3212.
- [Fig94] M.E. Figueiredo-Pereira, K.A. Berg, S. Wilk, *J. Neurochem.* **1994**, *63*, 1578-81.

- [Fly98] D.L. Flynn, R.V. Devraj, W. Naing, J.J. Parlow, J.J. Weidner, S.L. Yang, *Med. Chem. Res.* **1998**, *8*, 219-243.
- [Fra48] R. Frank, P.E. Fanta, D. S. Tarbell *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 2315-2320.
- [Fri94] M. Frigerio, M. Santagostino, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8019-8022.
- [Fri95] M. Frigerio, M. Santagostino, S. Sputore, G. Palmisano, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7272-7276.
- [Fri99] M. Frigerio, M. Santagostino, S. Sputore *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4537-4538.
- [Fro79] W. Frommer, B. Junge, L. Müller, D. Schmidt, E. Truscheit, *Planta Med.* **1979**, *35*, 195-215.
- [Frü96] J.S. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 19-42; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 19-46.
- [Gan94] J. Gante, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1780-1802.
- [Gal94] M.A. Gallop, R.W. Barrett, W.J. Dower, S.P.A. Fodor, E.M. Gordon, *J. Med. Chem.*, **1994**, *37*, 1233.
- [Gal97] N. Galeotti, M. Giraud, P. Jouin, *Lett. Pept. Sci.* **1997**, *4*, 437-440.
- [Gar96] R.S. Garigipati, B. Adams, J.L. Adams, S.K. Sarkar, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2911-2914.
- [Gar98] M. Garcia-Calvo, E.P. Peterson, B. Leiting, R. Ruel, D.W. Nicholson, N.A. Thornberry, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 32608-32613.
- [Gir84] E. Giralt, J. Rizo, E. Pedrosa, *Tetrahedron* **1984**, *40*, 4141-4152.
- [Gri00] P. Grice, A.G. Leach, S.V. Leach, A. Masso, D. Mynett, *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 491-495.
- [Gut71] B. Gutte, R.B. Merrifield, *J. Biol. Chem.* **1971**, *246*, 1922-1941.
- [Gre84] N.N. Greenwood, A. Earnshaw, *Chemistry of the Elements*, Pergamon Press: Oxford England, **1984**, 925-926.
- [Haa97] W.J. Haap, T. Redemann, J.S. Früchtel, G. Jung, *GIT Special "Prof. Bayer"* **1997**, *4*, 94-97.
- [Haa98] W.J. Haap, T.B. Walk, G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3311-3314; *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3506-3509.
- [Har93] C. Hartmann, V. Meyer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1893**, *26*, 1727-1732.
- [Hal98] B. J. Hall, J. D. Sutherland, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6593-6596.
- [Her96] P.H.H. Hermkens, H.C.J. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 4527-4554.
- [Her97] P.H.H. Hermkens, H.C.J. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5643-5678.
- [Hes91] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie* **1991**, *4. Auflage*, Thieme:Stuttgart, 49.
- [Heu77] G. Heusel, G. Bovermann, W. Goehring, G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1977**, *14*, 817-818; *Angew. Chem.* **1977**, *89*, 680-682.

- [Hil98] P.M. St. Hilaire, T.L. Lowary, M. Meldal, K. Bock, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13312-13320.
- [Ho93] P. T. Ho, K. Ngu, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2313-2316.
- [Hol95] C.P. Holmes, D.G. Jones, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2318-2319.
- [How95] A.F. Hollemann, E. Wiberg, N. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie* **1995**, *101. Auflage*, Walter de Gruyter: Berlin, 433-598.
- [Ire93] R.E. Ireland, L. Liu, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2899.
- [Ito75] A. Ito, R. Takahashi, Y. Baba, *Chem. Pharm. Bull.* **1975**, *23*, 3081-3087.
- [Jac97] R. Jack, F. Götz, G. Jung, *Lantibiotics* H.-J. Rehm and G. Reed (Eds.), *Biotechnology* **1997**, *7*, Verlag Chemie, Weinheim, 323-368.
- [Jam99] I.W. James, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 4855-4946.
- [Jun92] G. Jung, A.G. Beck-Sickinger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1992**, *31*, 367-383; *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 375-391.
- [Jun96] G. Jung (Ed.), "Combinatorial Peptide and Nonpeptide Libraries", Wiley-VCH, Weinheim, **1996**.
- [Jun99] G. Jung (Ed.), "Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analysis, Screening", Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [Jur89] J. Jurczak, A. Golebiowski, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 149-164.
- [Kai70] E. Kaiser, R.L. Colescott, C.D. Bossinger, P.I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.
- [Kan00] M.-C. Kang, B. Bray, M. Lichty, C. Mader, G. Merutka, US 6015881.
- [Kar98] D. Karanewsky, X. Bai, S. D. Linton, J. F. Krebs, J. Wu, B. Pham, K. J. Tomaselli, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 2757-2762.
- [Kat89] A.R. Katritzky, B.L. Duell, J.K. Gallos, *Mag. Res. Chem.* **1989**, *27*, 1007-1011.
- [Kaw69] K. Kawamura, S.-I. Kondo, K. Maeda, H. Umezawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1969**, *17*, 1902-1909.
- [Kei96] P.A. Keifer, L. Baltusis, D.M. Rice, A.A. Tymiak, J.N. Shoolery, *J. Magn. Res. A*, **1996**, 65-75.
- [Ken71] G.W. Kenner, J.R.J.R. McDermott, R.C. Sheppard, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1971**, 636-637.
- [Kil98] J.M. Kilby, S. Hopkins, T.M. Venetta, B. DiMassimo, G.A. Cloud, J.Y. Lee, L. Alldredge, E. Hunter, D. Lambert, D. Bolognesi, T. Matthews, M.R. Johnson, M.A. Nowak, G.M. Shaw, M.S. Saag, *Nat. Med.* **1998**, *4*, 1302-1307.
- [Kis73] L. Kisfaludy, M. Löw, O. Nyedi, T. Szirtes, I. Schön, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1973**, 1421-1429.
- [Kob63] S. Kobayashi, S. Takawa, S. Nakajima, *Chem. Pharm. Bull.* **1963**, *11*, 123-126.
- [Kok90] G. Kokotos, *Synthesis* **1990**, 299-301.
- [Kok96] G. Kokotos, C. Noula, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6994-6996.

- [Kos83] G.F. Koser, *The Chemistry of Functional Groups*, **1983**, Suppl. D, S. Patai, Z. Rappoport, Eds., Wiley: New York, 1265-1351.
- [Kos89] M. J. Kostura, M. J. Tocci, G. Limjico, J. Chin, P. Cameron, A. G. Hillman, N. A. Chartrain, J. A. Schmidt, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1989**, *86*, 5227-5231.
- [Kos95] G.F. Koser, *The Chemistry of Functional Groups*, **1995**, Suppl. D2, S. Patai, Z. Rappoport, Eds., Wiley: New York, 1173-1274.
- [Kun88] H. Kunz, B. Dombo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 711-713; *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 732-734.
- [Lan19] I. Langmuir, *J. Am. Chem. Soc.* **1919**, *41*, 868-934
- [Lee02] M.S. Lee, *Practical Spectroscopy* **2002**, *32*, 3333-3336.
- [Lei03] Z. Lei, C. Denecker, S. Jegasothy, D.C. Sherrington, N.K.H. Slater, A.J. Sutherland, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1635-1637.
- [Lei03b] F.C. Leinweber, D.G. Schmid, D. Labda, K.-H. Wiesmüller, G. Jung, U. Tallarek, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2003**, *17*, 1180-1188.
- [Lew16] G.N. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.* **1916**, *38*, 762-785.
- [Ley00] S.V. Ley, I.R. Baxendale, R.N. Bream, P.S. Jackson, A.G. Leach, D.A. Longbottom, M. Nesi, J.S. Scott, R.I. Storer, S.J. Taylor, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, 3815-4195.
- [Lin89] R. J. Lindermann, D. M. Graves, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 61-668.
- [Löw95] J. Löwe, D. Stock, B. Jap, P. Zwickl, W. Baumeister, R. Huber, *Science* **1995**, *268*, 533-539.
- [Loi00] G. Loidl, H.-J. Musiol, M. Groll, R. Huber, L. Moroder, *J. Peptide Sci.* **2000**, *6*, 36-46.
- [Li99] W.-R. Li, Y.-C. Yo, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 9085-9089.
- [McC93] R.M. McConell, J.L. York, D. Frizell, C. Ezell, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1084-1089.
- [Mag02] D. Magdziak, A.A. Rodriguez, R.W. van de Water, T.R.R. Pettus, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 285-288.
- [Mal87] M. Mailk, M. Fenko, A. Sheikh, R. Kascsak, M. Tonna-DeMasi, H. Wisniewski, *Biochem. Biophys. Acta* **1987**, *916*, 135-144.
- [Man81] A.J. Mancuso, D. Swern, *Synthesis* **1981**, 165-185.
- [Mar01] M. B. Smith, J. March, Hrsg. *March's Advanced Organic Chemistry* **2001**, Wiley: New York, 1508-1604.
- [Mar85] J. Martinez, J.-P. Bali, M. Rodriguez, B. Castro, R. Magous, J. Laur, M.-F. Lignon, *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1874-1879.
- [Mar97] N. Margolin, S.A. Raybuck, K.P. Wilson, W. Chen, T. Fox, Y. Gu, D.J. Livingston, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 7223-7228.
- [Mas35] I. Masson, E. Race, F.E. Pounder, *J. Chem. Soc.* **1935**, 1669-1679.
- [Mas37] I. Masson, E. Race, *J. Chem. Soc.* **1937**, 1718-1723.
- [Mas38] I. Masson, W.E. Hanby, *J. Chem. Soc.* **1938**, 1699-1701.

- [Mat81] G.R. Matsueda, J.M. Stewart, *Peptides* **1981**, 2, 45-50.
- [Mel92] M. Meldal, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 3077-3080.
- [Mel94] M. Meldal, F.-I. Auzanneau, O. Hindsgaul, M.M. Palcic, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1994**, 1849-1850.
- [Mer63] R.B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
- [Mey92] V. Meyer, W. Wachter, *Ber. Chem. Ges.* **1892**, 25, 2632-2635.
- [Mey94] S.D. Meyer, S.L. Schreiber, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7549-7552.
- [Mor99] R.M. Moriarty, O. Prakash, *Organic Reactions* **1999**, 54, 273-418.
- [Mor01] R.M. Moriarty, O. Prakash, *Organic Reaktionen* **2001**, 57, 327-415.
- [Mor02] J.D. More, N.S. Finney, *Org. Lett.* **2002**, 4, 3001-3003.
- [Mos84] R.A. Moss, K.W. Alwis, J-S. Shin *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 2651-2655.
- [Müh01] M. Mülbaier, A. Giannis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 41, 4393-4394, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 4530-4532.
- [Mur92] A.M. Murphy, R. Dagnino, P.L. Vallar, A.J. Trippe, S.L. Sherman, R.H. Lumpkin, S.Y. Tamura, T.R. Webb, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 3156-3157.
- [Mus69] J.I. Musher, *Angew. Chem.* **1969**, 81, 68-83.
- [Nah81] S. Nahm, S.M. Weinreb, *Tetrahedron Lett.* **1981**, 39, 3815-3818.
- [Nic98] K.C. Nicolaou, J. Pastor, S. Barluenga, N. Winssinger, *Chem. Commun.* **1998**, 63, 1947-1948.
- [Nic00a] K.C. Nicolaou, Y.-L. Zhong, P.S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 622-625; *Angew. Chem.* **2000**, 112, 636-639
- [Nic00b] K.C. Nicolaou, Y.-L. Zhong, P.S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 625-628; *Angew. Chem.* **2000**, 112, 639-642.
- [Nic00c] K.C. Nicolaou, P.S. Baran, Y.-L. Zhong, J.A. Vega, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 2525-2529; *Angew. Chem.* **2000**, 112, 2625-2629.
- [Nic00d] K.C. Nicolaou, Y.-L. Zhong, P.S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 7596-7597.
- [Nic01a] K.C. Nicolaou, P.S. Baran, R. Kranich, Y.-L. Zhong, K. Sugita, N. Zou, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 40, 202-206; *Angew. Chem.* **2002**, 113, 208-212.
- [Nic01b] K.C. Nicolaou, K. Sugita, P.S. Baran, Y.-L. Zhong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 40, 207-210. *Angew. Chem.* **2002**, 113, 213-216.
- [Nic01c] K.C. Nicolaou, P.S. Baran, Y.-L. Zhong, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 3183-3185.
- [Nic02a] K.C. Nicolaou, T. Montagnon, P.S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 993-996; *Angew. Chem.* **2002**, 114, 1035-1038.
- [Nic02b] K.C. Nicolaou, T. Montagnon, P.S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1038-1042; *Angew. Chem.* **2002**, 114, 996-1000.

- [Nic02c] K.C. Nicolaou, T. Montagnon, P.S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1386-1389; *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1444-1447.
- [Nic02d] K.C. Nicolaou, P.S. Baran, Y.-L. Zhong, K. Sugita, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2212-2220.
- [Nic02e] K.C. Nicolaou, K. Sugita, P.S. Baran, Y.-L. Zhong, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2221-2232.
- [Nic02f] K.C. Nicolaou, P.S. Baran, Y.-L. Zhong, S. Barluenga, K.W. Hunt, R. Kranich, J.A. Vega, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2233-2244.
- [Nic02g] K.C. Nicolaou, T. Montagnon, P.S. Baran, Y.-L. Zhong, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2245-2258.
- [Nic03a] K.C. Nicolaou, T. Montagnon, P.S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3981, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4111.
- [Nic03b] K.C. Nicolaou, C.J.N. Mathison, T. Montagnon, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4077-4082; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4211-4216.
- [Nik79] J.-I. Nikawa, T. Shiba, *Chemistry Letters* **1979**, *8*, 981-982.
- [Och03] M. Ochiai in T. Wirth (Ed.) *Topics in Current Chemistry: Modern Developments in Organic Synthesis* Springer, Berlin-Heidelberg **2003**, *224*, 5-68.
- [Orl90] M. Orlowski, *Biochemistry* **1990**, *29*, 10289-10297.
- [Ota02] A. Otake, M. Nakamura, D. Nameki, E. Kodama, S. Uchiyama, S. Nakamura, H. Nakano, H. Tamamura, Y. Kobayashi, M. Matsuoka, N. Fujii, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3062-3064.
- [Ott97] H.-H. Otto, T. Schirmeister, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 133-171.
- [Pal95] J. Palmer, D. Rasnick, J. Klaus, D. Brömme, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3193-3196.
- [Par98a] M. Paris, C. Pothion, A. Heitz, J. Martinez, J.-A. Fehrentz, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1341-1344.
- [Par98b] M. Paris, A. Heitz, V. Guerlavais, M. Cristau, J.-A. Fehrentz, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7287-7290.
- [Per80] C.W. Perkins, J.C. Martin, A.J. Arduengo, W. Law, A. Alegria, J.K. Kochi, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7753-7759.
- [Pat99] J.A. Patterson, R. Ramage, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6121-6124.
- [Rad99] J. Rademann, M. Meldal, K. Bock, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1218-1225.
- [Rad00] J. Rademann, W. Kraas, B. Dörner, *Nachrichten Chem.* **2000**, *114*, 3087-3090.
- [Rad02] J. Rademann, M. Barth, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3847-3850; *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3087-3090.
- [Red94] P.M Reddy, M.A. Michael, F. Farooqui, S. Girgis, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 5771-5774.
- [Ree02] N.N. Reed, M. Delgado, K. Hereford, B. Clapham, K.D. Janda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2047-2049.

- [Rei76] K. Reimer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1876**, 9, 824.
- [Red97] T. Redemann, *Dissertation*, Universität Tübingen, **1997**.
- [Ren96] M. Renil, M. Meldal, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 6185-6188.
- [Rob00] F. Robert, J.-Y. Winum, N. Sakai, D. Gerard, S. Matile, *Org. Lett.* **2000**, 2, 37-39.
- [Ruh98] T. Ruhland, K. Anderson, H. Pederson, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 9204-9211.
- [Ric98] L. S. Richter, S. Andersen *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 8747-8750.
- [Rin87] H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 3787-3790.
- [Riv89] A. J. Rivett, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 12215-12219.
- [Sam90] V. Samano, M.J. Robins, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 5186-5188.
- [Sam99] C.K. Sams, J. Lau, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40 9359-9362.
- [San43] R.B. Sandin, *Chem. Rev.* **1943**, 32, 249-271.
- [San98] R. Santini, M.C. Griffith, M. Qi, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 8951-8954.
- [Sch67] I. Schlechter, A. Berger, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1967**, 23, 157-162.
- [Sch94] M. Schuster, P. Wang, J.C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 1135-1138.
- [Sch98] K. A. Scheidt, W. R. Roush, J. H. McKerrow, P. M. Selzer, E. Hansell, P. J. Rosenthal, *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6, 2477-2494.
- [Sch01] D.G. Schmid, P. Grosche, H. Bandel, G. Jung, *Biotech. Bioeng. (Combinatorial Chemistry)* **2001**, 71, 19-161.
- [Sch02] D.G. Schmid, *Dissertation*, Universität Tübingen, **2002**.
- [She82] R.C. Sheppard, B.J. Williams, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1982**, 20, 451-454.
- [She01] D.C. Sherringham, *J. Polym. Sci Part A: Polym. Chem.* **2001**, 39, 2346-2377.
- [Sie76] H. Siebert, M. Handrich, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1976**, 426, 173-183.
- [Sin83] G. Sinden „Methoden. Org. Chem. (Houben-Weyl)“ **1983**, Band E3, 16-19.
- [Sma89] S.M. Sami, W.A. Remers, W.T. Remers, W.T. Bradner, *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 703-708.
- [Smi88] R. Smith, L. Copp, S. Donnelly, R. Spencer, A. Krantz, *Biochemistry* **1988**, 27, 6568-6573.
- [Spe96] A. Speicher, V. Bomm, T. Eicher, *J. Prakt. Chem.* **1996**, 338, 588-590.
- [Sor01] G. Sorg, A. Mengel, G. Jung, J. Rademann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 4395-4397; *Angew. Chem.* **2001**, 113, 4532-4535.
- [Sta96] P.J. Stang, V.V. Zhdankin, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 1123-1178.
- [Sti95] S.H. Stickley, J.C. Martin, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 9117-9120.
- [Str97] B.R. Stranix, J.P. Gao, R. Barghi, J. Salha, G.D. Darling, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 8987-8993.
- [Sub98] D.S. Bose, P. Srinivas, *Synlett* **1998**, 3, 977-978.

- [Süs99] R.D. Süßmuth, G. Jung, *J. Chromatogr. B, Biomed. Sci. Appl.* **1999**, 725, 49-65.
- [Sve96] A. Svensson, T. Fex, J. Kihlberg, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 7649-7652.
- [Tal97] R.V. Talanian, C. Quinlan, S. Trautz, M.C. Hackett, J.A. Mankovich, D. Banach, T. Thayur, K.D. Brady, W.W. Wong, *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 9677-9682.
- [Tho92] N.A. Thornberry, H.G. Bull, J.R. Calaycay, K.T. Chapman, A.D. Howard, M.J. Kostura, D.K. Miller, S.M. Molineaux, J.R. Weidner, J. Aunins, K.O. Elliston, J.M. Ayala, F.J. Casano, J. Chin, G.J.-F. Ding, L.A. Egger, E.P. Gaffney, G. Limjuco, O.C. Palyha, S.M. Raju, A.M. Rolando, J.P. Salley, T.-T. Yamin, T.D. Lee, J.E. Shively, M. MacCoss, R.A. Mumford, J.A. Schmidt, M.J. Tocci, *Nature* **1992**, 356, 768-774.
- [Tho96] L.A. Thompson, J.A. Ellman, *Chem.Rev.* **1996**, 555-600.
- [Tho97] N.A. Thornberry, T.A. Rano, E.P. Peterson, D.M. Rasper, T. Timkey, M. Garcia-Calvo, V.M. Houtzager, P.A. Nordstrom, S. Roy, J.P. Vaillancourt, K.T. Chapman, D.N. Nicholson, *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 17907-17911.
- [Tho99] N.A. Thornberry, *Vortrag während des 26. Europäischen Peptidsymposiums*, Montpellier, **1999**.
- [Tho02] A.P. Thottumkara, T.K. Vinod, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 569-572.
- [The98] B. Thern, *Diplomarbeit*, Universität Tübingen, **1998**.
- [The02] B. Thern, *Doktorarbeit*, Universität Tübingen, **2002**.
- [Toh00] H. Tohma, S. Takizawa, T. Maegawa, Y. Kita, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 1306-1308; *Angw. Chem.* **2000**, 112, 1362-1364.
- [Ton00] X.-H. Tong, A. Hong, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 8857-8860.
- [Ume83] H. Umezawa, T. Aoyagi, in *Proteinase Inhibitors: Medical and Biological Aspects*, Hrsg: N. Katunuma, H. Umezawa, H. Holzer, Springer Verlag, Berlin **1983**.
- [Uni01] United States Environmental Protection Agency, The Presidential Green Chemistry Challenge Awards Program: Summary of 2000 Award Entries and Recipients. www.epa.gov/greenchemistry, **2001**.
- [Var81] A. Varvoglis, *Chem. Soc. Rev.* **1981**, 10, 377-407.
- [Var92] A. Varvoglis, "The Organic Chemistry of Polycoordinated Iodine" **1992**, VCH Publishers Inc., New York.
- [Var96] A. Varvoglis, "Hypervalent Iodine in Organic Synthesis" **1996**, Academic Press.
- [Var98] A. Varvoglis, S. Spyroudis, *Synlett* **1998**, 3, 221-232.
- [Var03] A. Varvoglis in T. Wirth (Ed.) *Topics in Current Chemistry: Modern Developments in Organic Synthesis* Springer, Berlin-Heidelberg, **2003**, 224, 69-98.
- [Váz01] J. Vázquez, F. Albericio, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 6691-6693.
- [Voj95] T. Vojkovsky, *Pept. Res.* **1995**, 8, 236-237.
- [Wan73] S.S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 1328-1333.

- [War95] R. Warrass, *Diplomarbeit*, Universität Tübingen, **1995**.
- [War97] R. Warrass, *Dissertation*, Universität Tübingen, **1997**.
- [Weh96] T. Wehler, J. Westman, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 4771-4774.
- [Wen99] P. Wenworth Jr., K.D. Janda, *Chem. Commun.* **1999**, 1917-1924.
- [Wei00] S. Weik, *Diplomarbeit*, Universität Tübingen, **2000**.
- [Web98] K.S. Webb, S.J. Ruzskay *Tetrahedron* **1998**, 54, 401-410.
- [Wen98] J.J. Wen, C.M. Crews, *Tetrahedron Asymm.* **1998**, 9, 1855-1858.
- [Wie83] K.-H. Wiessmüller, W.G. Bessler, G. Jung, *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1983**, 364, 593-606.
- [Wil86] C. Willgerodt, *J. Prakt. Chem.* **1886**, 33, 154-160.
- [Wil14] C. Willgerodt, „Die organischen Verbindungen mit mehrwertigem Jod“, F. Enke, Stuttgart, **1914**.
- [Wil83] S. Wilk, M. Orłowski, *J. Neurochem.* **1983**, 40, 842-849.
- [Wil93] S. Wilk, M. E. Figueiredo-Pereira, *Enzyme Protein* **1993**, 47, 306-313.
- [Wil94] K.P. Wilson, J.F. Black, J.A. Thomson, E.E. Kim, J.P. Griffith, M.A. Navia, M.A. Murcko, S.P. Chambers, R.A. Aldape, S.A. Raybuck, D.J. Livingston, *Nature*, **1994**, 370, 270-275.
- [Wir03a] T. Wirth (Ed.) *Topics in Current Chemistry* Springer, Berlin-Heidelberg, **2003**.
- [Wir03b] T. Wirth in T. Wirth (Ed.) *Topics in Current Chemistry: Hypervalent Iodine Chemistry; Modern Developments in Organic Synthesis* Springer, Berlin-Heidelberg, **2003**, 224, 185-208.
- [Wöh96] T. Wöhr, F. Wahl, A. Nefzi, B. Rohwedder, T. Sato, X. Sun, M. Mutter, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 116, 9218-9227.
- [Woo95] J.-T. Woo, S. Sigeizumi, K. Yamaguchi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, 5, 1501-1504.
- [Woo97] F.X. Woolard, J. Paetsch, J.A. Ellman, *J. Org. Chem.* **1996**, 52, 10823-10826.
- [Wu02] Y. Wu, J.-H. Huang, X. Shen, Q. Hu, C.-J. Tang, L. Li, *Org. Lett.* **2002**, 4, 2141-2144.
- [Yan95] B. Yan, Kumaravel, H. Anjaria, A. Wu, R.C. Petter, C.F. Jewell Jr., J.R. Wareing, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 5736-5738.
- [Yan96] B. Yan, J.B. Fell, G. Kumaravel, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 7467-7472.
- [Yao01] W. Yao, H. Y. Xu, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 2549-2552.
- [Yos97] T. Yoshino, Y. Nagata, E. Itho, M. Hashimoto, T. Katoh, S. Terashimo *Tetrahedron* **1997**, 53, 10239-10252.
- [Zar00] F. Zaragoza Dörwald, „Organic Synthesis on Solid Support“, Wiley-VCH, Weinheim **2000**.
- [Zol99] T. Zoller, P. Breuilles, D. Uguen, A. de Cian, J. Fischer, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 6253-6256.

8 Anhang

8.1 Berechnung der Harzbeladung nach einem Syntheseschritt

Mit der Beladung eines Harzes bezeichnet man die Anzahl reaktiver Zentren in Millimol bezogen auf die Masse der Harzportion in Gramm.

Sei B_{vor} die Beladung des Harzes vor dem Syntheseschritt in mmol/g und m_{vor} die Masse vor der Reaktion in g. Die Anzahl der reaktiven Zentren beträgt also

$$n_{\text{vor}} = m_{\text{vor}} B_{\text{vor}} \quad (1)$$

Nach einem Syntheseschritt (unter der Annahme, dass die Umsetzung vollständig verläuft) hat sich die Masse der umgesetzten Harzportion um

$$\Delta m = n_{\text{vor}} \frac{\Delta M}{1000} = m_{\text{vor}} B_{\text{vor}} \frac{M_{\text{nach}} - M_{\text{vor}}}{1000} \quad (2)$$

auf

$$\begin{aligned} m_{\text{nach}} &= m_{\text{vor}} + \Delta m = m_{\text{vor}} + m_{\text{vor}} B_{\text{vor}} \frac{M_{\text{nach}} - M_{\text{vor}}}{1000} \\ &= m_{\text{vor}} \left(1 + B_{\text{vor}} \frac{M_{\text{nach}} - M_{\text{vor}}}{1000} \right) \end{aligned} \quad (3)$$

geändert. Δm ist hierbei die Massenänderung der Harzportion in g; ΔM die Änderung des Molgewichts der an der Ankergruppierung immobilisierten Spezies in g/mol. Der Faktor 1000 ergibt sich aus den unterschiedlichen Dimensionen der Einheiten von Beladung (mmol/g) und Molgewicht (g/mol).

Die Zahl der reaktiven Zentren bleibt konstant, das heißt die Anzahl an Produktmolekülen nach der Reaktion, n_{nach} , ist gleich der Anzahl an Eduktmolekülen, n_{vor} . Also gilt

$$n_{\text{nach}} = n_{\text{vor}} = \text{const.} \quad (4)$$

Somit ist auch

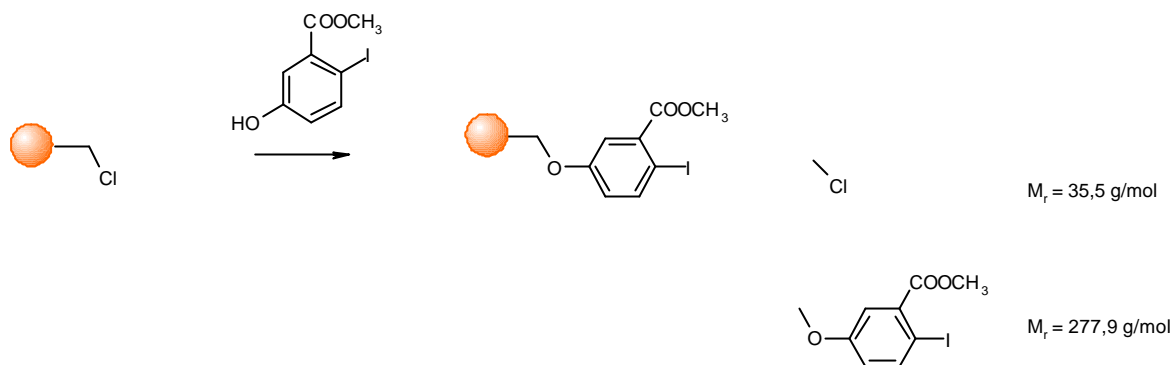
$$m_{\text{nach}} B_{\text{nach}} = m_{\text{vor}} B_{\text{vor}} \quad (5)$$

Die Beladung des Harzes nach der Reaktion beträgt also

$$B_{\text{nach}} = \frac{m_{\text{vor}} B_{\text{vor}}}{m_{\text{nach}}} \quad (6)$$

Diese Formel ist insbesondere von Bedeutung bei der Berechnung der theoretischen Harzbeladungen des IBX-Harzes (3.2.3.4.2).

Am Beispiel der Änderung der Beladung von Merrifield-Harz ($B_{\text{vor}} = 2,0 \text{ mmol/g}$; $m_{\text{vor}} = 0,250 \text{ g}$; $n = 0,5 \text{ mmol}$) nach Immobilisierung von 5-Hydroxy-2-iodbenzoesäuremethylester soll dies verdeutlicht werden:



Die Masse des Harzes nach der Reaktion beträgt nach Gl. (3)

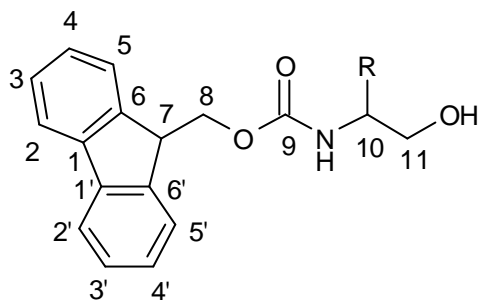
$$\begin{aligned}
 m_{\text{nach}} &= m_{\text{vor}} + \Delta m = m_{\text{vor}} \left(1 + m_{\text{vor}} B_{\text{vor}} \frac{M_{\text{nach}} - M_{\text{vor}}}{1000} \right) \\
 &= 0,250 \text{ g} \left(1 + 2,0 \frac{\text{mmol}}{\text{g}} \frac{277,9 \frac{\text{g}}{\text{mol}} - 35,5 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{1000} \right) \\
 &= 0,371 \text{ g}
 \end{aligned}$$

Die Beladung nach der Reaktion beträgt damit nach Gl. (6)

$$\begin{aligned}
 B_{\text{nach}} &= \frac{m_{\text{vor}} B_{\text{vor}}}{m_{\text{nach}}} = \frac{0,250 \text{ g} \cdot 2,0 \frac{\text{mmol}}{\text{g}}}{0,371 \text{ g}} \\
 &= 1,35 \frac{\text{mmol}}{\text{g}}
 \end{aligned}$$

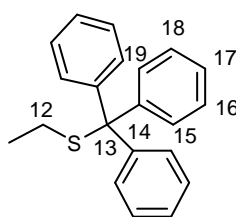
8.2 ^{13}C -NMR-Daten zur Charakterisierung von Fmoc-Aminosäure-alkoholen

Spektrometerfrequenz ^{13}C -NMR: 100,62 MHz



Fmoc-Cys(Trt)-ol (**89**)

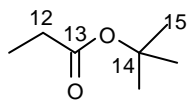
^{13}C -NMR d [ppm] CDCl_3



141,7/144,9	(C1/C6)	156,6	(C9)	144,9	(C14)
120,4/125,4	(C2/C5)	52,5	(C10)	130,0	(C15/C19)
128,1/127,4	(C3/C4)	64,5	(C11)	128,4	(C16/C18)
47,6	(C7)	33,4	(C12)	127,3	(C17)
67,1	(C8)	67,5	(C13)		

Fmoc-Asp(OtBu)-ol (**90**)

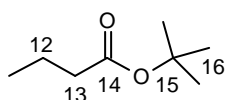
^{13}C -NMR d [ppm] d_6 -DMSO



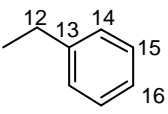

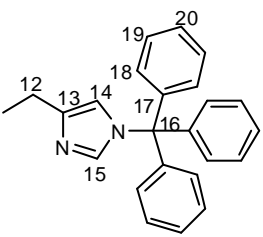
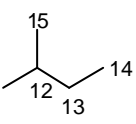
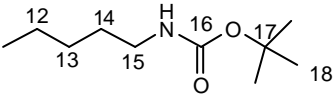
141,3/143,8	(C1/C6)	66,8	(C8)	37,3	(C12)
125,0/120,0	(C5/C2)	156,3	(C9)	171,1	(C13)
127,7/127,0	(C3/C4)	50,0	(C10)	81,5	(C14)
47,2	(C7)	64,5	(C11)	28,0	(C15)

Fmoc-Glu(OtBu)-ol (**91**)

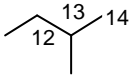
^{13}C -NMR d [ppm] d_6 -DMSO



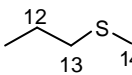
141,3/143,8	(C1/C6)	156,3	(C9)	172,5	(C14)
125,0/120,0	(C2/C5)	52,0	(C10)	81,5	(C15)
127,7/127,0	(C3/C4)	64,5	(C11)	28,0	(C16)
47,2	(C7)	26,2	(C12)		
64,8	(C8)	31,7	(C13)		

Fmoc-Phe-ol (92)		¹³ C-NMR d [ppm] d ₆ -DMSO				
	141,1/144,2	(C1/C6)	156,0	(C9)	128,4	(C14)
	120,4/125,5	(C2/C5)	54,9	(C10)	129,5	(C15)
	127,9/127,4	(C3/C4)	63,4	(C11)	126,2	(C16)
	47,1	(C7)	37,0	(C12)		
	65,6	(C8)	139,7	(C13)		
Fmoc-Gly-ol (93)		¹³ C-NMR d [ppm] d ₆ -DMSO				
	139,4/142,6	(C1/C6)	45,4	(C7)	41,7	(C10)
	118,7/123,8	(C2/C5)	63,9	(C8)	58,5	(C11)
	126,2/125,7	(C3/C4)	154,8	(C9)		
Fmoc-His(Trt)-ol (94)		¹³ C-NMR d [ppm] d ₆ -DMSO				
	140,1/143,0	(C1/C6)	54,9	(C10)	75,2	(C16)
	119,5/124,7	(C2/C5)	63,4	(C11)	141,8	(C17)
	128,1/128,0	(C3/C4)	33,8	(C12)	128,7	(C18)
	46,9	(C7)	136,0	(C13)	129,9	(C19)
	70,1	(C8)	120,6	(C14)	128,7	(C20)
156,2	(C9)	136,1	(C15)			
Fmoc-Ile-ol (95)		¹³ C-NMR d [ppm] CDCl ₃				
	140,6/143,2	(C1/C6)	65,8	(C8)	35,1	(C12)
	119,2/124,3	(C2/C5)	156,3	(C9)	24,7	(C13)
	126,9/126,3	(C3/C4)	56,6	(C10)	10,6	(C14)
	46,6	(C7)	62,8	(C11)	14,8	(C15)
Fmoc-Lys(Boc)-ol (96)		¹³ C-NMR d [ppm] CDCl ₃				
	140,7/143,3	(C1/C6)	156,1	(C9)	29,4	(C14)
	119,4/124,5	(C2/C5)	52,3	(C10)	39,0	(C15)
	127,1/126,5	(C3/C4)	64,1	(C11)	155,8	(C16)
	46,7	(C7)	29,8	(C12)	78,7	(C17)
	66,0	(C8)	22,0	(C13)	27,8	(C18)

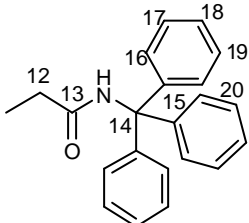
Fmoc-Leu-ol (**97**) $^{13}\text{C-NMR d [ppm] CDCl}_3$

	141,8/144,3	(C1/C6)	66,9	(C8)	40,8	(C12)
	120,4/125,4	(C2/C5)	157,2	(C9)	25,2	(C13)
	128,1/127,5	(C3/C4)	51,8	(C10)	23,4/22,5	(C14/C15)
	47,7	(C7)	66,4	(C11)		

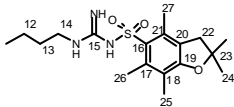
Fmoc-Met-ol (**98**) $^{13}\text{C-NMR d [ppm] d}_6\text{-DMSO}$

	141,1/144,2	(C1/C6)	65,5	(C8)	31,0	(C12)
	120,4/125,6	(C2/C5)	156,3	(C9)	30,4	(C13)
	127,9/127,3	(C3/C4)	52,4	(C10)	15,0	(C14)
	47,2	(C7)	63,6	(C11)		

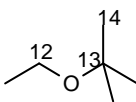
Fmoc-Asn(Trt)-ol (**99**) $^{13}\text{C-NMR d [ppm] CDCl}_3$

	141,7/144,2	(C1/C6)	156,9	(C9)	71,4	(C14)
	120,4/125,5	(C2/C5)	50,6	(C10)	144,6	(C15)
	128,1/127,6	(C3/C4)	64,7	(C11)	127,5	(C16/20)
	47,6	(C7)	39,7	(C12)	129,0	(C17/19)
	67,3	(C8)	171,1	(C13)	128,4	(C18)


Fmoc-Arg(Pbf)-ol (**100**) $^{13}\text{C-NMR d [ppm] CDCl}_3$

	141,6/144,2	(C1/C6)	28,9	(C12)	138,7	(C20)
	120,3/125,5	(C2/C5)	26,0	(C13)	132,6	(C21)
	128,0/127,4	(C3/C4)	43,5	(C14)	41,3	(C22)
	47,5	(C7)	159,2	(C15)	86,8	(C23)
	67,0	(C8)	125,1	(C16)	28,9	(C24)
	157,3	(C9)	118,0	(C17)	18,4	(C25)
	53,1	(C10)	156,8	(C18)	19,7	(C26)
	65,0	(C11)	132,9	(C19)	12,8	(C27)

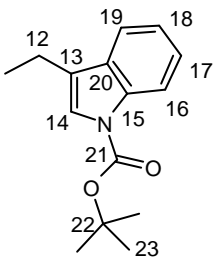
Fmoc-Ser(tBu)-ol (**101**) $^{13}\text{C-NMR}$ d [ppm] $\text{d}_6\text{-DMSO}$

	141/143,7	(C1/C6)	65,3	(C8)	61,0	(C12)
	120,2/125,5	(C2/C5)	155,4	(C9)	73,5	(C13)
	127,3/126,5	(C3/C4)	53,6	(C10)	28,1	(C14)
		(C7)	60,7	(C11)		

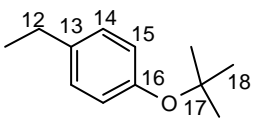
Fmoc-Val-ol (**102**) $^{13}\text{C-NMR}$ d [ppm] CDCl_3

	141,0/143,5	(C1/C6)	66,2	(C8)	28,8	(C12)
	119,6/124,6	(C2/C5)	155,7	(C9)	19,1	(C13)
	127,3/126,7	(C3/C4)	58,2	(C10)	18,3	(C14)
	46,9	(C7)	63,3	(C11)		

Fmoc-Trp(Boc)-ol (**103**) $^{13}\text{C-NMR}$ d [ppm] $\text{d}_6\text{-DMSO}$

	141,0/144,2	(C1/C6)	63,5	(C11)	118,3	(C18)
	120,4/125,6	(C2/C5)	26,5	(C12)	123,7	(C19)
	127,9/127,3	(C3/C4)	122,8	(C13)	135,1	(C20)
	47,0	(C7)	124,6	(C14)	149,4	(C21)
	65,7	(C8)	130,9	(C15)	83,7	(C22)
	156,2	(C9)	115,0	(C16)	28,0	(C23)
	53,3	(C10)	119,7	(C17)		

Fmoc-Tyr(tBu)-ol (**104**) $^{13}\text{C-NMR}$ d [ppm] $\text{d}_6\text{-DMSO}$

	141,1/144,3	(C1/C6)	156,0	(C9)	129,9	(C14)
	120,4/125,6	(C2/C5)	54,8	(C10)	123,7	(C15)
	127,9/127,3	(C3/C4)	63,4	(C11)	153,4	(C16)
	47,1	(C7)	36,5	(C12)	77,9	(C17)
	65,7	(C8)	134,6	(C13)	28,9	(C18)

8.3 NMR-Analytik von Z-LLV-H

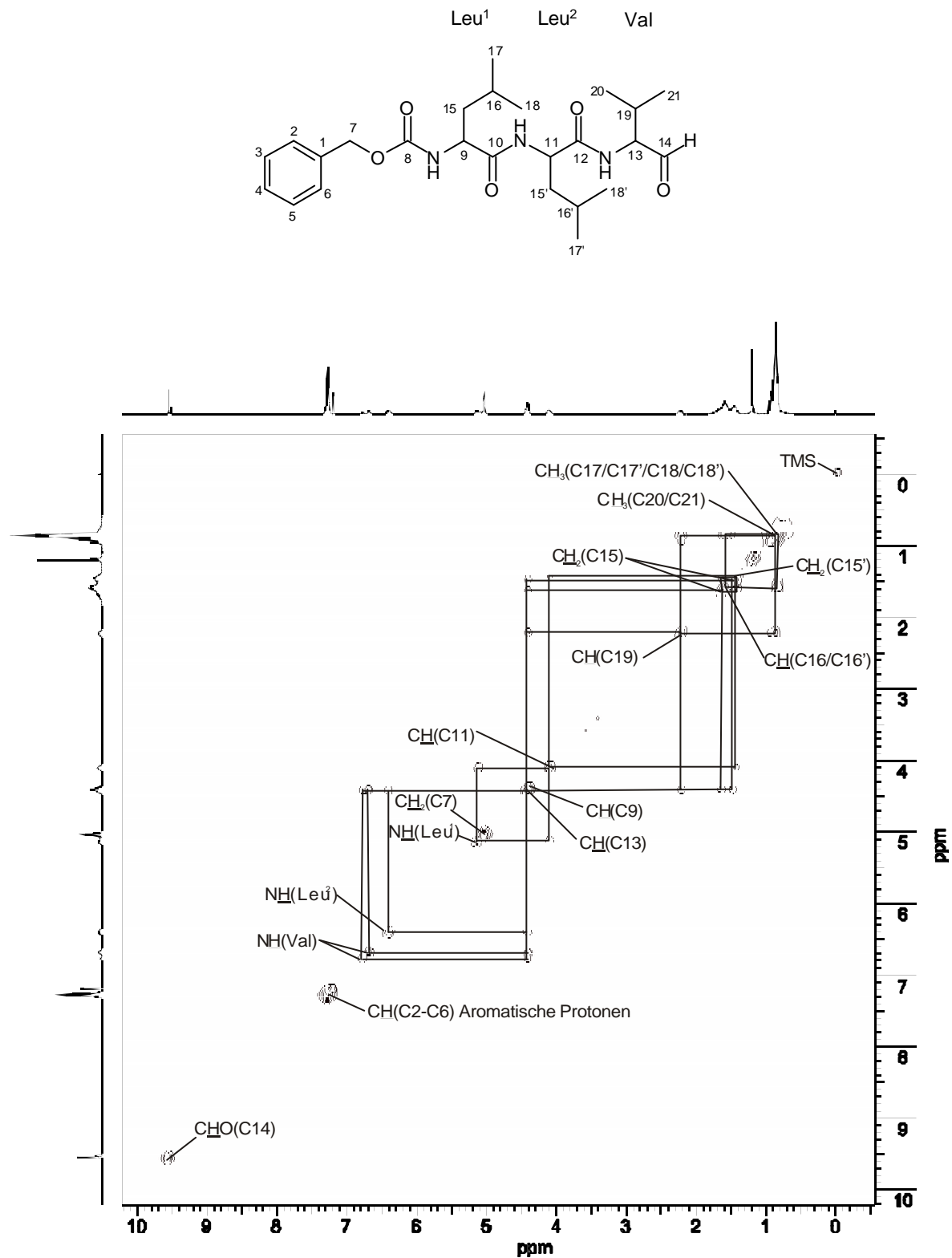


Abb. 8-1 $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY NMR-Spektrum von Z-LLV-H (128b). Die Spinsysteme sind mit Linien verbunden. Mit Hilfe des $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-NMR-Experiments war es sogar möglich die Amidprotonensignale den entsprechenden „Aminosäuren“ zuzuordnen.

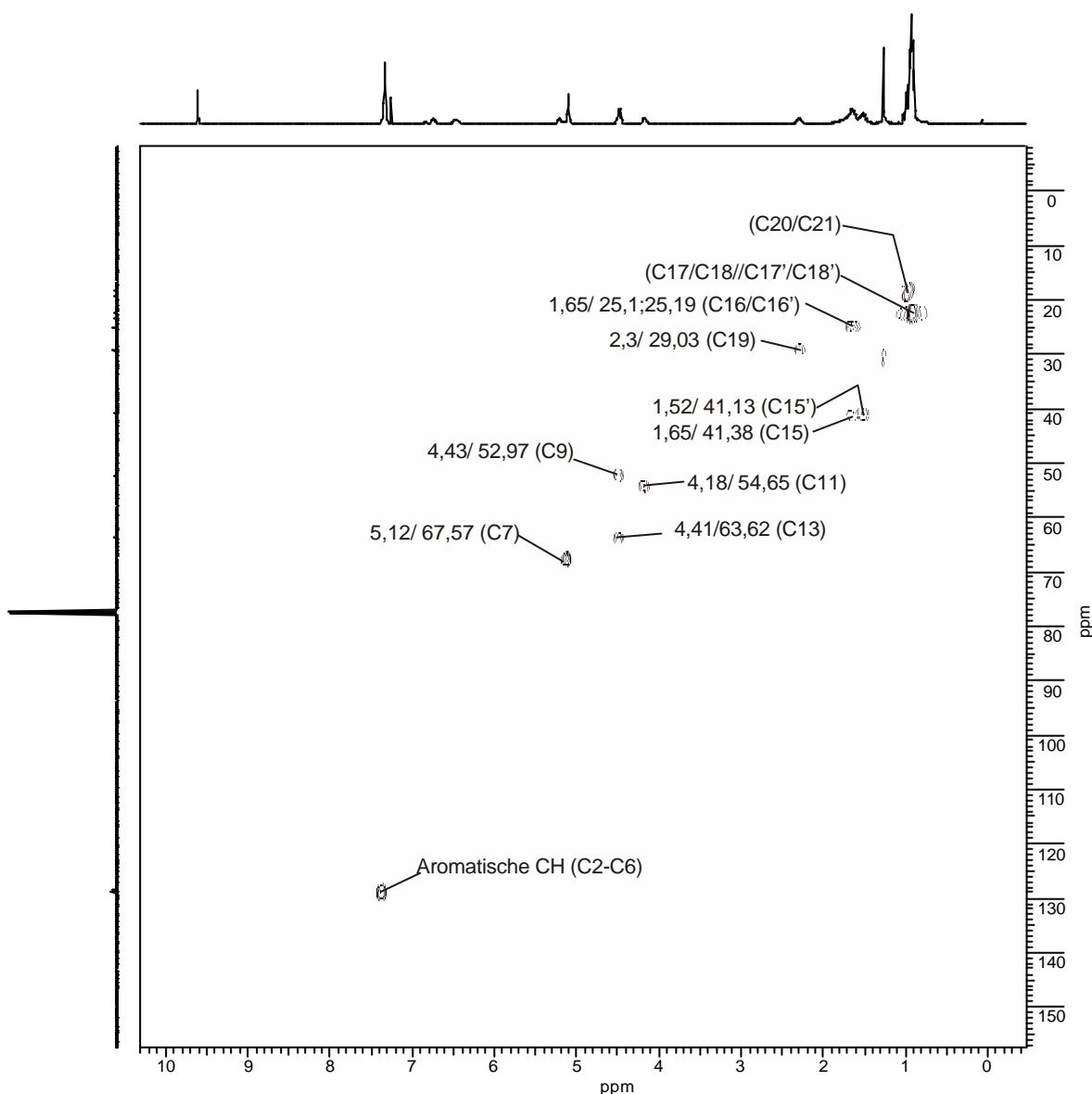


Abb. 8-2 $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -COSY-NMR-Spektrum von Z-LLV-H (**128b**). Die quartären C-Atome 8, 10, 12, 14 ergeben keine Crosspeaks.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 9.55 (s, 1H, CHO (C14)); 7.28-7.19 (m, 5H, CH-Aromaten, C2-C6); 6.69 (d, 1H, J = 6.82 Hz, NH (Val)); 6.40 (s, 1H, NH (Leu¹)); 5.14 (d, 1H, J = 6.06 Hz, NH (Leu²)); 5.03 (d, 2H, J = 4.29 Hz, CH_2 (C7)); 4.43 (m, 1H, CH (C9)); 4.41 (m, 1H, CH (C13)); 4.18 (s, 1H, CH (C11)); 2.29 (m, 1H, CH (C19)); 1.65 (m, 2H, CH_2 (C15)); 1.65 (m, 2H, CH (C16/C16')); 1.52 (m, 2H, CH_2 (C15')); 0.96-0.83 (m, 6H, CH_3 (C20/C21)); 0.96-0.83 (m, 12H, CH_3 (C17/C17'/C18/C18')).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ = 199.9 (C14); 172.8 (C10); 172.4 (C12); 156.7 (C8); 136.4 (C1); 129.6 (C4); 129.3 (C3/C5); 129.1 (C2/C6); 67.6 (C7); 63.6 (C13); 54.7 (C11); 53.0 (C9); 41.4 (C15); 41.1 (C15'); 29.3 (C19); nicht eindeutig 25.1/25.2 (C16/C16'); nicht eindeutig 23.2/22.4 (C17/C17'/C18/C18'); 19.4 (C21) 18.2 (C20).

Meine akademischen Lehrer waren:

U. Abram, K. Albert, E. Bayer†, D. Christen, H. Eckstein, G. Gauglitz, W. Göpel†, G. Häfelinger, M. Hanack, V. Hoffmann, G. Jung, S. Kemmler-Sack†, W. Koch, B. Koppenhöfer, D. Krug, N. Kuhn, E. Lindner, M. E. Maier, H.-J. Meyer, U. Nagel, W. Nakel, H. Oberhammer, D. Oelkrug, G. Pausewang, H. Pommer, V. Schurig, E. Schweda, F.F. Seelig, J. Strähle, H.-D. Wiemhöfer, K.-P. Zeller, C. Ziegler.

