

Synthese von Cycloheptamycin und Derivaten sowie von komplexen Polyenintermediaten zur mechanistischen Aufklärung der Ikarugamycin-Biosynthese

Mert Malay

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Natural Sciences der Technischen Universität München zur Erlangung eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.) genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. rer. nat. Matthias Feige

Prüfer*innen der Dissertation:

1. Prof. Dr. rer. nat. Tobias A. M. Gulder
2. apl. Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Eisenreich

Die Dissertation wurde am 29.06.2023 bei der Technischen Universität München eingereicht und der TUM School of Natural Sciences am 29.11.2023 angenommen.

Danksagung

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Tobias Gulder danken, dass ich die Möglichkeit erhielt in seiner Arbeitsgruppe zwei interessante Forschungsthemen bearbeiten zu können. Für deine fachlichen Ratschläge, dein Vertrauen, deine Geduld und die Freiräume im Erarbeiten von Lösungsansätzen bin ich dir sehr dankbar. Dabei vergesse ich nicht die aufmunternden Gespräche in schwierigen Zeiten, die meine Motivation wieder aufleben ließen, und die sehr freundschaftliche Arbeitsatmosphäre.

Ein ebenfalls sehr großes Danke gilt der ganzen Arbeitsgruppe. Ihr wart Klasse und eine Riesenunterstützung. Ich habe viele schöne Erinnerungen an euch. Gleich von der Anfangszeit in München an habe ich mich bei euch willkommen und als Teil des Teams gefühlt. Jana und Kalina, als Bench-Nachbarn bzw. Laborpartnerinnen habt ihr mir mit Rat und Tat zur Seite gestanden und ich habe die freundschaftliche Stimmung im Königreich „JaKaMe“ sehr genossen. Auch die restlichen Bonner sind mir ans Herz gewachsen. Rene, Fritzi, Anna G. und Christian, unser Gang zur Mensa, unsere Gespräche und Witze waren immer ein Garant dafür meine Stimmung aufzuhellen. Schön, dass ich euch kennenlernen durfte. Wenn wir von Bonner Fraktion sprechen, darf natürlich Hülya nicht fehlen. Als Praktikant bin ich dir wegen deiner Strenge noch aus dem Weg gegangen, später konnte ich das gar nicht mehr verstehen. Du hattest immer ein offenes Ohr und gute Tipps parat, ob bei privaten Themen oder bei fachlichen Fragen zur Peptidchemie und den HPLCs. Wenn mal wieder was kaputt war, konnte man sich darauf verlassen, dass du das wieder in den Griff kriegen wirst. Julia, ich bin froh nach dem Umzug nach Dresden mit dir in einem Labor gelandet zu sein. Durch deine unkomplizierte Art, die vielen Lacher und die langen Gespräche über alle möglichen Themen ist die Arbeit leichter von der Hand gegangen. Bis heute kriege ich Flashbacks an unsere Laborzeit, wenn ich gewisse Songs höre. Abschließend möchte ich dir noch für deinen Beitrag in unserem Ikarugamycin-Projekt danken. Du bist eine top Team-Playerin und hast am Ende nochmal frischen Wind in die Sache reingebracht. Ohne deine Hilfe hätte ich mich so kurz vor dem Ende der Promotion nicht an die neue Route gewagt. Ein sehr großes Danke geht auch an Jonas, Gesa und Max in das Labor 302, in dem ich mich neben meinem eigenen, am liebsten aufgehalten habe. Ihr habt mir mit dem Korrekturlesen dieser Arbeit sehr geholfen. Jonas, danke für deine gute Freundschaft und die schöne Zeit in München und Dresden. Ich denke immer wieder gerne an unsere politischen Unterhaltungen, das gemeinsame Trainieren, deinen Humor und noch vieles mehr, zurück. Dein Zuhören und deine aufmunternden Worte haben mir in so manch verzwickten Zeiten sehr geholfen und Kraft gegeben. Max, auch dir danke ich für die Freundschaft, die gemeinsame Zeit in der Neustadt und die erfrischenden Perspektivwechsel in unseren langen Diskussionen. Gerade weil wir nicht immer einer Meinung waren, waren sie sehr bereichernd. Gesa, vielen Dank für die vielen gemeinsamen Lacher, unsere kleinen Wasserpausen und unsere Spieleabende. Wenn ich von Spieleabenden spreche, darf Basti nicht ausgelassen werden. Egal ob gegeneinander oder gemeinsam gegen das Brett, bei Sieg oder Niederlage, die Spieleabende mit euch beiden waren immer ein Erfolg und haben mir sehr viel Spaß bereitet. Eine etwas andere Art der Freude waren die freitagnachmittags Fahrten mit dir, Katha. Wie viele Stunden bzw. Kilometer wir auf dieser Dresden-München Strecke verbracht haben?! Unglaublich. Wir hatten tolle Gespräche über Gott und die Welt. Du bist mir über die Zeit sehr ans Herz gewachsen. Ich bin froh, dass wir uns damals im Italienisch Kurs über den Weg gelaufen sind und du dich damals für den AK entschieden hast. Ein Italienisch Kurs anderer Art waren unsere Serienabende mit dir, Manu. Das Analysieren verschiedener Handlungen bei gleichzeitig großem Essensangebot waren eine willkommene Ablenkung vom Laboralltag. Danke für die vielen gemeinsamen Lacher sowie deine vielen fachlichen Ratschläge. Now it is time to say thank you to my dear Australian friend, Paul, for always giving me a helping hand, listening to me during difficult times and all the laughs we had. Janin and Zhengyi, thank you for your work on cycloheptamycin and ikarugamycin. This thesis was possible because of your findings. Sabine,

Anke, Monique und Inham, vielen Dank, dass ihr mich so freundlich in Dresden willkommen geheißen habt und die Unterstützung über die ganze Zeit hinweg. Ich habe mich bei euch sehr wohl gefühlt und habe gerne mit euch zusammengearbeitet. Vielen Dank auch an meine ehemaligen Masteranden, Tobi S. und Moritz, für euren motivierten Einsatz und die Ergebnisse die ihr geliefert habt.

Zu guter Letzt gilt ein ganz besonderer Dank meiner Partnerin Tahmina, meinen Eltern, meinem Bruder, meinen Freunden und Verwandten, die mich auf dem Weg der Doktorarbeit begleitet haben. Mit Hilfe eurer stetigen Unterstützung und dem Glauben an mich habt ihr mir die Kraft gegeben, die nötig war. Wie schön, dass es euch gibt und ihr ein Teil meines Lebens seid.

Inhalt

Einleitung.....	1
Nichtribosomale Peptide.....	2
A-Domäne.....	3
PCP-Domäne.....	3
C-Domäne.....	4
TE-Domäne.....	4
Modifizierende Domänen.....	5
Cycloheptamycin und seine Derivate.....	6
Polycyclische Tetransäure-haltige Makrolactame.....	8
Bioaktivität von PoTeMs.....	9
Biosynthese von PoTeMs.....	11
Motivation und Zielsetzung.....	20
Cycloheptamycin (13) und seine Derivate 14, 15 und 16	20
Ikarugamycin-Polyenintermediat 64	20
Ergebnisse und Diskussionen.....	22
Totalsynthese von Cycloheptamycin und seinen Derivaten.....	22
Vorausgegangene Arbeiten und retrosynthetische Analysen.....	22
Synthese der Aminosäure-Bausteine.....	31
Synthese eines linearen Heptapeptids 147 und 88 und ihre Makrolactonisierung.....	35
Synthese von Peptidestern zur Makrolactamisierung.....	44
Chemo-enzymatische Totalsynthese von Cycloheptamycin (13).....	48
Totalsynthese von Cycloheptamycin Z (17).....	51
Totalsynthese von Ikarugamycin Biosyntheseintermediaten.....	56
Retrosynthetische Analyse von IkaA-Intermediat (64).....	56
Darstellung der Polyenbausteine 196 und 200 und Polyenthioester 217, 218, 219, 220	60
Synthese von Tetransäure 197 mittels Dieckmann-Kondensation.....	64
Synthese von IkaA-Intermediat 64 über Tetransäure 209	72
Zusammenfassung und Ausblick.....	75
Cycloheptamycin und seine Derivate.....	75
Ikarugamcin-Intermediat 64	78
Experimenteller Teil.....	81
Allgemeine Informationen.....	81
Allgemeine Synthesevorschriften.....	82
Festphasenpeptidsynthese.....	82
Menthol-Derivatisierung.....	83

Biologische Arbeiten.....	83
Synthesen zur Darstellung von Cycloheptamycin (13) und Derivaten.....	84
Synthese der Aminosäure-Bausteine	84
Synthesen zur Makrolactonisierung.....	105
Synthesen zur Makrolactamisierung.....	116
Synthesen zur chemo-enzymatische Totalsynthese.....	124
Synthesen zur Darstellung von Cycloheptamycin Z (17)	128
Synthesen zu Ikarugamycin Biosyntheseintermediaten	136
Synthese der Polyenbausteine	136
Synthesen zur Darstellung von Intermediat 64 mittels HWE-Reaktion	142
Synthesen zur Darstellung des IkaA Indermediats 64 mittels Wittig-Reaktion.....	153
Literaturverzeichnis.....	156
Abkürzungsverzeichnis	162

Einleitung

Seit mehreren Jahrtausenden nutzt der Mensch das scheinbar unerschöpfliche Potenzial von Naturstoffen. Bereits 1600 v. Chr. wurden im Papyrus Ebers die Zubereitung von pflanzenbasierten Heilmitteln beschrieben. Es wurden Naturstoffe als bspw. Tees, Salben oder Pillen verarbeitet und zur Bekämpfung von Infektionen, Entzündungen und Schmerzen eingesetzt (Abbildung 01).^[1]

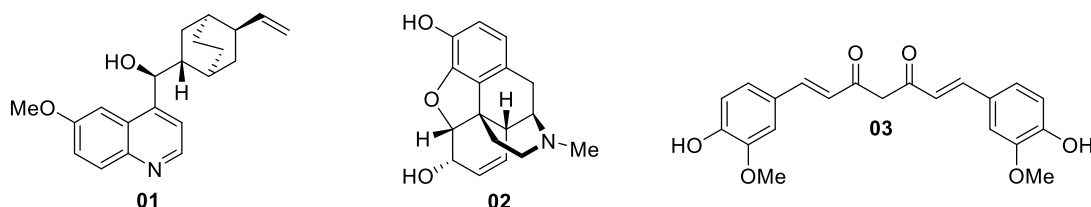


Abbildung 01. Auswahl an bioaktiven Naturstoffen mit dem Antimalariamittel Chinin (**01**), dem Schmerzmittel Morphin (**02**) und dem entzündungshemmenden Curcumin (**03**).

Dies ist nicht verwunderlich, denn Naturstoffe als Sekundärmetabolite von Organismen sind durch evolutionäre Prozesse gebildet und optimiert worden, um ihren Produzenten Überlebensvorteile zu verschaffen, indem sie beispielsweise eine bessere Anpassung an gegebene Umweltbedingungen ermöglichen oder als Abwehrsubstanz Schutz vor anderen Organismen bieten.^[2] Ihre Bedeutung für die moderne Wirkstoffentwicklung wird deutlich, wenn man die Herkunft der neu zugelassenen Medikamente von 1981 bis September 2019 betrachtet. Naturstoffe und von ihnen abstammende Substanzen stellten in diesem Zeitraum 24% der neuen Medikamente dar.^[3] Insbesondere mit den technologischen Fortschritten im Bereich der Biochemie und Biotechnologie können bisher unbekannte bioaktive Molekülstrukturen entdeckt werden. Durch die immer leichter verfügbar werdenden Möglichkeiten, mikrobiologisches Erbgut zu sequenzieren und bioinformatisch zu analysieren, können umfassende Genom-Datenbanken erstellt werden. In Kombination mit der Entwicklung von effizienteren Klonierungs-, Expressions- und Kultivierungsmethoden ist es möglich, bisher nicht erschlossene Biosynthesegencluster homolog- als auch heterolog zu exprimieren. Dieses als Genom-Mining bezeichnete Vorgehen ermöglicht ein gezieltes Suchen sowie Produzieren von neuen, vielversprechenden und unbekanntem Naturstoffen. Eine von pharmazeutischen Firmen angewandte Methode zur Entdeckung von neuen Leitstrukturen in der Wirkstoffentwicklung ist die Verwendung von Naturstoffextrakten mit unbekannter Zusammensetzung in zielbasierten Hochdurchsatzscreenings (HTS).^[4,5] Im Falle eines Treffers muss die bioaktive Komponente des Extrakts isoliert, charakterisiert, unter Umständen derivatisiert und eine Produktion im industriellen Maßstab konzipiert werden.^[6,7] Insbesondere in der chemischen Totalsynthese von Naturstoffen und von ihnen abstammenden Derivaten kann die Kontrolle von Stereochemie und der Aufbau von komplexen Molekülstrukturen ein kostenintensiver und langwieriger Prozess sein. Hier könnten Enzyme und das Wissen über biokatalytische Prozesse entscheidende Hilfestellungen in der Bewältigung von synthetischen Schlüsselschritten bieten. Eine Vielzahl solcher chemo-enzymatischen Synthesen sind bereits in der chemischen Industrie in Anwendung. Hinzukommende Schwierigkeiten in der Anwendung von HTS sind die Sicherstellung der Verfügbarkeit von Extrakten mit gleichbleibender Qualität, die Vermeidung der Wiederentdeckung von bereits bekannten Naturstoffen und die Frage, ob eine Patentierbarkeit der entdeckten Substanz gegeben ist. Deshalb haben pharmazeutische Firmen seit den 1990er-Jahren die Untersuchung von Naturstoffen stetig reduziert und den Ansatz der kombinatorischen Chemie verfolgt. Dabei werden Substanzbibliotheken von synthetischen Reinstoffen aufgebaut, welche dann in zielbasierten HTS getestet werden. Im Falle eines vielversprechenden Ergebnisses ist die Molekülstruktur bekannt und häufig durch chemische Synthese schnell und einfach

zugänglich.^[7] Obwohl die kombinatorische Chemie seit den 1980er-Jahren eine breite Anwendung findet, gehen bislang nur wenige zugelassene Medikamente daraus hervor (Abbildung 02).^[3]

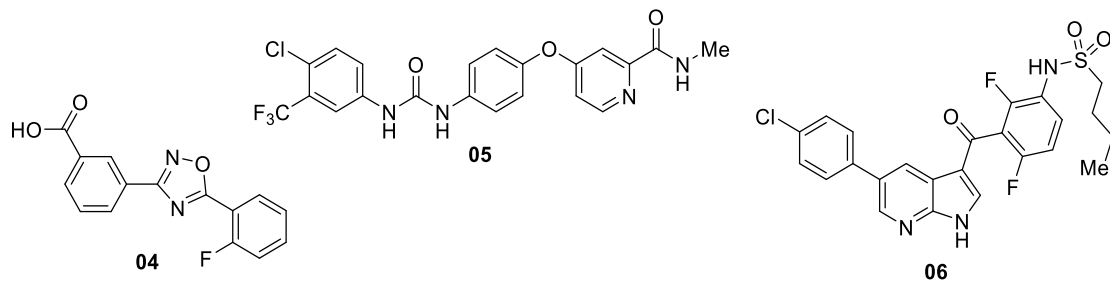


Abbildung 02. Die durch kombinatorische Chemie entwickelten und zugelassene Medikamente, Ataluren (**04**), Sorafenib (**05**) und Vemurafenib (**06**).

Als Grund hierfür kann die fehlende strukturelle Vielfalt der Bibliotheken gelten. Es fehlt den Testsubstanzen an Steifigkeit, Chiralität, Größe sowie das ideale Heteroatomverhältnis, welches die Akzeptor- und Donoreigenschaften des Moleküls beeinflussen.^[8] Eine Lösung für dieses Problem ist das Konzept der Diversitäts-orientierten Bibliotheken. Sie stellen eine Symbiose aus der Naturstoffchemie und der kombinatorischen Chemie dar. So können die aus der Naturstoffchemie entdeckten bioaktiven Molekülstrukturen als Vorlage für weitere Leitstrukturen dienen, welche durch die einfachen und schnellen Derivatisierungs- und Screeningmöglichkeiten der kombinatorischen Chemie zu funktionalen Wirkstoffen weiterentwickelt werden.^[9–11]

Nichtribosomale Peptide

Eine Quelle von bioaktiven Naturstoffen mit vielseitigen Anwendungsgebieten sind Peptide. Sie werden unter anderem als Hormonanaloga (Pasireotid (**07**)^[12]), Antikrebsmittel (Romidepsin (**08**)^[13]), und Immunsuppressiva (Voclosporin (**09**)^[14]) eingesetzt (Abbildung 03).

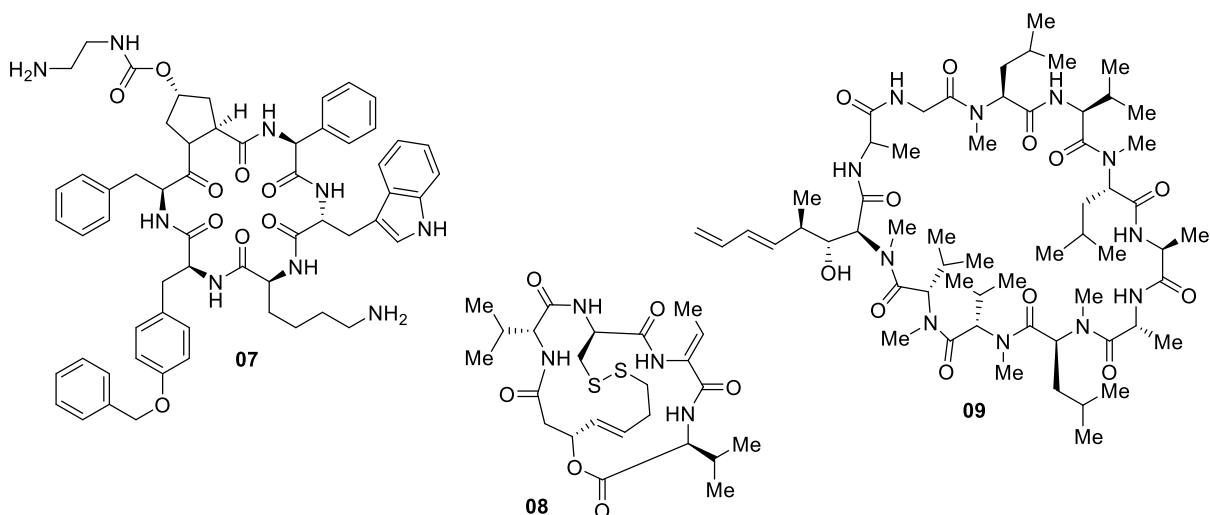


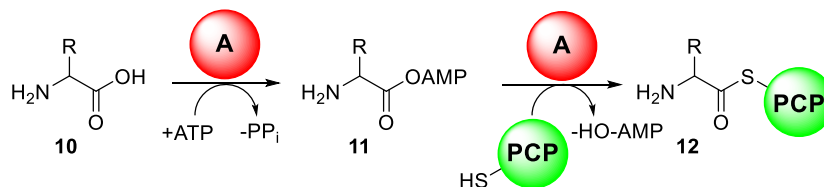
Abbildung 03. Darstellung der Peptidmedikamente Pasireotid (**07**), Romidepsin (**08**) und Voclosporin (**09**).

Aus der Natur gewonnene Peptide lassen sich in ribosomale und nicht-ribosomale Peptide (NRP) einteilen. Ribosomale Peptide werden aus den proteinogenen Aminosäuren in den Ribosomen aufgebaut. Die mRNA gibt als Templat die Struktur des Peptids vor. Demgegenüber werden NRP in Mikroorganismen durch multi-modulare Enzymkomplexe, den nichtribosomalen Peptidsynthetasen (NRPS), synthetisiert. Sie besitzen anders als Ribosomen kein mRNA Templat. Stattdessen ist die strukturelle Information des Peptidproduktes in der Anwesenheit und Anordnung der Module innerhalb der NRPS bereits konserviert. Der Aufbau des Peptids erfolgt schrittweise, indem das

jeweilige Modul die entsprechende Aminosäure auf das Peptidzwischenprodukt überträgt, welches dann zur Fortsetzung der Synthese an das folgende Modul weitergereicht wird. Jedes dieser Module ist zuständig für den Einbau einer Aminosäure und setzt sich aus verschiedenen Domänen zusammen. Die für den Aufbau des Peptidrückgrats und die Abspaltung des fertigen Peptids essenziellen Domänen sind die Adenylierungs- (A), Kondensations- (C), Peptidylträgerprotein- (PCP) und Thioesterase-(TE)-Domäne. Weitere, nicht essenzielle Domänen katalysieren *N*-Methylierung (Me), Formylierung (F), Cyclisierung (Cy) und Epimerisierung (E). Die Möglichkeit von NRPS, Aminosäuren im Verlauf der Peptidsynthese zu modifizieren und auch nicht-proteinogene Aminosäuren nutzen zu können, ermöglicht NRP eine breite strukturelle Vielfalt.

A-Domäne

Die ca. 550 Aminosäuren langen A-Domänen sind verantwortlich für die Erkennung und Aktivierung der einzubauenden Aminosäuren sowie beteiligt an deren Übertragung auf die PCP-Domäne. Dies erfolgt in einer zweistufigen Reaktionsfolge (Schema **01**). Zunächst wird die Aminosäure **10** mit Hilfe von ATP in das Aminoacyladenylat **11** überführt, welches anschließend nucleophil von der Thiol-Gruppe des Phosphopantethein-(PPant)-Arms der PCP-Domäne angegriffen wird.^[15,16] Unter Freisetzung von Adenosinmonophosphat (AMP) wird schließlich der PCP-gebundene Aminosäurethioester **12** gebildet. Obwohl der Aktivierungsmechanismus der Aminosäuren dem einer tRNA-Synthetase ähnelt, besteht keine Verwandtschaft zur A-Domäne. Die A-Domäne ähnelt strukturell den Luciferasen und Acetyl-CoA-Synthetasen und wird zu den Adenylat bildenden Enzymen gezählt.^[17,18] Die Erkennung der zu aktivierenden Aminosäure erfolgt durch zehn substratkoordinierende Aminosäurereste innerhalb der Substratbindungsstelle.^[19] Durch vergleichende Untersuchungen dieser zehn Positionen können Prognosen zum Substrat einer A-Domäne erstellt werden.^[20] Ebenso ist es möglich, die Substratspezifität der A-Domäne durch Austausch dieser katalytisch relevanten Aminosäureresten zu verändern.^[21,22]

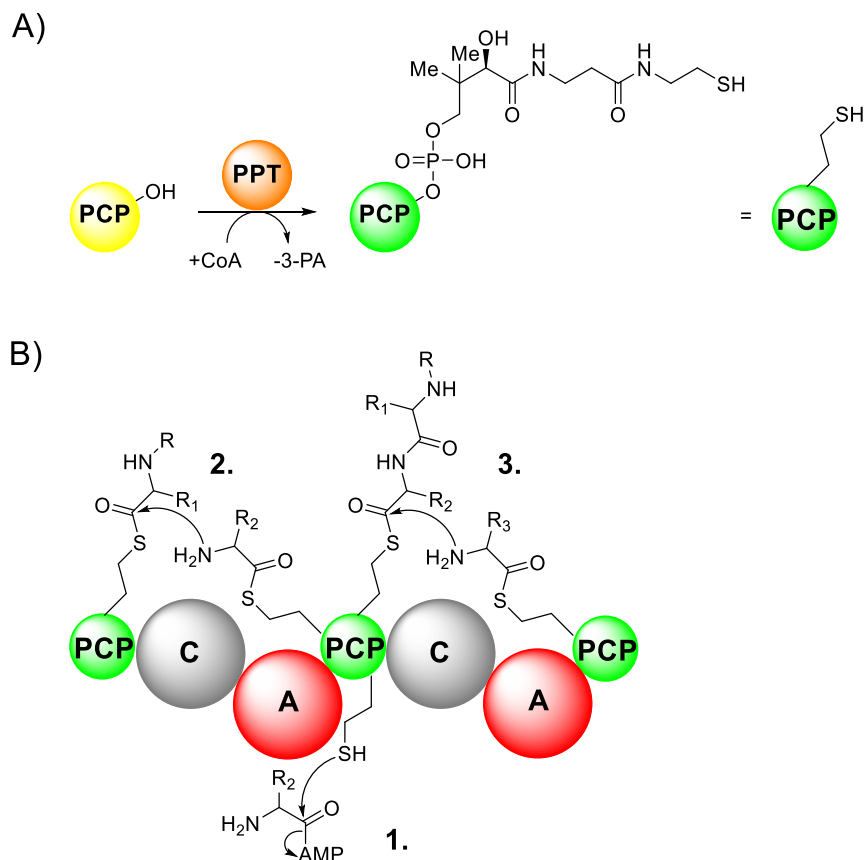


Schema 01. Aktivierung von Aminosäuren und ihre Übertragung auf die PCP-Domäne katalysiert durch die A-Domäne.

PCP-Domäne

Die PCP-Domäne ist das Bindeglied zwischen zwei benachbarten Modulen und verbindet die A-Domäne mit der C-Domäne des Folgemoduls. Sie dient als Träger der aktivierten Aminosäure oder der sich in Synthese befindenden Peptidylkette, und transportiert diese zwischen den verschiedenen katalytischen Zentren der A- und C-Domäne. Bevor sie jedoch ihre Funktion aufnehmen kann, muss die in ihrer inaktiven apo-Form translatierte PCP-Domäne in ihre aktive holo-Form überführt werden. Dies erfolgt durch eine Phosphopantetheinyltransferase (PPT)-vermittelte Übertragung eines PPant-Arms auf die Hydroxyfunktion eines in PCP-Domänen konservierten Serins (Schema **02**, A).^[23,24] Als Donor für die prosthetische Gruppe dient Coenzym A (CoA), welches in 3-Phosphoadenylat umgewandelt wird. Der PPant-Arm ist in seiner Ruheposition in Richtung der A-Domäne ausgerichtet und befindet sich in Bereitschaft von einer aktivierten Aminosäure beladen zu werden (Schema **02**, B, 1.).^[25] Nachdem dies unter Freisetzung von AMP erfolgt, dreht sich der beladene PPant-Arm in Richtung der C-Domäne des eigenen Moduls. Hier wird nun die PCP-gebundene Aminosäure bzw. Peptidkette des vorangehenden Moduls auf die betrachtete PCP-gebundene Aminosäure übertragen (Schema **02**, B, 2.). Anschließend orientiert sich der PPant-Arm in Richtung der C-Domäne des Folgemoduls. Hier wird nun die um eine Aminosäure verlängerte Peptidkette an die PCP-gebundene

Aminosäure des Folgemoduls übergeben (Schema 02, B, 3.). Der PPant-Arm, mit dem nun erneut freien Thiol, bewegt sich in seine Ausgangsposition an der A-Domäne des eigenen Moduls zurück und ist bereit für einen weiteren Katalysezyklus (Schema 02, B)1.).



Schema 02. A) Überführung der PCP-Domäne von ihrer inaktiven apo-Form (gelb) in ihre aktive holo-Form (grün). B) Darstellung der Arbeitsschritte einer PCP-Domäne mit der Beladung (1.), Übernahme der Peptidylkette vom vorangehenden Modul (2.) und Weitergabe der Peptidylkette an das nachfolgende Modul (3.).^[25]

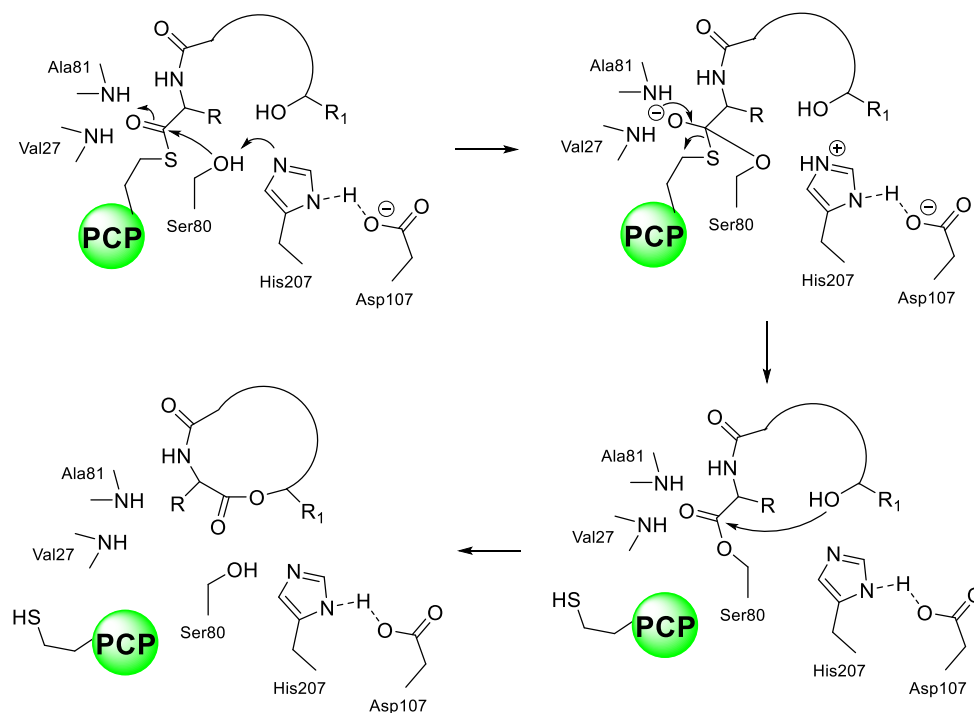
C-Domäne

In NRPS wird der Aufbau von Peptidbindungen durch die C-Domäne katalysiert. Dazu wird die Peptidylkette, die als Thioester an die PCP-Domäne eines Moduls gebunden ist, mit der Aminosäure, welche mit der PCP-Domäne des nachfolgenden Moduls verknüpft ist, zusammengeführt. Die C-Domäne ist als Pseudodimer aufgebaut, welches in eine C- und N-terminale Seite eingeteilt werden kann. Beide Untereinheiten treffen V-förmig aufeinander und sind mit einem Kanal verbunden.^[26,27] Es wird angenommen, dass durch diesen Kanal das Elektrophil entlang der C-Seite mit dem aus der N-Seite kommenden Nucleophil zueinander geführt und durch das katalytische Motiv HHXXXDG zur Reaktion gebracht werden.^[26,27]

TE-Domäne

Nach fertiggestellter Synthese der Peptidkette wird dessen Abspaltung von der finalen PCP-Domäne der NRPS durch die TE-Domäne eingeleitet. Dies kann mittels einer einfachen Hydrolyse oder auch durch eine intramolekulare Cyclisierung erfolgen. Möglich sind dabei verschiedene Cyclisierungsmuster, wie die Macrolactamisierung oder Macrolaktonisierung. Dies erfolgt durch die Verknüpfung der C-terminalen Säure des Peptids mit dem N-terminalen Ende oder alternativ mit einem Seitenkettenrest einer inkorporierten Aminosäure, insbesondere Serin oder Threonin. TE-Domänen gehören zu der Enzymfamilie der α/β -Hydrolasen und nutzen die für diese Enzymklasse typische katalytische Triade aus Serin, Histidin und Aspartat.^[28] Der PCP-gebundene Peptidylthioester

wird durch die Hydroxyfunktion des Serins, welches durch die Nachbarschaft zum basischen Imidazol-Rest des Histidins als Nucleophil aktiviert wird, angegriffen (Schema 03). Unter Freisetzung des Thioms der PCP-Domäne bildet sich der tetraedrische Peptidyl-O-TE Übergangszustand. Dieser wird durch ein Oxyanion-Loch stabilisiert und kann im Falle einer Hydrolyse von Wasser oder bei einer Cyclisierung von einem Nucleophil angegriffen werden. Sollte die Abspaltung durch Cyclisierung erfolgen, so ist zuvor eine korrekte Ausrichtung der Peptidylkette notwendig. Diese erfolgt durch die Erkennung von wichtigen Strukturelementen, welche sich für gewöhnlich an den zu cyclisierenden Enden der Peptidylkette befinden. Änderungen im Bereich dieser Molekülstrukturen können zu einer Reduzierung der Reaktionsrate oder sogar zu einem vollständigen Stoppen der Reaktion führen. Veränderungen an Molekülstrukturen außerhalb dieser Bereiche werden oft besser toleriert.^[29] Ebenso können unter Konservierung der katalytisch relevanten Molekülstrukturen Aminosäuren aus der Peptidylkette entfernt werden ohne die Cyclisierung dieser zu stoppen.^[30,31] Veränderungen in der Enzymbindungsstasche, die durch Protein-Engineering eingeführt werden und die korrekte Ausrichtung der Peptidylkette verhindern, können eine Cyclisierung unterbinden und zur vermehrten Bildung von hydrolysiertem Peptid führen.^[32] Ebenso führt die Umgestaltung der katalytischen Triade zur Inaktivierung des Enzyms.



Schema 03. Darstellung einer Abspaltung unter Cyclisierung am Beispiel der Surfactin TE-Domäne.

Modifizierende Domänen

Ein in NRP häufig anzutreffendes Strukturelement ist die Methylierung von Aminosäuren. Die Methylierung erfolgt in NRPS durch die Methylierungs-(M)-Domäne, welche eine geringe Homologie zu den *S*-Adenosinmethionin-(SAM)-abhängigen Transferasen aufweist.^[33] Sie ist in die C-terminale Untereinheit der A-Domäne integriert und nutzt SAM als Methyl donor.^[33,34] Häufig werden die von der A-Domäne aktivierten und PCP-gebundenen Aminosäuren an der α -Amino-Gruppe *N*-methyliert, jedoch sind auch Fälle bekannt, in denen die Hydroxy- bzw. Thiol-Gruppe von Serin bzw. Cystein methyliert werden.^[35,36] Die *N*-Methylierung von Peptiden an ihrem Rückgrat führt zu einer höheren Stabilität gegenüber dem Abbau durch Proteasen und hat einen starken Einfluss auf ihre Konformation. Denn die *N*-Methyl-Gruppe beeinflusst das *cis/trans*-Verhältnis der methylierten

Amidbindung und die Ausrichtung ihrer Seitenketten. Ebenso verliert die Amid-Gruppe die Fähigkeit, als H-Donor Wasserstoffbrückenbindungen einzugehen.

Während ribosomale Peptide beim Peptidaufbau auf L-Aminosäuren beschränkt sind (auch in diesen Systemen gibt es posttranslationale Mechanismen zur späten Anpassung der Stereochemie einzelner Bausteine zu D), werden in vielen NRP direkt bei Peptidbiosynthese ebenfalls D-Aminosäuren inkorporiert. Dies wird durch die Selektivität der A-Domäne gesteuert. Die Darstellung der gewünschten D-Aminosäure kann aus der entsprechenden L-Aminosäure durch eine freistehende Epimerase erfolgen.^[37] Weitaus häufiger jedoch ist, dass die L-Aminosäure von der A-Domäne erkannt, aktiviert und auf die PCP-Domäne übertragen wird, wo sie dann von einer in die NRPS integrierten E-Domäne epimerisiert wird. Der Mechanismus ist Säure/Base katalysiert durch eine Histidin- und Glutaminsäure-Seitenkette im Aktivzentrum und verläuft über einen Enolat-Übergangszustand.^[38] Die E-Domäne kann dabei nicht zwischen der L- oder D-Form unterschieden, katalysiert also eine ungerichtete Epimerisierung. Die Selektion des D-Stereoisomers erfolgt durch die bindungsknüpfende C-Domäne des entsprechenden Moduls.^[39]

Cycloheptamycin und seine Derivate

Ein typischer Vertreter von NRP ist das Depsipeptid Cycloheptamycin (**13**) (Abbildung **04**). Es wurde erstmals 1970 von Godtfredsen *et al.* aus einem in Rize, Türkei, gesammelten, phylogenetisch nicht weiter charakterisierten Streptomycenten isoliert und charakterisiert.^[40] Es gelang, die sieben Aminosäurebausteine durch UV/VIS-Spektroskopie und Analyse des sauren Hydrolysats mittels Moore-Stein-Analyse sowie Dünnschichtchromatographie zu ermitteln. Die Primärstruktur des Peptids wurde durch Permethylierung in Verbindung mit umfangreichen MS/MS-Analysen aufgeklärt. So konnten die Aminosäuresequenz, das N- und O-Methylierungsmuster und die Position des Makrolacton-bildenden Esters bestimmt werden. Die Konfiguration der einzelnen Aminosäuren wurde mittels enzymatischer Experimente versucht zu ermitteln. Dazu wurden die aus dem Hydrolysat gewonnenen Aminosäuren mit L- und D-Aminosäureoxidasen behandelt. Es konnte dabei die Konfiguration des L-Valins, D-Alanins, D-Tyrosins und L-Hydroxynorvalins an der C_α-Position bestimmt werden, jedoch nicht die des Threonins und der sekundären Aminosäuren, N-Methyltryptophan und N-Methyl-*allo*-isoleucin. Ebenfalls waren die Daten bezüglich der C_β-Position des Hydroxynorvalins für eine zufriedenstellende und zweifelsfreie Bestimmung der Stereochemie nicht ausreichend.

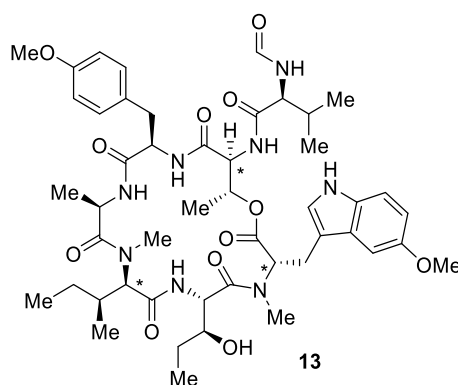


Abbildung 04. Struktur von Cycloheptamycin (**13**). Die Konfiguration der markierten Aminosäuren konnte zum Zeitpunkt der Entdeckung nicht von Godtfredsen *et al.* bestimmt werden, sondern wurde durch Qian *et al.* zu einem späteren Zeitpunkt ermittelt.^[40,41]

Weitere Fortschritte in der Charakterisierung erfolgten erst mit der Untersuchung des Cycloheptamycin (**13**) produzierenden Streptomycentenstammes Tü 6314 in der Arbeitsgruppe Gulder. Hier war es möglich, das Cycloheptamycin-(*cyh*)-Biosynthesecluster zu identifizieren und zu sequenzieren.^[42] Es zeigte sich, dass das Cluster eine NRPS mit 7 Modulen und mehrere modifizierende

Enzyme enthält. Aus dem Aufbau der NRPS und dessen bioinformatischer Analyse konnten ergänzende Annahmen zur molekularen Struktur von Cycloheptamycin (**13**) getroffen werden (Abbildung **05**). Erweitert wurde dieses Wissen mit experimentellen Versuchen, in denen das Peptidhydrolysat mit dem Marpheys Reagenz derivatisiert und mit Referenzsubstanzen von Alanin, Threonin und *anti*- β -Hydroxynorvalin verglichen wurde.^[41,42] So konnten die Erkenntnisse von Godfredsen *et al.* hinsichtlich der Konfiguration von D-Alanin und L-Hydroxynorvalin bestätigt und die L-Konfiguration für das L-Threonin ermittelt werden. Mit dem Wissen um die absolute Stereochemie dieser Aminosäuren wurde die vollständige Molekularstruktur von Cycloheptamycin (**13**) mittels Kristallstrukturanalyse gelöst.^[41] Weiterhin wurden die modifizierenden Enzyme im *cyh*-Biosynthesecluster bioinformatisch und mittels Gendelektionsexperimenten untersucht.^[43] So konnten die Funktionen der einzelnen postmodifizierenden Enzyme ermittelt und den jeweiligen Modifikationen zugeordnet werden.^[42,43] Es handelte sich dabei um Methyltransferasen und Hydroxylasen sowie um eine Formyltransferase und eine 2-Ethylmalatsynthase.



Abbildung 05. Modularer Aufbau der *cyh*-NRPS.

Durch die Gendelektionsexperimente war es auch möglich neben den bereits bekannten natürlichen Cycloheptamycin-Derivaten **14** und **15** das Derivat **16** und zu detektieren (Abbildung **06**).^[42,43] Zudem konnte im hohen pH-Bereich die Umlagerung von Cycloheptamycin (**13**) zur Verbindung **17** beobachtet werden, welche Cycloheptamycin Z (**18**) benannt wurde.^[43]

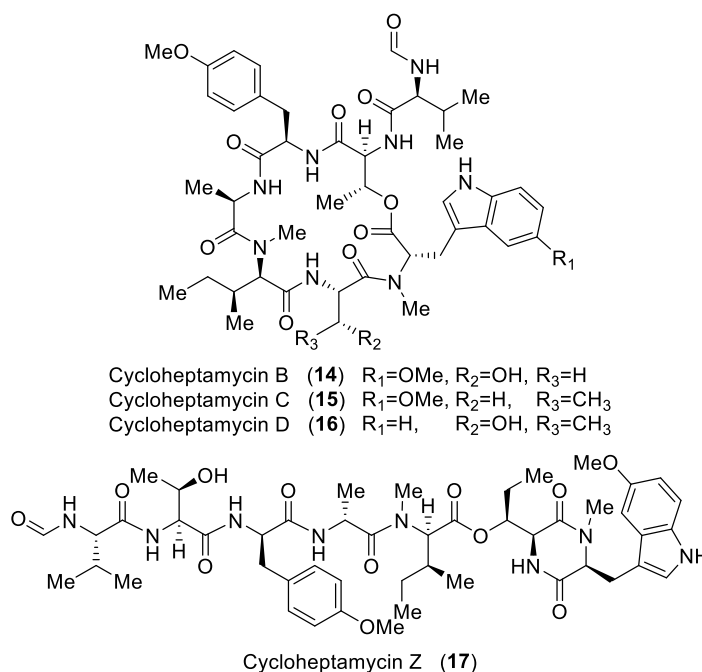


Abbildung 06. Die unterschiedlichen Cycloheptamycin-Derivate **14**, **15**, **16** und **17**.

In biologischen Aktivitätsstudien wurden Cycloheptamycin (**13**) und die Derivate **14** und **16** auf ihre antibakterielle Wirkung geprüft. Aus den Ergebnissen dieser Studie ist besonders eine starke Wirksamkeit gegen *Propionibacterium acnes* mit IC_{50} -Werten von $4.22 \pm 0.41 \mu M$ für **13** und $17.32 \pm 2.78 \mu M$ für **14** hervorzuheben. Der IC_{50} -Wert für **16** war bis zu einer Konzentration von $50 \mu M$ nicht erreicht und konnte für Werte über dieser Grenze nicht getestet werden, da nicht ausreichend Substanz verfügbar war. Zwar ist das als Positivkontrolle getestete Tetracyclin mit einem IC_{50} von $0.74 \pm 0.11 \mu M$ um das sechsfache bzw. 23-fache effizienter, jedoch ist dies ein Breitbandantibiotikum, ohne

die besondere Selektivität von **13** und **14** zu zeigen. Die spezifische Wirksamkeit der Cycloheptamycine könnte von medizinischer Relevanz sein, da *P. acnes* als Pathogen Auslöser verschiedener Krankheitsbilder ist, wie bspw. der *Acne vulgaris* oder postoperativer Infektionen.^[44] Die bisherige Therapie von schweren Akneerkrankungen erfolgt mit niedrigdosierten Breitbandantibiotika oder dem Wirkstoff Isotretinoin, welcher teratogen ist und eine Vielzahl von gravierenden Nebenwirkungen auslösen kann.^[45] Deshalb ist die Stoffgruppe der Cycloheptamycine ein interessanter Kandidat in der Wirkstoffentwicklung, um die bisher unspezifische oder risikoreiche Behandlung von Akne zu verbessern.

Der antibakterielle Wirkmechanismus von Cycloheptamycin (**13**) ist noch nicht bekannt. Jedoch sind bereits die Wirkmechanismen anderer antibakterielle Depsipeptide beschrieben worden. So binden beispielweise die Acyldepsipeptide an die Clp-Protease vorzugsweise grampositiver Bakterien und aktivieren sie.⁴⁶ Dies führt zellintern zu einer unkontrollierten Proteindegradation und schließlich zum Zelltod. Möglicherweise ähnelt der Wirkmechanismus des Cycloheptamycin (**13**) dem der strukturell ähnlichen Acyldepsipeptide. Aus den durchgeführten Experimenten lassen sich bereits erste Struktur-Wirkungsbeziehungen ableiten, denn **13** und **14** unterscheiden sich lediglich in der Länge ihrer Alkyl-Seitenkette am Hydroxynorvalin-Baustein. So führt die γ -Methylgruppe des **13** zu einem vierfach stärkeren IC₅₀-Wert im Vergleich zur Verbindung **14**. Ebenso führt die fehlende Methoxyfunktion von **16** zu einem signifikanten Aktivitätsverlust.

Polycyclische Tetransäure-haltige Makrolactame

Eine weitere Stoffklasse mit interessanten biologischen Eigenschaften sind die polycyclischen Tetransäure-haltigen Makrolactame (PoTeM). Die strukturelle Gemeinsamkeit dieser Substanzen ist ein Macrolactamring (Abbildung **07**, Ring D) in den eine von Ornithin abgeleitete Tetransäureeinheit (E) integriert ist. Weiterhin ist der Makrolactamring mit einem aus Cyclopentan und Cyclohexan aufgebauten tri- (A, B, C) oder bicyclischen Ringsystem verknüpft. Die strukturelle Diversität der PoTeMs geht insbesondere auf die unterschiedlichen Möglichkeiten der Anordnungen dieser carbacyclischen Ringsysteme zurück (Abbildung **08**). Eine 5-6-5 Anordnung ist bspw. in Ikarugamycin (**18**), Butremycin (**19**), Clifednamide A (**20**) und B (**21**) und Capsimycin A (**22**) und B (**23**) vorzufinden. Eine Anordnung nach dem 5-5-6 Muster ist unter anderem für Frontalamid A (**24**) und B (**25**), Dihydromaltophilin (**26**), auch als HSAF (heat stable antifungal factor) bezeichnet, und verschiedene Pactamid-Derivate, wie Pactamid A (**27**) und F (**28**), zu beobachten. Das bicyclische 5-5 Ringsystem ist z.B. in den Substanzen Cylindramid (**29**), Alteramid A (**30**) und B (**31**) sowie Lysobacteramid A (**32**) existent. Neben den beschriebenen und für PoTeM üblichen Ringsystemen sind auch weitere ungewöhnliche Ringstrukturen beschrieben. So besitzt die als Verbindung D (**33**) bezeichnete Substanz eine 5-4-6 Anordnung und das Ripromycin (**34**) ein mehrfach verbrücktes Ringsystem, welches einer formalen 6-6-6 Anordnung entspricht. Ebenso unterscheiden sich die verschiedenen PoTeMs durch unterschiedliche Hydroxylierungs-, Olefinierungs- und Alkylierungsmuster.

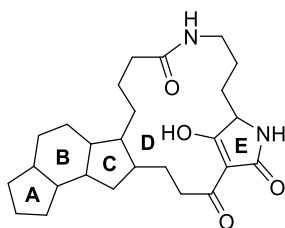


Abbildung 07. Schematische Darstellung der PoTeM-Ringsysteme anhand der Grundstruktur des Ikarugamycins (**18**).

Bioaktivität von PoTeMs

Trotz ihrer ähnlichen Grundstrukturen haben die PoTeM ein breites bioaktives Profil. Eine Vielzahl ihrer Vertreter zeigen zytotoxische Eigenschaften gegen verschiedene Krebszellenlinien (Tabelle **01**). Die IC₅₀-Werte können von nanomolar bis mikromolar reichen und sind vergleichbar mit in Benutzung befindlichen Krebstherapeutika wie Adriamycin und Cisplatin. Tiefgreifendere Untersuchungen des zytotoxischen Wirkmechanismus von Ikarugamycin (**18**) in der Blutkrebszelllinie HL-60 konnten aufzeigen, dass es durch seine Gentoxizität und seine Eigenschaft, die intrazelluläre Calciumionkonzentration zu erhöhen, Zellprozesse auslöst, die zu einer Calpain und p38-MAPK vermittelten Aktivierung der Initiator-Caspasen 8 und 9 führen (Abbildung **09**).^[46] Darauf folgt die Einleitung der Apoptose.

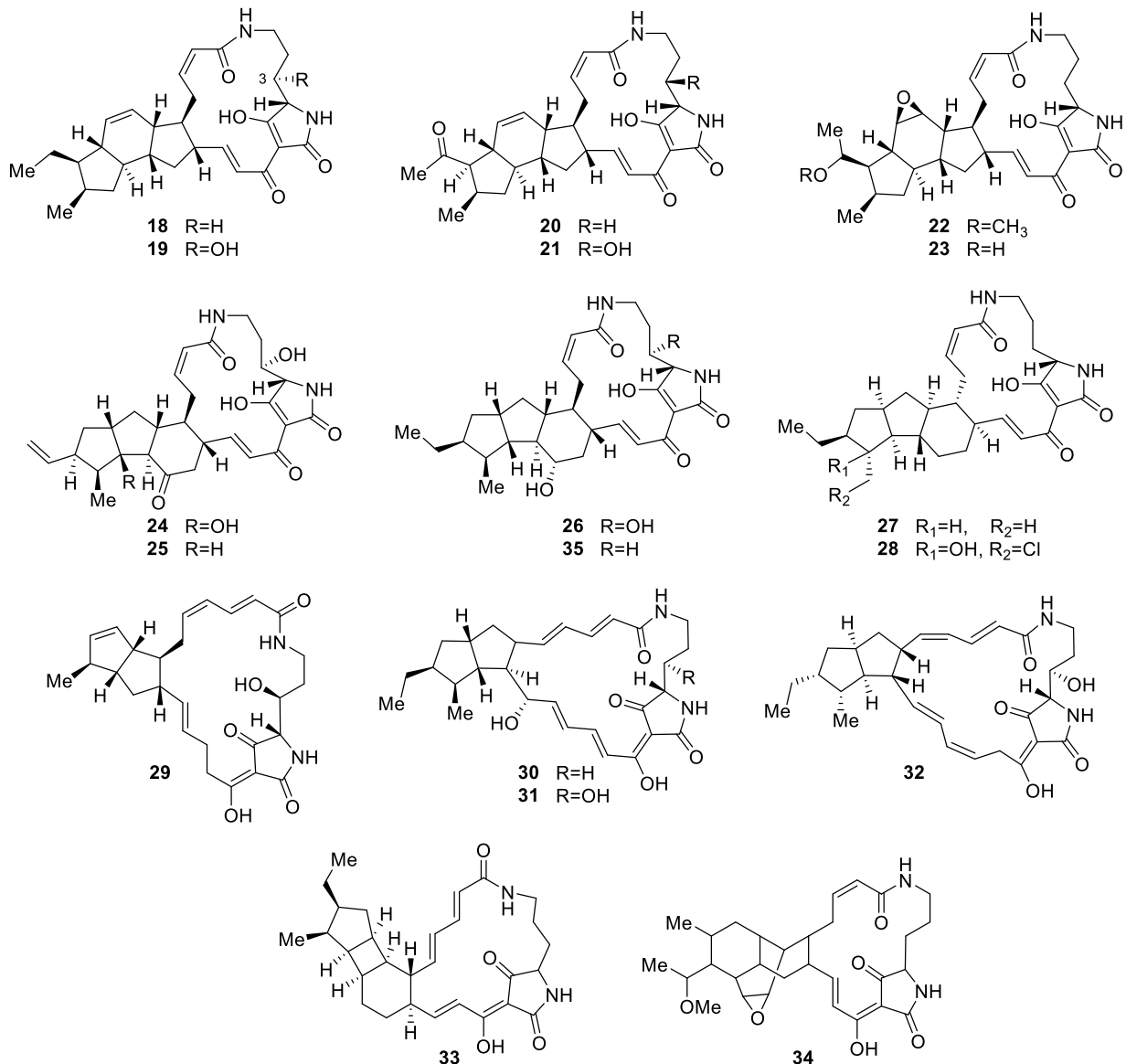


Abbildung 08. Auswahl verschiedener PoTeMs mit einer 5-6-5 Ringanordnung, wie Ikarugamycin (**18**), Butremycin (**19**), Clifednamide A (**20**) und B (**21**) sowie Capsimycin A (**22**) und B (**23**), einer 5-5-6 Ringanordnung, wie Frontamid A (**24**) und B (**25**), HSAF (**26**), Pactamid A (**27**) und F (**28**), einer 5-5 Ringanordnung, wie Cylindramid (**29**), Alteramid A (**30**) und B (**31**) und Lysobacteramid A (**32**), und anderer Ringanordnungen, wie Verbindung D (**33**) und Ripromycin (**34**).

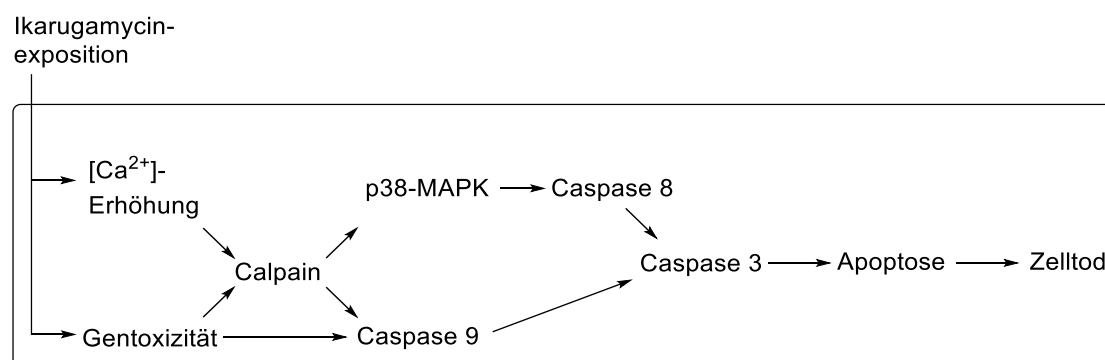


Abbildung 09. Schematische Darstellung des Wirkmechanismus von Ikarugamycin (**18**) in Blutkrebszelllinie HL-60.^[46]

Tabelle 01. Auswahl verschiedener PoTeMs und ihre IC₅₀-Werte [μM] gegen Brust- (MCF-7), Leber- (HepG2, Huh 7), Lungen- (A549), Magen- (HMO2), Bauchspeicheldrüsen- (PANC-1), Blut-(HL-60), Lymphdrüsen- (L1210) und Haut-(KB)-krebszelllinien.^[46-51]

	MCF-7	HepG2	A549	HMO2	Huh 7	PANC-1	HL-60	L1210	KB
Ikarugamycin (18)	0.46	12.1	-	0.59	5.6	1.30	0.22	-	-
Capsimycin B (23)	0.47	>20.0	-	0.67	15.9	3.37	-	-	-
HSAF (26)	2.20	2.10	0.26	-	-	-	-	-	-
Pactamid A (27)	0.26	0.37	-	-	-	-	-	-	-
Lysobacteramid A (32)	7.60	9.50	10.3	-	-	-	-	-	-
Ripromycin (34)	3.81	>19.0	-	3.05	>19.0	-	-	-	-
Alteramid A (30)	-	-	-	-	-	-	-	3.33	9.79

Interessante antifungale Eigenschaften mit einer möglichen Relevanz für landwirtschaftliche und medizinische Anwendungen sind für einige PoTeMs beschrieben worden (Abbildung 10). Eine Auswahl dieser ist in Tabelle 02 zusammengefasst. Der Wirkmechanismus von HSAF (**26**) und Alteramid B (**31**) wurde an *C. albicans* näher untersucht.^[52,53] Es konnte festgestellt werden, dass beide Moleküle an das β -Tubulin von *C. albicans* binden und zu einer fast vollständigen Depolymerisierung der Mikrotubuli führen. Dies erzeugt unter anderem eine Akkumulation reaktiver Sauerstoffspezies in den Mitochondrien, was schließlich zur Einleitung der Apoptose führt. Dabei scheint es, dass die 3-Hydroxyfunktion des HSAF (**26**) einen entscheidenden Einfluss auf seine antimykotische Wirkung hat, da das 3-Desoxy-Derivat (**35**) eine deutlich geringere Wirksamkeit vorweist.^[54]

Tabelle 02. Auswahl verschiedener antimykotischer PoTeMs und ihre Zielorganismen.^[55-61] Die mit einem Sternchen markierten Pilze sind humanpathogene und die unmarkierten sind Pflanzenpathogene.

	Zielorganismen
HSAF (26)	<i>Aspergillus nidulans</i> *, <i>Candida albicans</i> *, <i>Cryptococcus neoformans</i> *, <i>Plasmapara viticola</i>
Alteramid B (31)	<i>C. albicans</i> *
Ikarugamycin (18)	<i>C. albicans</i> *, <i>Aspergillus fumigatus</i> *
Capsimycin A (22)	<i>Phytophthora capsici</i> , <i>Pythium debaryanum</i>
Xanthobaccin A (36)	<i>Aphanomyces cochlioides</i> , <i>Pythium ultimum</i> , <i>R. solani</i>
Maltophilin (37)	<i>Aspergillus terreus</i> *, <i>C. albicans</i> *, <i>Fusarium solani</i> *, <i>Ashbya gossypii</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>R. solani</i>

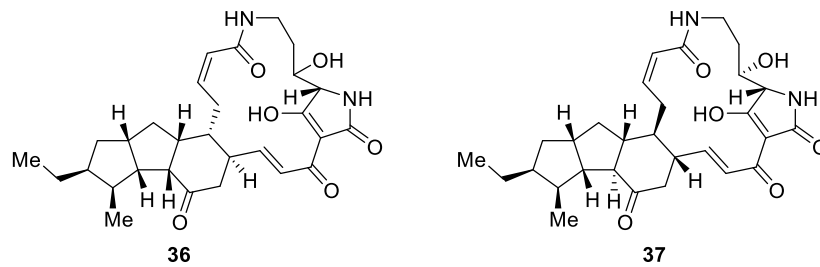


Abbildung 10. Die antimykotischen PoTeM Xanthobaccin A (**36**) und Maltophilin (**37**).

Die antibakterielle Aktivität von PoTeMs ist insbesondere bei Ikarugamycin (**18**) sowie seinen nahen Strukturverwandten, wie Isoikarugamycin (**38**) und 28-*N*-Methylkarugamycin (**39**), zu beobachten (Abbildung 11). Sie sind bereits mit einem IC₅₀-Wert im Konzentrationsbereich von 1-4 µg/mL gegen Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) Stämme wirksam.^[56] Zwar ist der Wirkmechanismus bisher nicht bekannt, jedoch können erste Struktur-Wirkungs-Beziehungen festgestellt werden. So zeigen Butremycin (**19**) und 30-Oxo-*N*-28-methylkarugamycin (**40**) Wirksamkeit gegen MSRA ab einem IC₅₀-Wert von 50 µg/ml bzw. 32-64 µg/mL.^[56,62] Dies lässt vermuten, dass sich die 3-Hydroxyfunktion des Butremycin (**19**) und die Carbonylfunktion an Position 30 von **40** negativ auf die antibakteriellen Eigenschaften auswirken.

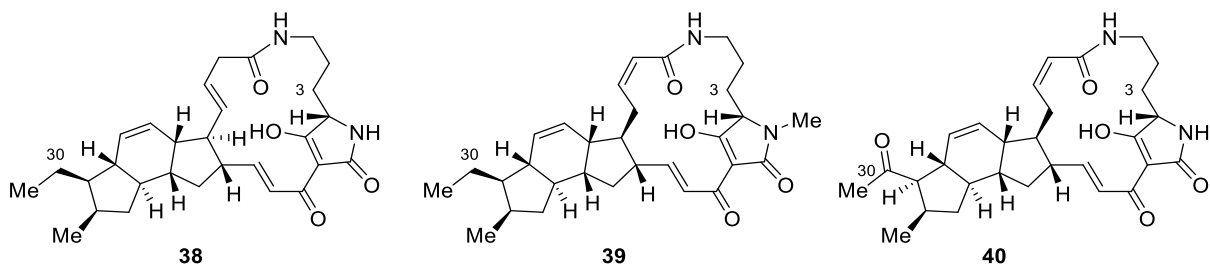


Abbildung 11. Darstellung der verschiedenen Ikarugamycin-Derivate **38**, **39** und **40**.

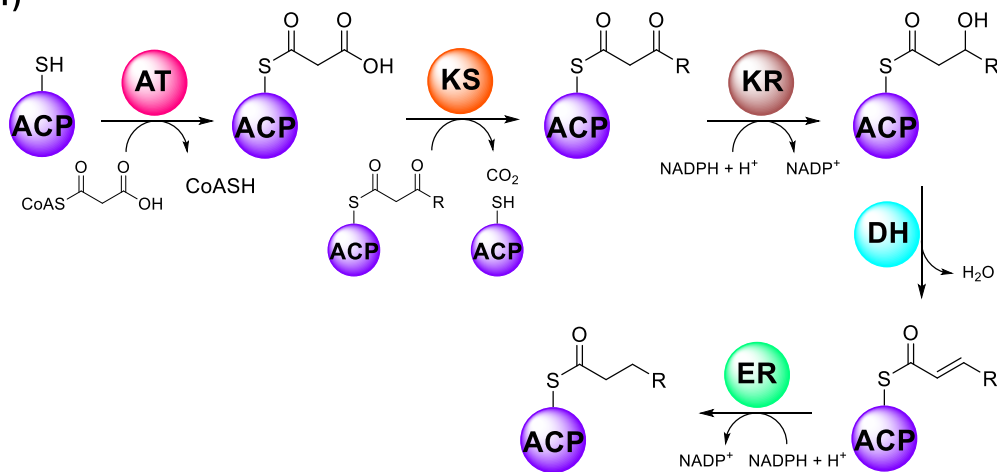
Weiterhin hebt sich Ikarugamycin (**18**) durch seine antiprotozoischen Eigenschaften von den restlichen PoTeMs ab. Es zeigt dabei Aktivität gegen Trichomonaden, Amöben und Tetrahymena.^[63] Darüber hinaus zeigt es die Fähigkeit, die Aufnahme von Low Density Lipoproteinen (LDL) in Makrophagen und die Clathrin-vermittelte Endozytose zu inhibieren.^[64,65] Ikarugamycin (**18**) bietet damit ein gutes Werkzeug, um diese wichtigen Zellfunktionen, die in verschiedene Krankheitsprozesse verwickelt sind, genauer untersuchen zu können und stellt für die Medikamentenentwicklung eine mögliche Leitstruktur dar.^[66,67] So ist die Inhibierung der LDL-Aufnahme ein möglicher therapeutischer Ansatz gegen Arteriosklerose, da Makrophagen bei einer übermäßigen LDL-Aufnahme zu Schaumzellen transformieren, was ein Schlüsselprozess in der Pathogenese der Arteriosklerose ist.^[68] In HIV-infizierten Zellen werden die an der Zelloberfläche befindlichen CD4-Rezeptoren durch eine Clathrin-vermittelte Endozytose zunächst internalisiert und anschließend abgebaut. Dies führt zur Schwächung des Immunsystems. Ikarugamycin (**18**) als Inhibitor des Endozytoseprozesses kann die Internalisierung der CD4-Rezeptoren unterbinden und führt sogar bei bereits fortgeschrittenem Abbau zu einer Wiederherstellung der CD4-Rezeptoren an der Zelloberfläche.^[69]

Biosynthese von PoTeMs

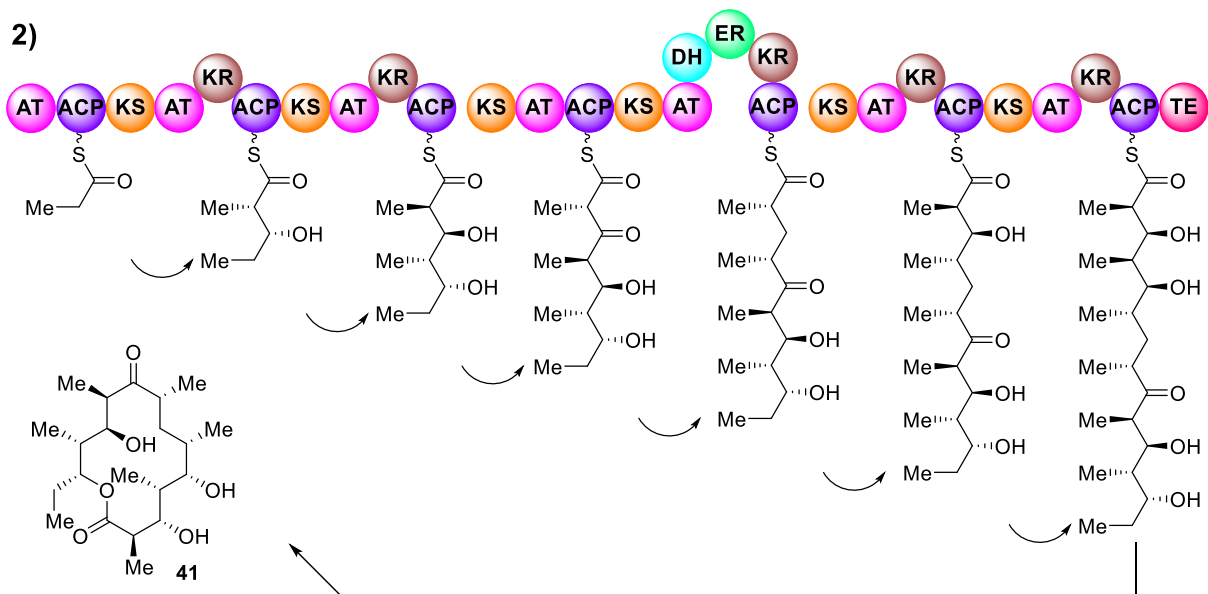
In Bakterien anzutreffende Polyketidsynthasen (PKS) sind, ähnlich wie die zuvor beschriebenen NRPS, multimodular aufgebaute Enzyme. Sie synthetisieren das gewünschte Endprodukt durch die schrittweise Verlängerung einer naszierenden Polyketidkette mit Malonyl-CoA Bausteinen oder dessen Derivaten (Schema **04**, 1). Dabei sind die einzelnen Module aus verschiedenen Domänen aufgebaut. Essenziell für den Aufbau der Polyketidkette sind die drei folgenden Domänen. Das Acyl

Carrier Protein (ACP) ist, ähnlich der PCP-Domäne in NRPS, Träger der aktivierten Malonyl-Bausteine und der in Synthese befindlichen Polyketidkette. Die Acyltransferase-(AT)-Domäne überträgt die Malonyl-Bausteine von Malonyl-CoA auf das ACP und die Ketosynthase-(KS)-Domäne katalysiert die Verknüpfung dieser mit der ACP-gebundenen Polypeptidkette des vorausgegangenen Moduls durch Claisen-Kondensation, analog der Fettsäurebiosynthese. Weiterhin können sich auch nicht essenzielle Domänen in PKS-Modulen befinden. Diese können verschiedene sequenzielle Modifikationen an der zuletzt inkorporierten Ketofunktion durchführen. Dies beinhaltet die Reduktion des Ketons zum Alkohol durch die Ketoreduktase-(KR)-Domäne, die Dehydratisierung des Alkohols zu einer Doppelbindung durch die Dehydratase-(DH)-Domäne und die Sättigung der Doppelbindung durch die Enoylreduktase-(ER)-Domäne. Die fertig synthetisierte Polyketidkette wird abschließend durch eine von einer TE-Domäne katalysierten Cyclisierung oder Hydrolyse freigesetzt, ähnlich der Funktionsweise von NRPS TE-Domänen. Am Beispiel von 6-Desoxyerythronolide B (**41**), einem Intermediat in der Synthese des Makroolidantibiotika Erythromycin, ist der Ablauf der Polyketidbiosynthese veranschaulicht (Schema **04**, 2).^[70] Dabei wird **41** durch ein heptamodulares PKS-System, welches aus drei PKS-Enzymen besteht, aufgebaut und freigesetzt.

1)

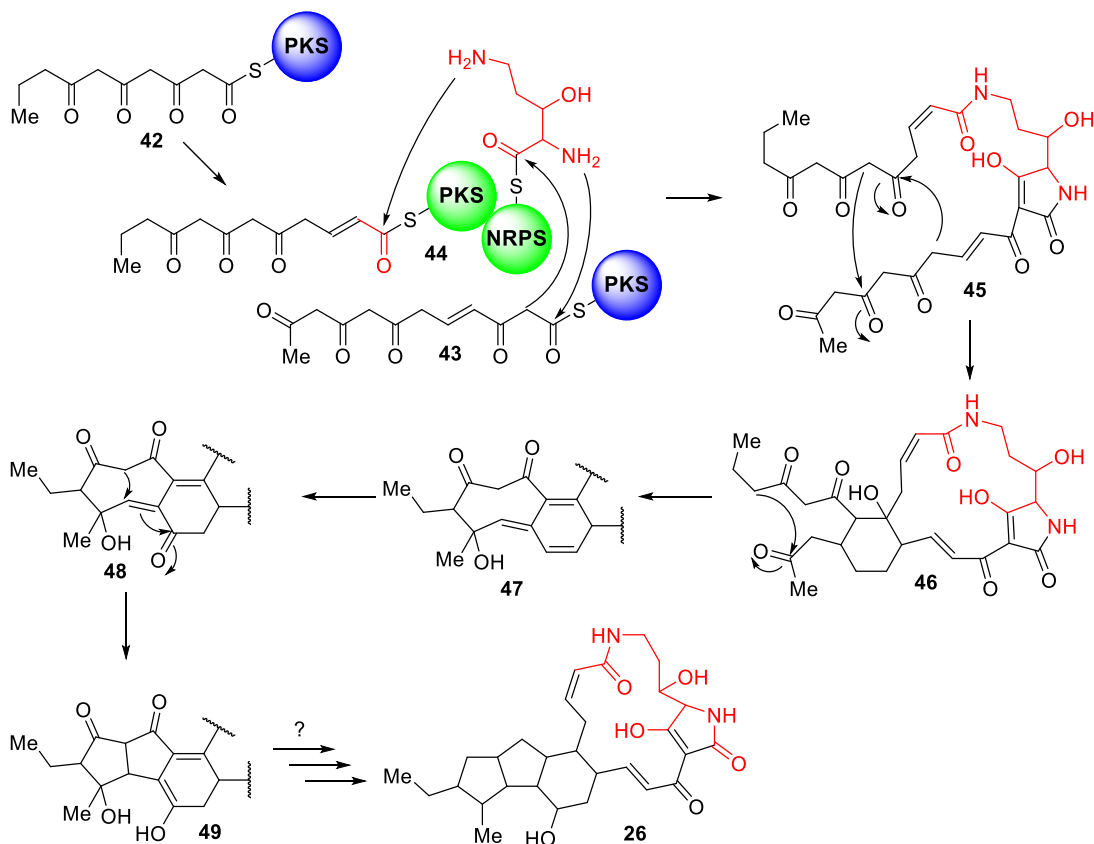


2)



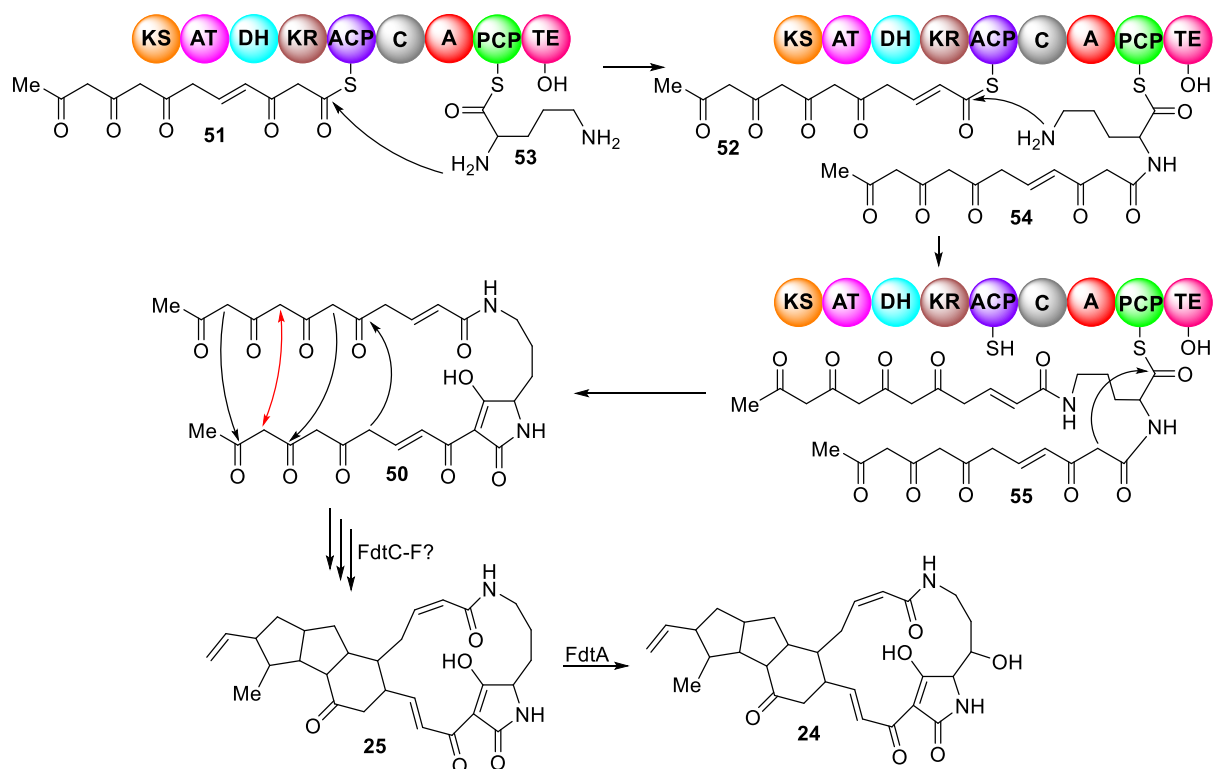
Schema 04. 1) Funktion der verschiedenen PKS-Domänen und 2) die Polyketidbiosynthese am Beispiel von 6-Desoxyerythronolide B (**41**).

In frühen Versuchen, die Biosynthese von PoTeMs aufzuklären, führten gerichtete Mutationen in einem PKS-codierenden Genabschnitt in *Lysobacter enzymogenes* 3.1T8 um Produktionsstopp von HSAF (**26**).^[71] Mit diesem Wissen war es Yu *et al.* möglich, vier Enzyme aus dem HSAF-Genclusters zu identifizieren und erstmals nachzuweisen, dass ein PKS-NRPS-Hybridenzym (PKS/NRPS) an der Biosynthese von HSAF (**26**) beteiligt ist.^[72] Weitere aus dem Gencluster ermittelte Enzyme waren je eine Arginase, Ferrodoxinreduktase und Sterol-Desaturase. Jedoch war es nicht möglich, die Biosynthese von **26** vollständig aufzuklären. Es konnte gezeigt werden, dass von den vier Enzymen lediglich das PKS/NRPS und die Sterol-Desaturase für die Biosynthese der Substanz essenziell sind. Jedoch war es nicht möglich, die Biosynthese von **26** vollständig aufzuklären. Es konnte gezeigt werden, dass von den vier Enzymen lediglich das PKS/NRPS und die Sterol-Desaturase für die Biosynthese der Substanz essenziell sind. Ausgehend von der damaligen Annahme, dass die PoTeM-Biosynthese ähnlich zu der von Tetramat-Polyketiden, wie α -Lipomycin, abläuft, sollte zunächst ein Großteil des Polyketidgerüsts von noch einer nicht identifizierten PKS in Form von zwei Polyketidketten **42** und **43** aufgebaut werden (Schema **05**).^[73] Yu *et al.* gingen dann davon aus, dass das PKS/NRPS, welches aus einem PKS Modul (KS-AT-DH-KR-ACP) und einem NRPS-Modul (C-A-PCP-TE) aufgebaut ist, als Akzeptor von **42** dient und sowohl den Einbau der letzten Malonyleinheit als auch des Ornithins bzw. β -Hydroxyornithins zu **44** katalysiert (rot markiert).^[72] Anschließend sollte die Tetramsäure **45** durch eine Claisen-Reaktion von **43** mit **44** gebildet werden, sodass nach zwei aufeinanderfolgenden Aldolreaktionen über die Zwischenstufe **46** das Macrolactam **47** erhalten werden sollte. Durch Oxidation und Reduktion von **47** zu Intermediat **48** sollte das 5-5-6-tricyclische **49** mittels einer Micheal-Addition erhalten werden, welches nach weiteren Schritten der Dehydratisierung und Reduktion in das HSAF (**26**) überführt werden sollte.



Schema 05. Vorschlag zur Biosynthese von HSAF (**26**) von Yu *et al.* mit den eingebauten Elementen durch die PKS/NRPS (grün) in rot und die vermuteten, noch unbekanntes PKS (blau) in schwarz.^[72]

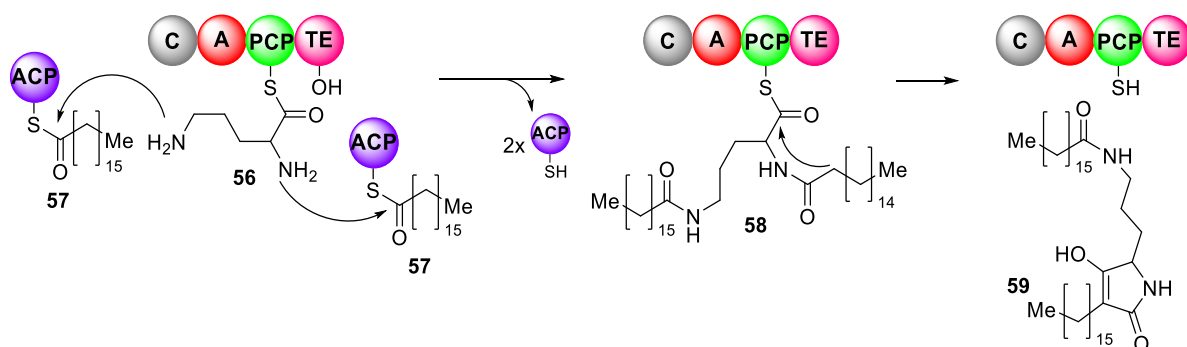
Dieser Biosynthesevorschlag erwies sich jedoch als falsch. Neue Erkenntnisse lieferten Blodgett *et al.* mit der Entdeckung des Frontalamids A (**24**) und B (**25**), und deren Biosynthesecluster bestehend aus einem bimodularen PKS/NRPS, einer Sterol-Desaturase, zwei Phytoen-Desaturasen, einer Alkoholdehydrogenase und einem P450 Enzym.^[74] Auch Blodgett *et al.* gingen anfangs von weiteren PKS aus, die das Kohlenstoffgrundgerüst der Frontalamide aufbauen würden. Jedoch konnten sie keine passenden Gene im betrachteten Streptomyetenstamm finden. Nach bioinformatischen Untersuchungen wurden PoTeM-ähnliche Biosynthesecluster in phylogenetisch verschiedenen Bakterien identifiziert. Aber auch in ihren Biosyntheseclustern und deren umgebenden Bereichen konnten keine weiteren PKS gefunden werden. Dies und weitere Gendeletionsexperimente führten Blodgett *et al.* zu der Annahme, dass die Biosynthese des postulierten Polyketid-Tetransäure-Intermediats **50** lediglich durch das bimodulare PKS/NRPS-System durchgeführt wird. Dies sollte durch eine iterative Arbeitsweise des PKS/NRPS möglich sein, in der aufeinanderfolgend zwei Polyketidketten **51** und **52** synthetisiert und auf das PCP-gebundene Ornithin **53** bzw. **54** übertragen werden (Schema **06**). Anschließend sollte Intermediat **55** mittels einer Diekmann-Kondensation in die Tetransäure **50** umgesetzt werden. Nach einer Abfolge verschiedener Aldolreaktionen von **50** wäre so die 5-5-6 tricyclische Grundstruktur des Frontalamid B (**25**) aufgebaut, welche abschließend durch FdtA in Frontalamid A (**24**) umgesetzt werden sollte. Zwar konnten mit diesem Vorschlag tiefgreifende Fragen in der Biosynthese von PoTeMs aufgegriffen werden, dennoch war eine der vier postulierten Aldolreaktionen nicht plausibel, da sowohl die angreifende als auch die angegriffene Position Nucleophile wären (roter Elektronenpfeil).



Schema 06. Von Blodgett *et al.* postulierte Biosynthese von Frontalamid A (**24**) und B(**25**).^[74]

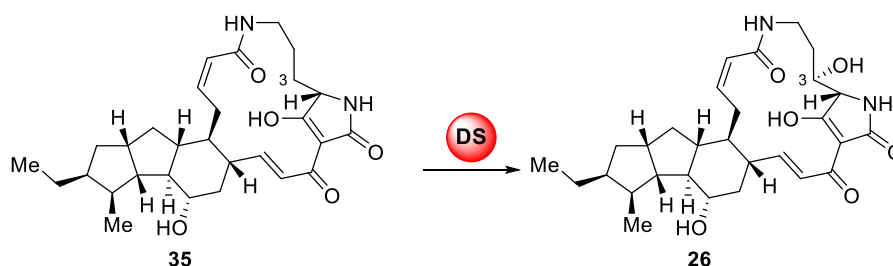
Zwar konnte der Cyclisierungsmechanismus in der PoTeM-Biosynthese auch von Blodgett *et al.* nicht aufgeklärt werden, trotzdem fand das gewonnene Wissen Anwendung in den darauffolgenden Arbeiten zur HSAF-Biosynthese. Lou *et al.* konnten das zuvor unvollständige HSAF-Biosynthesegencluster nun vollständig ermitteln.^[75] Es war aufgebaut aus dem HSAF-PKS/NRPS, der bereits beschriebenen downstream befindlichen Arginase, Ferredoxinreduktase und Sterol-Desaturase sowie den vier upstream neu entdeckten Oxidoreduktasen OX1-4.

Gendelektionsexperimente zeigten, dass neben dem PKS/NRPS drei der Oxidoreduktasen essenziell waren um das 5-5-6 tricyclisierte Macrolactamgrundgerüst von **26** zu synthetisieren. Weiterhin wurde das mit Ornithin-beladene HSAF-NRPS-Modul **56** gemeinsam mit der Stearinsäure-beladenen HSAF-ACP-Domäne **57** inkubiert (Schema **07**), sodass die Stearinsäurereste auf das Ornithin übertragen werden konnte. Als Produkt der Cyclisierung von **58** konnte die Tetramsäure **59** detektiert werden, sodass die von Blodgett *et al.* postulierte Tetramsäurebiosynthese mittels Diekmannkondensation experimentell bestätigt werden konnte.



Schema 07. Biosynthetische Bestätigung der Diekmann-Kondensation zur Darstellung der Tetramsäureeinheit in der Biosynthese von **59**.^[75]

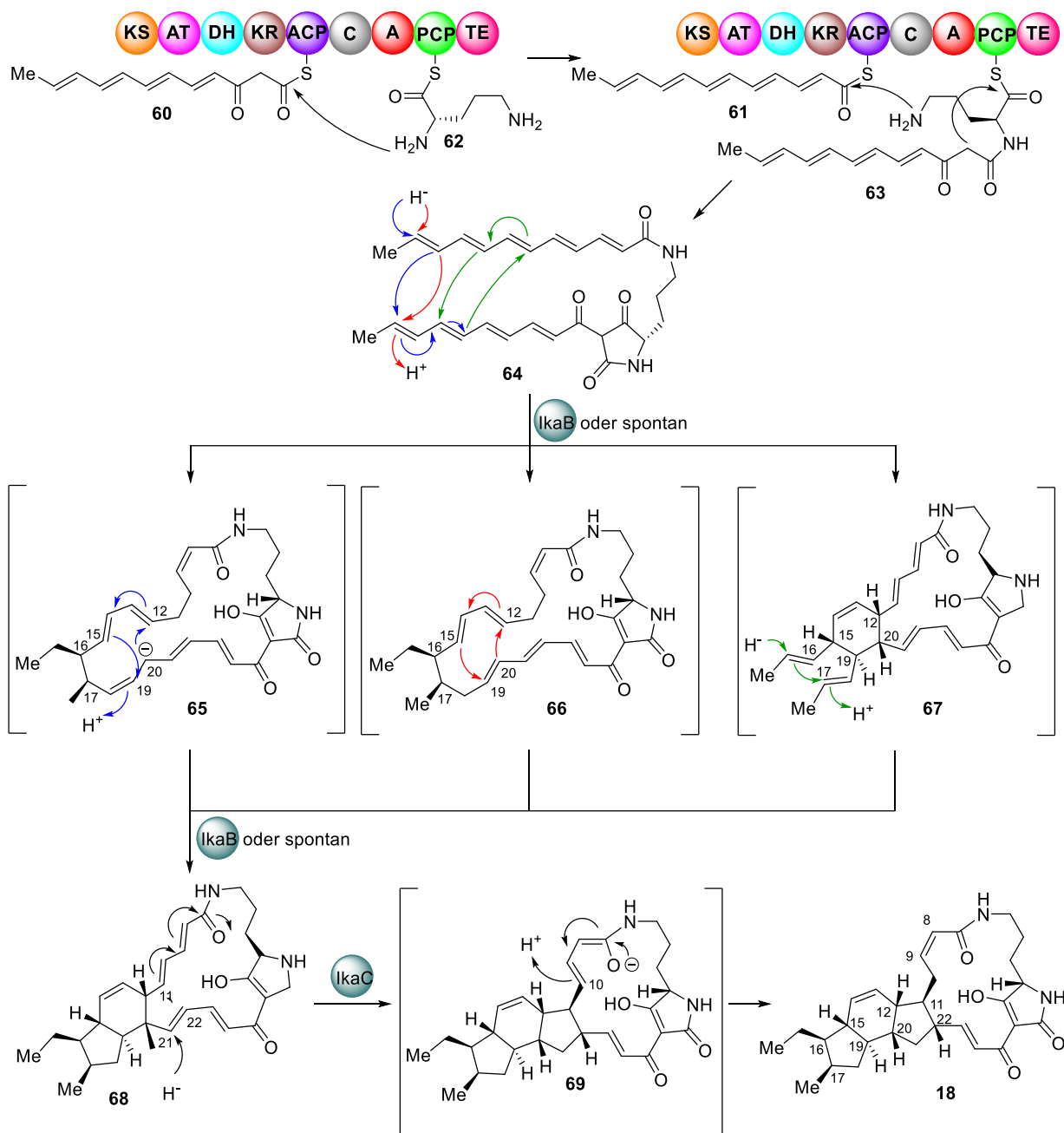
Die Frage, ob die 3-Hydroxyfunktion des HSAF (**26**) durch die Aktivierung und Inkorporation eines bereits hydroxylierten Ornithins oder durch die nachträgliche Hydroxylierung eines Makrolactam-Intermediats erfolgt, konnte ebenfalls durch Gendelektionsexperimente beantwortet werden. Im Fall einer Sterol-Desaturase-Knockout-Mutante konnte beobachtet werden, dass sich das 3-Desoxy-HSAF (**35**) ansammelt. Dessen Isolation und Inkubation mit der HSAF-Sterol-Desaturase *in vitro* führte zu seiner Umwandlung in HSAF (**26**) und bewies eine nachgeschaltete Einführung der Alkohol-Gruppe (Schema **08**).^[54]



Schema 08. Biosynthetisch Bestätigung der finalen 3-Hydroxylierung in der HSAF-Biosynthese.^[54]

Obwohl das erste entdeckte PoTeM, Ikarugamycin (**18**), ein 5-6-5 tricyclisches Ringssystem besaß, erfolgten die anfänglichen Forschungen zur PoTeM-Biosynthese an den 5-5-6 Strukturen des HSAF (**26**) und der Frontalamide. 2014 wurden die ersten Arbeiten zur Aufklärung der Ikarugamycin-Biosynthese veröffentlicht. Antosch *et al.* gelang es das Ikarugamycin-Gencluster aus Streptomyceten zu isolieren, in *E. coli* zu klonieren und es heterolog in *E. coli* zu exprimieren.^[76] Dabei zeigte sich, dass für die Biosynthese von Ikarugamycin (**18**) lediglich drei Enzyme benötigt werden. Diese waren das PKS/NRPS-Hybridenzym IkaA, die FAD-abhängige Oxidoreduktase IkaB und die Alkohol-Dehydrogenase IkaC. Es bestätigte sich somit der zuvor postulierte iterative Charakter der PKS/NRPS von PoTeMs. Weiterhin zeigte die Untersuchung eines IkaC defizienten Expressionsstammes die Bildung eines 2 Da leichteren Ikarugamycin-Intermediats.^[76] Auf Basis dieser Befunde wurde eine Biosynthese von Ikarugamycin (**18**) postuliert, in der zunächst eine ACP-gebundene β -Ketododekatetraenoyl-Kette (**60**) und eine ACP-

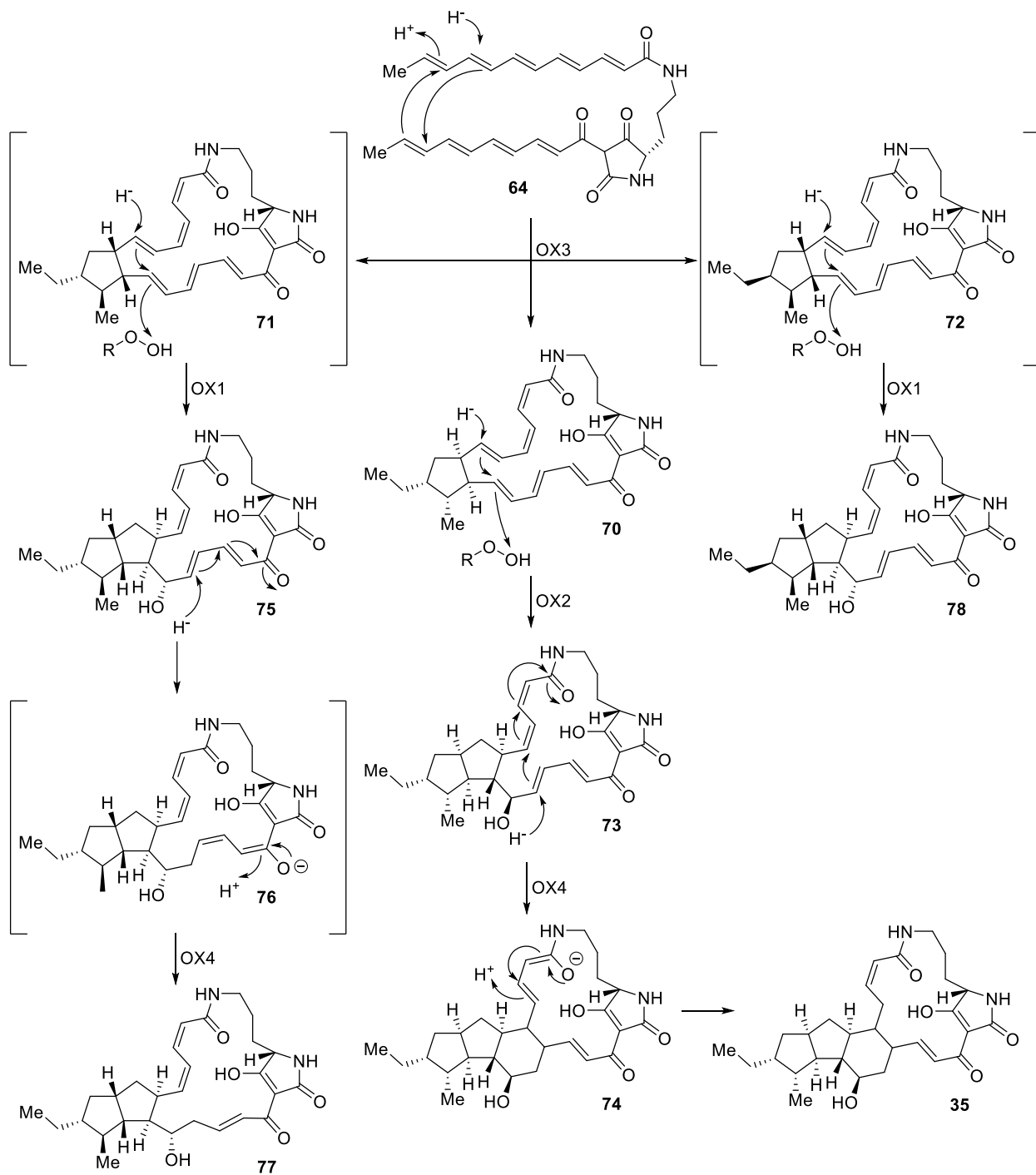
gebundene Dodekapeptenoyl -Kette (**61**) iterativ durch das PKS-Modul synthetisiert und auf das PCP-gebundene Ornithin **62** und **63** übertragen wird (Schema **09**). Anschließend erfolgt eine durch die TE-Domäne katalysierte Diekmann-Kondensation, welche die Tetramsäure-Einheit aufbaut und das Intermediat **64** freisetzt. Dieses durchläuft dann eine von IkaB katalysierte Reaktionskaskade, die den äußeren Fünfring sowie den mittleren Sechsring des Ikarugamycins (**18**) aufbaut. Es wird vermutet, dass die Kaskade mit der enzymkatalysierten Bindungsknüpfung zwischen C16-C17 initiiert wird und durch eine darauffolgende Diels-Alder-Reaktion des hypotetischen Reaktionsintermediats **65** die Bindungen zwischen C15-C19 und C12-C20 aufgebaut werden (Abbildung **12**, blaue Pfeile). Jedoch wären auch andere Reaktionsabläufe denkbar, wie die Protonierung an C18 nach der initialen Bindungsknüpfung und einer anschließenden spontanen Diels-Alder-Reaktion von **66** (Abbildung **12**, rote Pfeile) oder einer spontanen Diels-Alder-Reaktion des Intermediats **64** zu **67** und einer anschließenden Bindungsknüpfung zwischen C16-C17 (Abbildung **12**, grüne Pfeile). Das aus diesen möglichen Reaktionen resultierende Intermediat **68** entspricht dabei dem 2 Da leichteren und zuvor detektierten Produkt des IkaC-defizienten Expressionsstammes. Schließlich wird in einem finalen durch IkaB katalysierten reduktiven Ringschluss über den Übergangszustand **69** der innere Fünfring durch Bindungsknüpfung zwischen C11-C22 aufgebaut.



Schema 09. 1) Von Antosch *et al.* und Zhang *et al.* vorgeschlagene Ikarugamycin-Biosynthese mit den verschiedenen mechanistischen Möglichkeiten zur Funktionsweise von IkaB (blaue, rote oder grüne Pfeile) und der bereits aufgeklärten Funktionsweise von IkaC.^[76,77]

Diese im Gulder-Labor aufgestellte Biosynthese konnte wenig später von Zhang *et al.* bestätigt werden. Es gelang mittels IkaB und IkaC Knockout-Mutanten sowohl das Intermediat **64** mittels hochauflösende Massenspektrometrie (HRMS) und UV/VIS-Spektroskopie zu detektieren als auch das Zwischenprodukt **68** zu isolieren und mit Hilfe von NMR-Spektroskopie zu charakterisieren.^[77] Eine Isolierung von **64** war aufgrund von dessen Licht- und Hitzeempfindlichkeit nicht möglich. Zudem wurde durch Enzymassays mit isotopenmarkierten Substraten die Funktionsweise von IkaC aufgeklärt (Schema **09**). Demnach katalysiert IkaC eine Hydridaddition an der C21-Position und führt zur Knüpfung der C11-C22-Bindung durch Konjugat-Addition. Dies ermöglicht schließlich eine IkaC gestützte Isomerisierung der C8-C9-Doppelbindung von einer *E*- zu einer *Z*-Konfiguration und führt zur anschließenden Protonierung an C10. Im Einklang mit diesen Ergebnissen konnten zudem Greunke *et al.* IkaA-C einzeln exprimieren und

mit ihnen eine biokatalytische Synthese von Ikarugamycin (**18**) *in vitro* durchführen.^[78] Als Substrate dienten dabei Acetyl-CoA und Malonyl-CoA. Da beide Substanzen äußerst hochpreisig sind, wurde ferner ein enzymatisches System zur *in situ* Synthese von Ac-CoA und Mal-CoA implementiert.^[78] Diese umfassenden Ergebnisse aus der Ikarugamycin-Biosynthese halfen auch, die Produktion von HSAF besser zu verstehen. Es konnte nun über massenspektrometrische Untersuchungen nachgewiesen werden, dass HSAF (**26**) mit seinem 5-5-6 Ringsystem aus dem gleichen Vorläufermolekül **64** aufgebaut wird wie Ikarugamycin (**18**).^[79] Ergänzend wurde gezeigt, dass die Startereinheit des PKS-Moduls nicht Ac-CoA sondern Mal-CoA ist und die zwei Polyketidketten in ihrem ACP-gebundenen Zustand eine terminale Säurefunktion tragen, welche sie durch Decarboxylierung während der Übertragung auf das PCP-gebundene Ornithin verlieren.^[79] Die Funktion der verschiedenen OX1-4 Enzyme konnte ebenfalls aufgeschlüsselt werden (Schema **10**). Es wurde gezeigt, dass das OX3 im Polyenintermediat **64** als erstes den äußeren Fünfring installiert. Dabei ist die reduktive [2+3]-Cycloaddition nicht voll stereospezifisch, sodass es zur Synthese des HSAF-Vorläufers **70** und dessen diastereomeren Derivaten **71** und **72** kommt.^[80] An **70** wird anschließend der Aufbau des mittleren Fünfrings mit gleichzeitiger Hydroxylierung von OX2 zu **73** katalysiert. In einem finalen Cyclisierungsschritt wird das 5-5-6 Ringsystem des 3-Desoxy-HSAF (**35**) mit der Ausbildung des Sechsrings durch OX4 in einem dem IkaC ähnlichen Mechanismus über den Übergangszustand **74** abgeschlossen.^[80,81] Die monocyclisierten Derivate **71** und **72** konnten teilweise von den nachgeschalteten Oxidoreduktasen zu Alteramid-Derivaten verarbeitet werden. So war für **71** eine Umsetzung durch OX1 und OX4 über das Intermediat **75** und den Übergangszustand **76** zum 3-Desoxy-alteramid D (**77**) möglich, während das Derivat **72** lediglich von OX1 zum 3-Desoxyalteramid A (**78**) umgesetzt wurde.^[80]



Schema 10. Vorgeschlagene Biosynthese von 3-Desoxy-HSAF (**35**) und den Alteramid-Derivaten **77** und **78**.^[80]

Dank der Aufklärung der Ikarugamycin- und HSAF-Biosynthese konnte die grundlegende Frage, wie PoTeMs in Mikroorganismen produziert werden, geklärt werden. Die daraus gewonnen Erkenntnisse können in einer Vielzahl neuer Forschungsvorhaben vertieft und eingesetzt werden, wie in der Aufklärung von PoTeM-assoziierten Enzymmechanismen, der Suche nach bisher unbekanntem PoTeMs oder der *in vivo* bzw. *in vitro* Konstruktion unnatürlicher PoTeM.

Motivation und Zielsetzung

Cycloheptamycin (**13**) und seine Derivate **14**, **15** und **16**

Als humanpathogener Organismus ist *P. acnes* an der Entstehung von *Acne vulgaris* beteiligt. Die bisherigen Behandlungsmöglichkeiten mit Isotretinoin oder mit systemisch-wirkenden Antibiotika sind mit zum Teil schweren Nebenwirkungen behaftet. Die Entwicklung einer alternativen Behandlungsmethode wäre daher wünschenswert. Eine Verbindung mit besonderem Potenzial als mögliches Medikament oder als Leitstruktur in der Wirkstoffentwicklung eingesetzt zu werden, ist das selektiv gegen *P. acnes* wirkende Cycloheptamycin (**13**). Zu Beginn dieser Doktorarbeit und der ihr vorausgehenden Masterarbeit war die Struktur des Cycloheptamycins (**13**) noch nicht vollständig aufgeklärt.^[82] Zwar konnte in der Doktorarbeit von J. Antosch die offene Frage nach der Konfiguration von *N*-Methyltryptophan und *N*-Methyl-*allo*-isoleucin beantwortet werden.^[42] Dennoch blieb die Stereochemie des β -Hydroxynorvalins unzureichend erforscht und verlangte nach weiteren Untersuchungen.^[42] In Fortsetzung zur vorausgegangenen Masterarbeit sollte im Rahmen dieser Doktorarbeit die Totalsynthese von Cycloheptamycin (**13**) fertiggestellt werden.^[82] Dabei sollte das totalsynthetisch dargestellte **13** mit dem bakteriell produzierten verglichen werden, um eine zweifelsfreie Strukturaufklärung zu ermöglichen.

Zudem würde die Entwicklung einer Totalsynthese die Darstellung von verschiedenen cyclischen Cycloheptamycin-Derivaten erlauben. Aus Expressionsexperimenten konnten bereits die Derivate **14**, **15** und **16** isoliert werden (siehe Abbildung **06**). Untersuchungen dieser zeigten, dass strukturelle Veränderungen im Bereich des Hydroxynorvalins oder 5-Methoxytryptophans zu einer Reduktion der antibakteriellen Wirksamkeit führten. Diese Struktur-Aktivitäts-Beziehungen sollten mit Hilfe des hier entwickelten totalsynthetischen Zugangs durch die Darstellung verschiedener Derivate eingängiger erforscht werden, um mögliche Optimierungen vornehmen zu können, mit dem Ziel, eine höhere antibakterielle Aktivität zu erreichen.

Weiterhin sollte eine Totalsynthese für das Cycloheptamycin Z (**17**), welches sich durch seinen linearen Aufbau und die enthaltene Diketopiperazin-Einheit strukturell von Cycloheptamycin (**13**) und seinen cyclischen Derivaten **14**, **15** und **16** unterscheidet, entwickelt werden, um eine Strukturaufklärung und eine mögliche Derivatsynthese durchführen zu können.

Ikarugamycin-Polyenintermediat **64**

Die Biosynthese von PoTeMs ist eingängig untersucht worden, doch weiterhin bleiben einige Fragen unbeantwortet. Ikarugamycin (**18**) als ein PoTeM-Vertreter mit einer breiten biologischen Aktivität und einer hochkomplexen Struktur wird von den drei Enzymen IkaA-C aufgebaut. Zwar ist die Reihenfolge, in der die Enzyme tätig sind, und ihre einzelnen Substrate bzw. Produkte bekannt, dennoch ist der mechanistische Ablauf der einzelnen enzymatischen Schritte nur für die von IkaC katalysierte Reaktion zweifelsfrei belegt worden. So ist zum Beispiel noch nicht bekannt, welche der beiden Amin-Gruppen des PCP-gebundenen Ornithins von der iterativen PKS/NRPS zuerst acetyliert wird, wie die PKS/NRPS die entsprechenden Amin-Gruppe selektiert und die Synthese der zwei strukturell unterschiedlichen Kettenstrukturen reguliert. Diese Prozesse können, beispielsweise durch Enzymassays in denen IkaA *in situ* mit verschiedenen synthetisch dargestellten Polyenthioestern beladen wird, untersucht werden. Ebenso ist nicht bekannt, wie die von IkaB katalysierten Cyclisierungen mechanistisch ablaufen. Es wurden bereits verschiedene Reaktionsmöglichkeiten vorgeschlagen (Schema **09**). Jedoch ist die experimentelle Bestätigung dieser schwierig, da hierfür das Intermediat **64** benötigt wird. Zwar kann dieses aus biologischen Experimenten mit hohem Arbeitsaufwand isoliert werden, jedoch ist die gewonnene Substanzmenge für eine umfassende Untersuchung nicht ausreichend. Eine chemische

Synthese des Intermediats **64** ist daher wünschenswert und sollte im Rahmen dieser Doktorarbeit erfolgen, um eine ausreichende Menge an **64** für die anstehende enzymatische Mechanismusaufklärung bereitstellen zu können. Dazukommend sollten mit Hilfe der Totalsynthese verschiedene Derivate von **64** dargestellt werden, um die Substrattoleranz von IkaB zu erforschen und auf diesem Weg neue PoTeM-Strukturanaloga durch chemo-enzymatische Synthese herstellen zu können.

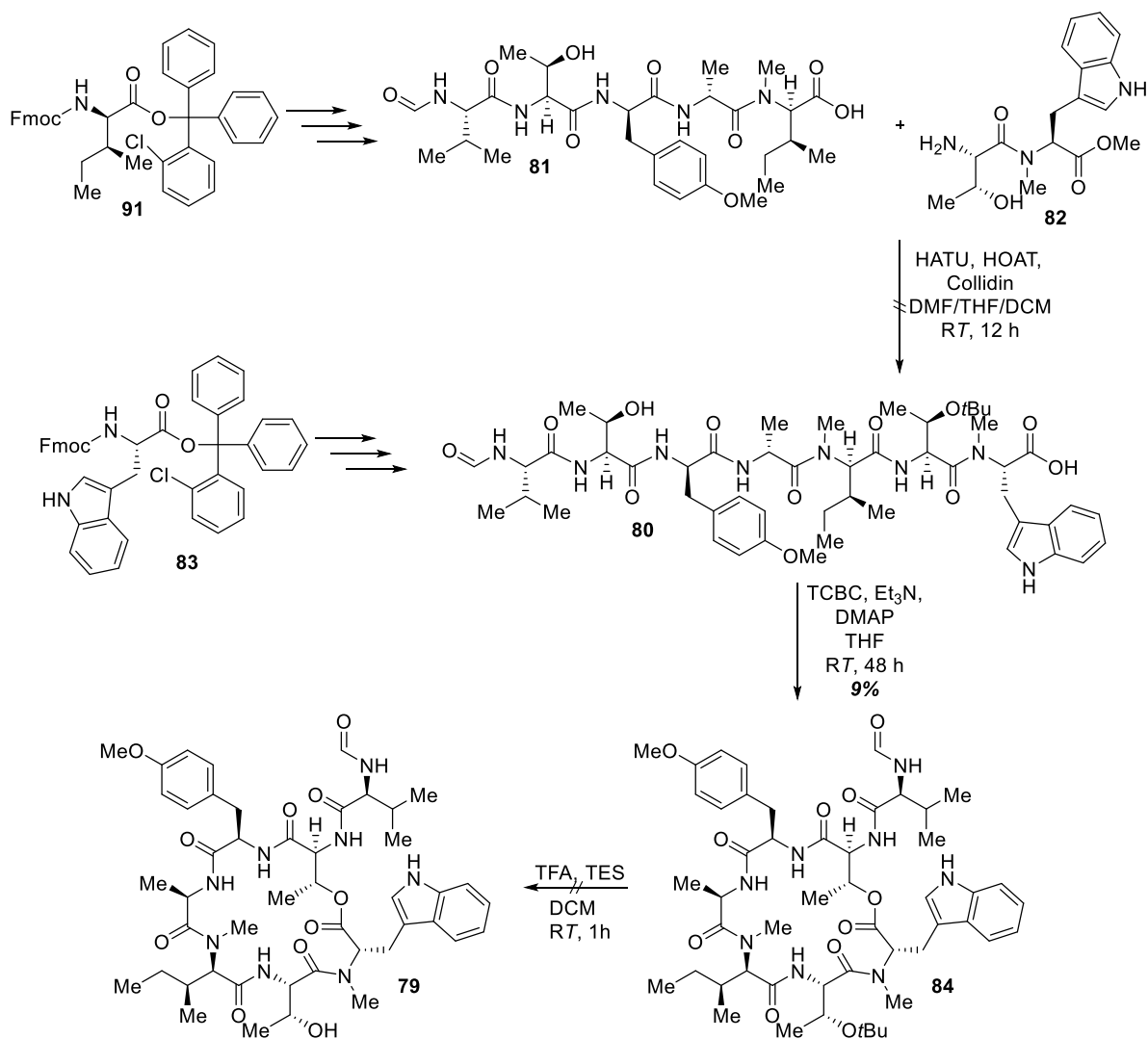
Ergebnisse und Diskussionen

Totalsynthese von Cycloheptamycin (**13**) und seinen Derivaten

Vorausgegangene Arbeiten und retrosynthetische Analysen

Die Aufgabenstellung der „Totalsynthese von Cycloheptamycin“ wurde bereits in einer gleichnamigen Masterarbeit im Arbeitskreis Gulder bearbeitet.^[82] In dieser wurde der Ansatz verfolgt, ein vereinfachtes Cycloheptamycin-Derivat **79** mittels einer späten Makrolactonisierung darzustellen (Schema **11**). Zunächst wurde versucht, Heptapeptidsäure **80** durch eine Kombination aus Festphasen- und Flüssigphasenpeptidsynthese darzustellen. Dabei wurde das Pentapeptid **81** durch Festphasensynthese und das Dipeptid **82** durch Flüssigphasensynthese hergestellt. Jedoch schlug die Kupplung der beiden Bausteine aufgrund der Instabilität des Dipeptids **82** fehl. Alternativ wurde eine vollständige Festphasensynthese ausgehend von Tryptophan-geladenem Harz **83** durchgeführt, um die lineare Heptapeptidsäure **80**, welche als vereinfachtes Modellsystem fungierte, darzustellen. **80** wurde anschließend mittels Yamaguchi-Veresterung cyclisiert. Die finale *tert*-Butyl-Entschützung des Makrolaktons **84** verlief jedoch nicht erfolgreich und es kam dabei stets zu einer Ringöffnung.

Sowohl die Kombination von Fest- und Flüssigphasensynthese als auch die ausschließliche Festphasensynthese haben Vor- und Nachteile und sollten im Rahmen dieser Arbeit evaluiert und weiterentwickelt werden. Dazu sollte die in der Masterarbeit angefangene Synthese der Modellspezies **79** zunächst abgeschlossen werden.^[82] Ebenso ist die Fortführung und Optimierung der Synthesen von Aminosäurebausteinen nötig. Es ist entscheidend einen synthetischen Zugang zu *anti*- β -Hydroxynorvalin (**85**) zu erhalten. Wünschenswert wäre ebenfalls die Optimierung der Synthesen von 5-Methoxytryptophan (**86**) und Boc-*O*-Methyl-D-tyrosin (**87**). Zwar können diese Aminosäuren erfolgreich dargestellt werden, jedoch liefern die bestehenden Synthesen verbesserungswürdige Ausbeuten und durchlaufen zeitaufwendige Reinigungsprozesse. Erkenntnisse aus der Synthese der Modellspezies könnten möglicherweise auf die Darstellung des Naturstoffes **13** übertragen werden bzw. hilfreiche Hinweise für dessen Darstellung liefern. Neben der bereits in der Masterarbeit untersuchten, späten Makrolactonisierung sollen weitere Syntheseansätze getestet werden.^[82] Neue zu testende Ansätze wären insbesondere die Synthese von geeigneten Vorstufen, welche durch eine Makrolactamisierung oder eine chemo-enzymatische Cyclisierung in Cycloheptamycin (**13**) umgesetzt werden können.

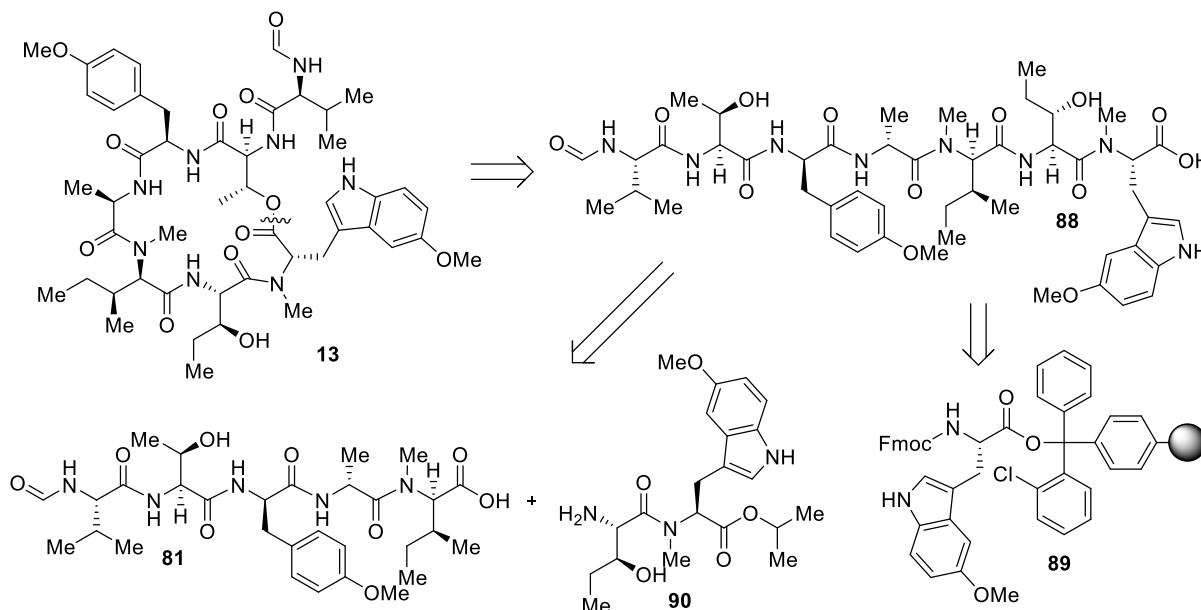


Schema 11. Übersicht zu den durchgeführten Synthesen in der vorausgegangenen Masterarbeit.^[82]

Retrosynthese von Cycloheptamycin (**13**) durch Makrolactonisierung

Für die Darstellung von Cycloheptamycin (**13**) durch eine finale Makrolactonisierung wird die native lineare Heptapeptidsäure **88** benötigt. Diese sollte keine *tert*-Butyl-Schutzgruppe an der Hydroxyfunktion des Hydroxynorvalins tragen, um die in den Vorarbeiten beobachtete Ringöffnung während der *tert*-Butyl-Entschützung zu umgehen. Eine Schützung dieser Hydroxy-Gruppe ist für die Lactonisierungsreaktion vermutlich nicht nötig, da ein evtl. entstehender, kleinere Cyclus einem 7-Ring entsprechen würde, dessen Bildung energetisch nicht begünstigt ist. Die Synthese des linearen Heptapeptids **88** kann angelehnt an die vorausgegangene Masterarbeit auf zwei Wegen realisiert werden: Zum einen kann die Synthese vollständig durch Festphasenpeptidsynthese erfolgen.^[82] Dazu sollte vom Fmoc-5-Methoxy-L-tryptophan beladenen 2-Chlorotrityl-Harz **89** ausgegangen werden, sodass **88** unter Verwendung einer Fmoc-Schutzgruppenstrategie vom C- zum N-Terminus mit den entsprechenden Fmoc-geschützten Aminosäuren aufgebaut werden kann (Schema **12**). Benötigte *N*-Methyl-Gruppen können dabei in einer linearen Synthesesequenz direkt am Harz eingeführt werden. Nach abgeschlossener Peptidsynthese kann eine leicht saure Abspaltung erfolgen, um die gewünschte Heptapeptidsäure **88** zu erhalten. Der Vorteil der Festphasensynthese ist, dass die für gewöhnlich langwierigen und komplexen Aufarbeitungs- und Aufreinigungsschritte durch ein mehrfaches Waschen des Harzes ersetzt werden können. Dies führt zu einer Vereinfachung und Beschleunigung der Synthese. Jedoch ist die Festphasensynthese nicht frei von Nachteilen. Sie hat einen hohen Materialaufwand, welcher zurückzuführen ist auf die benötigten Mehrfachkupplungen

mit hohen Aminosäureüberschüssen, um ausreichend hohe Ausbeuten zu erhalten. Dies ist insbesondere bei kommerziell nicht erhältlichen Aminosäuren, wie β -Hydroxynorvalin und 5-Methoxytryptophan, unerwünscht, da Ihre Herstellung arbeits-, kosten und zeitintensiv ist.



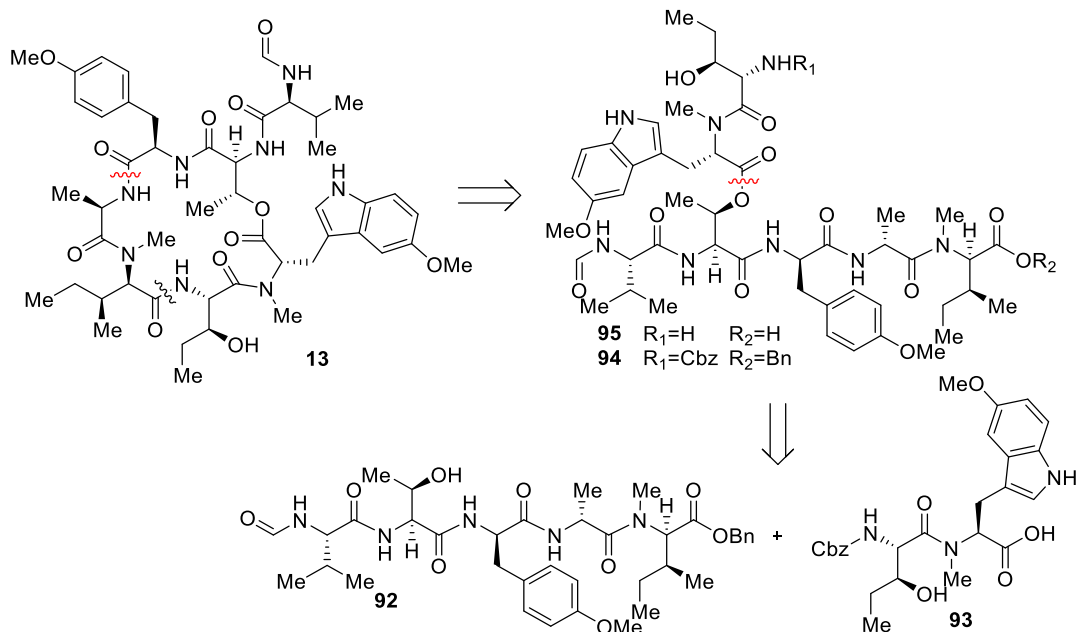
Schema 12. Retrosynthetische Analyse von Cycloheptamycin (**13**) über Heptapeptidsäure **88** durch eine Kombination aus Fest- und Flüssigphasensynthese oder vollständiger Flüssigphasensynthese.

Dieses Problem kann umgangen werden, indem eine Kombination aus Festphasen- und Flüssigphasensynthese durchgeführt wird. Hinzukommend besitzt diese konvergente Synthesestrategie den Vorteil, dass sie es ermöglicht unterschiedliche Dipeptide aufzubauen und diese mit dem unveränderten Pentapeptid **81** zu koppeln. Die Synthese verschiedener Cycloheptamycin-Derivate für Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen mit Veränderungen im Bereich des Hydroxynorvalins und des Methoxytryptophans kann somit aufgrund der modularen Vorgehensweise beschleunigt und vereinfacht werden. Dazu kann die lineare Heptapeptidsäure **88** in ein *N*-terminales Pentapeptid **81** und ein *C*-terminales Dipeptid **90** unterteilt werden (Schema **12**). Die Festphasensynthese des Pentapeptids **81** ist bereits in der vorausgegangenen Masterarbeit beschrieben und basiert auf einer Fmoc-Schutzgruppenstrategie.^[82] Die dafür nötigen Aminosäuren und das beladene Harz **91** sind kommerziell erhältlich oder synthetisch einfach zugänglich. Die Synthese des Dipeptids **90** und die Zusammenführung der beiden Bausteine soll in Flüssigphase erfolgen. In vorherigen Experimenten war der Dipeptidbaustein nicht stabil und cyclisierte spontan unter Freisetzung von MeOH zum entsprechenden Diketopiperazin. Dem soll nun entgegengewirkt werden, indem der Methylester gegen einen Isopropylester ausgetauscht wird. Es wird angenommen, dass der Isopropylester aufgrund seiner höheren Stabilität eine unerwünschte Cyclisierung unterbindet und damit die Synthese der Heptapeptidsäure **88** ermöglicht.

Retrosynthese von Cycloheptamycin (**13**) durch Macrolactamisierung

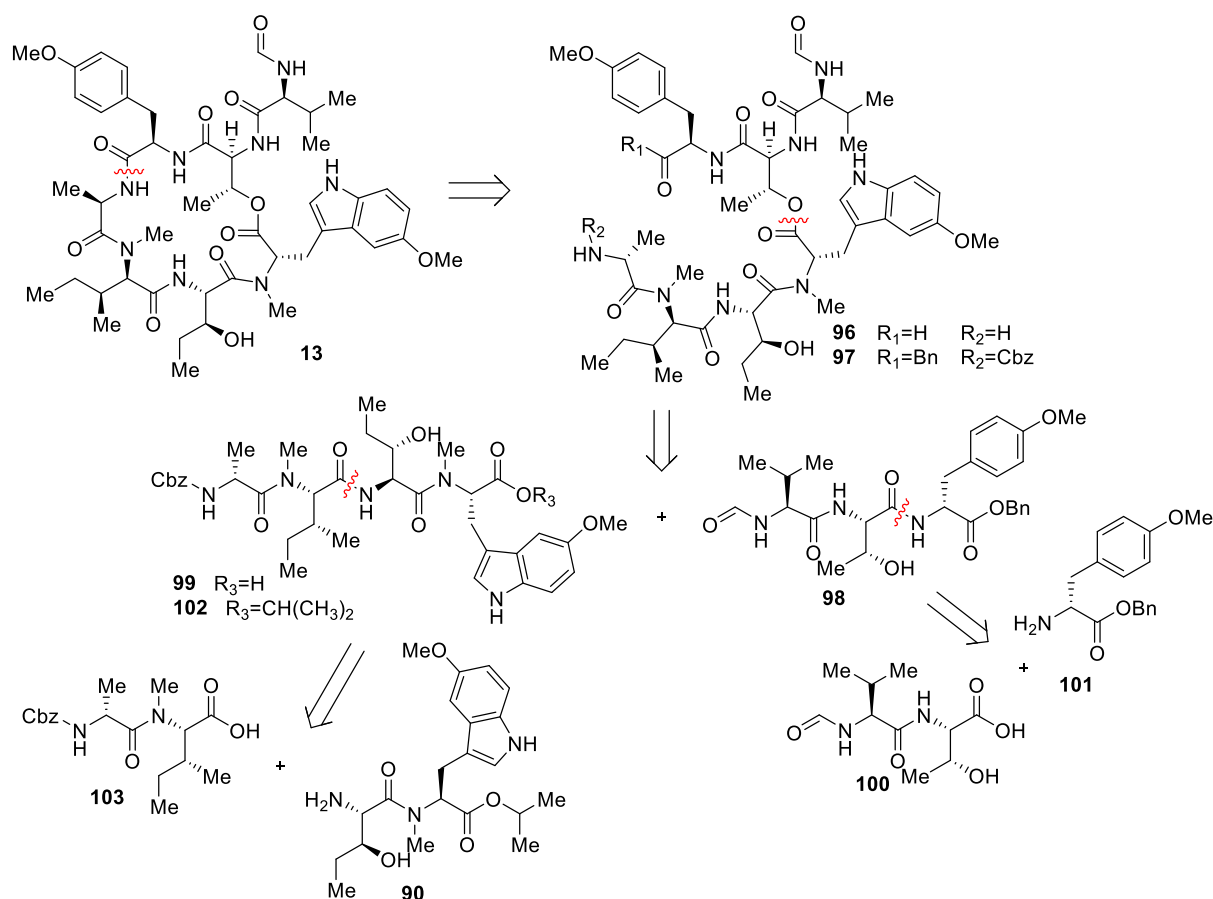
Als Alternative zu einer Makrolactonisierung wäre ebenso eine Makrolactamisierung durchführbar. Zwar wären für die Synthese der benötigten Peptidestervorstufen mehr Syntheseschritte nötig, jedoch könnte eine vermutlich leichter aufbaubare Amidbindung in der Totalsynthese vorteilhaft eingesetzt werden. Damit dieser Vorteil sein volles Potenzial entfalten kann, sollte es sich bei der aufzubauenden Bindung um ein sekundäres Amid handeln. Ein retrosynthetischer Schnitt sollte entsprechend zwischen der Säurefunktion des *D*-*allo*-Isoleucin und der Aminfunktion des β -Hydroxynorvalin getätigt werden (Schema **13**). Auf diese Weise können Vorstufen des Pentapeptid **81** und des Dipeptids **90**, deren Synthese bereits für die Macrolactonisierungsexperimente geplant sind, in mehreren

Syntheserouten verwendet werden und ein stufenökonomisches Vorgehen zulassen. Es müsste lediglich die Schutzgruppenstrategie den Bedürfnissen angepasst werden. So könnte das Benzyl-geschützte Pentapeptid **92** mit dem Cbz-geschützten Dipeptid **93** zum Peptidester **94** umgesetzt werden, um eine gleichzeitige Entschützung der Säure- und Aminfunktion hydrogenolytisch zum Ester **95** zu ermöglichen.



Schema 13. Retrosynthetische Analyse von Cycloheptamycin (**13**) über den Heptapeptidester **95**.

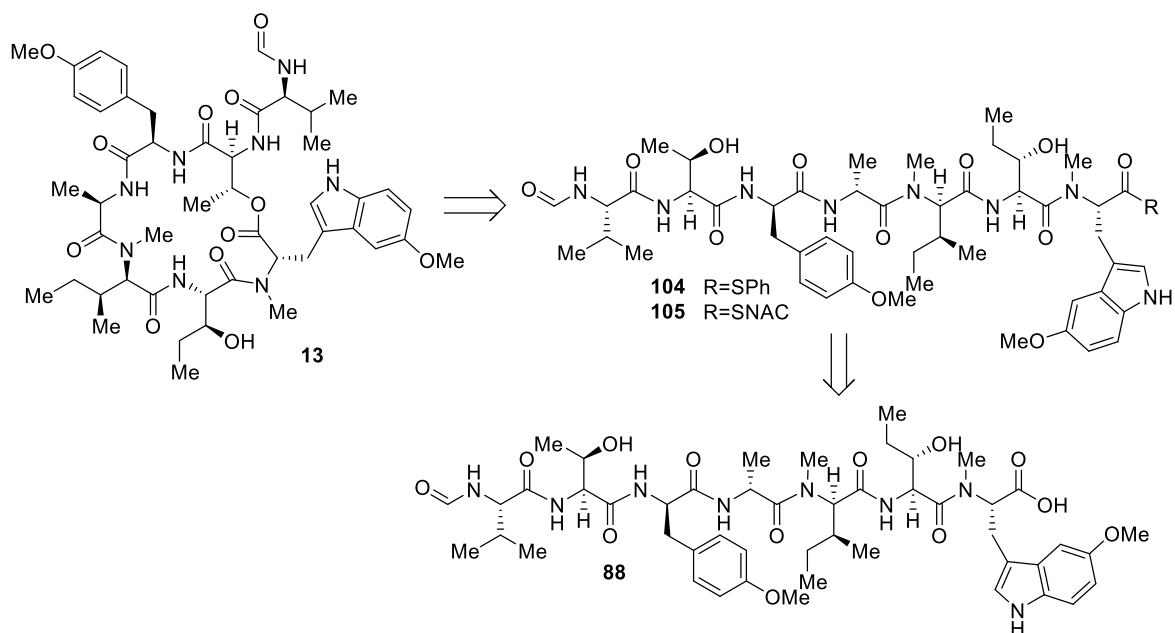
Weiterhin wäre die Makrolactamisierung des Peptidesters **96** möglich. Hier soll die Amidbindung zwischen der Säurefunktion des D-Tyrosins und der Aminfunktion des D-Alanins aufgebaut werden. Peptidester **97** soll dafür aus dem Tripeptid **98** und der Tetrapeptidsäure **99** aufgebaut werden (Schema **14**). Es sollen wie schon zuvor die Benzyl-Schutzgruppe für die Säurefunktion und die Cbz-Schutzgruppe für die Aminfunktion eingesetzt werden, da dies eine milde und simultane Entschützung zu Peptidester **96** ermöglicht. Das Tripeptid **98** soll aus dem literaturbekannten Dipeptid **100** sowie dem Benzyl-geschützten Methyl-D-Tyrosin **101** dargestellt werden und das Tetrapeptid **102** kann konvergent aus dem Dipeptid **103** sowie dem bereits in der Macrolactonisierung genutzten Dipeptid **90** synthetisiert werden.



Schema 14. Retrosynthetische Analyse von Cycloheptamycin (**13**) aus dem Heptapeptidester **97** mit der Synthesestrategie für Tripeptid **98** und Tetrapeptid **99**.

Retrosynthese von Cycloheptamycin (**13**) durch chemo-enzymatischer Cyclisierung

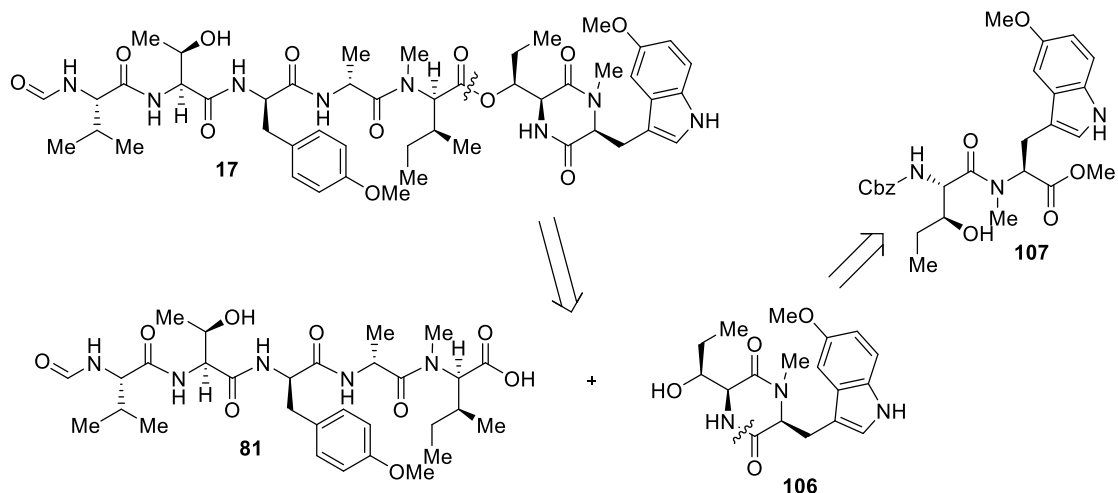
Neben einer vollsynthetischen Darstellung von Cycloheptamycin (**13**) ist eine chemo-enzymatische Totalsynthese denkbar. Unter Verwendung der klonierten und heterolog produzierten *cyh*-Thioesterase sollen unter geeigneten Bedingungen die Peptidthioester **104** und **105** biokatalytisch umgesetzt werden. Im nativen NRPS ist die Peptidvorstufe an den PPant-Arm der terminalen PCP-Domäne gebunden und wird der TE-Domäne als Substrat präsentiert. Um die Erkennung der Peptidester durch die Thioesterase in den späteren Enzymassays zu gewährleisten, wurde SNAC aufgrund seiner strukturellen Ähnlichkeit zum PPant-Arm der PCP-Domäne als eine Thiolkomponente gewählt. Ebenso wurde basierend auf den Erkenntnissen von Sieber *et al.* Thiophenol eingesetzt.^[83] Hier konnte gezeigt werden, dass es Peptidylthiophenolestern trotz ihrer strukturellen Unterschiede zum PPant-Arm möglich ist auf die TE übertragen zu werden. Dies wird mit den guten Eigenschaften des Thiophenols als Abgangsgruppe begründet. Die Synthese der Thioester **104** und **105** kann aus der Heptapeptidsäure **88**, welche für die Makrolactonisierungsexperimente dargestellt werden soll, erfolgen (Schema 15).



Schema 15. Retrosynthetische Analyse zur chemo-enzymatischen Darstellung von Cycloheptamycin (**13**).

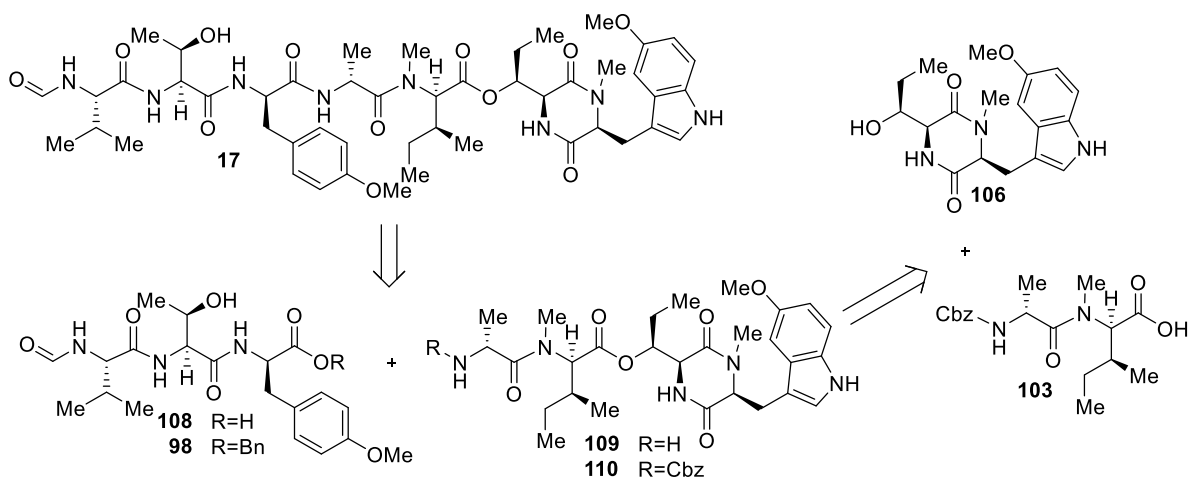
Retrosynthese von Cycloheptamycin Z (**17**)

Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit von Cycloheptamycin Z (**17**) zu Cycloheptamycin (**13**) ist es naheliegend, die Synthese von Cycloheptamycin Z (**17**) an den bereits geplanten Synthesen des Cycloheptamycins (**13**) zu orientieren. Es können so Bausteine, die bereits für die Synthese eines der beiden Naturstoffe verwendet wurden, gewinnbringend in der Synthese der jeweils anderen Zielstruktur eingesetzt werden. Dies ermöglicht ein zeit- und ressourcenschonendes Vorgehen. So ist es plausibel, dass der erste Bindungsbruch in der retrosynthetischen Analyse des Cycloheptamycins Z (**17**) an der Esterbindung zwischen der Säurefunktion des *D*-*allo*-Isoleucins und der Hydroxyfunktion des β -Hydroxynorvalins getätigt wird (Schema 16). Die daraus resultierenden Fragmente sind das Pentapeptid **81** und das Diketopiperazin **106**. Die Synthese des Pentapeptids **81** ist bereits im Rahmen der vorausgehenden Masterarbeit beschrieben worden und soll auch in der Synthese des Cycloheptamycins (**13**) im Rahmen dieser Arbeit Verwendung finden.^[82] Auch der synthetische Zugang zur Diketopiperazin-Grundstruktur ist bereits in der vorausgegangenen Masterarbeit beschrieben worden.^[82] So kann die Erkenntnis, dass das Dipeptid **82** spontan zum entsprechenden Diketopiperazin cyclisiert, in der Totalsynthese von Cycloheptamycin Z (**17**) genutzt werden. Es soll das Diketopiperazin **106** aus der Cyclisierung des Dipeptids **107** dargestellt werden.



Schema 16. Retrosynthetische Analyse zur Totalsynthese von Cycloheptamycin Z (**17**) durch Kupplung von Pentapeptid **81** mit Diketopiperazin **106**.

Auch können Zwischenstufen, die für die Synthese des Peptidesters **97** geplant und benötigt werden, in der Darstellung des Cycloheptamycin Z (**17**) eingesetzt werden. In dieser Syntheseroute soll der finale Schritt durch den Aufbau einer Amidbindung erfolgen und der erste Bindungsbruch findet zwischen der Säurefunktion des D-Tyrosins und der Aminfunktion des D-Alanins statt (Schema **17**). Die entstehenden Fragmente sind das Tripeptid **108** und das Tetrapeptid **109**. Das Tripeptid lässt sich aus der Debenzylierung von Verbindung **98** darstellen, während das Tetrapeptid **109** aus der Kupplung von Dipeptid **103** und Diketopiperazin **106** zu **110** und dessen Cbz-Entschützung gebildet werden kann.



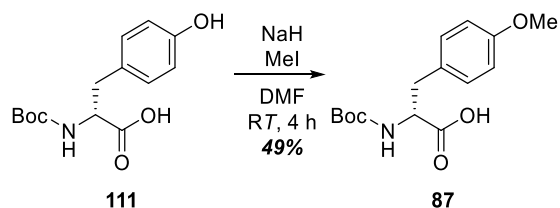
Schema 17. Retrosynthetische Analyse von Cycloheptamycin Z (**18**) durch Kupplung von Tripeptid **85** und Tetrapeptid **86**.

Retrosynthese der Aminosäurebausteine

O-Methyl-D-tyrosin (**87**)

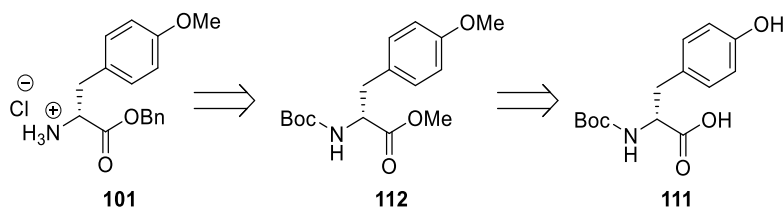
Die Methylierung der phenolischen Hydroxidfunktion des D-Tyrosins erfolgte in der vorausgegangenen Masterarbeit über eine mono-Methylierung von Boc-D-Tyrosin (**111**) mithilfe von NaH und MeI zu Boc-O-Methyl-D-tyrosin (**87**) (Schema **18**).^[82] Zwar konnte der Phenoylether **87** mit einer Ausbeute von 49% als Hauptprodukt gebildet werden. Dennoch wurde als Nebenprodukt auch die Methylierung der Säurefunktion beobachtet, sodass ein Gemisch aus einfach und doppelt methylierten Aminosäuren entstand. Ebenso wurde in geringeren Mengen die Bildung von N-methyliertem Tyrosin festgestellt.

Entsprechend war aufgrund der Nebenprodukte und der Polarität von **87** eine zeitaufwendige Aufreinigung an der MPLC notwendig.



Schema 18. O-Methylierung von Boc-D-Tyrosin (**111**) zu Boc-O-Methyl-D-tyrosin (**87**).

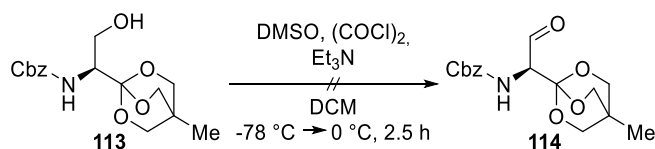
Um diese Nachteile zu umgehen, soll im Folgenden eine doppelte Methylierung von **111** sowohl an der Säure- als auch an der Hydroxyfunktion zu Boc-geschütztem Dimethyltyrosin **112** erfolgen, um sowohl die Nebenproduktbildung zu umgehen als auch um die Aufreinigung an der MPLC durch eine einfache Säulenchromatographie zu ersetzen (Schema 19). Anschließend kann **112** durch Verseifung, Benzylierung und Boc-Entschützung in das gewünschte Derivat **101** überführt werden.



Schema 19. Retrosynthetische Analyse zur Darstellung von Tyrosin-Derivat **101**.

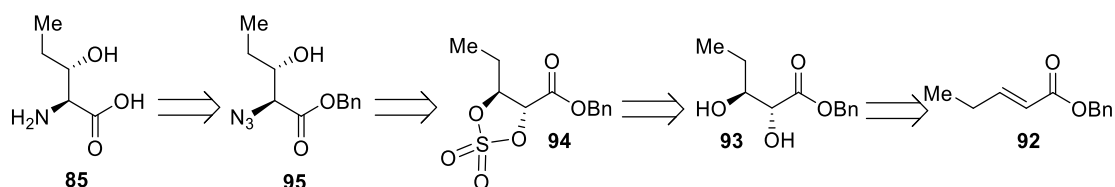
anti-β-L-Hydroxynorvalin (**85**)

Die Synthese von Hydroxynorvalin-Derivaten scheiterte bisher an der erfolglosen Swern-Oxidation von Serinorthoester **113** zu Serinalorthoester **114** (Schema 20). Diese soll genauer untersucht und die Fehlerquelle behoben werden. Anschließend soll die Synthese nach den von Andres *et al.* und Blaskovich *et al.* publizierten Methoden weiterverfolgt werden.^[84–86]



Schema 20. Zu optimierende Swern-Oxidation von Serinorthoester **113** zu Serinalorthoester **114**.

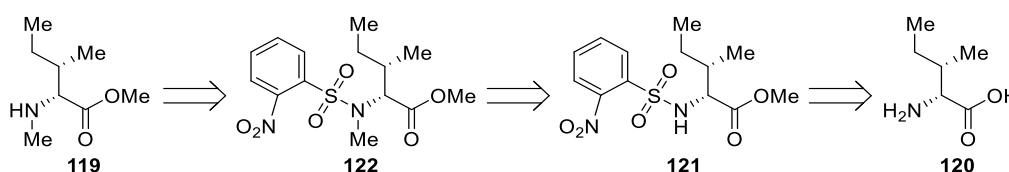
Falls die Optimierung der Oxidation fehlschlagen sollte, könnte *anti*-Hydroxynorvalin (**85**) aus einer fünfstufigen Syntheseabfolge mit der Sharpless-Dihydroxylierung als Schlüsselschritt darzustellen sein. Diese von Shao *et al.* für die Synthese von *allo*-Threonin entwickelte Methode sollte analog auf die Synthese von *anti*-Hydroxynorvalin (**85**) übertragbar sein.^[87] Ausgehend von dem Benzyl-geschützten Alken **115** wird eine Sharpless-Dihydroxylierung zu **116** durchgeführt (Schema 21). Um die korrekte Stereochemie zu erhalten, muss hier der AD-α-Mix verwendet werden. Anschließend wird das Diol **116** in das Sulfat **117** überführt. Das Sulfat, welches als regioselektive Abgangsgruppe die Inversion der Stereochemie an der C_α-Position erlaubt, wird durch Azid substituiert und anschließend entfernt, sodass Azidester **118** erhalten werden kann. Nach dessen Hydrierung sollte das freie *anti*-β-L-Hydroxynorvalin (**85**) stereoselektiv zugänglich sein.



Schema 21. Retrosynthetische Analyse von *anti*- β -Hydroxynorvalin (**85**) unter Anwendung der Sharpless-Dihydroxylierung.

N-Methyl-D-*allo*-isoleucin (**120**)

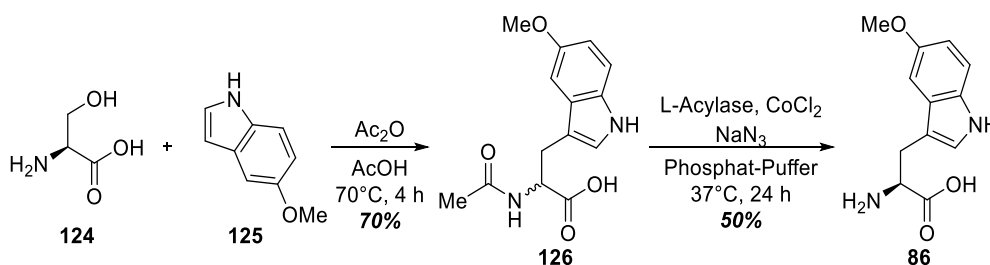
N-Methyl-D-*allo*-isoleucinmethylester (**119**) kann durch die Anwendung der Fukuyama-Aminsynthese dargestellt werden.^[88] Zunächst soll D-*allo*-Isoleucin (**120**) zum Methylester überführt und mit einer *o*NBS-Schutzgruppe geschützt werden (Schema 22). Anschließend soll das so erhaltene, doppelt geschützte Isoleucin-Derivat **121** mittels Mitsunobu-Reaktion am Amin zu **122** alkyliert werden, sodass die *N*-methylierte Aminosäure **119** nach finaler *o*NBS-Entschützung erhalten werden kann.



Schema 22. Retrosynthetische Analyse von *N*-Methyl-D-*allo*-isoleucin (**119**).

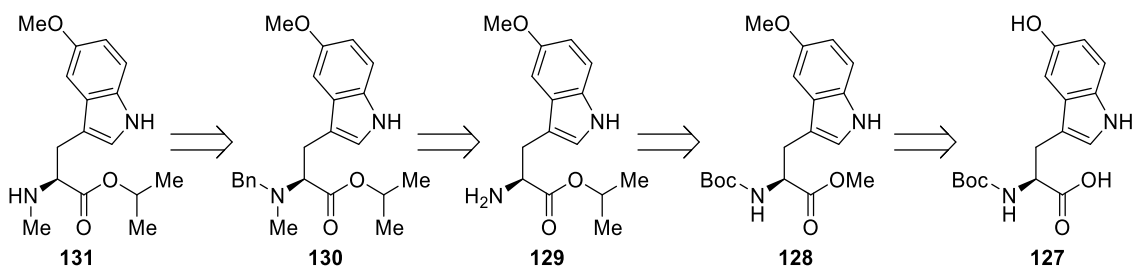
5-Methoxy-*N*-methyl-L-tryptophan (**131**)

Eine Synthese von 5-Methoxy-*N*-methyl-L-tryptophanmethylester (**123**) ist bereits in der vorausgegangenen Masterarbeit etabliert worden.^[82] Mit Serin (**124**), 5-Methoxyindol (**125**) und Ac₂O konnte mittels elektrophiler aromatischer Substitution ein racemisches Gemisch aus *N*-Acetyl-5-Methoxy-DL-tryptophan (**126**) dargestellt werden, welches anschließend durch eine L-Acylase in einer kinetischen Racematspaltung enantiomerenrein zum 5-Methoxy-L-tryptophan (**86**) umgesetzt werden konnte (Schema 23). Ein Nachteil dieser Synthese ist, dass die maximale Ausbeute wegen der enzymatischen Racemattrennung auf 50% limitiert ist. Ebenso nachteilig ist, dass das Intermediat **126** und das 5-Methoxytryptophan (**86**) zeitintensiv mittels MPLC aufgereinigt werden müssen.



Schema 23. Darstellung von 5-Methoxy-L-tryptophan (**86**).

Diese Nachteile können durch die doppelte Methylierung von Boc-5-Hydroxy-L-tryptophan (**127**) als Startmolekül verhindert werden, da nun die benötigte Stereochemie bereits vorhanden ist und das gebildete Intermediat **128** wegen seiner geringeren Polarität mit einer gewöhnlichen Säulenchromatographie aufzureinigen ist (Schema 24). **128** kann anschließend mittels Fischer-Veresterung bei gleichzeitiger Boc-Entschützung in den gewünschte Isopropanolester **129** umgeestert werden, welcher nach einer reduktiven Aminierung zu **130** umgesetzt werden soll und nach anschließender Debenzylierung das *N*-methylierte Tryptophan-Derivat **131** liefert.^[89]

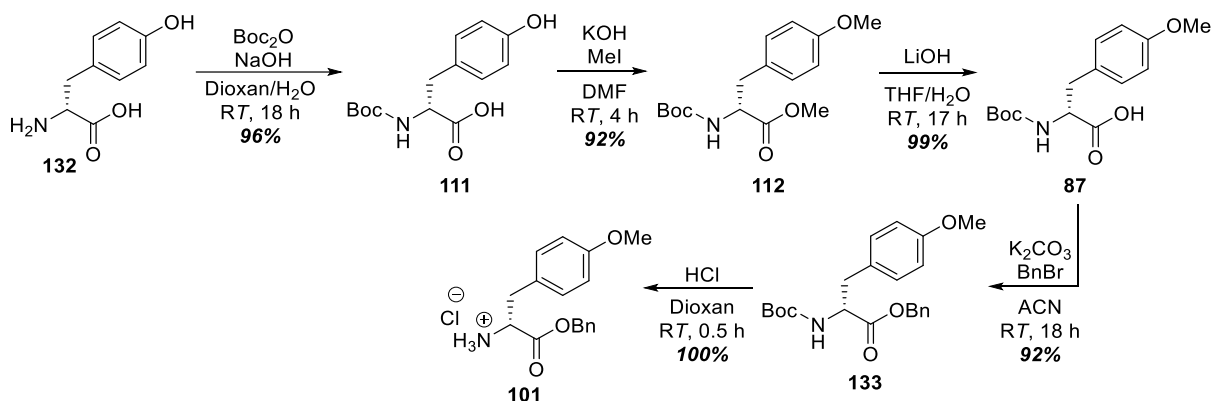


Schema 24. Retrosynthetische Analyse zur Darstellung von *N*-Methyl-5-Methoxy-L-tryptophan (**131**).

Synthese der Aminosäure-Bausteine

Synthese von *O*-Methyl-D-tyrosinbenzylester (**101**)

D-Tyrosin (**132**) wurde mit Boc₂O in einer Ausbeute von 96% Boc-geschützt. Das Boc-geschützte Tyrosin **111** wurde schrittweise mit KOH sowohl an der Säurefunktion als auch an der phenolischen Hydroxidfunktion deprotoniert und mit MeI methyliert (Schema 25). Es wurde eine sehr gute Ausbeute von 92% erreicht. Das doppelt methylierte **112** wurde nun mit wässriger LiOH-Lösung quantitativ zu **87** verseift, welches mit BnBr und K₂CO₃ in den Boc-geschützten Benzylester **133** mit einer Ausbeute von 92% überführt wurde. Dieser wurde mit 4 M HCl/Dioxan-Lösung quantitativ in das Tyrosin-Hydrochlorid **101** entschützt. Ausgehend von **132** konnte so in fünf Syntheseschritten das gewünschte Produkt **101** in einer sehr guten Gesamtausbeute von 80% dargestellt werden.

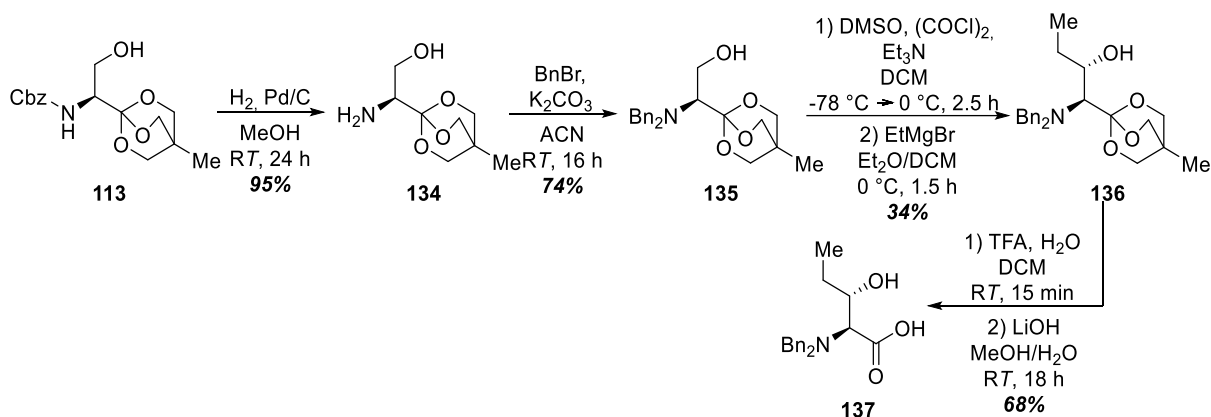


Schema 25. Darstellung von *O*-Methyl-D-tyrosinbenzylester-Hydrochlorid (**101**).

Darstellung von *anti*-β-Hydroxynorvalin (**85**)

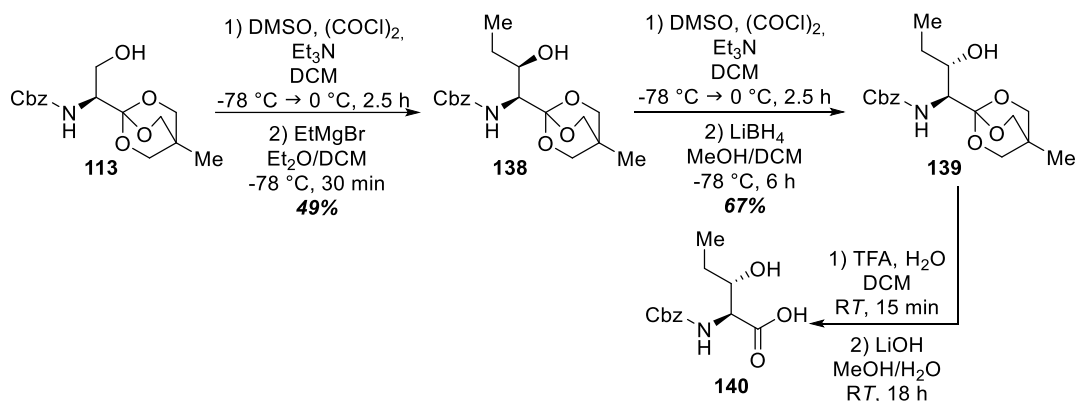
Grignard-Additions-Methode

Zunächst wurde die Hydroxynorvalin-Synthese nach Vorlage von Andres *et al.* aus der vorausgegangenen Masterarbeit versucht erfolgreich abzuschließen.^[82,84] Dazu wurde die Synthese ab dem Orthoester **113** fortgesetzt, in dem die Cbz-Schutzgruppe durch zwei Benzyl-Gruppen ersetzt wurde (Schema 26). Die Cbz-Entschützung erfolgte mit Pd/C unter H₂-Atmosphäre und verlief mit 95% Ausbeute nahezu quantitativ. Anschließend wurde das Amin **134** mit BnBr und K₂CO₃ mit einer Ausbeute von 74% dibenzyliert. Die nun verfügbare Zwischenstufe **135** wurde mittels Swern-Oxidation oxidiert und der resultierende Aldehyd in einer anschließenden Grignard-Addition mit EtMgBr direkt zum *anti*-Hydroxynorvalinorthoester **136** mit einer Ausbeute von 34% über zwei Stufen umgesetzt. Die finale zweistufige Entschützung von **136** wurde durch eine saure Hydrolyse des Orthoesters eingeleitet und durch eine basische Verseifung abgeschlossen, sodass das dibenzylierte *anti*-Hydroxynorvalin **137** mit einer Ausbeute von 68% synthetisiert werden konnte. Schließlich war es möglich, dass *N*-terminal geschützte **137** über vier Stufen mit einer Ausbeute von 16% aus dem Orthoester **113** darzustellen.



Schema 26. Darstellung von *N,N*-Dibenzyl-*anti*- β -hydroxynorvalin **137** nach der Methode von Andres *et al.*^[84]

Aufgrund der nicht quantitativen Dibenzilylierung von **134** und der nicht zufriedenstellenden Ausbeute der Reaktionsabfolge aus Swern-Oxidation und Grignard-Addition an **135** wurde ebenso die Hydroxynorvalin-Synthese von Blaskovich *et al.* getestet (Schema 27).^[85,86] Hier wurde der Cbz-geschützte Orthoester **113** direkt durch eine Swern-Oxidation in den entsprechenden Aldehyd überführt und anschließend mittels Grignard-Addition das *syn*-Hydroxynorvalin **138** dargestellt. Dabei konnte die Ausbeute der Swern-Oxidation mit anschließender Grignard-Addition von 34% für das dibenzylierte *anti*-Hydroxynorvalin **136** auf 49% für das Cbz-geschützte *syn*-Hydroxynorvalin **138** verbessert werden. Anschließend wurde das *syn*-Hydroxynorvalin **138** durch aufeinanderfolgende Oxidation mittels Swern-Oxidation und Reduktion mit LiBH₄ in das *anti*-Konformer **139** mit einer Ausbeute von 67% überführt. Abschließend wurde der Orthoester **139** wie zuvor in einer zweistufigen Entschützung entfernt und das Cbz-Hydroxynorvalin **140** konnte erhalten werden. Auf eine Aufreinigung und Bestimmung der Ausbeute von **140** wurde aufgrund der geringen Ansatzgröße vorerst verzichtet.

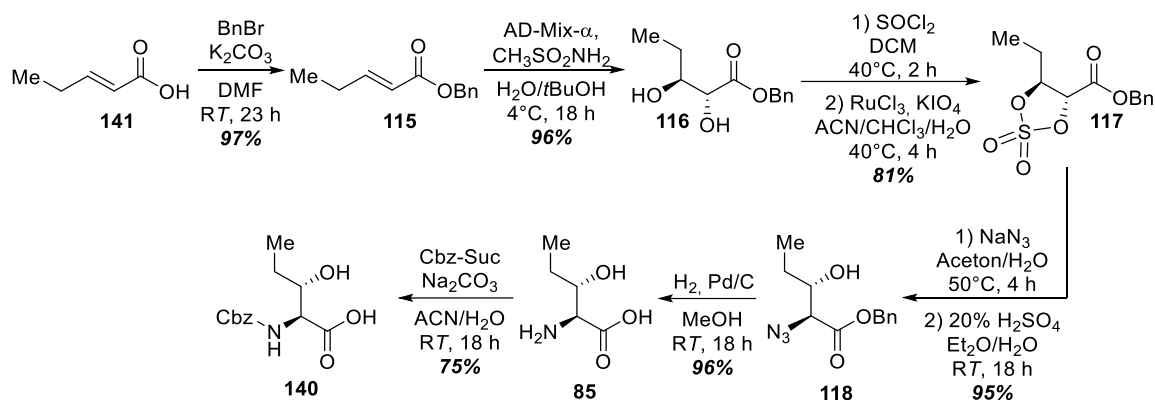


Schema 27. Darstellung von Cbz-*anti*- β -hydroxynorvalin (**140**) nach der Methode von Blaskovich *et al.*

Methode durch Sharpless-Dihydroxylierung

Alternativ wurde versucht eine Hydroxynorvalin-Synthese zu etablieren, in der die Sharpless-Dihydroxylierung zur Einführung der stereochemischen Information als Schlüsselschritt angewendet wurde (Schema 28). Begonnen wurde die Synthese mit der Benzyl-Schützung des *trans*-disubstituierten Alkens **141** mit BnBr zu **115** in 97% Ausbeute. Anschließend wurde unter Verwendung des AD-Mix- α und Methansulfonamid die Sharpless-Dihydroxylierung in 96% Ausbeute durchgeführt. Das erhaltene *syn*-Diol **116** wurde nun in einer zweistufigen Eintopfsynthese eingesetzt, um das cyclische Sulfat **117** mit einer Ausbeute von 81% herzustellen. Zuerst wurde Diol **116** mit SOCl₂ in ein cyclisches Sulfit überführt, welches Ru-katalysiert mit NaIO₄ zum Sulfat **117** oxidiert wurde. Die Sulfat-

Gruppe agierte nun als regioselektive Abgangsgruppe und wurde unter Invertierung des Stereozentrums an der α -Position durch ein Azid-Ion nucleophil substituiert. Nach einer sauren Hydrolyse des Zwischenprodukts mit Schwefelsäure wurde das Sulfat vollständig entfernt, sodass der Azidester **118** mit korrekter *anti*-Konformation in 95% Ausbeute synthetisiert wurde. Nun konnte das gewünschte *anti*- β -Hydroxynorvalin (**85**) durch Pd-katalysierte Hydrierung des Azids zum Amin und der gleichzeitigen Debenzylierung in 96% dargestellt werden. Abschließend wurde das freie Hydroxynorvalin **85** als Vorbereitung für die folgenden Synthesen in die Cbz-geschützte Verbindung **140** in 75% Ausbeute überführt. Ausgehend von **141** konnte so in sechs Syntheseschritten das gewünschte Produkt **140** in einer sehr guten Gesamtausbeute von 52% dargestellt werden.

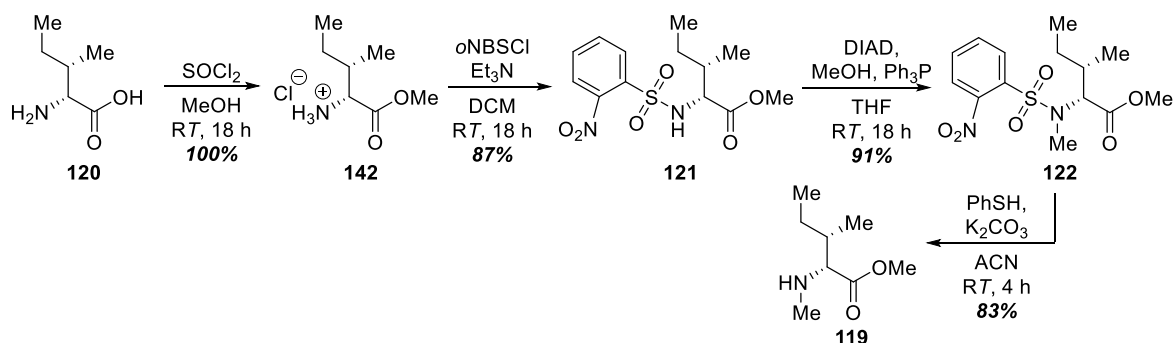


Schema 28. Darstellung von *anti*- β -Hydroxynorvalin (**85**) mittels Sharpless-Dihydroxylierung.

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurde für die Synthese von Hydroxynorvalin **85** ausschließlich die Route über die Sharpless-Dihydroxylierung gewählt. Diese Entscheidung wurde aufgrund der höheren Gesamtausbeute, praktikableren Synthesen und der geringen Stufenzahl (unter Einbeziehung der Synthese von **113**) getroffen.

Darstellung von *N*-Methyl-*allo*-isoleucinester (**119**)

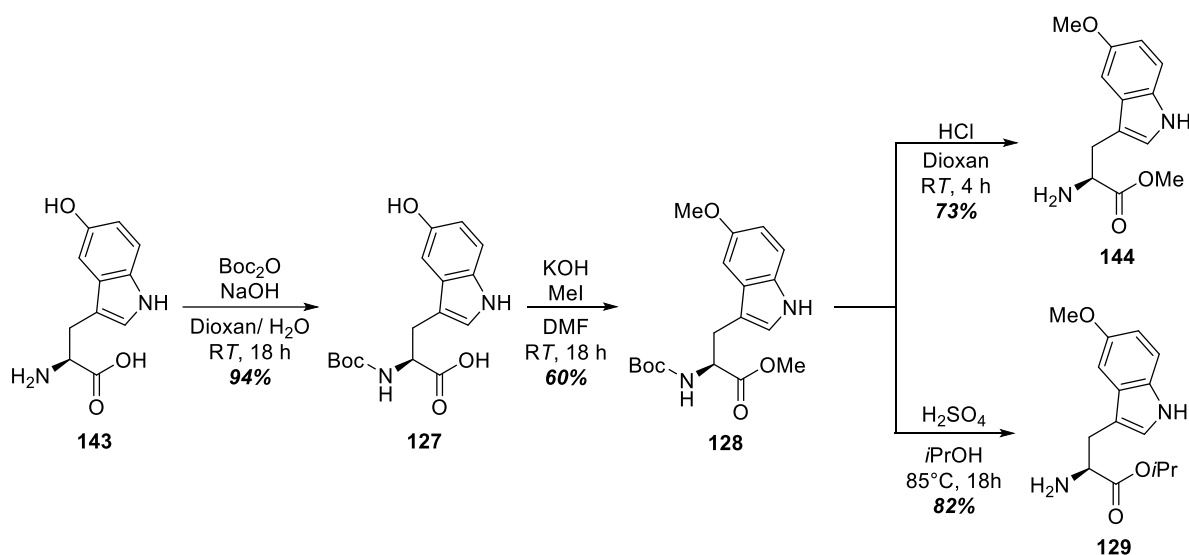
Für die Synthese von *N*-Methyl-*allo*-isoleucinmethylester (**119**) wurde zunächst *D*-*allo*-Isoleucin (**120**) mit SOCl_2 in MeOH quantitativ zu Methylester **142** verestert (Schema 29). Anschließend wurde die für die Fukuyama-Mitsunobu-Methylierung benötigte *o*NBS-Schutzgruppe mit *o*NBS-Cl mit einer Ausbeute von 87% eingeführt. Das erhaltene Sulfonamid **121** wurde mittels Mitsunobu-Reaktion unter Verwendung von DIAD, PPh_3 und MeOH mit 91% Ausbeute methyliert. Die abschließende Entschützung des *N*-methyliertenamins **122** erfolgte mit PhSH und K_2CO_3 zu **119** in einer guten Ausbeute von 83%. *N*-Methyl-*allo*-isoleucinmethylester (**119**) konnte ausgehend von *D*-*allo*-Isoleucin (**120**) über 4 Stufen mit einer Ausbeute von 66% synthetisiert werden.



Schema 29. Darstellung von *N*-Methyl-*allo*-isoleucinmethylester (**119**).

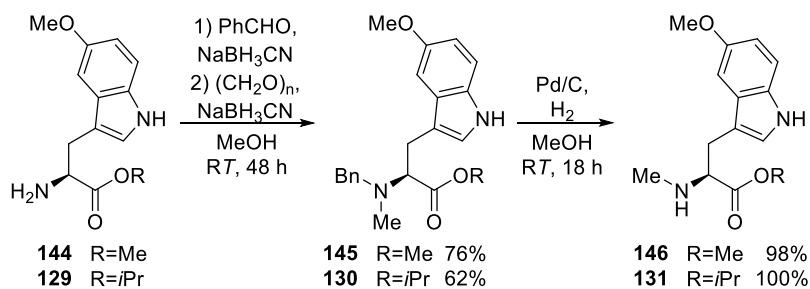
Darstellung von 5-Methoxy-N-methyl-L-tryptophanestern **131** und **146**

Aufgrund der arbeitsintensiven und langwierigen Aufreinigung von **86** und **126** an der MPLC sowie der synthesebedingten Limitierung einer maximalen Ausbeute von 50% durch die Racematspaltung wurde angelehnt an die Synthese von *O*-Methyltyrosin **112** eine neue Synthese für 5-Methoxytryptophan-Derivate konzipiert. Dazu wurde die Startverbindung 5-Hydroxy-L-tryptophan (**143**) ausgewählt, welche zu Beginn in 94% Ausbeute Boc-geschützt wurde (Schema **30**). **127** wurde anschließend mit KOH deprotoniert und mit MeI doppelt methyliert. Die Ausbeute von **128** betrug 60%. Anschließend wurde Boc-5-methoxy-L-tryptophanmethylester (**128**) mit HCl *N*-terminal entschützt und basisch aufgearbeitet, um nach Extraktion das freie Amin **144** in 73% Ausbeute zu erhalten. Das freie Amin ist notwendig, um die darauffolgende reduktive Aminierung zur *N*-Methylierung des Tryptophans durchführen zu können. Das Isopropyl-Derivat **129** wurden durch Umesterung und simultane Boc-Entschützung von **128** durch die saure Fischer-Veresterung erhalten. Nach einer basischen Extraktion konnte das freie Amin **129** mit einer Ausbeute von 82% isoliert werden. Im Vergleich zur vorherigen Tryptophansynthese durch Racematspaltung konnte die Ausbeute erhöht und die Aufarbeitung vereinfacht und zeitlich verkürzt werden.



Schema 30. Darstellung von 5-Methoxy-L-tryptophanestern **129** und **144** ausgehend von 5-Hydroxytryptophan (**143**).

Anschließend erfolgte die *N*-Methylierung mittels reduktiver Aminierung der Tryptophanester **129** und **144** (Schema **31**). Dazu wurden zwei aufeinanderfolgende reduktive Aminierungen in einer Eintopfsynthese kombiniert. Zunächst wurde das freie Amin mit Benzaldehyd und NaBH₃CN benzyliert, dann erfolgte die *N*-Methylierung mit Paraformaldehyd und NaBH₃CN. Diese Sequenz lieferte für den Methylester **145** 76% und den Isopropylester **130** 62% Ausbeute. Abschließend wurde die Benzyl-Gruppe in H₂-Atmosphäre Pd-katalysiert quantitativ entfernt, sodass die *N*-methylierten 5-Methoxytryptophan-Derivate **146** und **131** mit einer Ausbeute von 31% und 29% ausgehend von 5-Hydroxy-L-tryptophan (**143**) erhalten werden konnten.

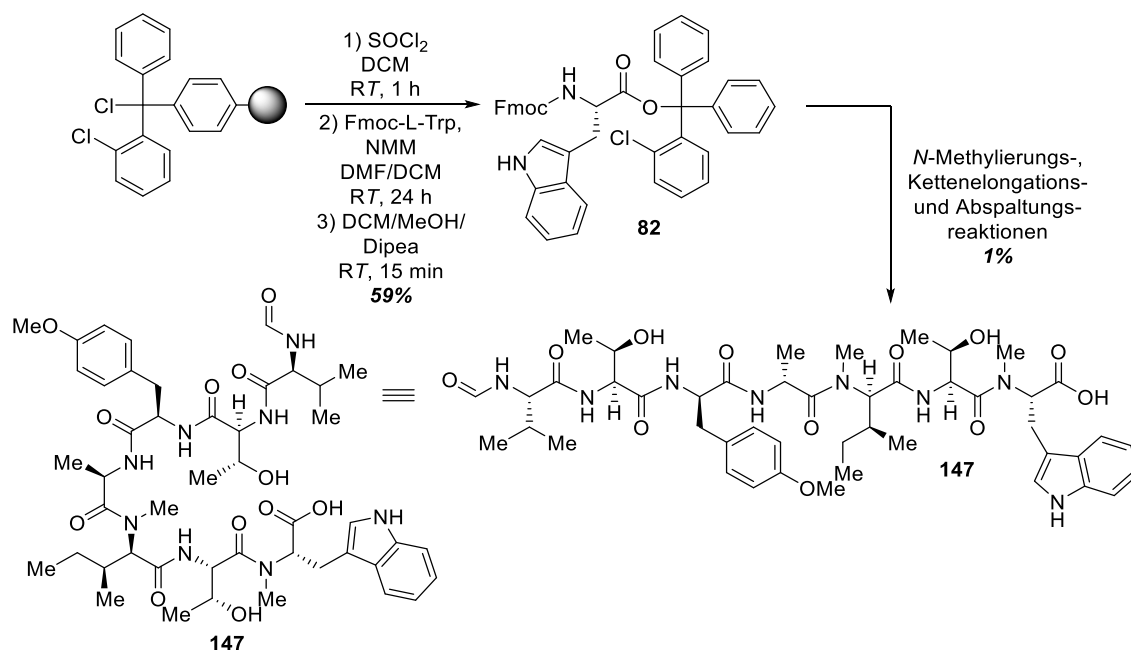


Schema 31. N-Methylierung der Tryptophanester **144** und **129**.

Synthese eines linearen Heptapeptids **147** und **88** und ihre Makrolactonisierung

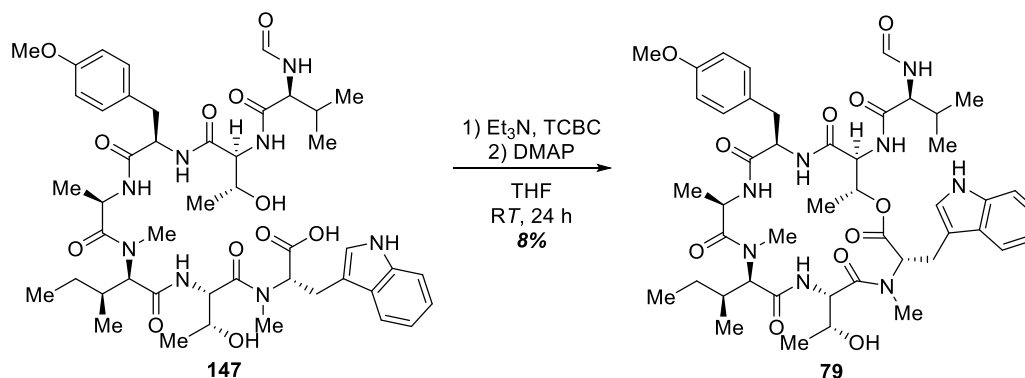
Synthese mittels Festphasenpeptidsynthese

Es wurde versucht, das lineare Heptapeptid **147** des vereinfachten Cycloheptamycin-Derivates **79** darzustellen. Es wurde mit der Aktivierung des 2-Chlorotrityl-Harzes durch SOCl₂ begonnen, welches anschließend mit Fmoc-Trp im Beisein von Morpholin beladen wurde (Schema **32**). Die Ausbeute der Beladung von **82** wurde photometrisch bestimmt und betrug 59%. Anschließend erfolgte die weitere Synthese des Peptids **147** entsprechend der allgemeinen Vorgehensweise zur Festphasensynthese (siehe Kapitel „Experimenteller Teil: Festphasensynthese“). Für die Kettenelongation an primären Aminen wurde als Kupplungsreagenz ein Gemisch aus HBTU/HOBt eingesetzt und die Kupplungsreaktionen jeweils zweifach für 45 min durchgeführt. Weiterhin wurden die Harzgebundenen Aminosäuren L-Tryptophan und D-*allo*-Isoleucin in einer dreistufigen Reaktionsabfolge N-methyliert. Dazu wurden sie zunächst von der Fmoc- zur *o*NBS-Schutzgruppe umgeschützt, in einer Mitsunobu-Reaktion mit DIAD, PPh₃ und MeOH N-methyliert und abschließend die *o*NBS-Schutzgruppe mittels DBU und EtSH entschützt. Für die Kettenelongation an sekundären Aminden wurde als Kupplungsreagenzien HATU/HOAt verwendet und die Reaktionszeit der doppelt-durchgeführten Kupplungen auf jeweils 3 h erhöht. Nach der erfolgten Synthese wurde das Peptid mit einer 10%igen TFA-Konzentration vom Harz abgespalten.



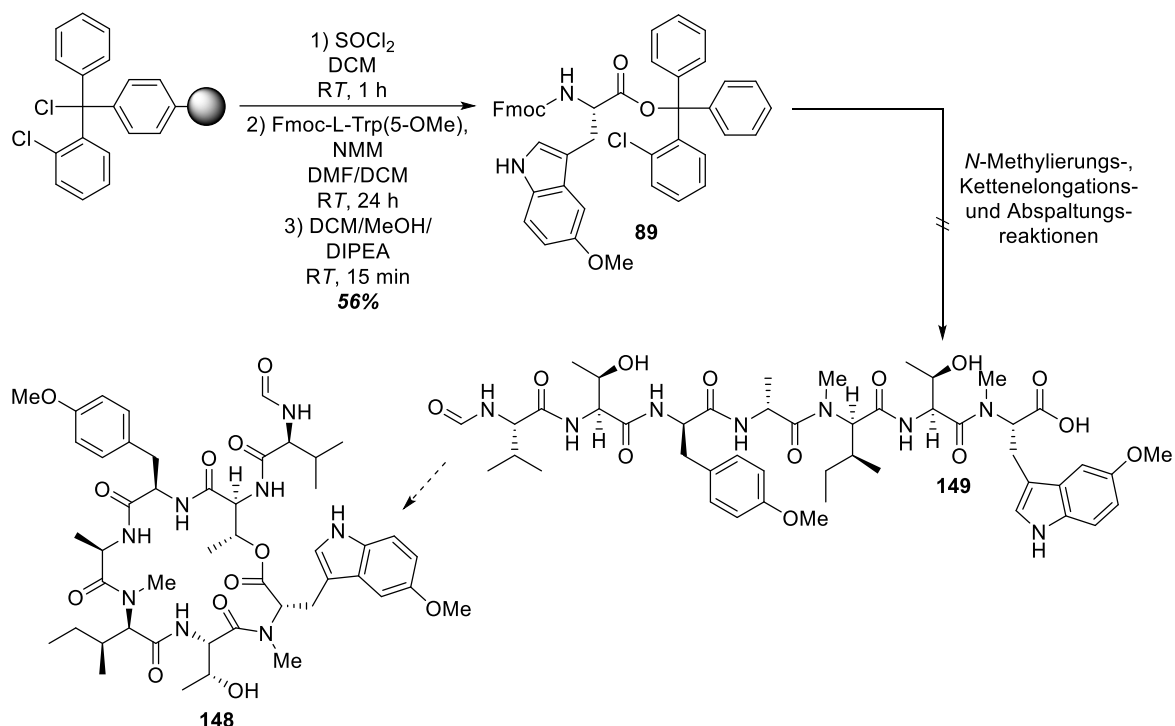
Schema 32. Beladung des 2-Chlorotrityl-Harzes mit Fmoc-L-Trp und Darstellung des linearen Heptapeptids **147** über Festphasenpeptidchemie.

Eine Cyclisierung des linearen Heptapeptids **147** wurde mit der Yamaguchi-Veresterung erreicht (Schema **33**). Dazu wurde das Peptid **147** mit Et₃N und TCBC aktiviert und in das gemischte Anhydrid aus der Säurefunktion des Peptids **147** und TCBC überführt. Das gemischte Anhydrid wurde über einen Zeitraum von 5 h mit einer Flussrate von 13.3 µL/min einer stark verdünnten DMAP-Lösung zugetropft, was zur Bildung der reaktiven *N*-Acylpyridiniumionspezies führte, welche schließlich die Cyclisierung zu **79** durchlief. Dabei erreichte das Reaktionsgemisch eine Endkonzentration von 10⁻³ mmol/mL bezogen auf das Peptid. Diese hohe Verdünnung und die langsame Zugabe des gemischten Anhydrids ermöglichte es eine möglichst niedrige Konzentration von reaktiven *N*-Acylpyridiniumionen in der Reaktionslösung zu erzeugen, sodass eine Dimerisierung von zwei linearen Peptiden unterbunden wurde. Die Ausbeute der Reaktion belief sich auf 8%.



Schema 33. Cyclisierung vom Heptapeptid **147** zum Cycloheptamycin-Derivat **79** durch Yamaguchi-Veresterung.

Somit konnte an Modellsystem **79** gezeigt werden, dass eine Synthese von Cycloheptamycin (**13**) aus dessen linearem Heptapeptid mittels Makrolactonisierung möglich ist. Auf eine weitere Optimierung der Festphasensynthese und der darauffolgenden Cyclisierung wurde zunächst verzichtet. Dies sollte bei der Synthese von Cycloheptamycin (**13**) und von weiteren Derivaten erfolgen. Da zu diesem Zeitpunkt die Synthese des Bausteins *anti*-β-Hydroxynorvalin (**85**) nicht erfolgt war, wurde zunächst versucht, das Derivat **148** darzustellen (Schema **34**). Dazu wurde das mit Fmoc-L-Trp(5-OMe) beladene 2-Chlorotrityl-Harz **89** in der Festphasensynthese von **149** eingesetzt. Jedoch konnte die Synthese von Heptapeptid **149** nicht fertig gestellt werden. Während die *N*-Methylierung des Harz-gebundenen Fmoc-L-Trp(5-OMe) (**89**) wie geplant verlief, konnte nach der ersten Kettenelongation das Aufkommen eines Nebenprodukts beobachtet werden.



Schema 34. Beladung des 2-Chlorotrityl-Harzes mit Fmoc-L-Trp(5-OMe) und Versuch zur Darstellung des linearen Heptapeptids **149** über Festphasenpeptidchemie.

Neben dem zu erwartenden m/z von 627.8 für das Dipeptid **150** konnte mittels HPLC-MS-Analyse ein m/z von 482.9 detektiert werden (Abbildung **13**). Auch im folgenden Elongationsschritt zur Kupplung von Fmoc-D-*allo*-Isoleucin konnte ähnliches beobachtet werden. Es war zwar möglich, das Tripeptid **151** mit einem m/z von 740.9 zu detektieren, jedoch konnte ebenso ein Nebenprodukt mit einem m/z von 572.0 detektiert werden. Dabei auffallend war, dass das gewünschte Produkt stets um 145 Da schwerer war als das jeweilig beobachtete Nebenprodukt. Da die einzige Veränderung im Vergleich zur Synthese von **147** der Austausch des Tryptophan-Restes war, lässt sich vermuten, dass das eingebaute 5-Methoxytryptophan die Reaktions- bzw. Abspaltungsbedingungen der Festphasensynthese nicht toleriert. Eine mögliche Erklärung wäre der Zerfall des 5-Methoxytryptophans in Alanin mit der Abspaltung der Indol-Seitenkette. Dieser Zerfall würde die auftretenden Massendifferenzen von Verbindung **150** zu **152** bzw. von **151** zu **153** erklären und somit mit den gemessenen Daten übereinstimmen.

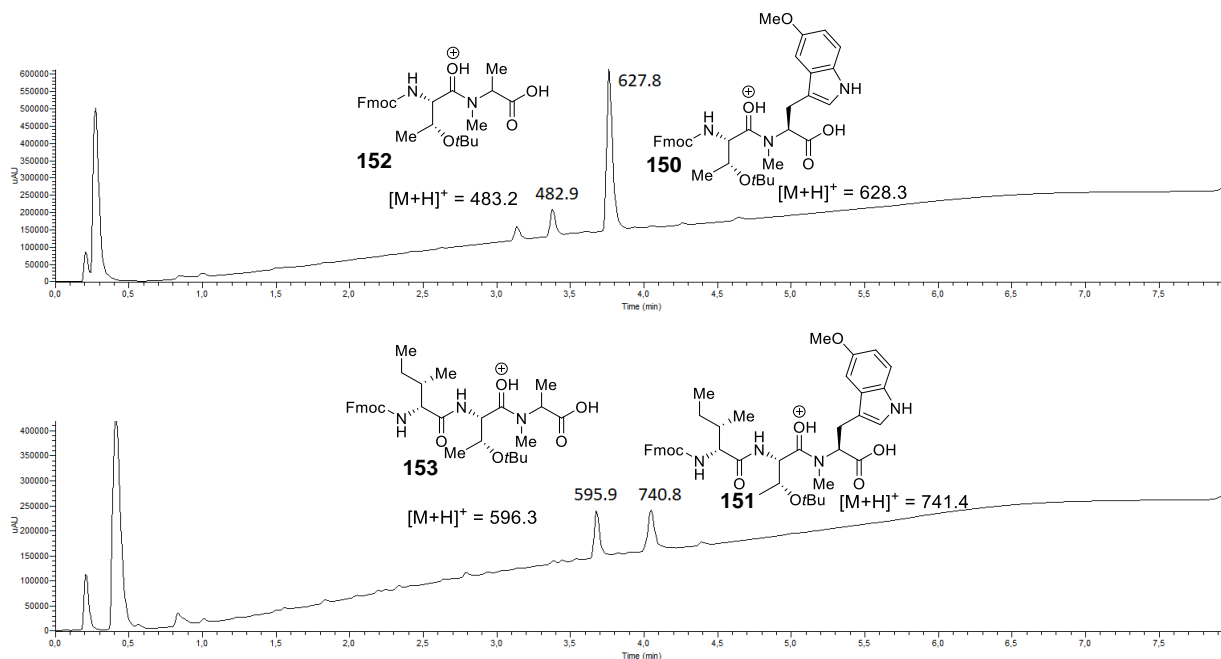
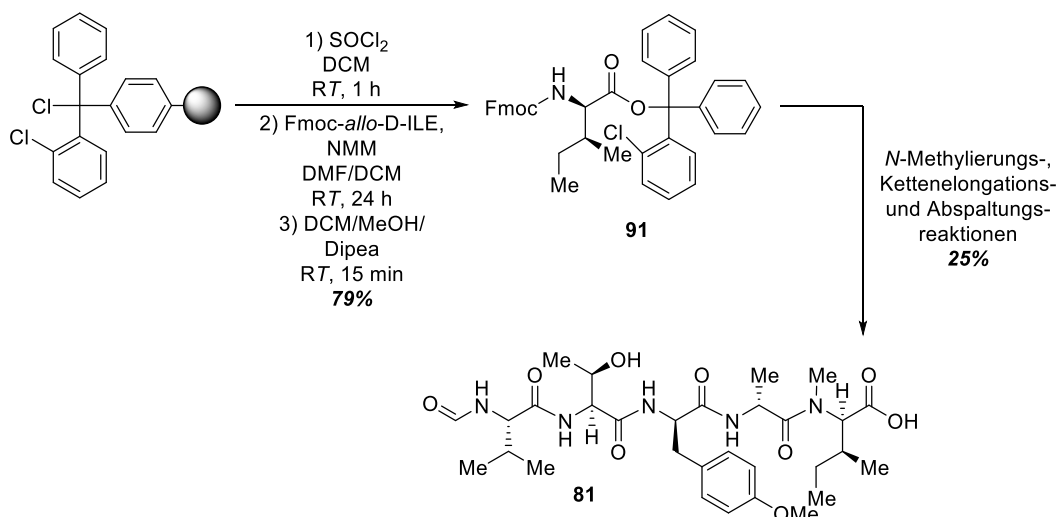


Abbildung 13. LCMS-Analyse der Produkte **150** und **151** sowie vermeintlichen Nebenprodukte **152** und **153** nach dem ersten (oben) und zweiten Elongationsschritt (unten).

Eine grobe Abschätzung der Verhältnisse von Produkten zu Nebenprodukten war anhand der UV/VIS-Spur der LCMS-Analyse möglich. Während nach dem ersten Elongationsschritt nur geringe Mengen an Nebenprodukt **152** detektiert werden konnten, lag das Produkt-Nebenprodukt-Verhältnis bereits im zweiten Elongationsschritt bei ca. 1:1. Da bereits in einem so frühen Stadium der Festphasensynthese diese Probleme zu beobachten waren, wurde die Synthese von **148** auf diesem Weg gestoppt und auf eine weitere Verwendung von 5-Methoxy-L-tryptophan (**86**) in der Festphasensynthese verzichtet. Stattdessen wurde versucht, den linearen Heptapeptid-Vorläufer des Cycloheptamycins (**13**) bzw. von Derivaten durch eine Kombination aus Festphasen- und Flüssigphasenpeptidsynthese zu synthetisieren.

*Konvergente Synthese aus Pentapeptid **81** und Dipeptid **167** bzw. **90***

Aufgrund der Schwierigkeiten in der Festphasensynthese mit 5-Methoxytryptophan (**86**) enthaltenden Peptiden wurde versucht, Cycloheptamycin (**13**) und Derivate aus zwei Fragmenten aufzubauen. Für diese Synthesestrategie wurde zunächst Pentapeptid **81** an fester Phase hergestellt (Schema **35**). Dazu wurde bereits aktiviertes 2-Chlorotrityl-Harz mit Fmoc-D-*allo*-isoleucin beladen. Die Ausbeute betrug 79%. Anschließend wurde das Harz-gebundene Fmoc-D-*allo*-Isoleucin (**91**) Fmoc-entschützt, N-methyliert und die Peptidkette schrittweise aufgebaut.



Schema 35. Beladung des 2-Chlorotrityl-Harzes mit Fmoc-D-*allo*-Ile und Darstellung des Pentapeptids **81** über Festphasenpeptidchemie.

Auf die Synthese folgende Analysen zeigten, dass **81** in zwei Isomeren vorliegt, da in LCMS-Analysen zwei Signale mit sehr ähnlicher Retentionszeit mit einer dem Pentapeptid **81** zuzuordnenden m/z von 622.3447detektiert werden konnten (Abbildung 14).

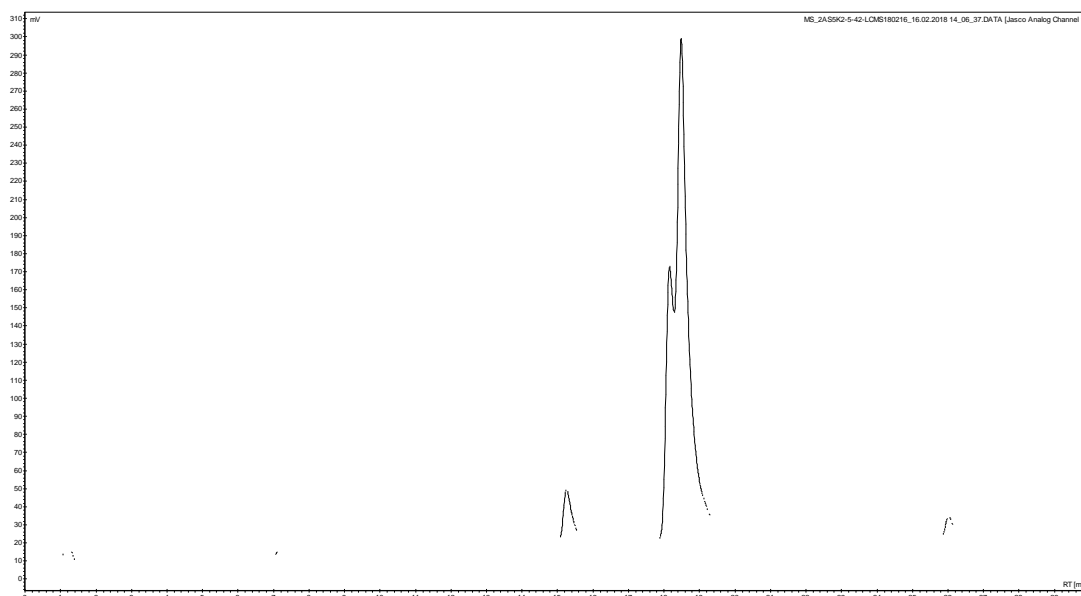
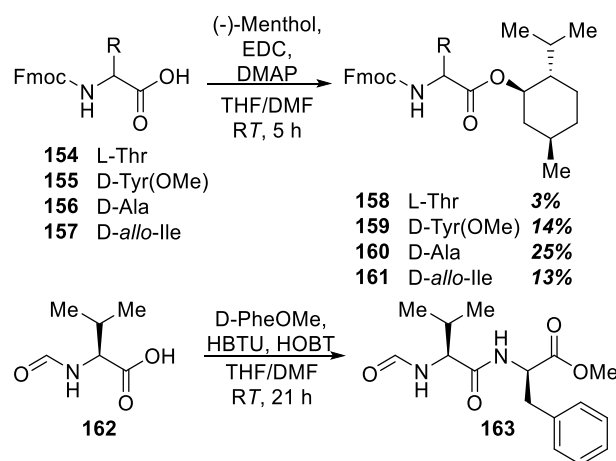


Abbildung 14. Analytische HPLC-Analyse zur Isomerisierung des Pentapeptids **81**.

Um herauszufinden, ob die Epimerisierung während der Festphasensynthese stattfand oder ob das Diastereomergemisch durch den Einbau eines nicht enantiomerenreinen Aminosäurebausteins gebildet wurde, wurden alle eingesetzten Fmoc-geschützten Aminosäuren **154**, **155**, **156** und **157** mit (-)-Menthol zu den Estern **158**, **159**, **160** und **161** derivatisiert (Schema 36). Lediglich für das *N*-Formyl-L-valin (**162**) schlug die Derivatisierung mit (-)-Menthol fehl. Daher wurde es stattdessen mit D-Phenylalaninmethylester zu **163** umgesetzt. Mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie und HPLC-Analyse konnte gezeigt werden, dass die synthetisierten Aminosäurementholester enantiomerenrein sind. Dies legt den Schluss nahe, dass alle eingesetzten Aminosäuren vor der Festphasensynthese enantiomerenrein vorlagen und die Epimerisierung von **81** im Laufe der Festphasensynthese stattgefunden haben musste. Beim genaueren Untersuchen der einzelnen Zwischenstufen der Festphasensynthese mittels HPLC-Analyse, war zu beobachten, dass der erste Hinweis auf

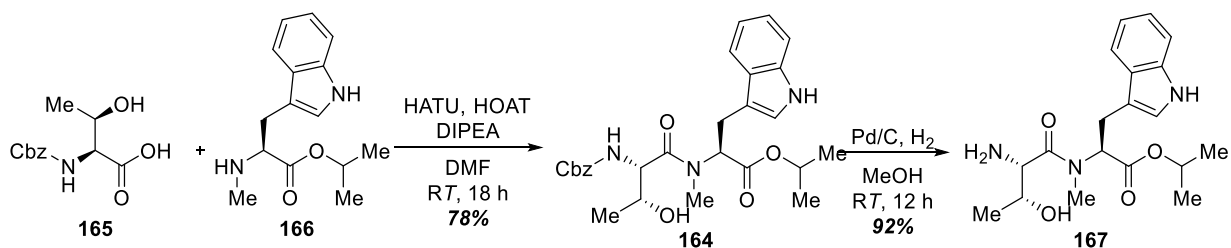
Epimerisierung durch das auftreten von Doppelpeaks nach Einführung und Fmoc-Entschützung des Fmoc-D-Tyr(OMe)-Bausteins detektierbar war. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die *N*-Methylierungsmethode Einfluss auf das Verhältnis von Produkt zu unerwünschtem Diastereomer hatte. Dabei zeigte die *N*-Methylierung durch Fukuyama-Mitsunobu-Reaktion eine geringere Epimerisierung im Vergleich zur Methylierung unter Verwendung von DBU und DMS. Daraus lässt sich insgesamt schließen, dass die Epimerisierung bereits mit der *N*-Methylierung der ersten Aminosäure beginnt und schließlich das erste Mal nach der Fmoc-Entschützung des Harz-gebundenen D-Tyrosins über die gewählte analytische HPLC-Methode detektierbar war. In der Literatur ist die Racemisierung von *N*-methylierten Aminosäurebausteinen im basischen beschrieben und wird mit dem Fehlen der *N*-*H*-Bindung oder der freien Säure-Gruppe erklärt.^[90] Denn sowohl die *N*-*H*-Bindung als auch die Säure-Gruppe deprotoniert in basischen Bedingungen vor der C α -*H*-Bindung. Durch das Deprotonieren und ausbilden einer negativen Ladung an der Amin- bzw. Säure-Funktion wird ein weiteres deprotonieren an der C α -*H*-Bindung ungünstig und unterdrückt. Da *N*-methylierte Aminosäureester diese aciden Protonen nicht besitzen, kommt es unter basischen Bedingungen zu einer Deprotonierung der C α -Position und folglich zur Racemisierung. Somit kann mit den gewonnenen Erkenntnissen angenommen werden, dass im Falle des Pentapeptids **81** die Epimerisierung an der C α -Position des *D*-*allo*-Isoleucins stattfindet. Eine Optimierung der Synthese wurde durch das Erproben von verschiedenen Fmoc-Entschützungsprotokollen im Verlauf der Festphasenpeptidsynthese getestet. Dabei wurde die Dauer der Entschützung und auch die Piperidin-Konzentration reduziert. Abschließend gelang es jedoch nicht, die Bildung von unerwünschten Diastereomeren zu unterbinden. Dennoch wurde die Synthese vorerst weiter genutzt. Das unerwünschte Diastereomer wurde anfangs durch präparative HPLC direkt nach der Synthese abgetrennt. Da dies aufgrund der anspruchsvollen Trennung resultierend aus den sehr ähnlichen Retentionsverhalten jedoch mit höheren Ausbeuteverlusten und zeitlichem Mehraufwand verbunden war, wurde in späteren Synthesen das Pentapeptid **81** zunächst an der MPLC als Diastereomergemisch aufgereinigt und weiterverwendet, um in einer späteren Synthesestufe mit geeigneteren chromatographischen Trennungseigenschaften eine ggf. bessere Trennleistung zu erreichen. Das unerwünschte Diastereomer wäre als Vorstufe zur Synthese eines Epi-Cycloheptamycins zur Ermittlung von Struktur-Aktivitätsbeziehungen ohnehin von Interesse.



Schema 36. Derivatisierung der verschiedenen Aminosäurebausteine mit (-)-Menthol oder D-PheOMe.

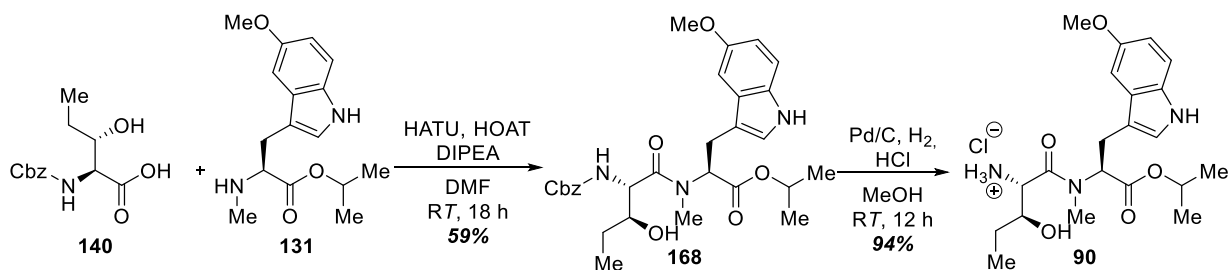
Nach erfolgreicher Etablierung der Synthese von Pentapeptid **81** wurden im Weiteren die verschiedenen Dipeptid-Derivate dargestellt. Dazu wurden die Erkenntnisse aus den vorherigen Experimenten der Masterarbeit in die neue Syntheseroute eingearbeitet: durch die Änderung der Carboxyl-Schutzgruppe von einem Methyl ester zu einem stabileren Isopropylester sollte der intramolekulare Angriff des freienamins, welcher zur unerwünschten Diketopiperazinbildung führt,

unterbunden werden.^[82] Als Testsystem wurde das Dipeptid **164** aus Threonin **165** und Tryptophan **166** mit dem Kupplungsreagenz HATU mit einer 78% Ausbeute aufgebaut und Pd-katalysiert unter H₂-Atmosphäre zum Amin **167** entschützt (Schema **37**). Mit dem Wechsel vom Methyl ester zum Isopropylester konnte **167** in sehr guten Ausbeuten von 92% erhalten und die Diketopiperazin-Bildung durch intramolekulare Cyclisierungen weitestgehend verhindert werden. Lediglich in vereinzelt Ansätzen wurde die Bildung des entsprechenden Diketopiperazins in geringen Konzentrationen beobachtet.



Schema 37. Darstellung und Entschützung von Dipeptid **164**.

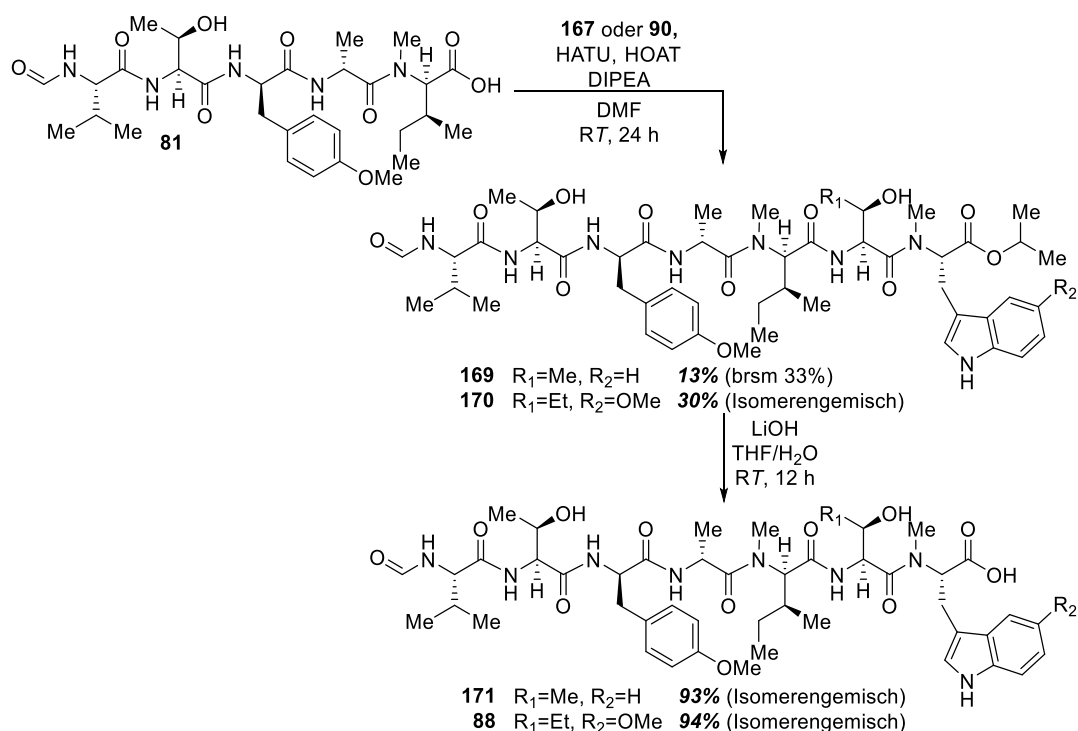
Aufbauend auf diesen vielversprechenden Resultaten zu Modelverbindung **167** wurde das Dipeptid **148**, welches für die Synthese des Naturstoffs Cycloheptamycin (**13**) benötigt wird, dargestellt. Dazu wurde Cbz-HNV (**140**) mit MeTrp(5-MeO)O*i*Pr (**131**) gekuppelt (Schema **38**). Als Kupplungsreagenzien wurden HATU oder EDCI in Kombination mit HOAT verwendet. Die höchste Ausbeute von 59% wurde dabei mit HATU erreicht, während die Kupplung mit EDCI 47% Ausbeute lieferte. Um die vereinzelte Diketopiperazinbildung, welche in der Synthese von **167** beobachtet wurde, vollständig zu unterbinden, wurde während der Cbz-Entschützung von **168** der Reaktionslösung zusätzlich HCl in Dioxan zugegeben. Das entschützte Amin wurde so *in situ* in das entsprechende Ammoniumsalz überführt, die Nucleophilie des Amins weiter reduziert und so die Diketopiperazinbildung vollständig unterbunden.



Schema 38. Darstellung und Entschützung von Dipeptid **168**.

Mit den nun verfügbaren Molekülfragmenten wurden im Anschluss die Heptapeptidester **169** und **170** dargestellt. Dazu wurde im basischen das isomerenreine Pentapeptid **81** mit HATU und HOAT in den entsprechenden Aktivester überführt und mit der einmaligen Zugabe des Dipeptids **167** umgesetzt (Schema **39**). Die Ausbeute der Reaktion betrug für den Heptapeptidester **169** 13%. Die niedrige Ausbeute lässt sich zum Teil durch die Bildung eines ungewünschten Diastereomers des Heptapeptidesters **169**, dessen Ausbeute bei 7% lag, sowie durch den niedrigen Reaktionsumsatz von Pentapeptid **81** erklären. Es konnten 60% des Startmaterials reisoliert werden. Unter Berücksichtigung des re-isolierten **81** ergibt sich für die Kupplungsreaktionen zu **169** eine Ausbeute von 33%. Dies war auf die erneut beobachtbare Diketopiperazinbildung des Dipeptids **167** unter Kupplungsbedingungen zurückzuführen, welche zwar unter den neutralen Reaktionsbedingungen der Cbz-Entschützung ausreichend unterdrückt werden konnte, jedoch im basischen Milieu der Peptidkupplung erneut auftrat. Bei der Kupplung von Pentapeptid **81** und Dipeptid **90** wurde versucht dies zu berücksichtigen indem die Reaktionszeit für die Aktivesterbildung verlängert und das Dipeptid **90** in mehrfachen

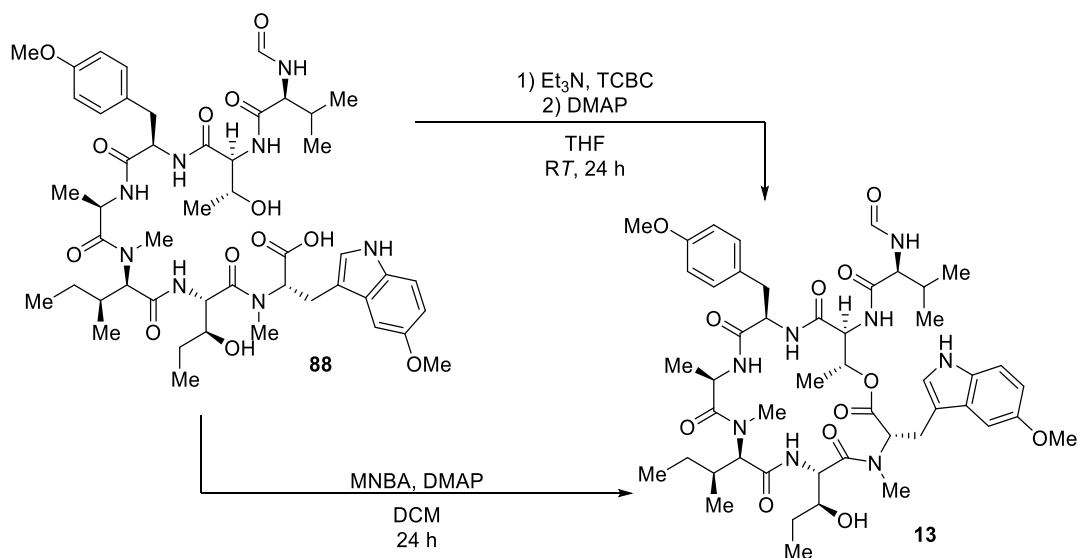
kleineren Portionen der Reaktion zugegeben wurde. Dies sollte eine ausreichende Konzentration an Pentapeptidaktivester gewährleisten und ein schnelles Abreagieren des frisch zugegebenen Dipeptids **90** ermöglichen, bevor es überwiegend cyclisierte. Diese Anpassungen führten schließlich dazu, dass der Heptapeptidester **170** als Diastereomergemisch mit einer Ausbeute von 30% isoliert werden konnte. Somit konnte die Ausbeute des Isomergemisches **169** von 20% auf 30% für **170** verbessert werden. Auf eine Trennung der Diastereomere von **170** wurde zunächst verzichtet, da davon ausgegangen wurde, dass es nach der anschließenden basischen Esterverseifung erneut zur Ausbildung von Isomergemischen kommen würde.



Schema 39. Kupplung des Pentapeptids **81** mit dem Dipeptid **167** bzw. **90** und Verseifung der Heptapeptidester **169** bzw. **170**.

Die Verseifung beider Heptapeptidester **169** und **170** erfolgt unter Verwendung von wässrigem LiOH und war quantitativ. Dabei konnte beobachtet werden, dass sowohl für **171** als auch **88** erneut Stereoisomergemische bestehend aus jeweils 4 Diastereomeren gebildet wurden. Mit der Übertragung der Kenntnisse aus der Isomerisierung des Pentapeptid **81** auf die Heptapeptide **171** und **88** lässt sich schlussfolgern, dass mit hoher Wahrscheinlichkeit die *N*-methylierten Aminosäuren *D*-*allo*-Isoleucin und 5-Methoxy-*L*-tryptophan an der C_α-Position isomerisiert sind. Auf eine Trennung der Isomere wurde wegen der kleinen Substanzmengen vorerst verzichtet, um die anschließende Macrocyklisierung mit größeren Substanzmengen durchführen zu können. Ferner wären die Diastereomeren Cyclisierungsprodukte als neue Derivate von Cycloheptamycin (**13**) für biologische Untersuchungen ohnehin von Interesse. Die Cyclisierung des als Testsystem konzipierten Heptapeptids **171** wurde bereits im Kapitel „Synthese über Festphasensynthese“ beschrieben. Als Methode für die Cyclisierung des Heptapeptid **88** wurde diese bereits etablierte Yamaguchi-Veresterung sowie zusätzlich durch die Shiina-Makrolactonisierung mit der Verwendung von MNBA als Aktivierungsreagenz und DMAP als nucleophilen Katalysator verwendet (Schema **40**). In beiden Fällen wird die Synthese durch die Überführung des Heptapeptids **88** in das entsprechende gemischte Anhydrid eingeleitet. Anschließend wird das gemischte Anhydrid von DMAP nucleophil angegriffen, sodass ein Acylpyridinium-Ion gebildet wird, welches durch den intramolekularen Angriff der Hydroxy-Gruppe des Threonins in den gewünschten Ester umgesetzt wird. Dabei handelt es sich bei den

einzelnen Reaktionsteilschritten um Gleichgewichtsreaktionen, lediglich der letzte Schritt, die Cyclisierung, verläuft irreversibel.



Schema 40. Cyclisierung von Heptapeptid **88** zu Cycloheptamycin (**13**) mittels Yamaguchi-Veresterung und Shiina-Makrolactonisierung.

Sowohl die Yamaguchi-Veresterung als auch die Shiina-Makrolactonisierung wurden im Testmaßstab von 7 mg mit dem zuvor erhaltenen Isomergemisch durchgeführt und ähnelten einander in ihrem Resultat basierend auf hochauflösenden LCMS-Untersuchungen (Abbildung 15).

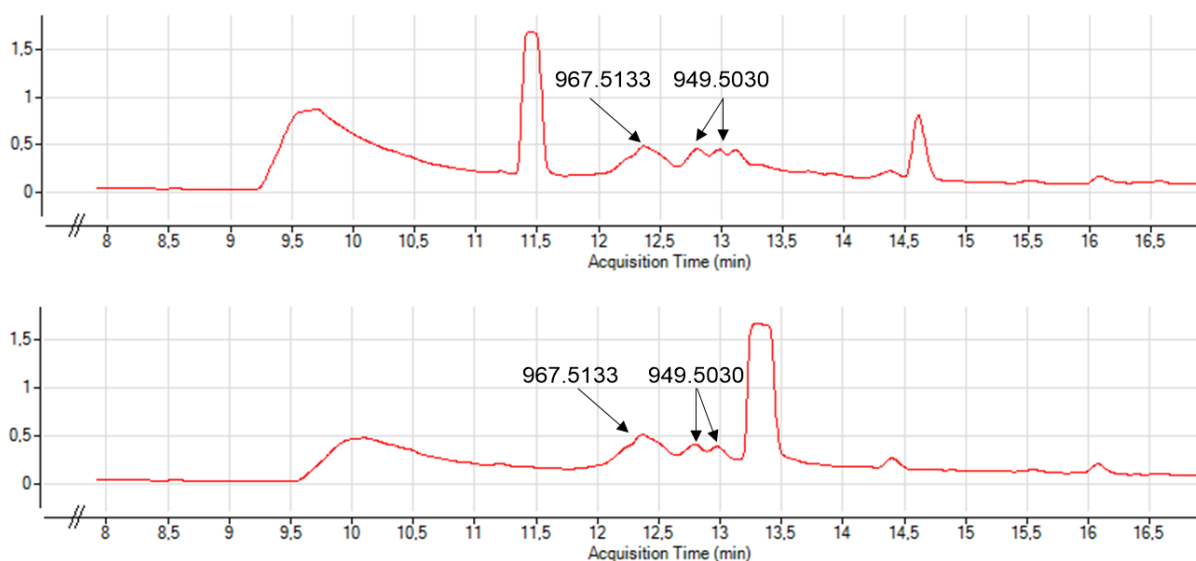


Abbildung 15. LCMS-Analyse der Shiina-Makrolactonisierung (oben) und Yamaguchi-Veresterung (unten) von linearem Heptapeptid **88** zu Cycloheptamycin (**13**).

So war es möglich, die Bildung des cyclisierten Endprodukts in geringen Mengen mit dem erwarteten m/z von 949.5030 nachzuweisen. Eine Bildung von Dimeren oder auch anderer Nebenprodukte konnte in beiden Fällen nicht beobachtet werden. Stattdessen konnte eine größere Menge des noch linearen Startmaterials mit einem m/z von 967.5133 detektiert werden. Eine Isolierung des Produkts war aufgrund der kleinen Ansatzgrößen und der geringen Produktbildung vorerst nicht möglich. Hierfür wäre eine weitere Optimierung der Reaktion nötig, da beide Makrolactonisierungen einen zu geringen Reaktionsumsatz hatten. Dieser ist möglicherweise bedingt durch die starke Verdünnung der Reaktanten. Eine Erhöhung der Reaktionskonzentration könnte zu einer Verbesserung des Umsatzes

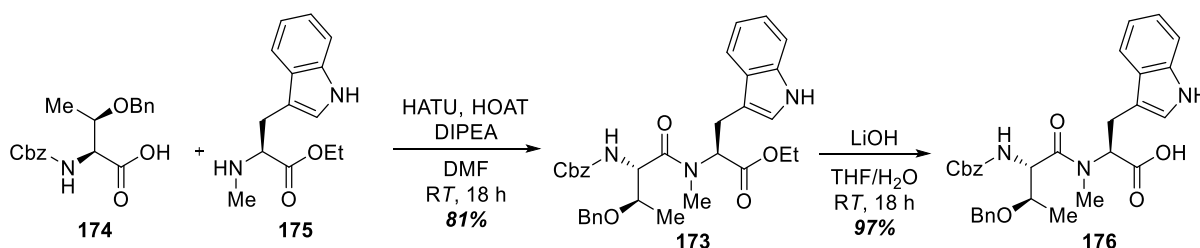
führen. Jedoch ist weiterhin zu berücksichtigen, dass bei einer zu konzentrierten Reaktionslösung die Bildung von Dimeren als Nebenprodukte stattfinden kann. Ebenso denkbar ist, dass die Aktivierung des Heptapeptids **88** erfolgreich verlief, aber der finale und irreversible Cyclisierungsschritt trotz eingesetzter Katalysatoren durch eine zu hohe Aktivierungsenergie wegen bspw. sterischer Effekte gehemmt war. Hier könnte eine Erhöhung der Reaktionstemperatur die Produktbildung steigern. Somit konnte zwar gezeigt werden, dass die chemische Darstellung von Cycloheptamycin (**13**) mit den gewählten Methoden prinzipiell möglich ist, die Makrolactonisierungen jedoch weiterer Optimierungsarbeiten zur Erhöhung der Ausbeute benötigen. Dies war aufgrund von Zeitmangel zum Ende dieses Projekts leider nicht mehr möglich.

Synthese von Peptidestern **178** und **97** zur Makrolactamisierung

Es konnte gezeigt werden, dass die Makrolactonisierung vom linearen Heptapeptid **88** zu Cycloheptamycin (**13**) möglich ist, jedoch aufgrund der niedrigen Ausbeuten weitere Optimierungen nötig sind. Eine alternative Möglichkeit könnte sein, Cycloheptamycin (**13**) durch eine Makrolactamisierung darzustellen.

Synthese eines Heptapeptidesters aus Pentapeptid **92** und Dipeptid **152**

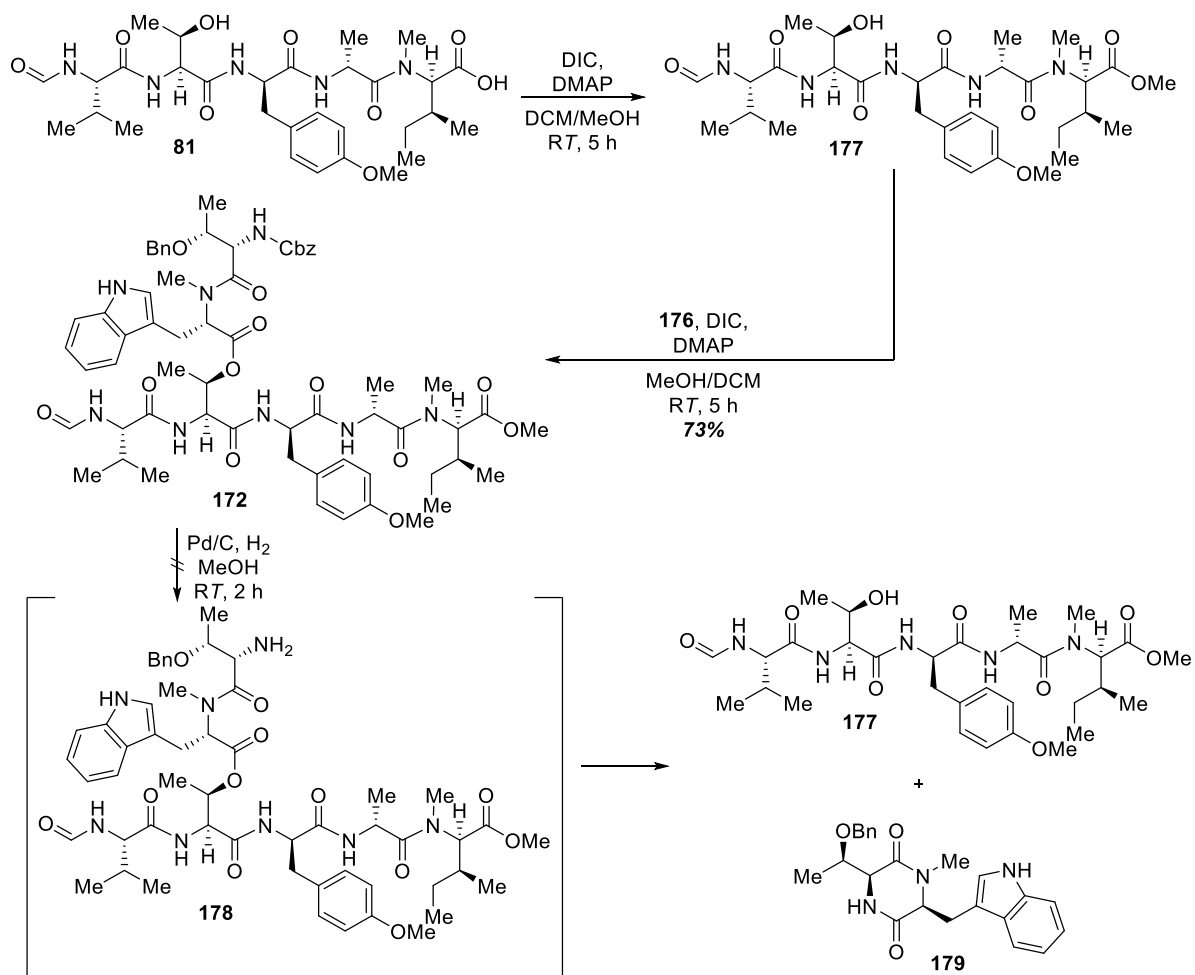
Ausgehend von den bereits synthetisierten Zwischenstufen und kommerziell erhältlichen Bausteinen wurde versucht, die Cyclisierung von Cycloheptamycin (**13**) durch den Aufbau einer Amidbindung zwischen der Säurefunktion des D-allo-Isoleucins und der Aminfunktion des Hydroxynorvalins zu realisieren. Dazu wurde zunächst Peptid **172** als Testsystem entwickelt, welches statt *anti*- β -Hydroxynorvalin bzw. 5-Methoxytryptophan die kommerziell-erhältlichen Aminosäuren Threonin bzw. Tryptophan enthält. Die Synthese wurde mit der Darstellung des Dipeptids **173** aus dem doppelt geschützten Threonin **174** und dem Tryptophan-Derivat **175** begonnen (Schema **41**). Als Kupplungsreagenz wurde dabei HATU verwendet, was eine Reaktionsausbeute von 81% lieferte. Das Dipeptid **173** wurde anschließend mit Lithiumhydroxid zur Säure **176** mit einer Ausbeute von 97% verseift.



Schema 41. Darstellung und Verseifung von Dipeptid **173**.

Parallel dazu wurde das Pentapeptid **81** geschützt, indem die C-terminale Säurefunktion in einen Methylester überführt wurde. Der Pentapeptidmethylester **177** fand aufgrund seiner schnellen und einfachen synthetischen Zugänglichkeit in diesen Testuntersuchungen zur Macrolactamisierung Verwendung und wurde mit Hilfe von DIC und DMAP mittels Steglich-Veresterung quantitativ dargestellt (Schema **42**). Unter erneuter Verwendung der Steglich-Veresterung wurde anschließend die Säure des Dipeptids **176** mit der Hydroxyfunktion des Pentapeptids **177** in einer Ausbeute von 73% verestert. Nun sollte die Entfernung der Cbz-Schutzgruppe und des Methylesters erfolgen. Begonnen wurde mit der Cbz-Entschützung, welche Pd-katalysiert unter Wasserstoffatmosphäre stattfand. Massenspektrometrische Untersuchungen zeigten jedoch, dass diese nicht das gewünschte Produkt **178** lieferte. Stattdessen griff nun das freigesetzte Amin intramolekular die Esterfunktion zwischen dem Tryptophan und dem Threonin an und bildete unter Freisetzung des Pentapeptidesters **177** das Diketopiperazin **179** aus. Eine Stabilisierung der Esterfunktion ist aufgrund der strukturellen Gegebenheiten nicht möglich. Stattdessen wäre es denkbar gewesen, die Nucleophilie desamins *in*

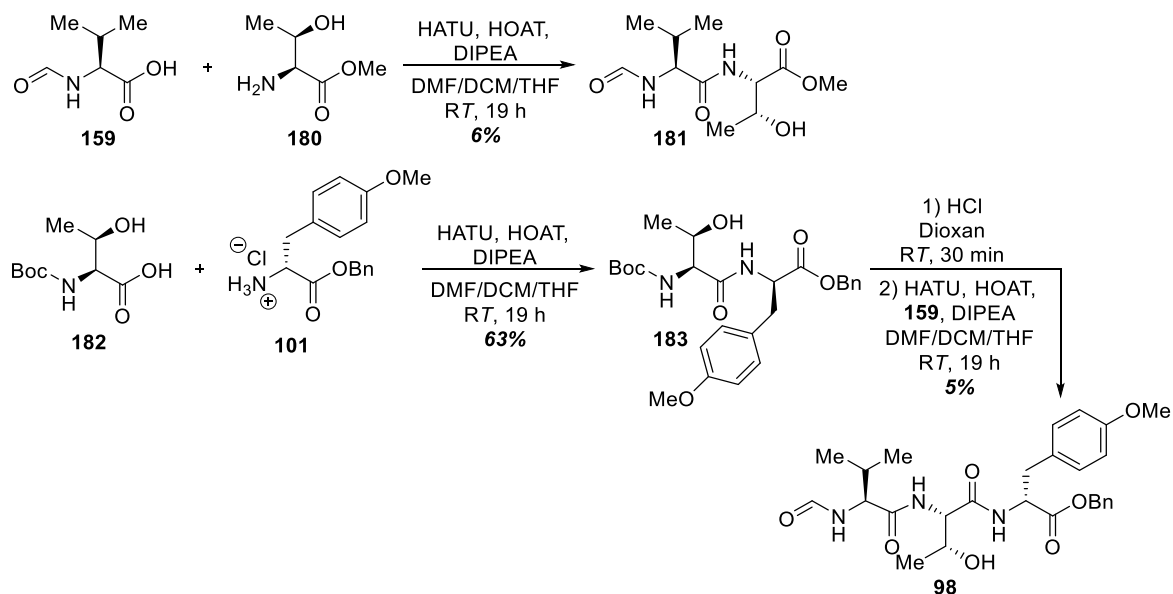
situ durch die Überführung in das entsprechende Hydrochlorid-Salz temporär zu reduzieren und somit möglicherweise die gewünschte Zwischenstufe **178** zu erhalten. Da jedoch für die finale Makrolactamisierung dieses erneut in das freie Amin überführt werden müsste, würde die schnelle Diketopiperazinbildung mit der tendenziell langsameren Makrolactamisierung konkurrieren. Da dies als nicht aussichtsreich bewertet wurde, wurde die Syntheseroute an dieser Stelle nicht mehr weiterverfolgt.



Schema 42. Darstellung von Peptidmylester **177** und dessen Kupplung mit Dipeptid **176**, sowie die Entschützung von **172** und der Zerfall des Heptapeptidesters **178** zu **177/179**.

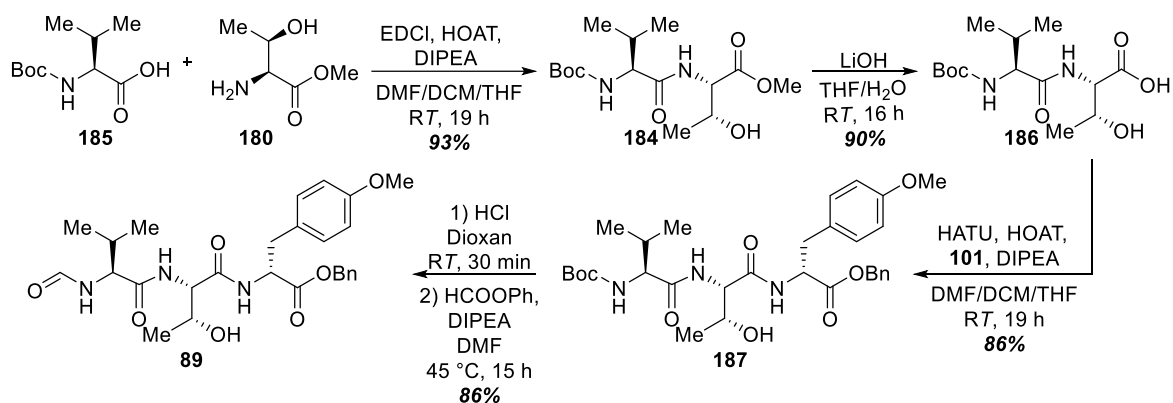
Synthese des Heptapeptidesters **120** aus Tripeptid **119** und Tetrapeptid **123**

Eine weitere vielversprechende Alternative Cycloheptamycin (**13**) durch eine Makrolactamisierung zu erhalten, wäre eine finale Bindungsknüpfung zwischen dem Amin des D-Alanins und der Säure des D-Tyrosins. Die benötigte Vorstufe **97** kann dazu aus dem Tripeptid **98** und dem Tetrapeptid **99** dargestellt werden. Für die Synthese des Tripeptids **98** sollte anfangs *N*-Formyl-L-valin (**159**) mit L-Threonin-methylester (**180**) zu Dipeptid **181** gekuppelt werden (Schema **43**). Obwohl diese Synthese literaturbekannt ist, konnte sie nicht mit den zu erwartenden Ausbeuten reproduziert werden. Es wurde eine nicht zufriedenstellende Ausbeute von 6% erreicht. Daraufhin wurde versucht Tripeptid **98** durch eine angepasste Reaktionssequenz zu synthetisieren. Es wurde zunächst Boc-L-Threonin (**182**) mit dem Tyrosin-Derivat **101** mit einer Ausbeute von 63% zu **183** gekuppelt, welches nach einer Boc-Entschützung erneut versucht wurde mit *N*-Formyl-L-Valin (**159**) umzusetzen. Auch hier zeigte die Reaktion eine niedrige Ausbeute von 5%.



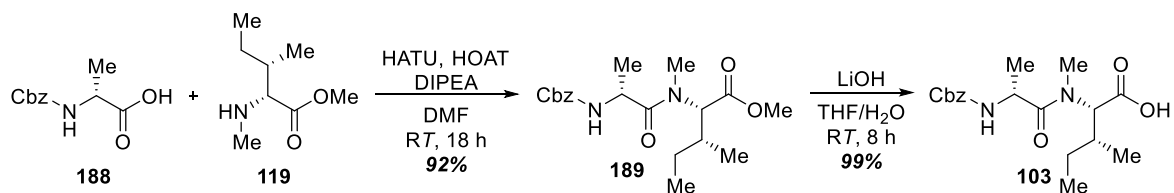
Schema 43. Darstellung von Dipeptid **181** und Tripeptid **98**.

Anschließend wurde geprüft, ob die niedrigen Ausbeuten durch die Formylfunktion bedingt sein könnten, weshalb das Dipeptid **184** aus Boc-geschütztem Valin **185** und Threonin **180** dargestellt wurde (Schema **44**). Die Ausbeute betrug 93% und zeigte auf, dass die niedrigen Ausbeuten bedingt waren durch die Formylfunktion. Nach einer Verseifung des Dipeptids **184** konnte anschließend das Tyrosin-Derivat **101** mit der Säure **186** gekuppelt werden. Die Ausbeute betrug 89%. Um zum gewünschten Tripeptid **98** zu gelangen, wurde **187** Boc-entschützt und mit Ameisensäurephenylester mit einer Ausbeute von 86% über 2 Stufen formyliert. Jedoch zeigte sich, dass das gebildete Tripeptid **98** starke Löslichkeitsprobleme besaß. Als Feststoff konnte es in den gängigen Lösungsmitteln nicht resolvasiert werden, weshalb auf eine frühe Formylierung des Tripeptids **187** verzichtet wurde. Stattdessen sollte diese als finaler Schritt nach vollständigem Aufbau der gewünschten Cycloheptamycin-Molekülstruktur erfolgen.



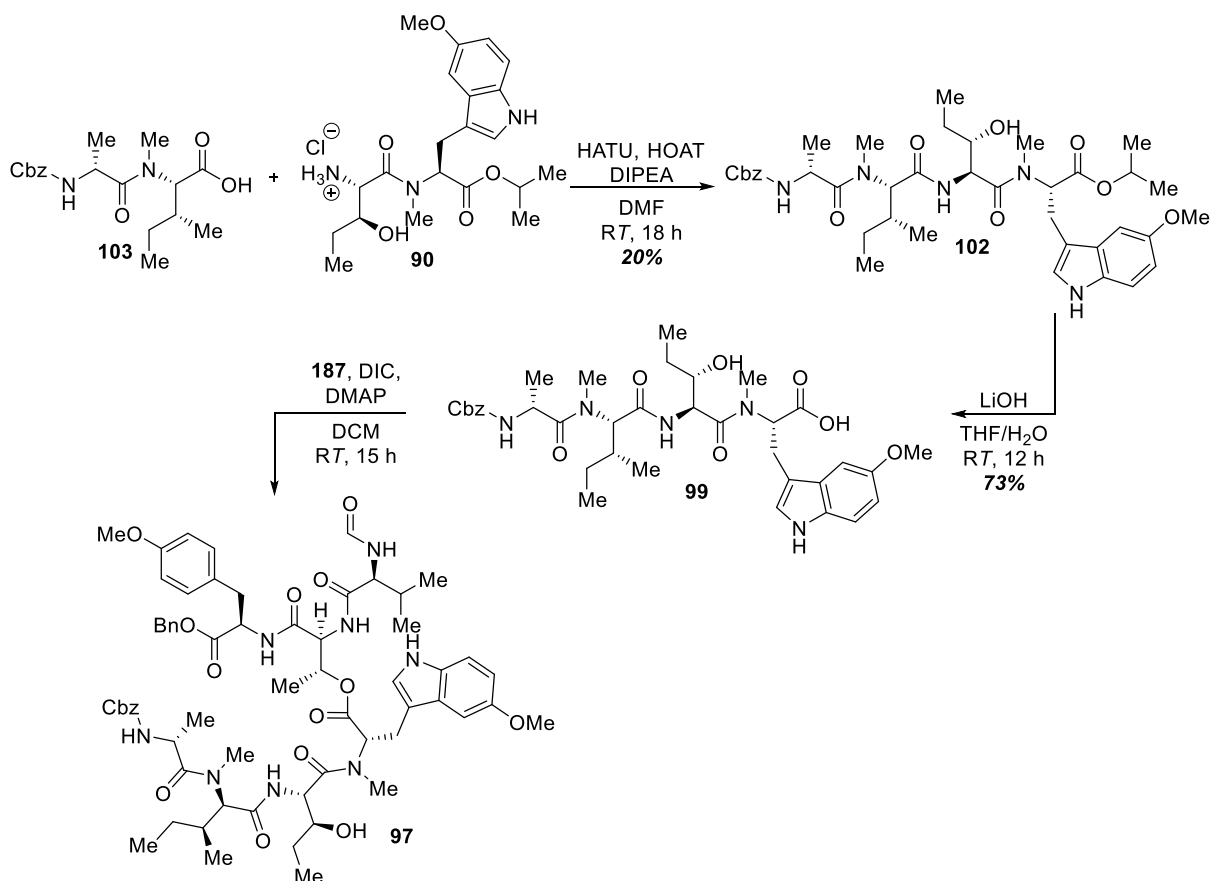
Schema 44. Darstellung des Dipeptids **186** und der Tripeptide **187** und **98**.

Das benötigte Tetrapeptid **99** wurde aus den zwei Dipeptiden **103** und **90** aufgebaut. Beginnend mit der Darstellung des Dipeptids **103** wurde Cbz-D-Alanin (**188**) und *N*-Methyl-D-*allo*-isoleucinmethylester (**119**) mit dem Kupplungsreagenz HATU mit einer sehr guten Ausbeute von 92% gekuppelt (Schema **45**). Anschließend wurde **189** im Basischen mit LiOH zu Säure **103** verseift. Dabei kam es jedoch zu einer Epimerisierung der C α -Position vom *allo*-Isoleucin, da *N*-methylierten Aminosäuren die deprotonierbare *N-H*-Bindung fehlt, welche die C α -Position vor Deprotonierung und Isomerisierung schützt.^[90]



Schema 45. Darstellung von Dipeptid **103**.

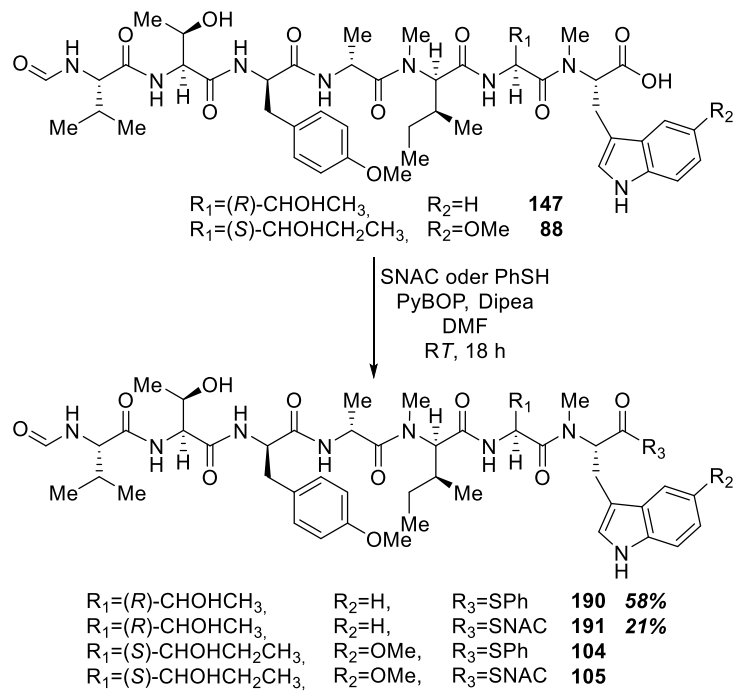
Im Weiteren wurde zunächst dennoch das epimerisierte **103** mit Dipeptid **90** (siehe Kapitel „Synthese eines linearen Heptapeptids und Makrolactonisierung“) unter Verwendung von HATU und HOAT gekuppelt (Schema **46**). Die Ausbeute der Peptidkupplung betrug als Epimerengemisch 20%. In massenspektrometrischen Untersuchungen konnte ebenso die Bildung von Diketopiperazin **106** als Nebenprodukt beobachtet werden. Auf eine Trennung der Epimere wurde vorerst verzichtet, um mit der geringen Substanzmenge die beschriebene Syntheseroute möglichst weit untersuchen zu können. Anschließend wurde das Tetrapeptid **102** erneut mit LiOH mit einer Ausbeute von 73% verseift, was zu einer Isomerisierung der *N*-methylierten Aminosäuren an ihren C_α-Positionen führte. Die Säure **99** wurde im Folgenden mit dem zuvor dargestellten Tripeptid **187** mittels der Steglich-Veresterung verknüpft. Nach Aufreinigung und Isolierung des Hauptisomers von **98** wurde die Syntheseroute vorerst ruhen gelassen, da nicht ausreichend Substanz (lediglich 1.5 mg) für die Durchführung und Optimierung der weiteren Syntheseschritte vorhanden war. In einem erneuten Anlauf wäre es sinnvoll gewesen, die Methylester- und Isopropyl-Schutzgruppen der *N*-methylierten Aminosäuren, D-allo-Isoleucin und L-Tryptophan, durch *tert*-Butyl-Schutzgruppen auszutauschen. Diese hätten im Säuren entfernt werden können, wodurch die Problematik der Epimerisierung unter basischen Reaktionsbedingungen hätte unterbunden werden können. Leider konnte dies aus zeitlichen Gründen nicht mehr realisiert werden.



Schema 46. Darstellung des Tetrapeptids **99** und dessen Veresterung mit Tripeptid **187**.

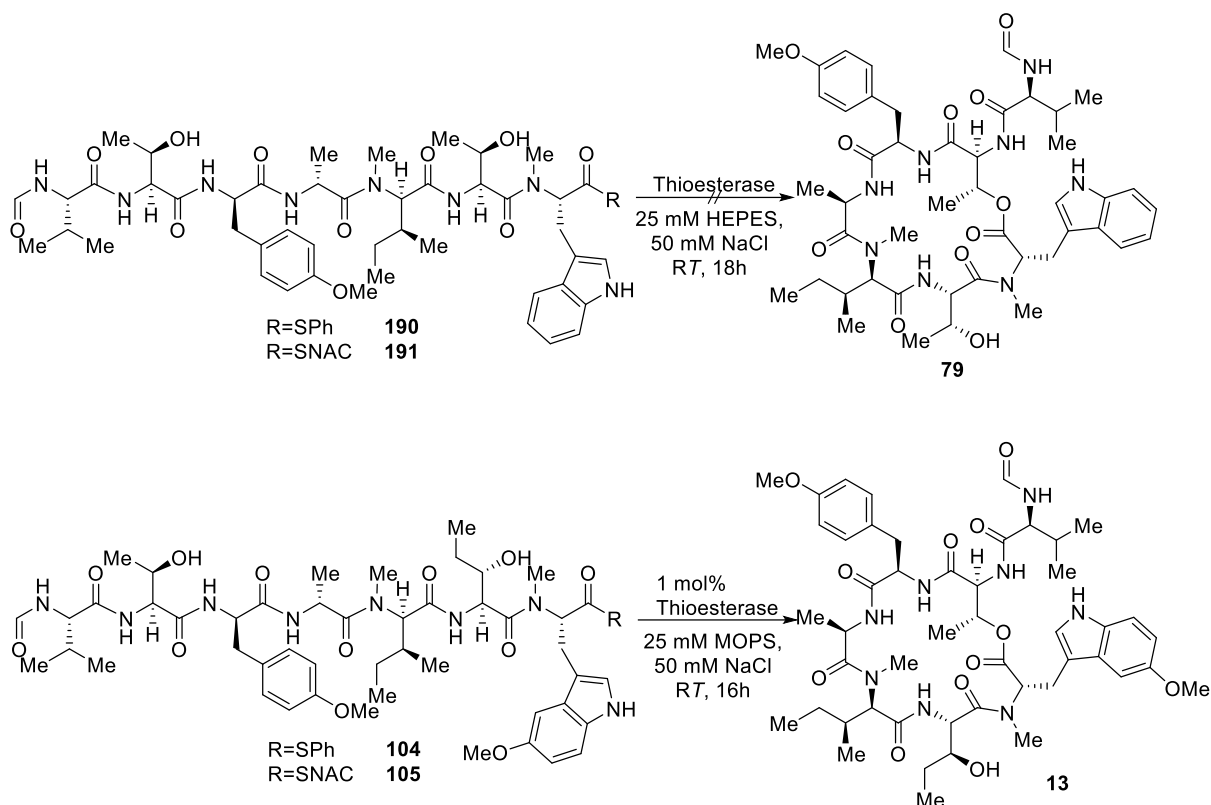
Chemo-enzymatische Totalsynthese von Cycloheptamycin (**13**)

Neben dem Versuch Cycloheptamycin (**13**) totalsynthetisch darzustellen wurde ebenso versucht eine chemo-enzymatische Synthese durchzuführen, indem der finale Makrolactonisierungsschritt von Thioestervorläufern durch die *cyh*-Thioesterase katalysiert wird, welche aus dem NRPS des *Streptomyces* sp. Tü 6314 kloniert und rekombinant produziert wurde. Die Synthese der verschiedenen Thioester erfolgte durch Veresterung der linearen Heptapeptidsäuren **147** und **88** mit dem einem geeigneten Thiol, SNAC oder Thiophenol (Schema **47**). Als Kupplungsreagenz wurde PyBOP verwendet. Die Ausbeute in der Thioesterbildung betragen für **190** 58% und für **191** 21%. Die Thioester **104** und **105** wurden mittels präoperativer HPLC aufgereinigt. Sie konnten jedoch nicht als Reinsubstanzen isoliert werden, sodass die vorgereinigten Peptidgemische in den Enzymassays verwendet wurden (Rohausbeuten 163% für **104** bzw. 124% für **105**).



Schema 47. Darstellung der Thioester **190**, **191**, **104** und **105**.

Der Thioesterase-Gen tragende *E. coli* Bap1 Expressionsorganismus wurde freundlicherweise von Dr. Z. Quian zur Verfügung gestellt. Die Synthese der Thioester **104** und **105**, die Expression der Thioesterase sowie die Durchführung der Assays geschah in Zusammenarbeit mit M. Marek.^[91] Der Expressionsorganismus wurde in Flüssigkultur (LB-Medium) angezogen und nach Erreichen der gewünschten Zelldichte wurde die Expression der Thioesterase mit der Zugabe von IPTG induziert. Die Inkubation erfolgte bei 16 °C für 18 h, wonach die Zellen durch Ultraschall lysiert und das Enzym mittels Nickel-Affinitätschromatographie isoliert wurde. Nach anschließender Entsalzung und Konzentration der Thioesterase-Lösungen wurden sie zügig mit den zuvor synthetisierten Thioestern **190** und **191** in HEPES-Puffer und den Thioestern **104** und **105** in MOPS-Puffer im Enzymassay umgesetzt, welche sich an den literaturbekannten Methoden von Sieber *et al.* und Trauger *et al.* orientierten (Schema **48**).^[83,92]



Schema 48. Enzymassays zur Synthese von Cycloheptamycin **13** und dem Cycloheptamycin-Derivat **79**.

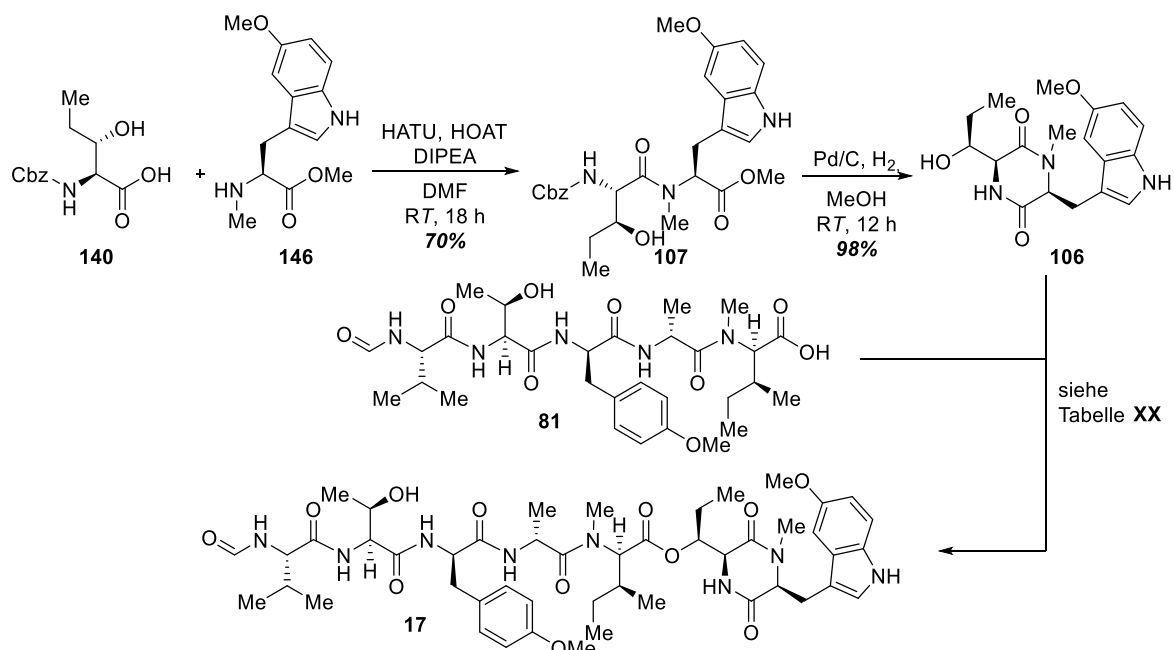
Die anschließenden LCMS-Analysen zeigten, dass im Falle der Thioester **190** und **191** kein Umsatz stattgefunden hatte und die Bildung von Cycloheptamycin-Derivat **79** nicht zu beobachten war. Es konnte lediglich nicht umgesetztes Startmaterial **190/191** detektiert werden. Im Gegensatz dazu konnte in HRMS-Analysen der Enzymassays mit den Thioestern **104** und **105** das m/z von 949.4984, welches dem Cycloheptamycin (**13**) entspricht, in geringen Mengen detektiert werden. Ebenso konnten größere Mengen der Vorläufer **104/105** nachgewiesen werden. Das Verhältnis von Edukt zu Produkt konnte nicht durch UV/VIS-Detektion bestimmt werden, da die Substanzmenge zu gering für eine Detektion war. Dennoch konnte durch den Vergleich von der Signalstärke des Edukts mit dem des Produktions erste Abschätzungen zum Umsatz gemacht werden. Diese wurde auf 12% geschätzt. Dies lässt den Schluss nahe, dass die chemo-enzymatische Synthese zwar erfolgreich verlief, die Enzym-katalysierte Reaktion jedoch noch weitere Optimierungsarbeit bedarf. Zwar ist die Möglichkeit einer selbstständigen Cyclisierung ohne Enzymwirkung denkbar, sie wird aber aufgrund der beobachteten Schwierigkeiten bei den Makrolactonisierungsreaktionen auf rein chemischem Weg (siehe Kapitel „Synthese eines linearen Heptapeptids zur Makrolactonisierung“) als sehr unwahrscheinlich bewertet. Ein Grund für die geringe Produktkonzentration könnte eine schnelle Inaktivierung der Thioesterase aufgrund von beispielsweise allgemeiner Instabilität des Enzyms unter den gewählten Reaktionsbedingungen der Assays oder durch unerwünschte Inhibition durch nicht abgetrennte Nebenprodukte aus der Thioester-Synthese sein, da diese nicht vollständig aufgereinigt werden konnten (siehe oben). In weiteren Optimierungsreaktionen gilt es daher zu untersuchen, ob eine Erhöhung der Aktivität durch die Veränderung der Reaktionsparameter und der Verwendung von **104** und **105** als Reinsubstanz möglich ist. Weiterhin könnten die fehlgeschlagenen Enzymassays der Thioester **190** und **191** untersucht werden. Hier müsste geprüft werden, ob die Veränderung in der Pufferauswahl eine Produktbildung ermöglicht. Falls dies nicht der Fall sein sollte, könnte der strukturelle Unterschied zwischen den C-terminalen Aminosäuren, Threonin versus Hydroxynorvalin bzw. Tryptophan versus 5-Methoxytryptophan in **190/191** versus **104/105** ausschlaggebend für die ausbleibende Produktbildung sein. Denn in der Literatur ist beschrieben, dass das C-terminale Ende

des zu cyclisierenden Peptids Einfluss auf die Substraterkennung von Thioesterasen haben kann.^[29] Dies könnte durch den Austausch einer der beiden Aminosäuren untersucht werden, um Substrat-Enzym-Interaktionen näher zu beleuchten. Weiterhin könnte eine nicht optimale Substraterkennung aus der nicht ausreichenden strukturellen Ähnlichkeit von SNAC oder Thiophenol mit dem nativen PPant-Arm resultieren, welches durch die Verwendung eines längeren PPant-Arm mimenden Restes oder CoA angepasst gelöst werden könnte.

Totalsynthese von Cycloheptamycin Z (**17**)

Synthese durch Pentapeptid **81** und Diketopiperazin **106**

Es sind verschiedene Möglichkeiten zur Darstellung von Cycloheptamycin Z (**17**) denkbar. Eine stufeneffiziente Möglichkeit wäre es, das in Kapitel „Synthese eines linearen Heptapeptids zur Makrolactonisierung“ vorgestellte Pentapeptid **81** mit dem entsprechenden Diketopiperazin **106** umzusetzen. Da bereits aus der vorrausgegangenen Masterarbeit die Synthese des spontan cyclisierenden Dipeptidmethylesters **82** bekannt war, wurde daran angelehnt die Synthese von Dipeptid **107** geplant (Schema **49**).^[82] Es wurde das Cbz-geschützte Hydroxynorvalin **140** unter Verwendung von Dipea, HATU und HOAT mit Tryptophan-Derivat **146** in 70% Ausbeute zu **107** amidiert. Anschließend erfolgte eine Cbz-Entschützung in pH-neutraler Reaktionslösung. Das Dipeptid **107** durchlief nach der Cbz-Entschützung quantitativ eine intramolekulare Cyclisierung unter Freisetzung von MeOH zum gewünschten Diketopiperazin **106**. Anschließend wurde unter verschiedenen Reaktionsbedingungen versucht dieses mit dem Pentapeptid **81** zu verestern (Tabelle **03**).



Schema 49. Synthese von Cycloheptamycin Z (**17**) durch Veresterung von Peptid **81** mit Diketopiperazin **106**.

Tabelle 03. Reaktionsbedingungen zur Synthese von Cycloheptamycin Z (**17**) aus Pentapeptid **81** und Diketopiperazin **106**.

Experiment	Kupplungsreagenz	Base	Lösungsmittel	Produktbildung
1	DIC	DMAP	DCM	Ja (Spuren)
2	MNBA/DMAP	Et ₃ N	DCM/DMF	Ja (Spuren)
3	TCBC/DMAP	Et ₃ N	DCM/DMF	Nein
4	BnOCl/DMAP	Et ₃ N	THF/DMF	Nein
5	HATU	DBU	DMF	Nein
6	COMU	MTBD	DMF	Nein

In den Experimenten 3 bis 6 konnte in massenspektrometrischen Analysen keine Produktbildung nachgewiesen werden, lediglich unter den Reaktionsbedingungen 1 und 2 konnte Produktbildung in sehr geringer Menge beobachtet werden. Es wurde in beiden Fällen versucht, das Produkt durch präparative HPLC zu isolieren, was jedoch aufgrund der niedrigen Substanzmenge nicht gelang. Eine mögliche Erklärung für die niedrige Ausbeute der Veresterung könnte die zu geringe Reaktivität des sekundären Alkohols in Kombination mit der Größe des Diketopiperazin **106** und den damit einhergehenden sterischen Effekten sein. Denn bereits in der vorausgegangenen Masterarbeit konnte gezeigt werden, dass das Pentapeptid **81** bereitwillig mit Methanol in einer Steglich-Veresterung oder mit der Aminfunktionen eines Threoninmethylesters in einer Amidkupplung reagierte.^[82]

Synthese durch Tetrapeptid **132** und Tripeptid **131**

Um die Probleme aus der Kupplung des Pentapeptids **81** und Diketopiperazin **106** zu umgehen, wurde eine alternative Vorgehensweise mit einer kleineren Säurekomponente erdacht. Es wurde das Diketopiperazin **106** zunächst mit dem isomerisierten Dipeptid **103** in einer Steglich-Veresterung gekuppelt (Schema **50**). Es konnte dabei die Bildung von vier Diastereomeren beobachtet werden, was auf die *N*-methylierten Aminosäuren und ihrer Anfälligkeit zur Epimerisierung an der C_α-Position zurückzuführen ist. Die Diastereomere wurden über präparative HPLC voneinander getrennt und die Ausbeute des korrekten Diastereomers **110** betrug 7% bei einem Gesamtumsatz von 17% (Abbildung **16**).

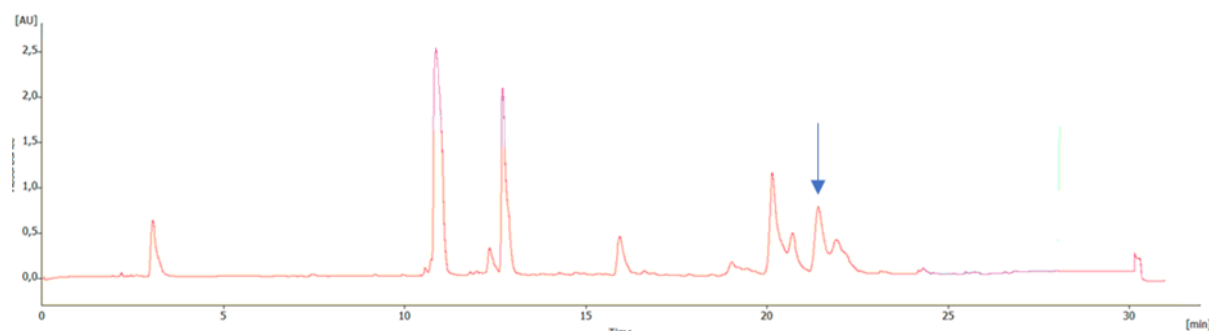
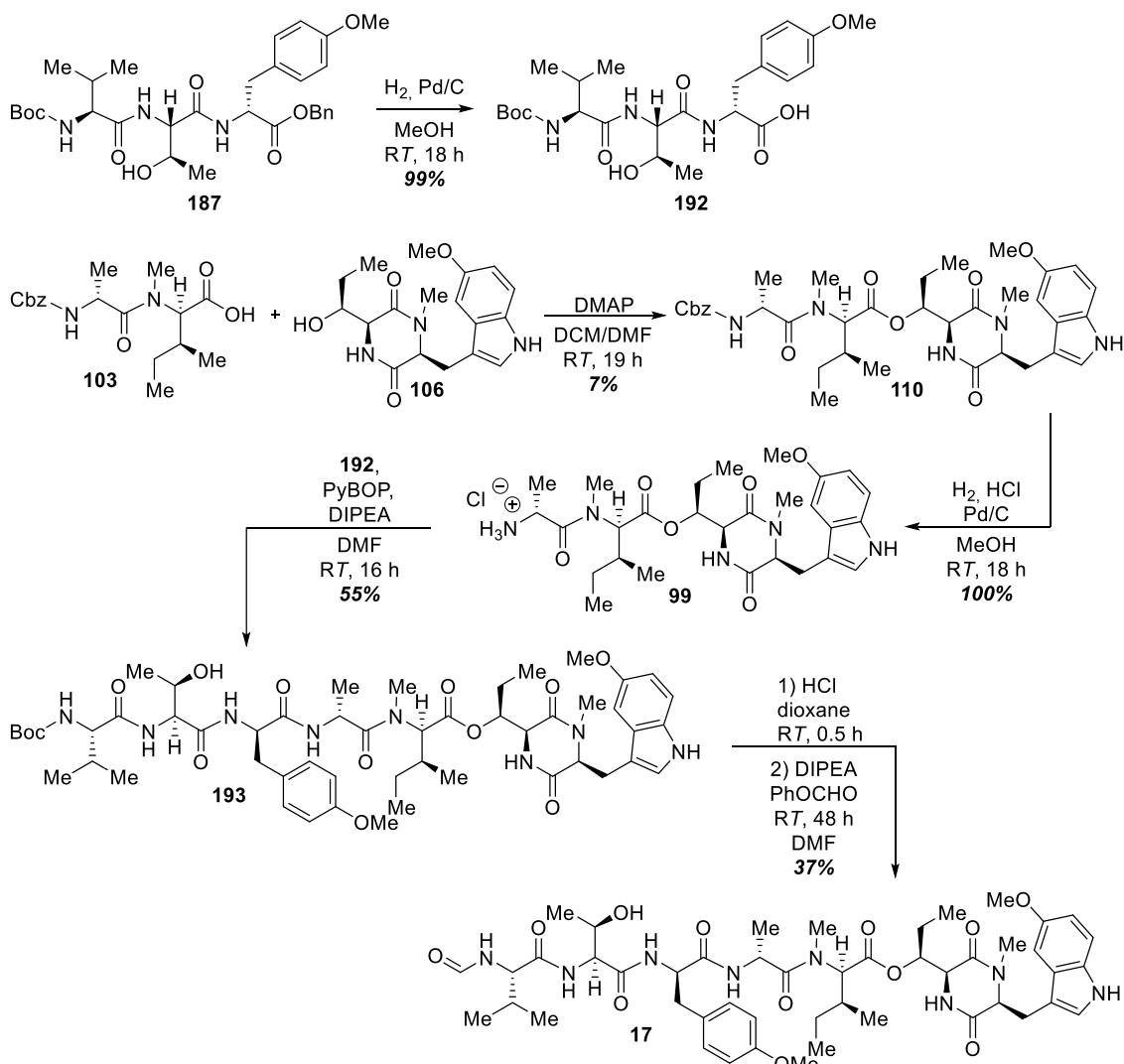


Abbildung 16. HPLC-Chromatogramm zur Veresterung von **103** und **106** zu **110** mit der Markierung des korrekten Diastereomers.

Die anschließende quantitative Cbz-Entschützung des Tetrapeptids **110** erfolgte im Beisein von HCl, um eine intrameolekulare Diketopiperazinbildung zwischen dem D-Alanin und dem *N*-Methyl-*allo*-isoleucin zu unterbinden (Schema **50**). Das Hydrochloridsalz des Tetrapeptids **109** wurde nun mit dem Benzyl-entschützten Tripeptid **192** unter Verwendung von HATU mit einer Ausbeute von 55% gekuppelt. Abschließend wurde das Peptid **193** in einer zweistufigen Reaktionsabfolge aus saurer Boc-Entschützung und finaler Formylierung mit Ameisensäurephenylester in Cycloheptamycin Z (**17**) überführt. Die Reaktion lieferte eine Ausbeute von 37% und ermöglichte den NMR-spektroskopischen Vergleich zwischen dem totalsynthetisch- und biotechnologisch-hergestellten

Cycloheptamycin Z (**17**).^[43] Dieser zeigte die Identität der beiden Proben und lieferte so einen eindeutigen Beweis der Struktur des isolierten Naturstoffs. Eine vollständige Zuordnung des NMR-Spektrums ist in Tabelle **04** aufgelistet, mit der grafischen Darstellung ausgewählter NMR-Interaktionen in Abbildung **17**.



Schema 50. Darstellung von Cycloheptaymin Z (**17**) aus den Peptidbausteinen **192**, **103** und **106**.

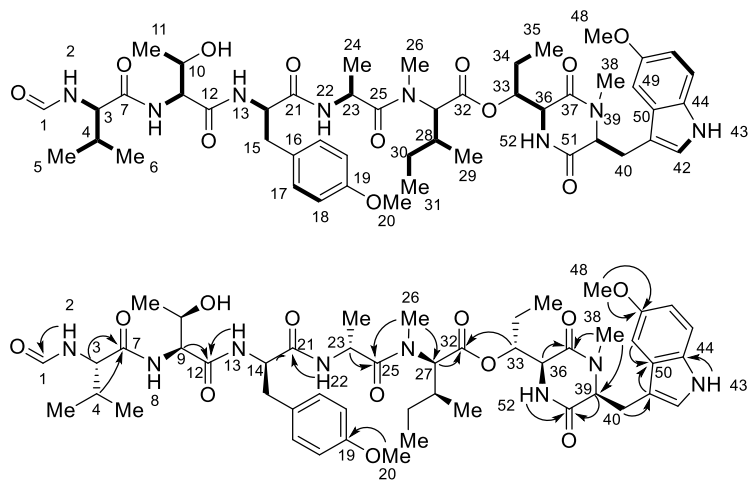


Abbildung 17. Ausgewählte COSY-Kopplungen (oben, schwarz hervorgehobenen Bindungen) und HMBC-Kopplungen (unten, Pfeile).

Tabelle 04. NMR-Daten von Cycloheptamycin Z (**17**) bei 600 MHz (¹H) und 150 MHz (¹³C).

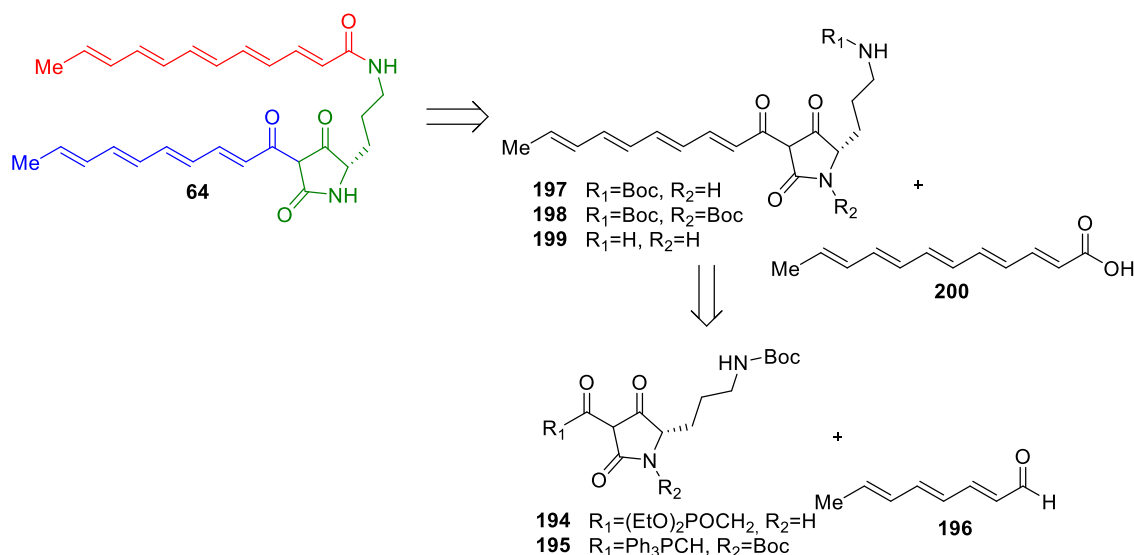
Aminosäure	Signal	¹ H [ppm]	COSY, Mult. [J in Hz]	¹³ C [ppm]	HMBC
Val	1	8.09	d [2.6 Hz]	160.7	
	2	8.24	3, dd [9.1, 1.9]		1, 3
	3	4.38	2, 4, dd [9.1, 6.0]	56.0	1, 4, 5, 6, 7
	4	2.10-2.01	3, 5, 6, m	30.2	3, 5, 6, 7
	5	0.90	4, d [6.8]	19.0	3, 4, 6
	6	0.86	4, d [6.8]	17.7	3, 4, 5
	7			170.08	
Thr	8	7.59	9, d [8.9]		7
	9	4.67	8, 10, dd [8.9, 2.5]	56.9	7, 10, 12
	10	4.44-4.42	9, 11, m	65.5	11
	11	1.20	10, d [4.8]	20.2	9, 10
	12			168.6	
D-Tyr(OMe)	13	8.67	14, d [9.0]		12, 14
	14	4.92	13, 15/15', dt [8.8, 4.2]	51.6	15, 12, 21, 16
	15	2.73	14, dd [13.5, 4.3]	38.5	14, 21, 17
	15'	2.86	14, 15 dd [13.5, 4.1]		
	16			127.6	
	17	7.12	18, d [8.5]	130.9	15, 18, 19
	18	6.58	17, d [8.7]	112.0	16, 19
	19			157.4	
	20	3.55	s	54.3	19
	21			169.9	
D-Ala	22	9.09	23, d [7.5]		21, 23, 24
	23	5.04	22, 24, p [6.9]	42.8	24, 25
	24	1.21	23, d [5.5]	17.5	23, 25
	25			173.5	
Me-D-allo-ILE	26	2.90	s	28.1	25, 27
	27	4.31	28, d [10.6]	62.8	26, 25, 28, 29, 30, 32
	28	1.92-1.86	27, 29, 30, m	34.1	30, 26
	29	0.74	28, d [6.6]	14.1	27, 28, 30,
	30	1.12-1.01	28, 31, m	24.2	27, 28, 29, 31
	31	0.80	30, t [7.2]	11.0	28, 30
	32			169.7	
	33				
HNV	52	7.88	36, d [2.1]		36, 37, 51
	36	3.38	52, 33, dd [2.6]	56.0	33, 34/34',37
	33	4.71	36, 34, 34', dt [11.7, 2.4]	76.8	32, 35
	34	-0.33	33, 34',35, dq [11.8, 7.4]	17.3	33, 35
	34'	-0.85	33, 34, 35, dq [8.3, 6.4]	17.3	35
	35	0.19	34, 34', t [7.3]	9.8	33, 34/34'
	37			160.9	
MeTrp(5-OMe)	38	3.05	s	31.6	37, 39
	39	4.13	40, 40', dd [5.0, 2.9]	60.7	40/40', 51, 41
	40	3.23	39, 40', dd [14.9, 4.8]	25.9	39, 41, 42, 44
	40'	3.38-3.33	39, 40, m	25.9	39, 41, 42, 44
	41			107.0	
	42	7.04	43, d [2.5]	125	41, 44, 45,
	43	10.74	42, d [2.6]		41, 42, 44,
	44			127.8	
	45	6.84	46, d [8.3]	130.8	46, 47
	46	6.57	45, 49, dd [8.4, 2.4]	111.2	45, 47, 49
	47			152.7	
	48	3.60	s	54.4	47
	49	7.01	46, d [2.5]	99.5	46, 47, 50
	50			130.1	
51			166.4		

Totalsynthese von Ikarugamycin-Biosyntheseintermediaten

Ikarugamycin (**18**) ist ein strukturell hochkomplexes Molekül mit einer breiten biologischen Aktivität. Es ist bemerkenswert, dass diese strukturelle Komplexität nur von den drei Enzymen, IkaA-C, aufgebaut wird. Während die Funktionsweise von IkaC bereits aufgeklärt ist, stellt sich für die Enzyme IkaA und IkaB weiterhin die Frage nach ihrer mechanistischen Arbeitsweise. Um diese untersuchen zu können, ist es hilfreich, Zugang zu den jeweiligen Enzymsubstraten zu haben. Da diese auf biotechnologischem Weg gar nicht oder in nur sehr geringen Mengen zugänglich sind, sollte im Rahmen dieser Arbeit eine Synthese für die verschiedenen Enzymsubstrate entwickelt werden. Darüber hinaus sollten Derivate für die Untersuchung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen dargestellt werden, um die Substrattoleranz der Enzyme zu testen.

Retrosynthetische Analyse von IkaA-Intermediat (**64**)

Es ist wünschenswert für die Darstellung des IkaA-Intermediats **64** eine konvergente Synthesestrategie zu entwickeln, in der die verschiedenen Synthesebausteine in den finalen Schritten der Synthese zusammengeführt werden. Dadurch könnte eine mögliche zukünftige Derivatisierung von **64**, welche für die Erforschung der Biosynthese von Ikarugamycin (**18**) sowie zur chemo-enzymatischen Synthese unnatürlicher Intermediate hilfreich wäre, effizient gestaltet werden. Insbesondere die Längenvariationen der beiden Polyenseitenketten sowie die Funktionalisierungen der Ornithin-Seitenkette sind hier von Interesse. Basierend auf diesen Vorhaben lässt sich das IkaA-Intermediat **64** in drei verschiedene Bausteine aufteilen. Diese wären die Dodecapentenonyl-Seitenkette (rot), die Ornithin-Tetramsäure (grün) und die Decatetraenonyl-Seitenkette (blau, Schema **51**). Dabei kommt der Tetramsäure eine besondere Bedeutung zu, denn sie fungiert als Bindeglied zwischen den Polyenseitenketten und muss mit den nötigen funktionellen Gruppen ausgestattet werden, um deren Installation zu ermöglichen.



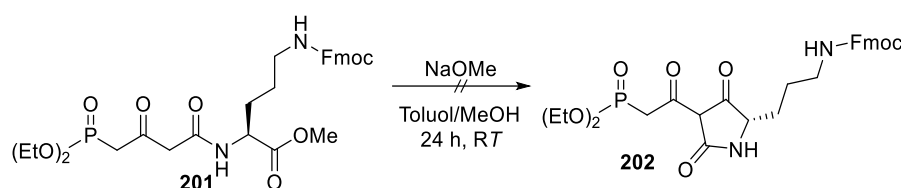
Schema 51. Retrosynthetische Analyse des IkaA-Intermediats (**64**) mit der Ornithin-Tetramsäure (grün), der Dodecapentenonyl-Seitenkette (rot) und der Decatetraenonyl-Seitenkette (blau).

Zunächst sollte die Decatetraenonyl-Seitenkette an der C-3-Position der Tetramsäure aufgebaut werden. Dazu sind verschiedene geeignete Methoden beschrieben.^[93–95] Als aussichtsreichste Option wurde die Olefinierung durch eine Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion (HWE-Reaktion) oder eine Wittig-Reaktion bewertet.^[96–98] Der je nach Olefinierungsreaktion benötigte Tetramsäurebaustein **194** bzw. **195** sollte mit *E*-Octatrienal (**196**) zu Polyentetramsäure **197** bzw. **198** umgesetzt werden (Schema **51**). Anschließend sollte nach einer vollständigen Entschützung zur Polytetramsäure **199** die Amidbindung mithilfe von *E*-Dodecapentensäure (**200**) aufgebaut werden, um das gewünschte IkaA-

Intermediat **64** zu erhalten. Die gewählte Reihenfolge, die Decatetraenonyl-Seitenkette zuerst zu installieren, beruht auf den härteren Reaktionsbedingungen der Olefinierungsreaktionen im Vergleich zur Amidkupplung zur späteren Anbringung Dodecapentenonyl-Seitenkette.

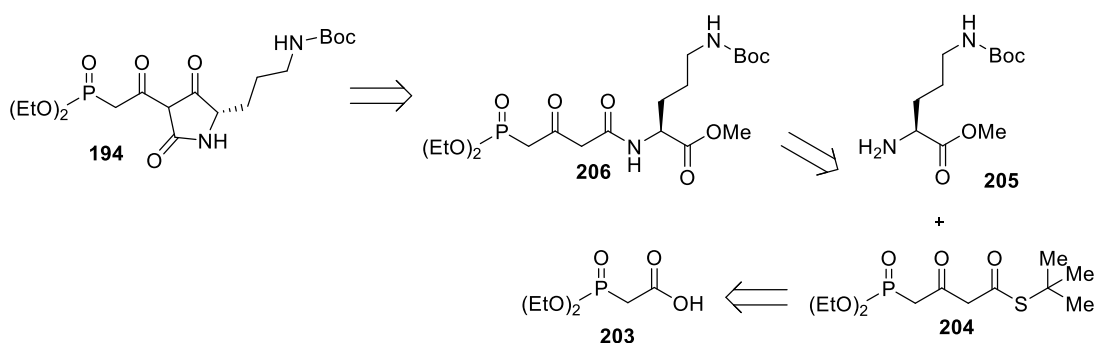
Retrosynthetische Analyse der Tetramsäure **194** durch Synthese über Dieckmann-Kondensation

Die Tetramsäure **194** sollte über die Kombination der Synthesen von Healy *et al.* und Bockmann *et al.* dargestellt werden.^[96,99] Dazu wurden bereits erste synthetische Arbeiten in der Arbeitsgruppe Gulder durchgeführt.^[100] Hier wurde versucht, das Fmoc-geschützte Phosphonat **201** zu **202** zu cyclisieren, was jedoch bislang fehlschlug (Schema **52**). Es wurde angenommen, dass der Grund dafür möglicherweise im Austausch der Cbz-Schutzgruppe, welche von Bockmann *et al.* verwendet wurde, durch die Fmoc-Gruppe zu finden war. Deshalb sollte in dieser Arbeit der Einfluss der Seitenketten-Schutzgruppe und die der Reaktionsbedingungen in der Cyclisierungsreaktion weiter erforscht werden. Als Schutzgruppe sollte dabei zunächst die Boc-Gruppe aufgrund der mild-sauren Abspaltungsbedingungen genutzt werden.



Schema 52. Vorausgegangenener Versuch zur Dieckmann-Kondensation von **201** zu **202**.^[100]

Entsprechend der Vorarbeiten sollte Diethylphosphonoessigsäure (**203**) als Startmolekül genutzt und unter Verwendung von Meldrumsäure sowie *tert*-Butylmercaptan in den β -Ketothioester **204** überführt werden (Schema **53**).^[100] Alternative Routen zur Synthese von **204** sind von Boeckman *et al.* und Ley *et al.* publiziert worden, haben jedoch keine Vorteile zu der bereits in der Arbeitsgruppe Gulder etablierten Methodik.^[96,101]



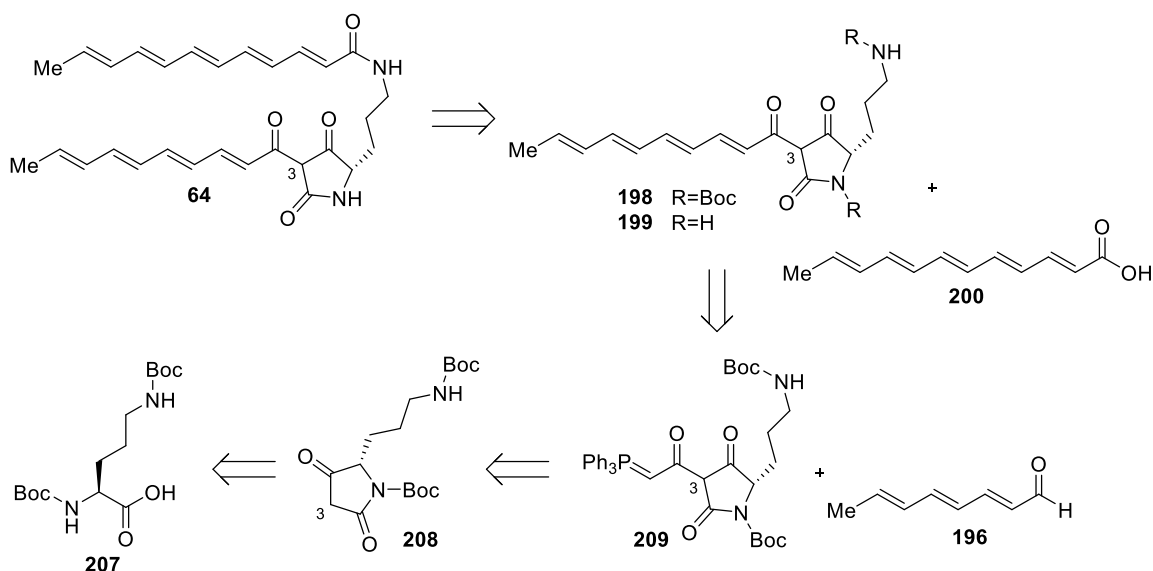
Schema 53. Retrosynthetische Analyse zur Synthese von Tetramsäurephosphonat (**194**) durch Dieckmann-Kondensation.

Durch Kondensation des entsprechend geschützten Ornithin-Derivats **205** mit dem β -Ketothioester **204** sollte Phosphonat **206** dargestellt werden, welches in einer abschließenden Dieckmann-Kondensation zur Tetramsäure **194** cyclisiert werden sollte.

Retrosynthetische Analyse zur Synthese des IkaA-Intermediats **64** unter der Verwendung des Bestmann-Ylids

Falls die Versuche zur Optimierung der Dieckmann-Kondensation erfolglos verlaufen sollten, wäre eine kurze Route zur doppelt Boc-geschützten Tetramsäure **198** durch die Kombination verschiedener literaturbekannter Synthesen möglich.^[98,102] Der eingangs diskutierte Wunsch nach einer konvergenten Synthese mit der Möglichkeit einer späten Zusammenführung der beiden

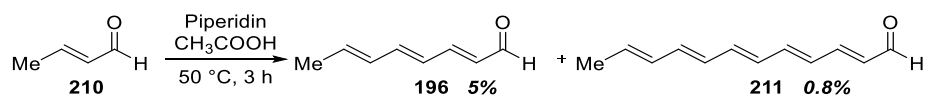
Polyenseitenketten mit der Tetramsäure wäre dabei weiterhin erfüllt, sodass eine Derivatisierung des IkaA-Intermediats **64** effizient durchgeführt werden könnte. Die Synthese beginnt mit dem doppelt Boc-geschützten L-Ornithin **207**, welches unter Verwendung von Meldrumsäure in Tetramsäure **208** umgesetzt werden soll (Schema **54**). Anschließend würde das Bestmann-Ylid an die C-3-Position von Tetramsäure **208** addiert werden, um die Phosphorantetramsäure **209** darzustellen. Nun könnte mit *E*-Octatrienal (**196**) über eine Wittig-Reaktion die doppelt Boc-geschützte Polyentetramsäure **198** dargestellt werden. Diese sollte nach einer Boc-Entschützung zu **199** mit der Polyensäure **200** unter Ausbildung einer Amidbindung zu IkaA-Intermediat **64** umgesetzt werden können. Somit wäre **64** in vier Synthesestufen ausgehend von kommerziell erhältlichem Di-Boc-L-Ornithin (**207**) darstellbar.



Schema 54. Retrosynthetische Analyse von **64** mit der Verwendung des Bestmann-Ylid.

*Retrosynthetische Analyse zur Darstellung der Polyenbausteine **196** und **200** und Polyenthioester **217**, **218**, **219** und **220***

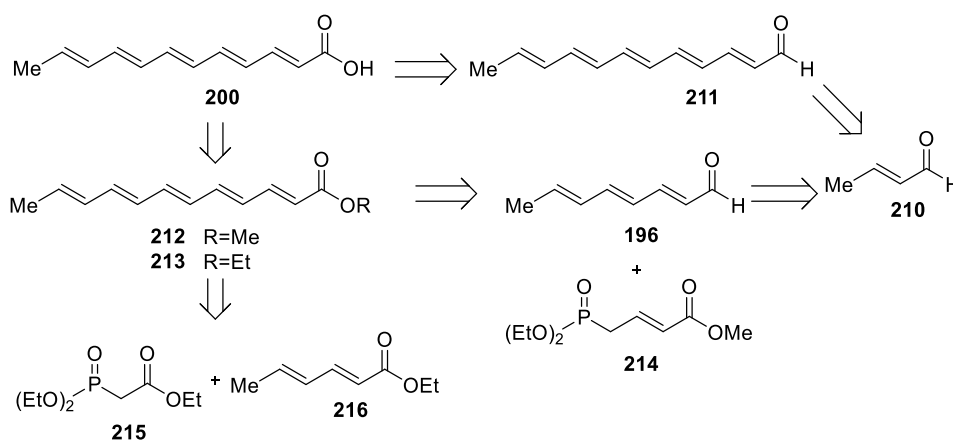
Die Synthesen der Polyenverbindungen für die Synthese von IkaA-Intermediat **64** stellen eine Herausforderung dar, da lange Polyenkettensysteme lichtempfindlich sind sowie zu Oxidation und Polymerisation neigen. Glücklicherweise waren bereits erste Synthesen, welche auf der Arbeit von Fischer *et al.* aufbauten, in der Arbeitsgruppe Gulder etabliert worden.^[100,103] So war bereits die Synthese von Octatrienal (**196**) aus Crotonaldehyd (**210**) durch eine Aldolreaktion durchgeführt worden. Ebenfalls konnte aus derselben Reaktion das Dodecapental (**211**) gewonnen werden (Schema **55**). Die Reaktionsausbeuten von **196** und **211** sind zwar sehr niedrig, die Startmaterialien der Reaktion jedoch günstig und die Produktisolierung hinreichend einfach.



Schema 55. Vorausgegangene Arbeiten zur Synthese von *E*-Octatrienal (**196**) und *E*-Dodecapental (**211**).

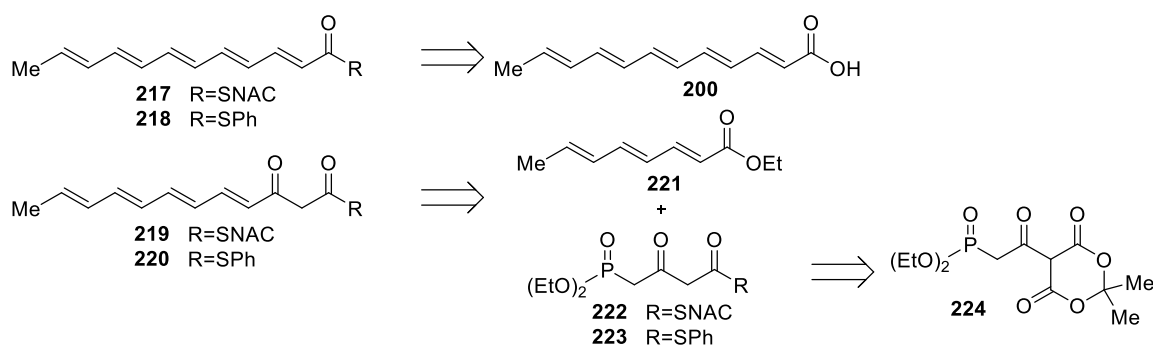
211 sollte durch eine Oxidation des Aldehyds zur Polyensäure **200** weiter umgesetzt werden (Schema **56**). Dazu könnten biokatalytische, aber auch adaptierte synthetische Methodiken herangezogen werden.^[104,105] Ebenso sollte **200** über die Verseifung der Ester **212/213** dargestellt werden können. Der Aufbau dieser Ester wäre sowohl durch einmalige als auch durch iterative Olefinierung realisierbar. Im Falle der einstufigen Synthese kann *E*-Octatrienal (**196**) mit Phosphonat **214** in einer klassischen HW-E-Reaktion zu Ester **212** umgesetzt werden. In der traditionellen iterativen Synthese von Polyenen ist es notwendig, den bei Kettenelongation mit

Triethylphosphonoacetat (**215**) produzierten Ester für die Folgereaktion in einen Aldehyd zu überführen.^[106] Dies geschieht über zwei Stufen. Zunächst wird der Ester mit einer Aluminiumhydridverbindung zum entsprechenden Alkohol reduziert und danach wird der Alkohol mit Braunstein zum Aldehyd oxidiert. Diese Sequenz aus Reduktion und Oxidation entfällt in der von Dakarapu *et al.* weiterentwickelten und von Wunderlich *et al.* angewendeten Iridium-katalysierten reduktiven HWE-Reaktion.^[107,108] Hier wird in einer zweistufigen Eintopfreaktion der benötigte Aldehyd *in situ* gebildet und reagiert anschließend mit dem Phosphonat zum gewünschten Olefin. Aufgrund der vorteilhaften Stufenökonomie und der milden Reaktionsbedingungen, die auch die Synthese von Polyen- β -ketothioestern tolerieren, sollte diese Methode ebenso Anwendung in dieser Arbeit finden. So könnte ausgehend von Sorbinsäureethylester (**216**) in drei Stufen der *E*-Dodecapentenethylester (**213**) synthetisiert werden.



Schema 56. Retrosynthetische Analyse zur Synthese des Polyen **200**.

Um die Funktionsweise von des Ikarugamycin-Biosyntheseenzym IkaA in Enzymassays näher untersuchen zu können, sollten weiterhin verschiedene Polyenthioester und Polyen- β -ketothioester dargestellt werden. Es wurde sich für SNAC- und Thiophenol-Derivate entschieden. Im Falle des SNAC war die strukturelle Ähnlichkeit zum PPant-Arm, dem nativen Bindungspartner der Polyene, für die Auswahl ausschlaggebend. Das Thiophenol hingegen weist zwar keine strukturelle Ähnlichkeit zum PPant-Arm auf, jedoch ist der korrespondierende Thiophenolester reaktiver als das SNAC-Gegenstück. Diese Eigenschaft könnte sich vorteilhaft in der Übertragung der Polyene auf das IkaA-Intermediat auswirken und stellt eine sinnvolle Ergänzung zum SNAC dar. Eine kurze und praktische Syntheseroute für die Polyenthioester **217** und **218** sowie **219** und **220** wäre mit bereits synthetisierten Zwischenstufen realisierbar. Auf diese Weise sollte es möglich sein, in nur wenigen Schritten Zugang zu den gewünschten Derivaten zu erhalten. **217** und **218** können so aus der Umsetzung der Polyensäure **200** mit SNAC oder Thiophenol und einem geeigneten Kupplungsreagenz dargestellt werden (Schema **57**). In der Synthese des Polyen- β -ketothioesters **219** und **220** könnte die von Wunderlich *et al.* adaptierte reduktive HWE-Reaktion angewendet werden.^[107] Dazu würde *E*-Octatrienethylester (**221**) mit Thioesterphosphonat **222** bzw. **223** olefiniert, wobei **222** bzw. **223** wiederum aus der Thiolyse von Phosphonat **224** mit SNAC oder Thiophenol zugänglich wären.

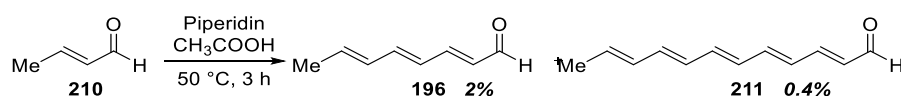


Schema 57. Retrosynthetische Analyse zur Synthese der Thioester **217** und **218** sowie der Polyen- β -Ketothioester **219** und **220**.

Darstellung der Polyenbausteine **196** und **200** und Polyenthioester **217**, **218**, **219**, **220**

Synthese der Polyenbausteine **196** und **200**

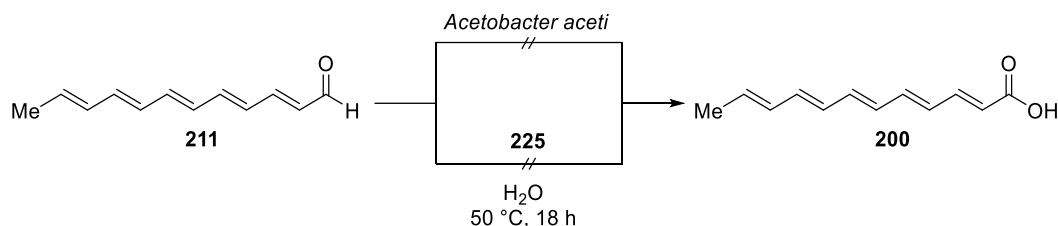
Die für den Aufbau der Decatetraenonyl- und Dodecapentenonyl-Seitenketten benötigten Polyenbausteine **196** und die **211** wurden mit der bereits im Arbeitskreis Gulder etablierten Synthese dargestellt.^[100] Dazu wurde *E*-Crotonaldehyd (**210**) mit Essigsäure und Piperidin über eine Knoevenagel-Reaktion umgesetzt (Schema **58**). Je nach gewählter Reaktionsdauer konnte die Kettenlänge der Polyene gesteuert werden. Um eine möglichst hohe Konzentration an **196** und **211** zu erhalten, wurde die Reaktion nach 3 h gestoppt und durch Filtration wurden längere Polyenkettent entfernt. Während das *E*-Dodecapentenal (**211**) durch eine Fällung in MeOH als roter Feststoff mit einer Ausbeute von 0.4% erhalten wurde, musste das *E*-Octatrienal (**196**) zunächst einer Vakuumdestillation und danach einer Säulenchromatographie unterzogen werden. Es konnte mit einer Ausbeute von 2% erhalten werden. Zwar sind die Ausbeuten dieser Reaktion niedrig, jedoch hat sie den Vorteil, dass das als Startmaterial verwendete *E*-Crotonaldehyd (**210**) kostengünstig ist. Damit ist es praktikabel die Reaktion mit Ansätzen größer als 0.5 mol durchzuführen und Produktmengen von über 1 g bzw. 0.5 g für **196** bzw. **211** zu erhalten. Beide Aldehyde waren bei -20 °C und dunkel gelagert für mehrere Tage stabil. Bei längeren Standzeiten konnte insbesondere bei **196** beobachtet werden, dass sich in THF unlösliche Nebenprodukte bildeten, die möglicherweise aus intermolekularen Polymerisationsreaktionen des Produkts stammten. Bei der Weiterverwendung aller Polyene wurde deshalb stets auf eine Abdunkelung der Reaktionsgefäße geachtet.



Schema 58. Darstellung von *E*-Octatrienal (**196**) und *E*-Dodecapentenal (**211**).

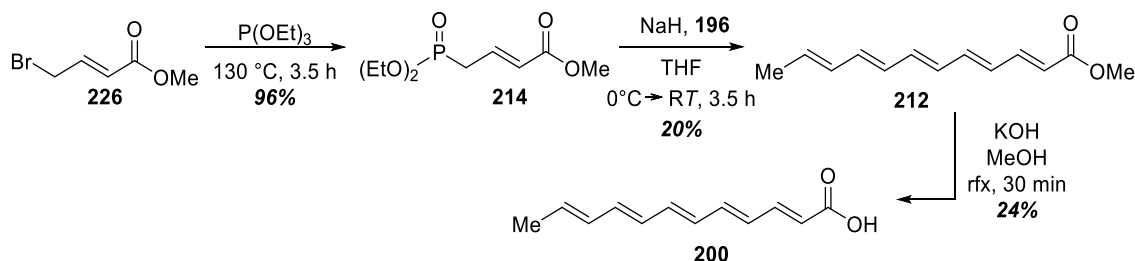
Weiterhin wurde versucht, die von T. Stimpel bereits begonnenen Arbeiten zur biokatalytischen Oxidation von Aldehyd **211** zur Säure **200** fortzusetzen (Schema **59**).^[100,104] Es wurde das Bakterium *Acetobacter Aceti* in gefriergetrockneter Form von der DSMZ erworben und in zwei separaten Anläufen versucht, entsprechend der Anweisungen der DSMZ, die Bakterien auf festem sowie alternativ in flüssigem YPM-Nährmedium anzuzüchten. Die Versuche reproduzierten die Ergebnisse, die bereits von T. Stimpel erbracht worden waren. In beiden Anläufen konnte kein Bakterienwachstum im flüssigen Medium festgestellt werden. Auf den Agarplatten wuchsen wenige Kolonien an. Jedoch waren diese, wenn sie zum Animpfen von Flüssigmedium genutzt wurden, nicht in der Lage, sich zu vermehren. Eine Fehlerquelle konnte nicht ermittelt werden und auf den Erwerb weiterer Kulturen wurde verzichtet. Da bereits in vorherigen Versuchen, selbst das Animpfen mit aktiver Flüssigkultur, zugesendet durch die DSMZ, nicht erfolgreich verlief, wurde auf die biokatalytische Oxidation von **211** verzichtet. Alternativ wurde eine chemische Oxidation nach der Vorschrift von Yu *et al.* versucht (Schema **59**).^[105]

Die Reaktion wurde bei 50 °C unter O₂-Atmosphäre oder Luft in Wasser durchgeführt. Obwohl das Edukt **211** bei RT in Wasser nicht löslich ist, wäre eine geringe Löslichkeit bei erhöhten Temperaturen vorstellbar. Ebenso wurde in der Publikation die Oxidation von Substraten beschrieben, die ebenfalls schwerwasserlöslich sind. Dies und die einfache Zugänglichkeit des Katalysators ließen einen Test dieser Methodik attraktiv erscheinen. Dafür musste zunächst der Eisen/Molybdat-Katalysator [N(C₄H₉)₄]₃[FeMo₆O₁₈(OH)₃{(OCH₂)₃CNH₂}] (**225**) in zwei Schritten ausgehend von Ammoniumheptamolybdat und Eisensulfat hergestellt werden.^[105] Die anschließende Oxidation mit dem Aldehyd **211** wurde analog zur publizierten Oxidation von Sorbinaldehyd zu Sorbinsäure durchgeführt, jedoch konnte kein Reaktionsumsatz mit **211** beobachtet werden. Dies ist aller Wahrscheinlichkeit begründet in der fehlenden Löslichkeit des Substrats in Wasser.



Schema 59. Versuche zur Oxidation von Aldehyd **211**.

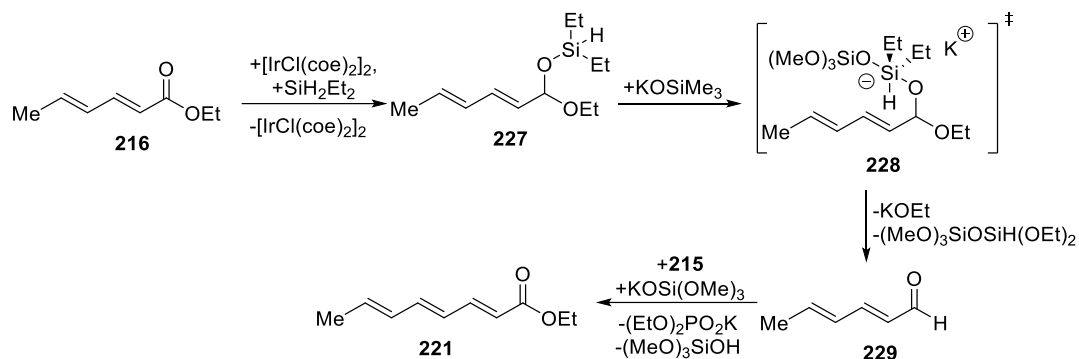
Im weiteren Verlauf wurde auf die Oxidation des *E*-Dodecapentenals (**211**) verzichtet. Stattdessen wurde der Aufbau der Polyensäure **200** über die Zwischenstufe **212** geplant, welcher durch eine HWE-Reaktion des Phosphonats **214** mit *E*-Octatrienal (**196**) dargestellt wurde (Schema **60**). Da **196** bereits verfügbar war, musste lediglich das Phosphonat **214** synthetisiert werden. Dies erfolgte durch eine Arbusow-Reaktion von Bromidester **226** mit Triethylphosphit mit einer sehr guten Ausbeute von 96%. Anschließend konnte das Phosphonat **214** mit *E*-Octatrienal (**196**) in einer Ausbeute von 20% olefiniert werden. Die abschließende Verseifung von Ester **212** erfolgte unter Rückfluss in 5% methanolischer Kaliumhydroxid-Lösung und lieferte Polyensäure **200** in einer Ausbeute von 20%. Die niedrige Ausbeute der Verseifung ist unter anderem auf die schlechte Handhabbarkeit aufgrund der sehr niedrigen Löslichkeit von **212/200** zurückzuführen. So war es nicht möglich, die Verbindungen während der Verseifung bei erhöhter Temperatur vollständig in Lösung zu bringen. Eine Extraktion nach dem Ansäuern mit wässriger HCl-Lösung schlug fehl, da **200** vollständig ausfiel und in keinem Phasentrennung erzeugenden Lösungsmitteln mehr aufnehmbar war, weshalb es schließlich durch Fällung und Filtration isoliert wurde. Diese verlief jedoch nicht optimal, da die feinverteilte und geringe Substanzmenge aufgrund ihrer klebrigen Beschaffenheit nicht ohne Substanzverluste in ein geeignetes Gefäß überführt werden konnte.



Schema 60. Darstellung der Polyensäure **200** ausgehend von Ester **226**.

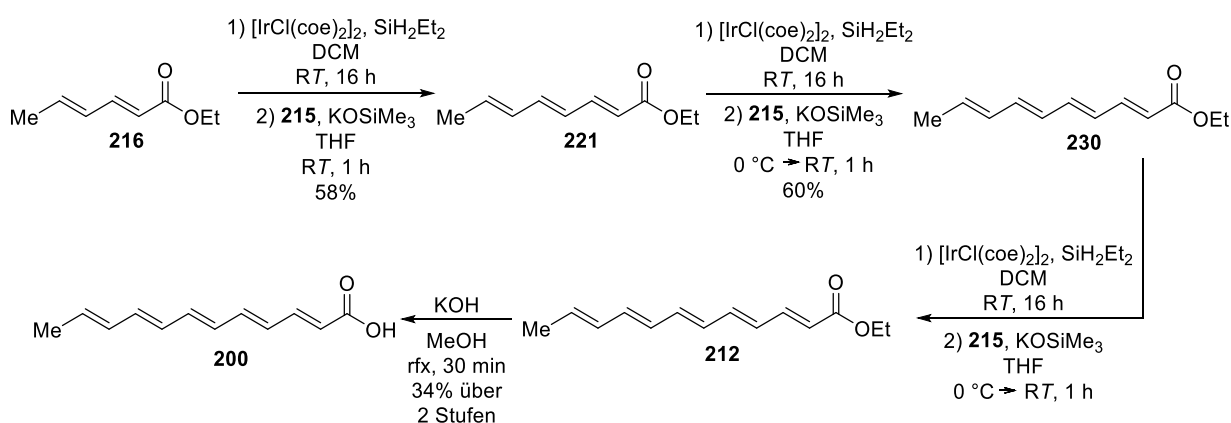
Ebenso wurde die Synthese von **200** über einen iterativen Aufbau mittels zweistufiger reduktiver HWE-Reaktion getestet. Als Startmolekül wurde *E*-Sorbinsäureethylester (**216**) verwendet. Dieses wurde zunächst unter Verwendung von Diethylsilan Iridium-katalysiert zum *O,O*-Silylacetal **227** reduziert

(Schema 61). Im zweiten Schritt wurde mit der Zugabe von Kaliumtrimethylsilonat und Triethylphosphonoacetat (**215**) die Olefinierung eingeleitet. Es wird vermutet, dass das Kaliumsilonat, welches als Lewis-Base fungiert, an das *O,O*-Silylacetal **227** unter Ausbildung des penta-kordinierten Siliziums **228** anlagert und schließlich zum Aldehyd **229**, Ethanolat und einem Siloxan fragmentiert.^[108] Der Aldehyd **229** reagierte in einer klassischen HWE-Reaktion, sodass das gewünschte *E*-Ethyloctatrienoat (**221**) ausgehend von **216** mit einer Ausbeute von 58% hergestellt werden konnte (Schema 61).



Schema 61. Darstellung von *E*-Ethyloctatrienoat (**221**) durch Iridium-katalysierte reduktive HWE-Reaktion.

Mit analogem Vorgehen wurde die Polyenkette Schritt für Schritt erweitert. Während die Synthese und Aufreinigung des *E*-Ethyldecapentenoats (**230**) mit einer Ausbeute von 60% problemfrei verlief, konnte *E*-Ethylododecapentenoat (**213**) säulenchromatographisch nicht mehr von den Siloxanverunreinigungen getrennt werden (Schema 62). Die steigende Kettenlänge wirkte sich negativ auf das Trennverhalten aus, welches auch mit dem Testen verschiedener Laufmittelgemische nicht verbessert werden konnte. Ebenso war eine reversed-phase Aufreinigung von **213** aufgrund der schlechten Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln und wegen der hohen Affinität zum C18-Säulenmaterial nicht wünschenswert. Um größere Produktverluste zu vermeiden und weil die Verunreinigungen wenig bis keinen Einfluss auf die folgende Reaktion haben sollte, wurde **213** ohne zusätzliche Aufreinigung verseift. Die Aufarbeitung der Esterentschützung verlief identisch zur Verseifung von **212** in einer Ausbeute von 34% ausgehend von **230**.



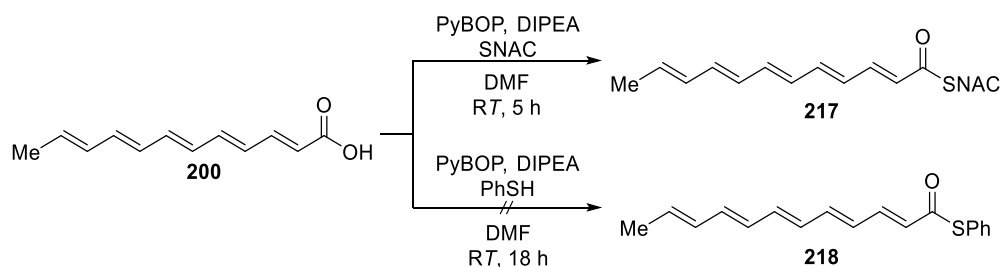
Schema 62. Darstellung von *E*-Ethylododecapentenoat (**212**) ausgehend von Sorbinsäureethylester (**216**).

Im Vergleich beider Syntheserouten zur Herstellung von Polyensäure **200** zeigt sich, dass die über die klassische HWE-Reaktion laufende Route ausgehend vom Ester **226** eine Ausbeute von 5% über drei Stufen beträgt, während die der reduktiven HWE-Reaktion eine Ausbeute von 8% über vier Stufen liefert. Weiterhin hat die reduktive HWE-Reaktion den Vorteil, dass die synthetisierten Zwischenprodukte auch über einen längeren Zeitraum bei -20 °C lagerfähig sind. Dies ist im Fall der

klassischen HWE-Reaktion nicht möglich, da das *E*-Octatrienal (**196**) nach ungefähr einer Woche bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ beginnt zu zerfallen und somit bei Bedarf jeweils frisch hergestellt werden muss. Deshalb wurde trotz der längeren Route die reduktive HWE-Reaktion bevorzugt für die Synthese von Polyensäure **200** verwendet.

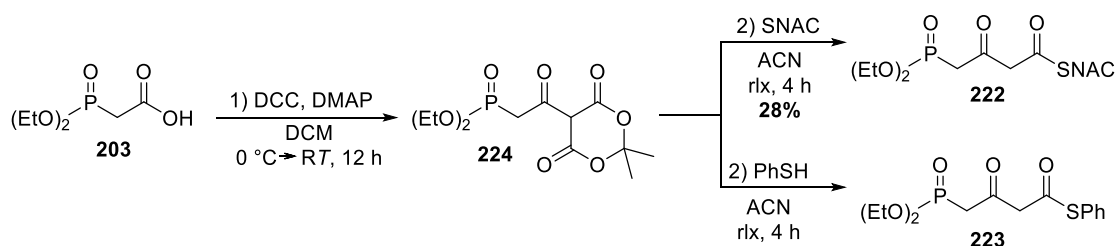
Synthese der Polyenthioester **217** und **218** und der Polyen- β -ketothioester **219** und **220**

Es wurde versucht, die Polyenthioester **217** und **218** sowie die Polyen- β -ketothioester **219** und **220** mit Hilfe der bereits synthetisierten Polyene aufzubauen. So war es möglich, die Thioester **217** und **218** in lediglich einem Schritt ausgehend von Polyensäure **200** herzustellen (Schema **63**). Dazu wurden **200** und das entsprechende Thiol unter Verwendung von PyBOP als Kupplungsreagenz miteinander verknüpft. Die Synthese für das SNAC-Derivat **217** verlief auf diesem Weg erfolgreich. In massenspektrometrischen Untersuchungen konnte das m/z von 314.1 (berechnet: 314.2) dem Produkt zugeordnet werden. Jedoch gelang es aufgrund seiner niedrigen Löslichkeit und schlechten Laufeigenschaften nicht, **217** vollständig von Verunreinigungen zu trennen. Eine $^1\text{H-NMR}$ Analyse zeigte, dass alle zu erwartenden Signale des Thioesters **217** vorhanden sind, jedoch die Integrale nicht vollständig übereinstimmen, wie das Fehlen zweier olefinischer Protonen. Dies lässt vermuten, dass die Trennung von SNAC und dem Produkt nicht vollständig verlief und sich SNAC weiterhin in der Produktfraktion befand. Weil davon auszugehen ist, dass das Produkt instabil ist und unter Lichteinfluss und bei *RT* zerfällt, wurde auf einen weiteren Aufreinigungsschritt verzichtet und das Produkt dunkel bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. In der Synthese von **218** konnte leider keine Produktbildung beobachtet werden. Möglicherweise war die Stabilität der Verbindung zu niedrig, sodass diese im Prozess der Analyse bzw. Aufreinigung zerfiel.



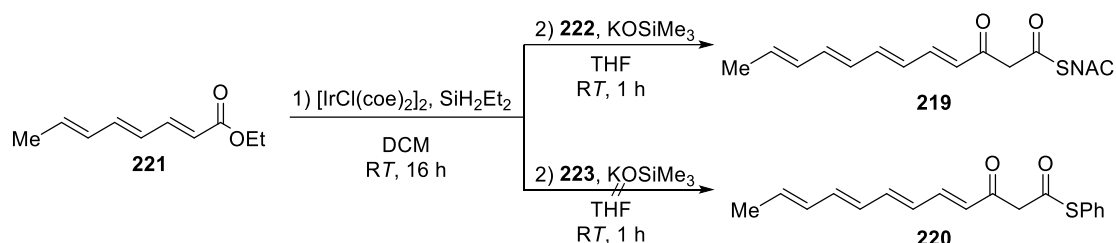
Schema 63. Darstellung der Polyenthioester **217** und **218** aus Polyensäure **200**.

Die Synthese der Polyen- β -ketothioester **219** und **220** erfolgte in einer zweistufigen Synthese (Schema **64**). Dazu musste zunächst das geeignete Phosponat **222** bzw. **223** synthetisiert werden. Dies erfolgte über eine Thiolyse bei erhöhter Temperatur von frisch synthetisiertem Phosponat **224** mit SNAC bzw. Thiophenol. Unter Freisetzung von Aceton und CO_2 konnte **222** mit einer moderaten Ausbeute von 28% dargestellt werden. Die Synthese des Thiophenol-Derivats **223** verlief ebenfalls erfolgreich. Jedoch gelang es nicht, das Phosponat **223** als Reinsubstanz zu isolieren. Eine Charakterisierung konnte aufgrund der Verunreinigungen im Spektrum nicht zweifelsfrei durchgeführt werden. Dennoch wurde auf einen weiteren Reinigungsschritt von **223** aufgrund seiner befürchteten Instabilität verzichtet und das Rohprodukt direkt in der weiteren Synthese eingesetzt.



Schema 64. Darstellung der Phosponate **222** und **223**.

Die Darstellung der Polyen- β -ketothioester **219** und **220** erfolgte mit dem zuvor synthetisierten **221**, welches nun mit den Phosphonaten **222** und **223** in einer reduktiven HWE-Reaktion umgesetzt wurde (Schema 65). Wie schon in der Synthese der Thioester **217** und **218**, konnte auch in der Synthese von Polyen- β -ketothioester **219** und **220** lediglich die Bildung des SNAC-Derivats **219** massenspektrometrisch beobachtet werden. Eine Isolierung der Reinsubstanz war trotz säulenchromatographischer Aufreinigung nicht möglich, sodass ähnlich zu Verbindung **217** eine klare Auswertung des NMR-Spektrums aufgrund von Verunreinigungen nicht möglich war.



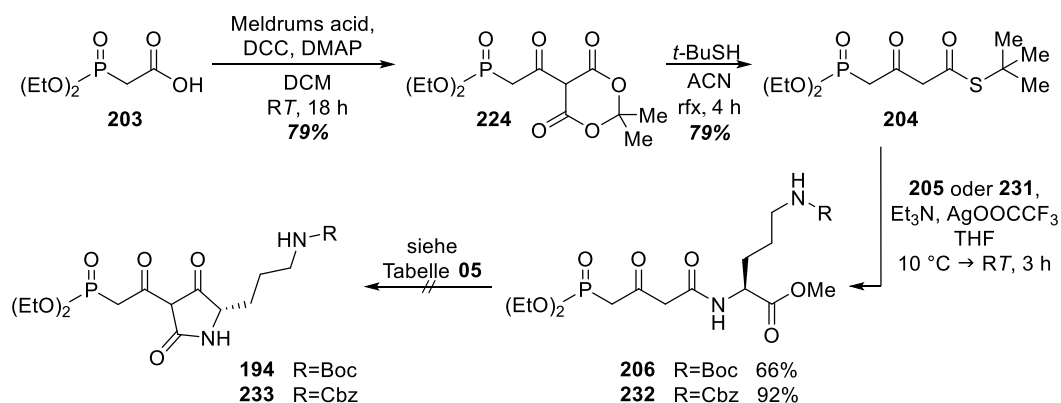
Schema 65. Darstellung der Polyen- β -ketothioester **219** und **220** ausgehend von *E*-Ethyl octatrienoat (**221**).

Es kann festgestellt werden, dass die Synthese der SNAC-gekoppelten Polyene **217** und **219** erfolgreich verlief, aber wie schon zuvor die zunehmende Kettenlänge und die damit einhergehenden Veränderungen der Löslichkeit und des Laufverhaltens den Reinigungsprozess des Produkts negativ beeinflusste. Wünschenswert wäre eine Optimierung der Aufreinigung, sodass beide Substanzen sauber isoliert werden können, um sie in den folgenden enzymatischen Experimenten einzusetzen. Zu beachten gilt, dass die beiden Substanzen wegen ihrer konjugierten Doppelbindungen und der Thioester- bzw. β -Ketothioester-Funktionalität bei RT und Lichteinwirkung zerfallen könnten und somit nicht über einen längeren Zeitraum zwischengelagert werden sollten. Die Versuche zur Synthese der Thiophenol-Derivate **218** und **220** zeigten keine Produktbildung, weshalb die Verwendung von Thiophenol als mögliches Reagenz nicht weiter untersucht wurde.

Synthese von Tetramsäure **197** mittels Dieckmann-Kondensation

Synthese der ungeschützten Tetramsäure **194**

Die Darstellung der Tetramsäure **194** wurde mit der 2-stufigen Synthese des β -Ketothioester **204** aus Diethylphosphonoessigsäure (**203**) begonnen (Schema 66). Dazu wurde **203** vergleichbar zu einer Steglich-Veresterung zunächst mit DCC und DMAP über den *O*-Acylharnstoff zum entsprechenden Acylpyridiniumion aktiviert. Dieses wurde anschließend von der mit DMAP deprotonierten Meldrumsäure unter Ausbildung einer C-C-Bindung nucleophil angegriffen und lieferte **224** in einer Ausbeute von 79%. Es wurde darauf geachtet das Phosphonat **224** kühl zu lagern und schnell zu verwenden, da längere Standzeiten in der folgenden Reaktion zu Ausbeuteeinbußen führten. Die von *tert*-Butylthiol eingeleitete Umesterung führt schließlich zum Zerfall von **224** durch Decarboxylierung und Freisetzung von Aceton zu β -Ketothioester **204** in einer Ausbeute von 79%.



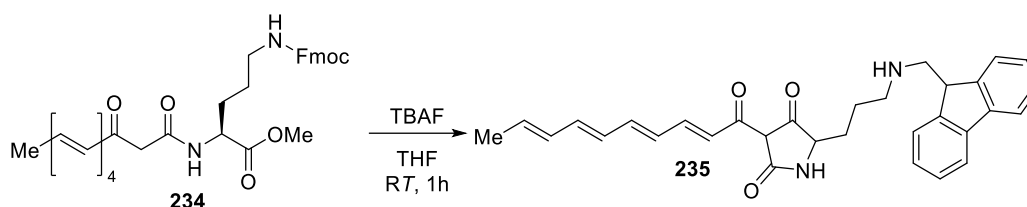
Schema 66. Synthese des β -Kethioesters **204** und Versuche zur Synthese der Tetramsäuren **194** und **233**.

Anschließend erfolgte die Amidierung des Thioesters **204** mit dem N_δ -Boc-geschützten Ornithinmethylester **205** und Silber(I)trifluoacetat als Aktivierungsreagenz in einer Ausbeute von 66%. Nun wurde die geplante Dieckmann-Kondensation an **206** durchgeführt, jedoch fand unter keiner der getesteten Reaktionsbedingungen eine Reaktion statt, sodass die gewünschte Tetramsäure **194** nicht aufgebaut werden konnte (Tabelle **05**). Um auszuschließen, dass die Modifikation der Seitenketten-Schutzgruppe der Grund für die ausbleibende Cyclisierung war, wurde der von Boeckman *et al.* verwendete N_δ -Cbz-geschützte Ornithin-methylester **231** für die Synthese des Phosphonats **232** genutzt.^[96] Die Kupplung verlief dabei mit einer deutlich höheren Ausbeute von 92%, allerdings konnte auch hier die gewünschte intramolekulare Cyclisierung zu Tetramsäure **233** im nächsten Schritt nicht durchgeführt werden, sodass die Methode verworfen wurde (Tabelle **05**).

Tabelle 05. Getestete Reaktionsbedingungen zur Dieckmann-Kondensation von **206/232** zu **197/233**.

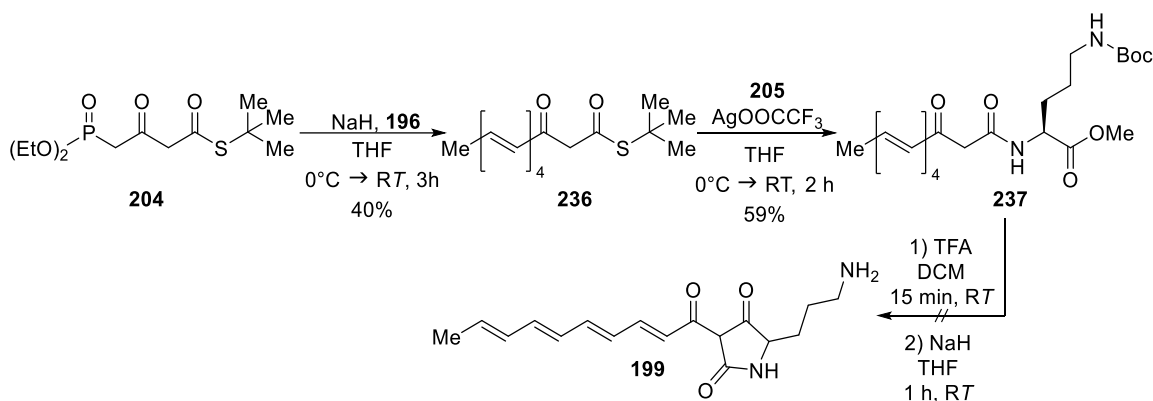
Experiment	Base	Lösungsmittel	Temperatur	Produktbildung
1	NaOMe	MeOH	RT	Nein
2	TBAF	THF	RT	Nein
3	NaH	THF	RT	Nein
4	NaOMe	MeOH	65 °C	Nein
5	TBAF	THF	55 °C	Nein
6	NaH	THF	55 °C	Nein

Aufgrund der Verfügbarkeit von **206** wurde ein Wechsel der Reaktionsreihenfolge in Betracht gezogen, ähnlich wie sie von T. Stimpel durchgeführt wurde.^[100] Hier konnte gezeigt werden, dass das Fmoc-geschützte β -Ketoamid **234** im basischen Milieu zunächst Fmoc-entschützt und anschließend cyclisiert werden kann (Schema **67**). Jedoch wurde das Abspaltungsprodukt, Dibenzofulven, vom freien Amin nucleophil angegriffen, sodass das nicht verwendbare Nebenprodukt **235** gebildet wurde.



Schema 67. Testreaktionen zur Cyclisierung von β -Ketoamid **234** durch Stimpel *et al.*

Es wurde überlegt, ob mit der Beseitigung des Dibenzofulven-Abbauprodukts durch den Austausch der Fmoc-Gruppe mit einer Boc-Gruppe, die Cyclisierung ohne Nebenprodukt realisiert werden kann. Dazu wurde der β -Kethioester **204** mit Octatrienal (**196**) in einer HWE-Reaktion zum Polyen- β -kethioester **236** umgesetzt (Schema **68**). Mit diesem und dem geschützten Ornithin **205** wurde schließlich das gewünschte β -Ketoamid **237** in 59% Ausbeute aufgebaut. Jedoch schlug die nach der Boc-Entschützung durchgeführte Cyclisierung ebenfalls fehl.

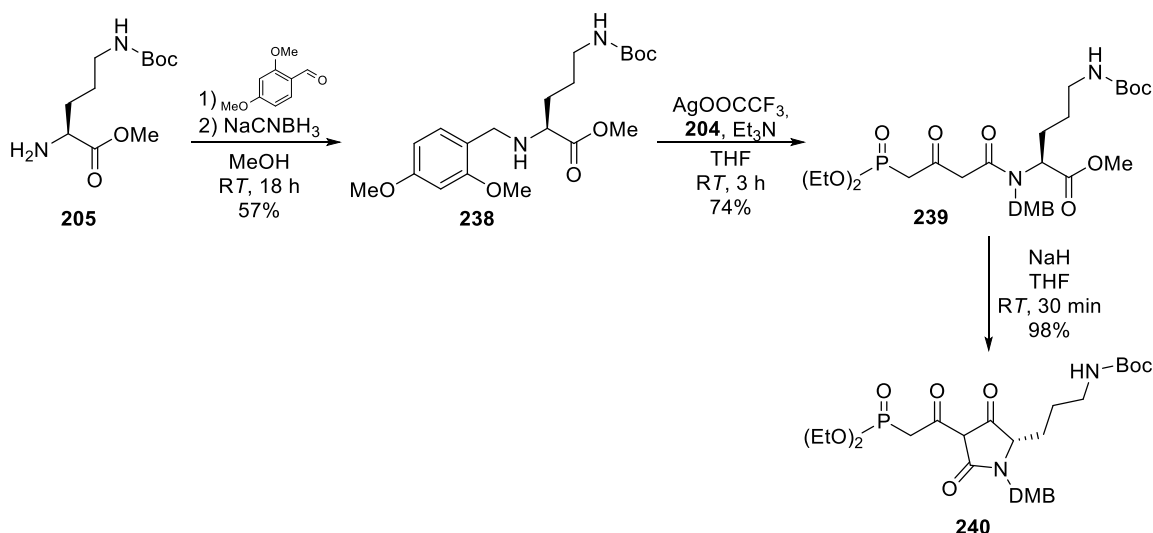


Schema 68. Synthese und Versuch zur Cyclisierung des Polyen-β-ketoamids **237**.

Nach den erfolglos durchgeführten Cyclisierungsversuchen an **206**, **232** und **237** wurde auf weitere Untersuchungen von sekundären Amiden als Ausgangsmolekül für die Tetramsäuresynthese verzichtet, da diese Stoffgruppe generell weniger geeignet ist, eine Cyclisierung zu durchlaufen, als vergleichbare tertiäre Amide.^[109,110]

Synthese der DMB-geschützten Tetramsäure **238**

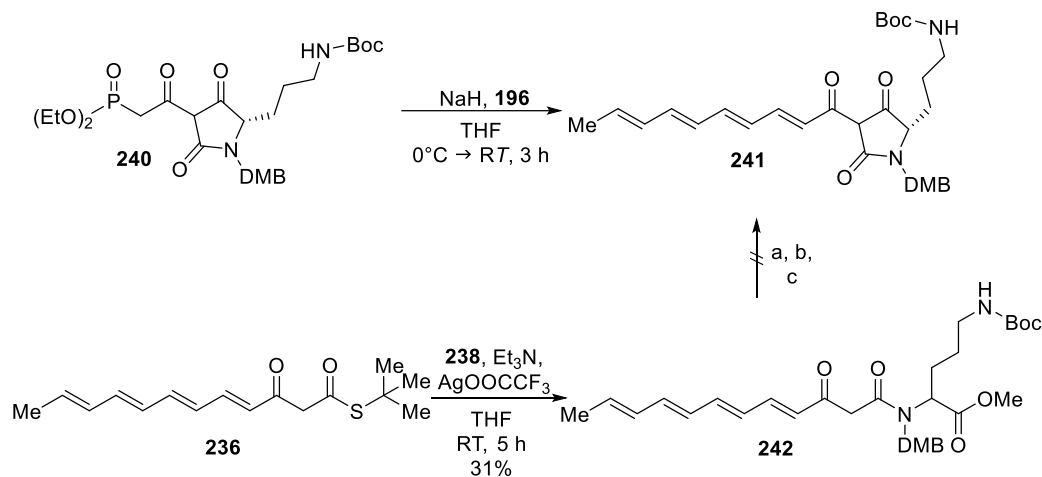
Eine Möglichkeit, die Dieckmann-Kondensation von β-Ketoamino-säuren zu vereinfachen, ist es, tertiäre Amide zu verwenden. Dabei führt der zusätzliche Substituent aufgrund seines sterischen Anspruchs zu einer Vororientierung des Methylesters mit der C-H aciden Methylengruppe, was die Cyclisierung begünstigt. Dies lässt sich zum Beispiel in der Totalsynthese von Streptolydigin, β-Lipomycin und Fuligorubin A beobachten.^[111–113] Eine Gemeinsamkeit dieser Naturstoffe ist die *N*-Alkylierung der Tetramsäure und ihre bereitwillige Cyclisierung mit Ausbeuten von über 60%. Auch wenn das IkaA-Intermediat **64** ein sekundäres Amid enthält, so sollte sich unter Verwendung einer geeigneten Schutzgruppe das zu cyclisierende Startmaterial temporär in ein tertiäres Amid überführen lassen. Eine Schutzgruppe, die für diesen Zweck in der Literatur häufig Verwendung fand, ist die 2,4-Dimethoxybenzyl-Gruppe (DMB).^[114–116] Sie ist unter den Reaktionsbedingungen der IkaA-Intermediat-Synthese stabil und lässt sich, wie die verwendete Boc-Schutzgruppe, im Säuren entschützen. Somit sollte sie mit der eingangs geplanten Synthesestrategie zur Darstellung der Tetramsäure **194** kompatibel und damit einfach integrierbar sein. Um dies zu testen, wurde der Boc-geschützte Ornithinmethylester **205** mit 2,4-Dimethoxybenzaldehyd und NaCNBH₃ über eine reduktive Aminierung in einer Ausbeute von 57% zum sekundären Amin **238** umgesetzt (Schema **69**). Amin **238** wurde unter Silber(I)-vermittelter Aktivierung mit dem β-Ketothioester **204** zum entsprechenden β-Ketoamid **239** gekuppelt. Es konnte in der Kupplungsreaktion eine Ausbeute von 74% erreicht werden, im Vergleich zu den 66% bei der Synthese von **206**. Im Anschluss wurden die Bedingungen für die Dieckmann-Kondensation an Phosphonat **239** in einer Ansatzgröße von 5 mg getestet. Als Basen wurden erneut Natriummethanolat, Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) und Natriumhydrid verwendet. Es konnte mittels LCMS-Analyse gezeigt werden, dass die Cyclisierung zur gewünschten Tetramsäure **240** mit allen getesteten Basen bei RT erfolgreich verlief. Im weiteren Verlauf der Synthese fand Natriumhydrid Verwendung, das Darstellung von **240** in exzellenten 98% Ausbeute erlaubte.



Schema 69. Reduktive Aminierung des Ornithinmethylesters **205** und Darstellung des Tetramsäurephosphonats **240**.

Darstellung von IkaA-Intermediat **64** durch HWE-Reaktion

Nach der Fertigstellung von Tetramsäure **240** konnte nun versucht werden, die beiden fehlenden Polyenseitenketten einzuführen. Beginnend mit der Decatetraenonyl-Seitenkette wurde die Tetramsäure **240** mit NaH versetzt, um das entsprechende Dianion zu bilden, welches mit *E*-Octatrienal (**196**) zur Polyentetramsäure **241** umgesetzt wurde (Schema **70**). Basierend auf chromatographischen und massenspektrometrischen Untersuchungen konnte eine vollständige Umsetzung des Startmaterials **240** zu **241** ohne relevante Verunreinigungen detektiert werden. Es wurde deshalb auf eine weitere Aufreinigung zunächst verzichtet und das Rohprodukt **241** in den folgenden Testreaktionen eingesetzt.



Schema 70. Darstellung der Polyentetramsäure **241**. a) NaOMe, MeOH, 30 min; b) TBAF, THF, RT 30 min; c) NaH, THF, RT 30 min.

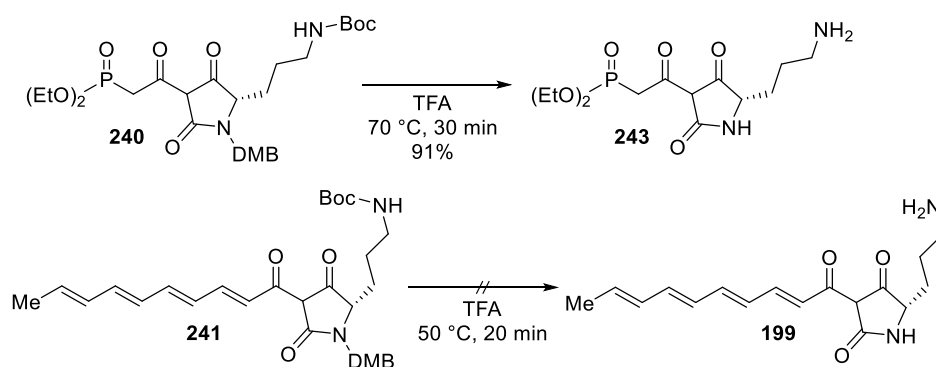
Alternativ wurde versucht, die Polyentetramsäure **241** durch eine Reaktionsumstellung der Dieckmann-Kondensation und HWE-Reaktion herzustellen. Dazu wurde zunächst der Polyenthioester **236** mit DMB-geschütztem Ornithinmethylester **238** umgesetzt (Schema **70**). Das Polyen- β -ketoamid **242** konnte mit einer Ausbeute von 31% dargestellt werden. Die anschließende Cyclisierung war jedoch unter den für Tetramsäure **240** bereits etablierten Bedingungen nicht möglich, sodass auf eine tiefgreifendere Untersuchung dieser Syntheseroute verzichtet wurde.

Als Vorbereitung für die Entschützung von Polyentetramsäure **241** wurde das Tetramsäurephosphonat **240** als einfacher zugängliches Testsystem verwendet. Es wurden TFA-Konzentrationen beginnend von 25% TFA in DCM bis zu 100% TFA bei erhöhten Temperaturen getestet (Schema **71**).

Tabelle 06. Reaktionsbedingungen und Auswertungen zur Boc- und DMB-Entschützung von **240** zu **243** anhand von LCMS-Analysen.

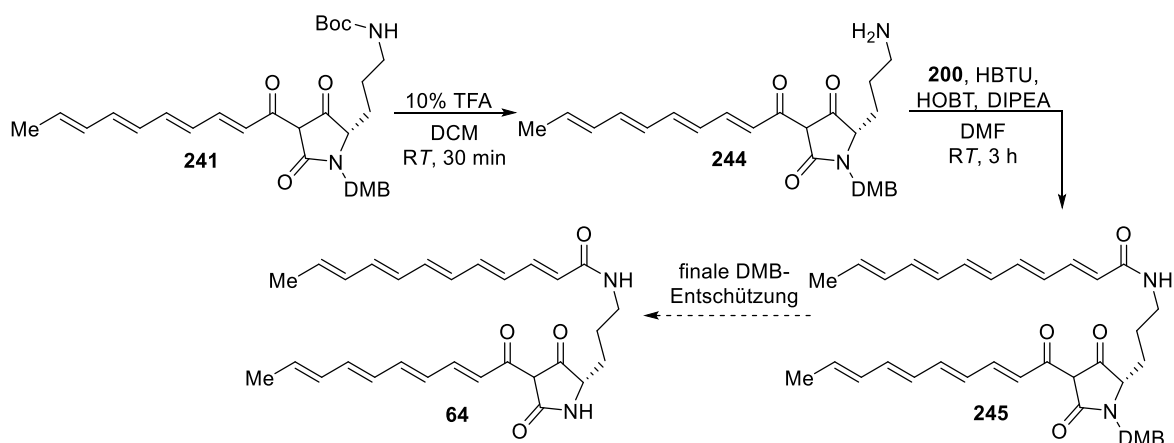
Experiment	Edukt	Lösungsmittel	Temperatur	Reaktionsdauer	Boc-/DMB-Entschützung
1	240	25% TFA/DCM	RT	18 h	100%/0%
2	240	33% TFA/DCM	RT	18 h	100%/60%
3	240	TFA	RT	18 h	100%/95%
4	240	TFA	50 °C	20 min	100%/33%
5	240	TFA	70 °C	30 min	100%/100%

Während die Boc-Gruppe unter allen getesteten Bedingungen entfernt werden konnte, war die DMB-Gruppe reaktionsträger (Tabelle **06**). Erst bei langen Reaktionszeiten von 18 h und bei Verwendung reiner TFA konnte **240** bei Raumtemperatur vollständig zu **243** entschützt werden (Einträge 1-3). Um die Reaktionszeit zu verkürzen, wurden erhöhte Reaktionstemperaturen getestet. Dabei konnte die Reaktionszeit deutlich reduziert werden, sodass in TFA bei 50 °C innerhalb von 20 min etwa 30%, bei 70 °C innerhalb von 30 min eine vollständige DMB-Entschützung erfolgte (Einträge 5, 6). Da die Entschützung bei den erhöhten Temperaturen keine Zerfallsreaktionen bzw. Nebenprodukte zeigte, wurde im Weiteren das Phosphonat **240** bei 70 °C entschützt und lieferte in 91% Ausbeute Amin **243** (Schema **71**). Mit den so gewonnenen Kenntnissen wurde nun versucht, die Polyentetramsäure **241** vollständig zu entschützen, zunächst bei 50°C. Eine Produktbildung konnte in LCMS-Untersuchungen nachgewiesen werden, jedoch nur in geringen Mengen. Die Untersuchungen legten nahe, dass durch die Entschützung hauptsächlich nicht identifizierte Nebenprodukte mit einem m/z von 352.0 und 390.1 gebildet wurden, während das Startmaterial ein m/z von 521.3 besaß und das Produkt ein m/z von 303.2 besitzen sollte.



Schema 71. Testreaktionen zur Boc- und DMB-Entschützung von **240** und **241**.

Mit dem Verdacht, dass diese Nebenreaktionen durch die Polyenkette ausgelöst wurden, welche die erhöhte Temperatur und die hohe TFA Konzentration nicht standhielt, wurde versucht, die Reaktion bei RT und einer 10% TFA/DCM Lösung durchzuführen. Die Abspaltung der DMB-Gruppe unter diesen milden Bedingungen war nicht möglich, dennoch wurde die Route fortgeführt, um Zugang zum freien Amin der Polyentetramsäure **244** zu erhalten. Mit dieser konnte nun getestet werden, ob eine Kupplung der *E*-Dodecapentensäure (**200**) mit dem Amin unter Peptidkupplungsbedingungen realisierbar wäre. Im Falle eines zufriedenstellenden Ergebnisses wäre eine Verzögerung der DMB-Entschützung denkbar, sodass **64** mittels einer finalen Entschützung des Tetramsäure **245** synthetisierbar wäre (Schema **72**).



Schema 72. Boc-Entschützung, Amidierung und mögliche DMB-Entschützung ausgehend von **241**.

Unter Ausschluss von Licht wurde dem Amin **244** im Beisein von HBTU, HOBT und DIPEA die Polyensäure **200** zugegeben. Nach einer Reaktionsdauer von 15 min konnte in massenspektrometrischen Untersuchungen die Synthese des IkaA-Intermediat-Derivats **245** in geringen Mengen festgestellt werden. Bereits nach weiteren 2.5 h konnten nur noch Spuren nachgewiesen werden, was den Schluss nahelegte, dass **245** instabil ist und zügig zerfällt. Ähnliche Beobachtungen wurden bereits für das IkaA-Intermediat **64** gemacht.^[117] Dies zeigt, dass die Stabilität durch die zusätzliche DMB-Schutzgruppe wenig bis gar nicht positiv beeinflusst wird, sondern der rasche Zerfall auf die beiden Polyenkette zurückzuführen ist. Weiterhin konnte das m/z von 551.3 als Nebenprodukt nachgewiesen werden, welches möglicherweise durch die Übertragung der Bis(dimethylamin)methylium-Gruppe auf die Hydroxyfunktion unter Ausbildung eines Uroniumsalzes **246** oder auf das freie Amin unter Ausbildung eines Guanidiumsals **247** gebildet werden konnte (Abbildung 18).

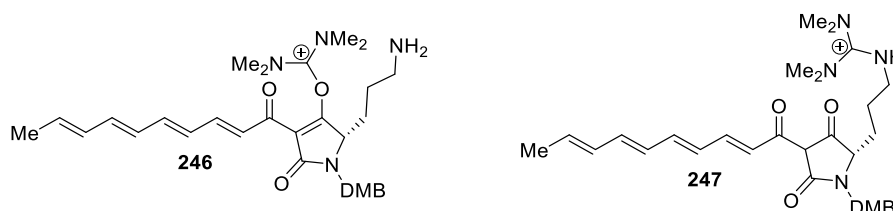
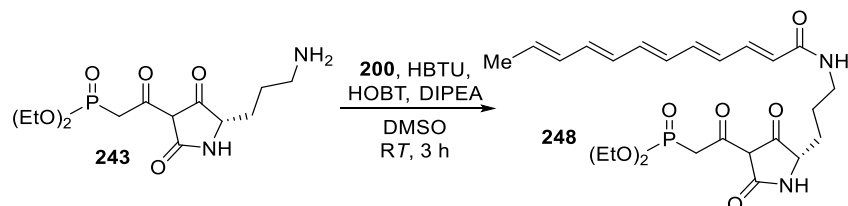


Abbildung 18. Mögliche Uronium- und Guanidinium-Nebenprodukte **246** und **247** aus der Amidierung von **244** und **200** mit HBTU.

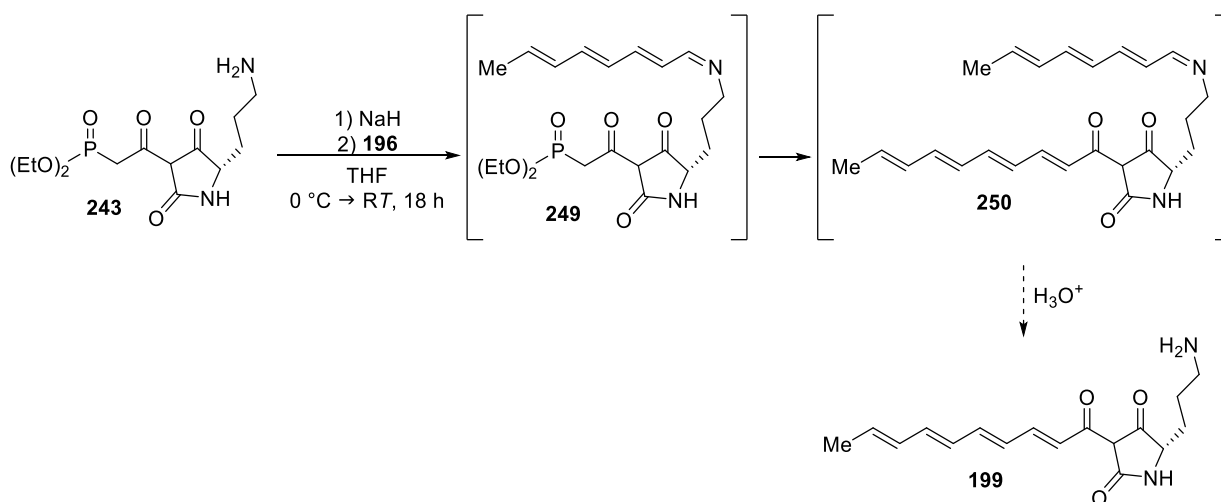
Zunächst wurde versucht, die Nebenreaktion durch die Voraktivierung der Säure **200** mit den entsprechenden Kupplungsreagenzien und der anschließenden Zugabe des freien Amins **244** zu unterbinden. Dies gelang jedoch nicht. Im Gegenteil konnte gar keine Produktbildung mehr beobachtet werden. Während die Bildung der Nebenprodukte **246** und **247** durch den Wechsel auf ein geeigneteres Kupplungsreagenz wie PyBOP oder COMU wahrscheinlich hätte behoben werden können, stellt die finale Entschützung des instabilen **245** eine auf diesem Weg wahrscheinlich nicht lösbare Schwierigkeit dar. Es ist davon auszugehen, dass **245** eine DMB-Entschützung nicht tolerieren würde. Somit ist **245** zwar nicht für die Synthese von **64** geeignet, dennoch ist es ein mögliches *N*-substituiertes Modellsubstrat für spätere Studien zu Enzym-Substrat-Interaktionen. Um die mit den Polyenkette einhergehenden Schwierigkeiten zu umgehen, wurde im Weiteren das vormalig als Testsystem verwendete Phosphonat **243** als Ausgangsstoff für die IkaA-Intermediat-Synthese verwendet und die Syntheseroute über die Polyentetramsäure **241** verworfen.

Bei Skalierung der Boc- und DMB-Entschützung des Phosphonats **243** vom niedrigen Milligrammaßstab auf niedrige Grammaßstäbe konnte festgestellt werden, dass während die Effizienz der Reaktion unverändert blieb, zunehmend Löslichkeitsprobleme bei der Isolierung des Produktes auftauchten. Zurückzuführen ist dies auf die Freisetzung der Tetramsäure und des Amins, sodass es zusätzlich zum Phosphonat nun zwei weitere polare funktionelle Gruppen im Molekül gibt. Von den im Labor verfügbaren Lösungsmitteln konnten lediglich Methanol, DMF und DMSO Phosphonat **243** in geringen Mengen lösen, wobei DMSO die besten Lösungseigenschaften besaß. Da nun das Amin der Ornithin-Seitenkette entschützt vorlag, wurde zunächst untersucht, ob dessen Amidierung mit *E*-Dodecapentensäure (**200**) möglich ist. Im Falle einer erfolgreichen Amidkupplung hätte das IkaA-Intermediat **64** ausgehend von Phosphonat **243** in zwei Stufen zugänglich sein können. Entscheidend wäre dabei, dass die Polyentetramsäure **248** stabil genug ist und die Reaktionsbedingungen der anschließenden HWE-Reaktion toleriert. Bedingt durch die Löslichkeitsprobleme sowohl des Phosphonats **243** als auch der Polyensäure **200** wurde für die Amidierung DMSO als Lösungsmittel und wie schon zuvor HBTU als Kupplungsreagenz ausgewählt (Schema **73**). Nach einer Reaktionsdauer von 3 h konnte die Polyentetramsäure **248** massenspektrometrisch nachgewiesen werden. Es gelang aber nicht diese in signifikanten Mengen aus dem DMSO zu isolieren. Wässriges Aufarbeiten mit NaCl-Lösung scheiterte an dem Zerfall von **248**. Es konnte sowohl in der organischen als auch in der wässrigen Phase nicht mehr nachgewiesen werden. Stattdessen konnten eine Vielzahl von nicht zuzuordnenden Nebenprodukten in der wässrigen Phase detektiert werden. Klassische Chromatographie scheiterte an der Polarität von **248**.



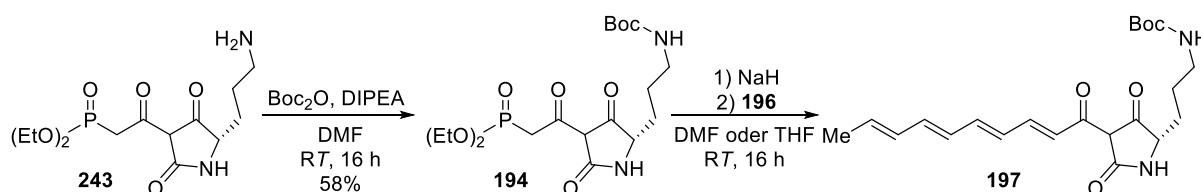
Schema 73. Darstellung des Polyentetramsäurephosphonats **248**.

Parallel wurde weiterhin die Möglichkeit verfolgt die HWE-Reaktion vor dem Installieren der Dodecapentenonyl-Seitenkette durchzuführen, um mögliche Nebenreaktionen unter den basischen Reaktionsbedingungen zu verhindern. Dazu wurde die HWE-Reaktion mit dem Phosphonat **243** und *E*-Octatrienal (**196**) durchgeführt (Schema **74**). Dabei bildete sich vorzugsweise das Imin **249** und nicht die gewünschte Polyentetramsäure **199**.



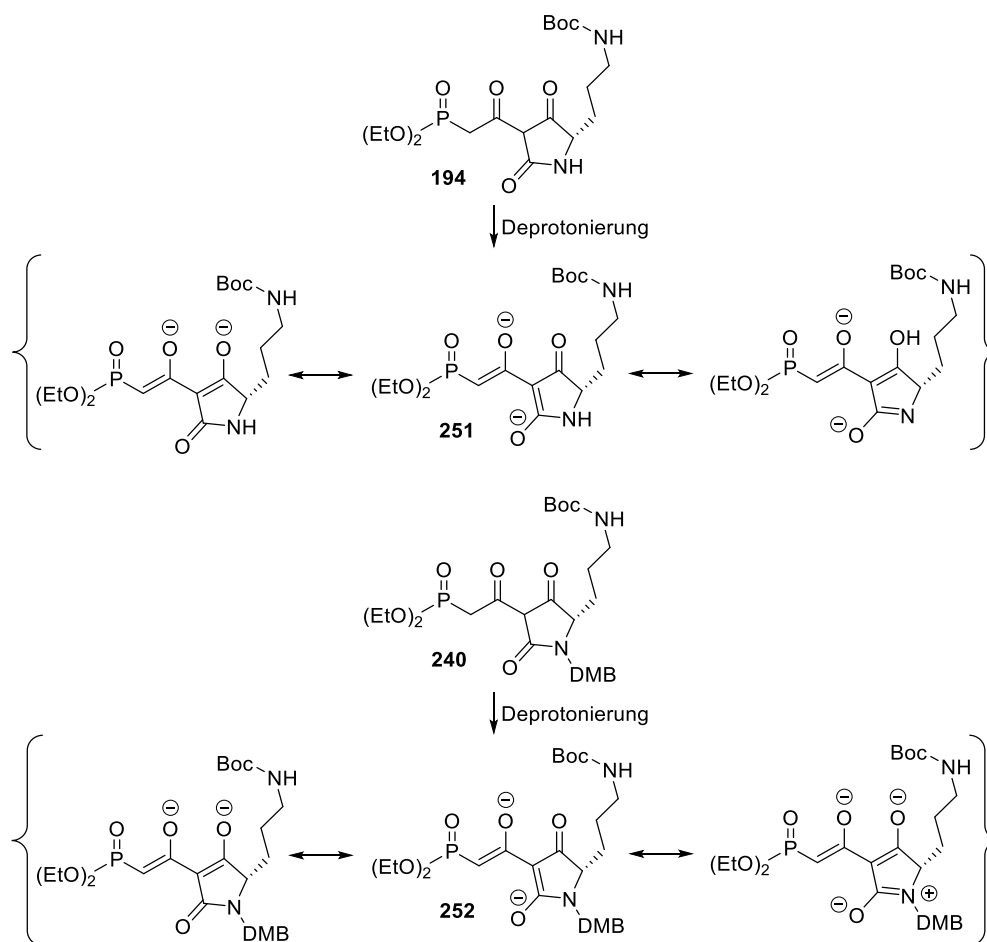
Schema 74. Versuche zur Darstellung von Polytetramsäure **199** über das Imin-Intermediat **249**.

Durch eine Erhöhung der Äquivalente von **196** wurde versucht das Startmaterial vollständig in das Intermediat **250** zu überführen, sodass das Amin nach einer sauren wässrigen Aufarbeitung aus dem Imin zurückgewonnen werden könnte. Eine Testreaktion konnte zeigen, dass die Iminbildung schnell und nahezu quantitativ verlief, die Olefinierung des Iminintermediats **249** jedoch nur schleppend und mit schlechtem Umsatz. Eine direkte Olefinierung von **243** ohne vorherige Iminbildung konnte nicht beobachtet werden. Ebenfalls konnte eine weitere Erhöhung der *E*-Octatrienal (**196**) Konzentration die Reaktion nicht in die gewünschte Richtung lenken. Um zunächst die komplexere Reaktionsführung zu vereinfachen und den Grund für die schlechten Reaktionsergebnisse aufklären zu können, wurde das Phosphonat **243** mit Boc₂O und DiPEA in das Boc-geschützte Phosphonat **194** in einer Ausbeute von 58% umgesetzt (Schema **75**). Es wurde sich erhofft, dass die Löslichkeit des Phosphonatbaustein so auch verbessert werden könnte. Weiterhin sollte ein negativer Einfluss des freienamins oder des *in situ* erzeugten Imins mit seiner langen Polyenkette auf die HWE-Reaktion ausgeschlossen werden. Aber auch mit dem Boc-geschützten Phosphonat **194** konnten die bestehenden Schwierigkeiten nicht ausreichend gelöst werden. Zwar konnte die Löslichkeit in geringem Maße verbessert werden, jedoch lieferte die HWE-Reaktion keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Es konnten Spuren der gewünschten Polyentetramsäure **197** nachgewiesen werden. Diese waren aber für eine Isolierung des gewünschten Produktes **197** und das Fortsetzen von präparativen Arbeiten nicht ausreichend.



Schema 75. Boc-Schätzung und HWE-Reaktion ausgehend von Phosphonat **243**.

Während **240** noch bereitwillig die HWE-Reaktion durchlief, ist dies für das strukturell nah verwandte **194** nicht möglich. Einzig das Vorhandensein der DMB-Schutzgruppe am Tetraamidsäureamid unterscheidet die beiden Moleküle. Dies legt den Schluss nahe, dass die Schätzung der Amidfunktion notwendig ist für eine erfolgreiche Olefinierung. Eine mögliche Erklärung ist der Einfluss, den die Amidfunktion auf das mesomeriestabilisierte System im doppelt deprotonierten Zustand der Tetraamidsäure **194** und somit auch auf die Reaktivität des zum Phosphonat benachbarten Carbanions hat (Schema **76**). Im Falle der deprotonierten und ungeschützten Tetraamidsäure **251** können die negativen Ladungen auch durch die Deprotonierung des Stickstoffs besser delokalisiert werden.^[114] Dies führt zum Abfall der Nucleophilie des Phosphonatcarbanions und einem Unterbleiben der Addition des Aldehyds **196**. Dies ist bei dem deprotonierten und DMB-geschützten **252** nicht mehr gegeben, da nun der Stickstoff nicht mehr deprotoniert werden kann und die Beteiligung an der Mesomeriestabilisierung lediglich mit seinem freien Elektronenpaar erfolgen kann, welches aber zu einer positiv geladenen Imminiumstruktur führen würde und daher wenig begünstigt ist. Es ist daher davon auszugehen, dass eine effiziente Kupplung von *E*-Octatrienal (**196**) an das Carbanion nur im Beisein einer Amid-Schutzgruppe durchzuführen ist.

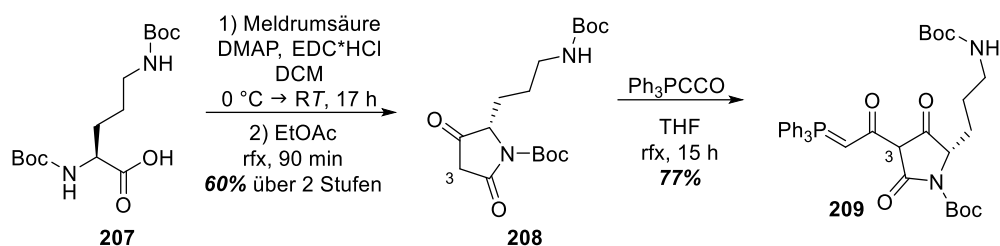


Schema 76. Darstellung zur Mesomeriestabilisierung des deprotonierten **194** im Vergleich zu **240**.

Mit den Erfahrungen aus den vorherigen Experimenten wurde eine alternative Schutzgruppe zur DMB-Gruppe gesucht. Da bereits gezeigt werden konnte, dass die Boc-Gruppe im Beisein der Polyenkette abgespalten werden kann, wurde eine alternative Route in Betracht gezogen, in der eine Boc-geschützte Tetramsäure Verwendung findet.

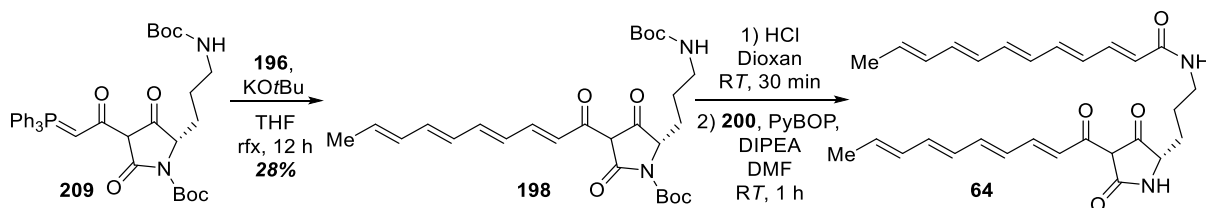
Synthese von IkaA-Intermediat **64** über Tetramsäure **209**

Die Synthese einer Boc-geschützten Tetramsäure begann mit dem Aufbau der C-3 unsubstituierten Tetramsäure **208** (Schema **77**). Dazu wurde im ersten Schritt **207** an der freien Säure mit EDCI und DMAP aktiviert und unter C-C-Bindungsknüpfung mit Meldrumsäure kondensiert. Anschließend erfolgt beim Erhitzen unter Rückfluss eine 5-exo-trig Cyclisierung des gebildeten Intermediats. Eingeleitet wird diese durch den nucleophilen Angriff des Ornithin N_α , wobei die Triebkraft der Reaktion die Freisetzung von Aceton und CO_2 ist. Ausgehend vom Ornithin **207** konnte so die Tetramsäure **208** in einer Ausbeute von 60% dargestellt werden. Nun wurde das für die spätere Wittig-Reaktion benötigte Ylid eingeführt. Unter erneutem Erhitzen greift die CH-acide C-3-Position der Tetramsäure **208** das reaktive Keten an, sodass als Additionsprodukt die gewünschte Phosphorantetramsäure **209** in einer Ausbeute von 77% gebildet wurde.



Schema 77. Darstellung der Phosphorantetramsäure **209** ausgehend von Di-Boc-L-Ornithin (**207**).

Mit dem Bereitstellen der Phosphorantetramsäure **209** konnte die kürzere der beiden Polyketten, die Decatetraenonyl-Seitenkette, durch eine Wittig-Reaktion eingeführt werden (Schema **78**). Die aufgebaute Doppelbindung besitzt die erwünschte *E*-Konfiguration, da das verwendete Ylid durch die benachbarte Carbonylfunktion und die Phenyl-Reste am Phosphor stabilisiert ist. Die Ausbeute an **198** war mit 28% niedrig. Dies ist möglicherweise mit der Sensibilität der Startmaterialien, insbesondere **196**, gegenüber der hohen Reaktionstemperatur und den stark basischen Reaktionsbedingungen begründbar. Die anschließende Boc-Entschützung wurde sowohl mit 10% TFA/DCM Lösung als auch mit 4 M HCl/Dioxan-Lösung bei RT durchgeführt. Beide Reaktionen lieferten das gewünschte Produkt **199** in nahezu quantitativen Ausbeuten. Schließlich wurde sich für die Entschützung mit 4 M HCl/Dioxan-Lösung aufgrund der besseren Handhabbarkeit des Endprodukts entschieden, da hier nach der Entfernung des Lösungsmittels das Produkt als tiefroter Feststoff erhalten wurde, während die Entschützung mit 10% TFA/DCM Lösung einen öligen Rückstand lieferte.



Schema 78. Darstellung von IkaA-Intermediat (**64**) ausgehend von Phosphorantetramsäure **209**.

Mit den Erfahrungen aus der Amidierung der DMB-geschützten Polyentetramsäure **244** wurde die freie Tetramsäure **199** nicht mit HBTU sondern mit PyBOP gekuppelt. Durch den Wechsel von einem Aminium-basierenden zu einem Phosphonium-basierenden Kupplungsreagenz sollte die für **244** beschriebene Nebenreaktion unterbunden werden. Für die Reaktion wurde die Polyensäure **200** mit PyBop und DIPEA in DMF suspendiert und kurze Zeit gerührt. Durch die Überführung der Polyensäure **200** in den entsprechenden Aktivester klärte die Suspension auf, sodass nachdem kein Niederschlag mehr in der Lösung zu sehen war, die Polyentetramsäure **199** zugegeben wurde. Nach einer Reaktionszeit von 1 h konnte in LCMS-Analysen beobachtet werden, dass das gewünschte IkaA-Intermediat **64** synthetisiert wurde. Sowohl das UV/VIS-Spektrum mit den entsprechenden Absorptionsmaxima deckt sich mit den in der Literatur publizierten Daten, als auch die durch HR-MS gefundene *m/z* von 475.2585 stimmen mit dem berechneten *m/z* von 475.2591 überein (Abbildung **19**). Weiterhin wurde bei zeitlich gestaffelten Messungen herausgefunden, dass mit steigender Reaktionszeit keine weitere Produktbildung stattfand, sondern im Gegenteil die Konzentration des IkaA-Intermediats **64** langsam abnahm, sodass, ähnlich wie das DMB-geschützte IkaA-Intermediat **245**, auch **64** in Reaktionslösung nicht stabil ist. Dies führte zu der Entscheidung, die Reaktion nach 1 h abzubrechen.

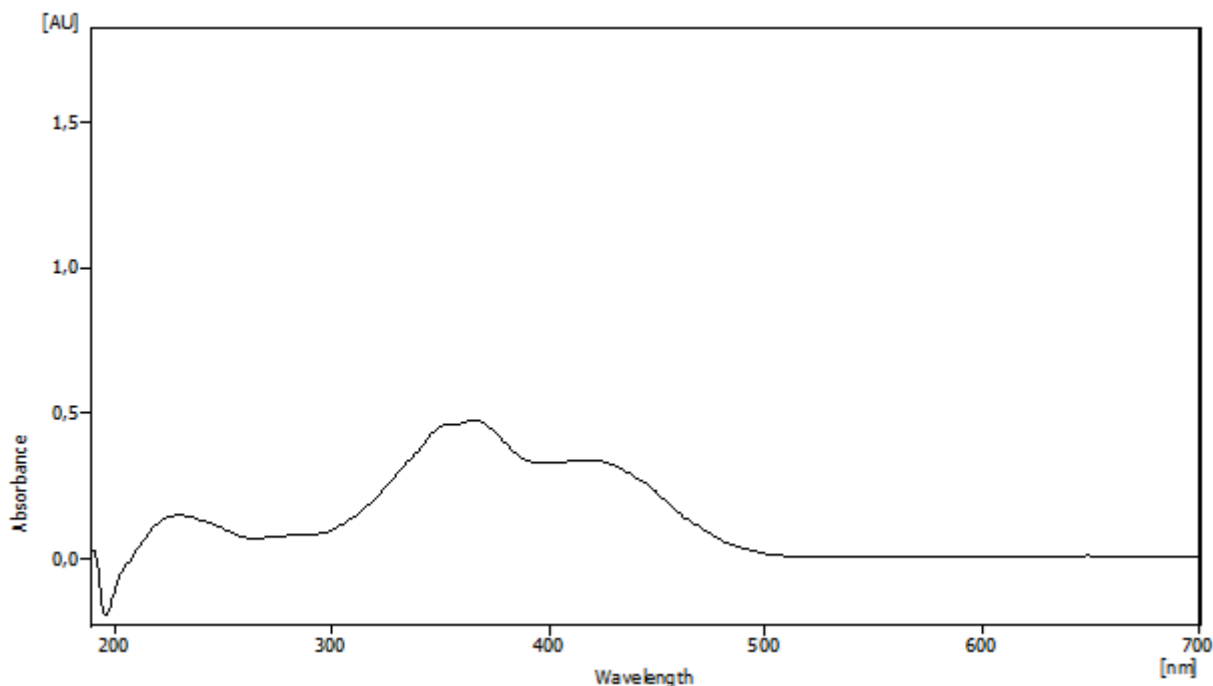


Abbildung 19. UV/VIS-Chromatogramm von IkaA-Intermediat **64** mit Absorptionsmaxima bei 229 nm, 351 nm, 368 nm, 422 nm.

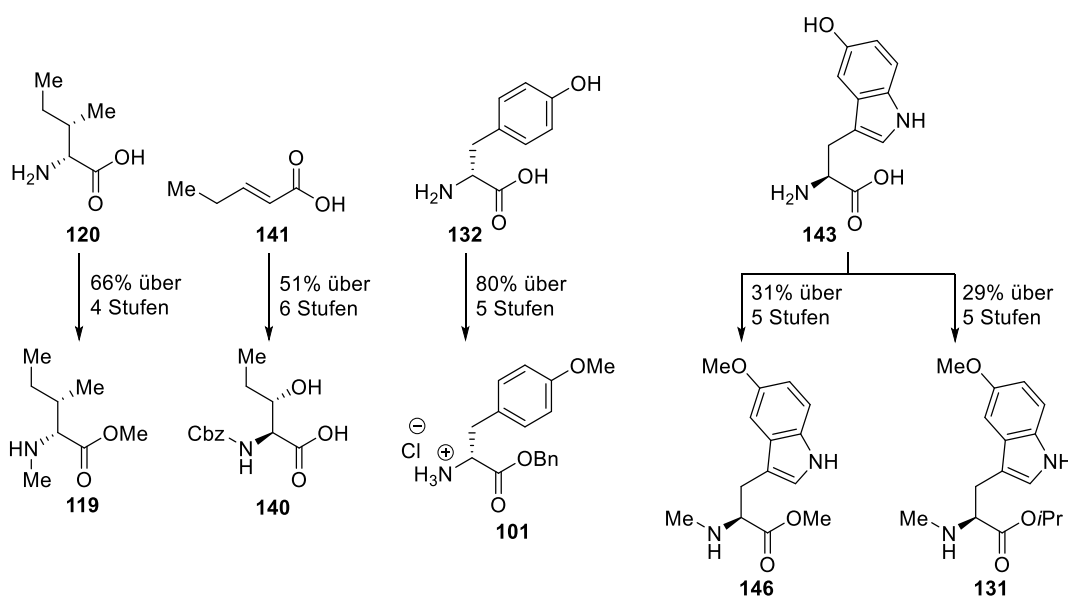
Anzumerken ist, dass aufgrund des unpolaren Charakters der Polyenseitenketten die Chromatographie an einer C8-Säule erfolgte und das IkaA-Intermediat **64** bei hohen ACN-Konzentrationen in unscharfen, breiten Peaks eluierte. Eine Nutzung von C18-Säulen war nicht möglich, da hier die Elution erst beim Spülen der Säule mit 95% bzw. 100% ACN erfolgte. Eine Aufreinigung gestaltete sich aufgrund der geringen Löslichkeit in Wasser und unpolaren organischen Lösungsmitteln und der Instabilität von **64**, +insbesondere der Sensibilität gegenüber Hitze und Licht, als schwierig. Versuche **64** durch Extraktion aufzureinigen schlugen fehl, da sobald die Reaktionslösung mit Wasser, EtOAc oder DCM vermischt wurde, das Produkt ausfiel. Mit dem Gedanken diese Eigenschaft für die Aufreinigung zu nutzen, wurde versucht IkaA-Intermediat **64** über eine Fällung und anschließendes Dekantieren aufzureinigen, aber auch dies war nur bedingt möglich. Zwar konnte so das DMF und die wasserlöslichen Komponenten wie die Kupplungsreagenzien entfernt werden, jedoch befand sich das Produkt weiterhin in einem Gemisch mit den nicht abreagierten Resten der Polyensäure **200**. Der so gewonnene und in MeOH gelöste Niederschlag und die mit MeOH verdünnte Reaktionslösung wurden für HPLC Aufreinigungen verwendet, jedoch schlugen diese sowohl mit C8- als auch C18-Säulenmaterial fehl. Denn sobald die verdünnten Proben injiziert wurden und auf die Wasserfront in der Vorsäule trafen, fiel Produkt in den Gerätschaften aus und verursachte so Überdruckprobleme bzw. das Verstopfen der Vorsäule. Ein Ändern der Reinigungsmethode dahingehend, dass die Reinigungsläufe bei einer ACN-Konzentration von 50% beginnen um das Ausfallen der Substanz beim Auftreffen auf die Wasserfront zu verhindern, wurden getestet aber waren nicht zielführend. Es gilt in zukünftigen Arbeiten die Synthese von **64** zu reproduzieren und eine geeignete Methode für dessen Aufreinigung zu finden.

Zusammenfassung und Ausblick

Cycloheptamycin und seine Derivate

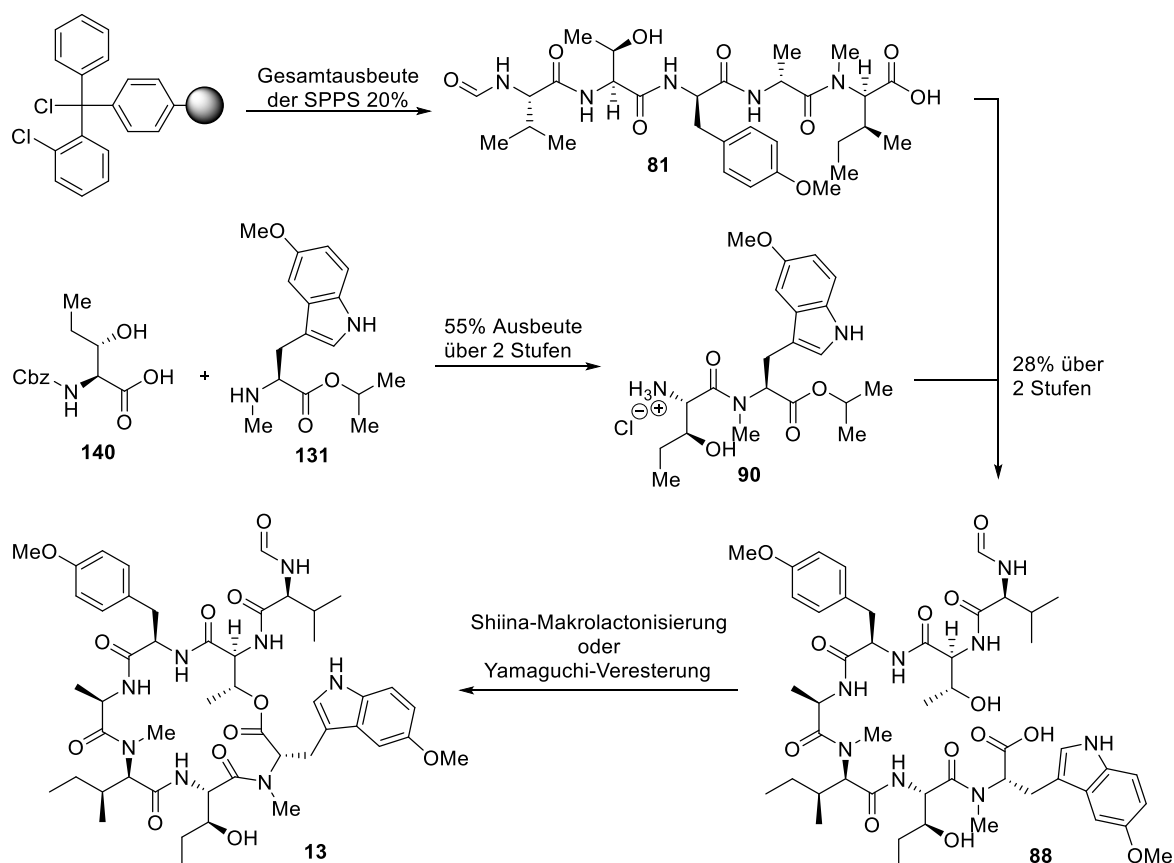
Das selektiv gegen *A. propionis* wirksame Depsipeptid Cycloheptamycin (**13**) und dessen lineares Derivat, Cycloheptamycin Z (**17**), sollten im Rahmen dieser Arbeit totalsynthetisch dargestellt werden, auch um eine zweifelsfreie Strukturaufklärung zu ermöglichen. Dabei sollten die totalsynthetisch dargestellten Referenzsubstanzen mit den biologisch produzierten **13** und **17** mit Hilfe von NMR-Spektroskopie verglichen werden. Weiterhin sollte die Totalsynthese des Cycloheptamycin (**13**) genutzt werden, um Derivate darzustellen, mit dem Ziel, Struktur-Aktivitäts-Beziehungen eingehender erforschen zu können. Dazu wurden aufbauend auf meiner vorausgegangenen Masterarbeit verschiedene Syntheseansätze konzipiert und verfolgt.^[1]

Um **13** und **17** darstellen zu können, mussten zunächst Synthesen für β -Hydroxynorvalin (**85**) und *N*-Methyl-*D*-*allo*-isoleucinmethylester (**119**) etabliert werden. Für **119** gelang dies mit Hilfe der Fukuyama-Mitsunobu-Alkylierung. Es konnte so ausgehend von *D*-*allo*-Isoleucin (**120**) der benötigte *N*-methylierte Isoleucinmethylester **119** über vier Stufen mit einer Ausbeute von 66% erhalten werden. Die Synthese von β -Hydroxynorvalin (**85**) knüpfte an die Versuche der vorausgegangenen Masterarbeit an und konnten im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich beendet werden.^[1] So war es möglich über den Serinorthoester **113** die Hydroxynorvalin-Derivate **137** und **140** darzustellen. Aufgrund der hohen Stufenzahl dieser Synthesen wurde parallel eine alternative Route erforscht. In dieser konnte mit Hilfe der Sharpless-Dihydroxylierung als Schlüsselschritt **140** mit einer sehr guten Ausbeute von 51% über sechs Stufen dargestellt werden. Weiterhin konnten Synthesen für *O*-Methyl-*D*-tyrosin- und 5-Methoxytryptophan-Derivate optimiert werden. So wurden in beiden Fällen Startmoleküle ausgewählt, die an der Position der zukünftigen Methoxy-Gruppe eine Hydroxyfunktion trugen. Diese Hydroxyfunktion wurde schließlich mit MeI methyliert. Nachteile, wie das Auftreten von Nebenreaktionen für das *O*-Methyl-*D*-Tyrosin-Derivat **112** oder die Notwendigkeit einer Racemattrennung mit einer maximalen Ausbeute von 50% für das 5-Methoxytryptophan-Derivat **128** konnten damit umgegangen und die Gesamtausbeuten so deutlich erhöht werden. So war es möglich, den gewünschte *O*-Methyl-*D*-tyrosinbenzylester (**101**) mit einer sehr guten Ausbeute von 80% über fünf Stufen und das *N*-Methyl-5-methoxy-*L*-tryptophanmethylester (**146**) bzw. dessen Isopropylester (**131**) über fünf Stufen mit Ausbeuten von 31% bzw. 29% zu erhalten.



Schemata 79. Übersicht über die Anzahl der Synthesestufen und Ausbeuten der etablierten Syntheserouten zu den Aminosäurebausteinen **119**, **140**, **101**, **146** und **131** für die Synthese von **13** und **17**.

Mit Hilfe der verfügbaren Aminosäurebausteine war es möglich, eine Synthese für Cycloheptamycin (**13**) zu entwickeln und erfolgreich durchzuführen. Eine finale Makrolactonisierung des linearen Heptapeptids **88** stellte dabei den Schlüsselschritt dar, welcher sowohl mit der Yamaguchi-Veresterung als auch mit der Shiina-Makrolactonisierung das gewünschte Produkt in ähnlicher Effizienz lieferte. Die Synthese des linearen Heptapeptids **88** erfolgte aus dem Pentapeptid **81** und dem Dipeptid **90** über zwei Stufen mit einer Ausbeute von 28% als Isomergemisch. Während das Dipeptid **90** aus **140** und **131** mit einer Ausbeute von 55% über zwei Stufen mittels Flüssigphasensynthese dargestellt werden konnte, wurde das Pentapeptid **81** mittels Festphasensynthese und einer Gesamtausbeute von 20% als Diastereomergemisch erhalten.

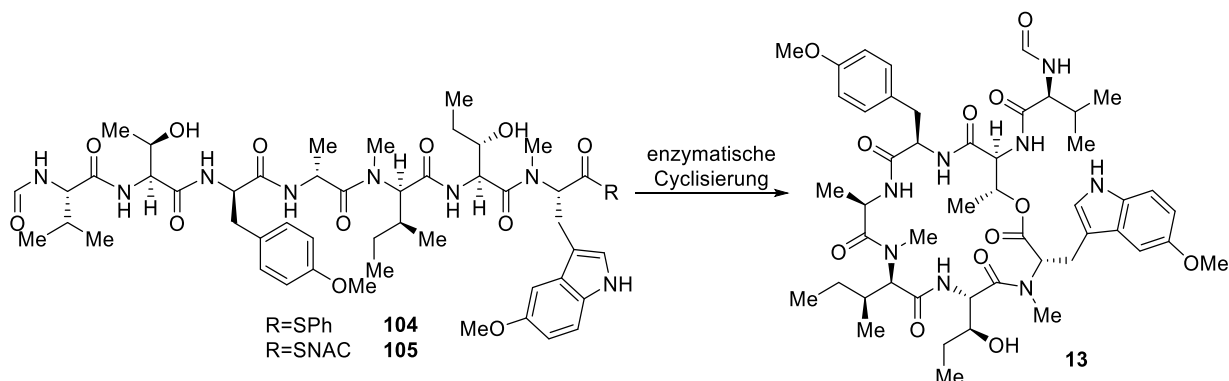


Schema 80. Erfolgreich durchgeführte Makrolactonisierung von Cycloheptamycin (**13**) unter Verwendung der Shiina-Makrolactonisierung und der Yamaguchi-Veresterung im Testmaßstab.

Eine Isolierung und Charakterisierung von **13** durch NMR-Spektroskopie war leider aufgrund der zu kleinen Ansatzgrößen und der geringen Reaktionsumsätze zum Ende der Arbeit hin nicht mehr möglich. In zukünftigen Arbeiten gilt es den finalen Makrolactonisierungsschritt umfassender zu erforschen, um eine effizientere Cyclisierung zu ermöglichen. Um für die anstehenden Testreaktionen ausreichend Material bereitstellen zu können, könnte die Synthese verschiedener Zwischenstufen ebenfalls überarbeitet werden. Hier wäre die Umstellung der Schutzgruppenstrategie zum Dipeptid **90** von einer Isopropylester-Gruppe auf eine *tert*-Butyl-Schutzgruppe erwähnenswert, sodass eine saure Entschützung statt einer basischen durchgeführt werden könnte.

Neben der vollsynthetischen Totalsynthese wurde ebenfalls die chemo-enzymatische Totalsynthese von Cycloheptamycin (**13**) erfolgreich durchgeführt. Hier konnten mit Hilfe der Cycloheptamycin-Thioesterase (*cyh*-TE) und den Heptapeptidthioestern **104** und **105** eine biokatalytische Makrolactonisierung durchgeführt werden (Schema **81**). Die Ausbeute konnte anhand der massenspektrometrischen Analysen auf 12% abgeschätzt werden. Aufgrund des geringen

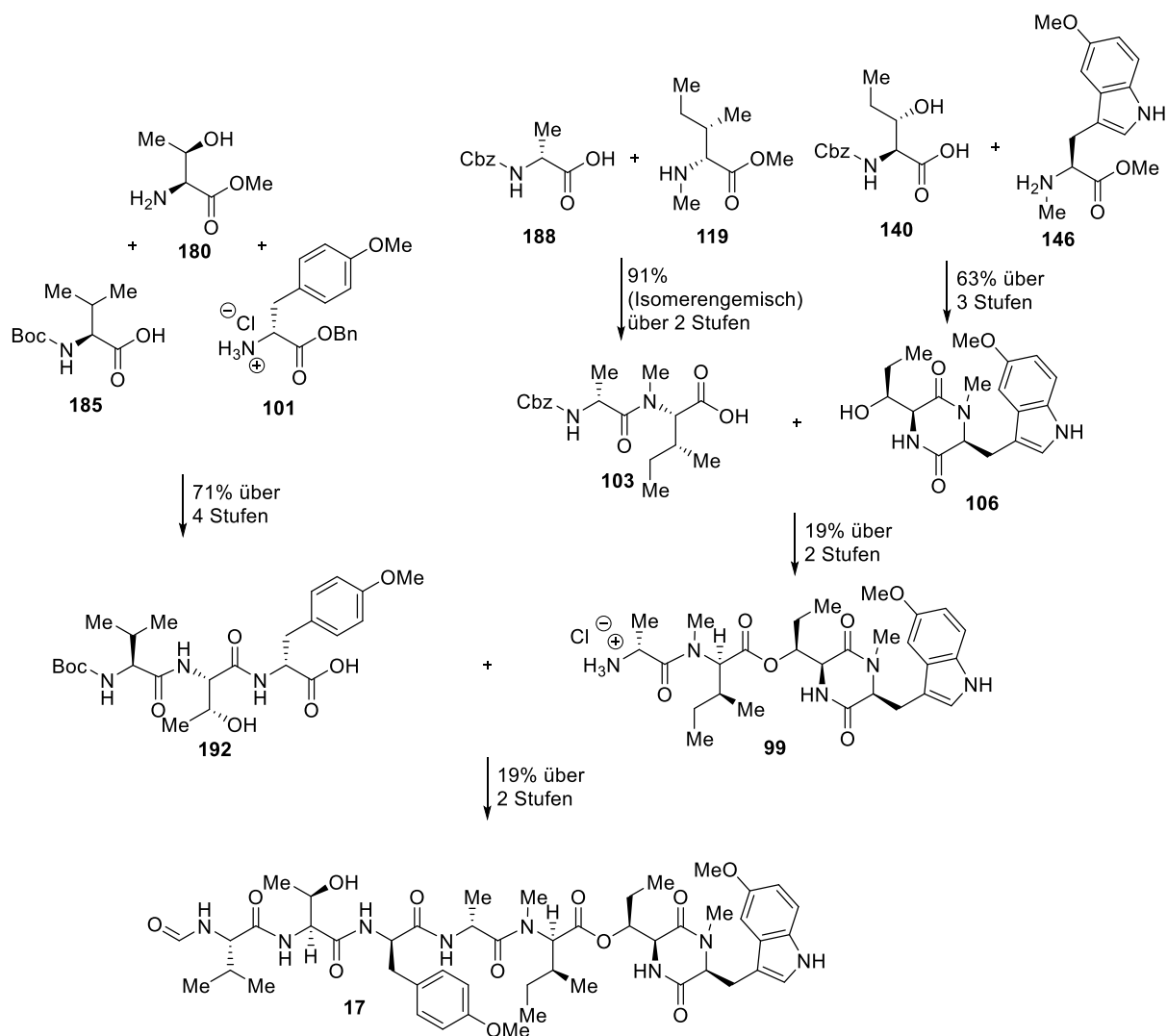
Reaktionsumsatzes und der engen Substrattoleranz der TE wurde die biokatalytische Cyclisierung für die Totalsynthese nicht weiterverfolgt. Jedoch könnte versucht werden, diese Limitierungen in weiterführenden Arbeiten zu erforschen und ggf. zu optimieren.



Schema 81. Darstellung von Cycloheptamycin (**13**) mittels enzymatischer Cyclisierung der linearen Thioestersubstrate **81** und **82** mit Hilfe der *cyh*-Thioesterase.

Alternative Syntheserouten, wie eine reine Festphasensynthese von **88** oder eine finale Makrolactamisierung, für die Darstellung von **13** wurden konzipiert und untersucht. So war es mit Hilfe dieser Synthesen möglich das strukturell leicht vereinfachte Cycloheptamycin-Derivat **79** (Austausch von Hydroxynorvalin zu Threonin und *N*-Methyl-5-methoxytryptophan zu *N*-Methyltryptophan) darzustellen. Übertragungen dieser Routen auf das Cycloheptamycin (**13**) wurden jedoch im Verlauf dieser Arbeit als weniger aussichtsreich eingeschätzt und nicht weiter verfolgt.

Ebenfalls konnte das bisher uncharakterisierte Cycloheptamycin Z (**17**) totalsynthetisch dargestellt und die dazu gehörigen NMR-Spektren vollständig zugeordnet werden. Beim Vergleich der ¹H-NMR-Spektren von synthetisch- und biotechnologisch-produziertem Cycloheptamycin Z (**17**) zeigte sich, dass die beiden Substanzen identisch sind. Somit konnte eine eindeutige Strukturaufklärung des isolierten Naturstoffs erfolgen. Die Darstellung des Cycloheptamycin Z (**17**) erfolgte über zwei Stufen aus dem Tripeptid **192** und Tetrapeptid **99** mit einer Gesamtausbeute von 19%. Das Tripeptid **192** konnte über vier Stufen aus den Aminosäuren **185**, **180** und **101** mit einer sehr guten Gesamtausbeute von 71% dargestellt werden. Aus den Kupplungen der Aminosäuren **188** mit **119** bzw. **140** mit **146** konnte das Dipeptid **103** über zwei Stufen mit einer Ausbeute von 91% als Diastereomergemisch bzw. das Diketopiperazin **106** über drei Stufen mit einer Ausbeute von 69% dargestellt werden. Diese wurden anschließend genutzt, um das Tetrapeptid **99** zu synthetisieren, welches nach einer Isomerentrennung mit einer Ausbeute von 7% erhalten wurde. Eine zukünftige Weiterentwicklung der Totalsynthese wäre denkbar und könnte eine tiefere Untersuchung der Formylierungsreaktion sowie die Umstellung der Schutzgruppenstrategie in der Synthese des Dipeptids **103** beinhalten. Der Wechsel von der Methylester- auf die *tert*-Butylesterschutzgruppe könnte die Isomerentrennung nach der Synthese des Tetrapeptids **99** überflüssig machen und folglich eine höhere Ausbeute liefern.



Schema 82. Totalsynthese von Cycloheptamycin Z (**18**).

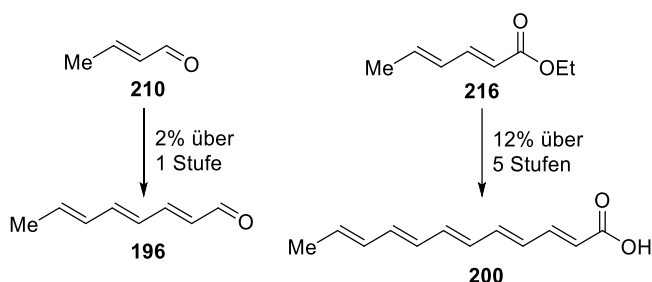
Abschließend kann zusammengefasst werden, dass eine aussichtsreiche totalsynthetische und chemoenzymatische Darstellung von Cycloheptamycin (**13**) konzipiert und durchgeführt wurde. Weiterhin erfolgte eine erfolgreiche Totalsynthese und Strukturaufklärung von Cycloheptamycin Z (**17**).

Ikarugamcin-Intermediat **64**

Um die Biosynthese des Ikarugamcins (**18**) besser verstehen zu können, ist es notwendig die damit einhergehenden enzymkatalysierten Prozesse mechanistisch zu untersuchen. Die chemische Synthese von Enzymsubstraten und ihr anschließender Einsatz in Enzymassays ist ein möglicher Weg diese zu entschlüsseln. Im Rahmen dieser Arbeit sollte deshalb das Ikarugamcin-Intermediat **64** chemisch dargestellt werden, um es in der Aufklärung des biokatalytischen Mechanismus von IkaB einsetzen zu können.

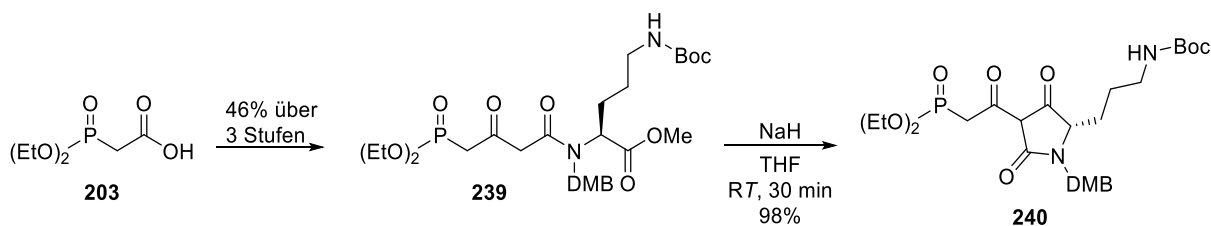
In der vorausgehenden Masterarbeit von T. Stimpel stellte die Synthese der Tetramsäure-Funktion eine nicht gelöste Schwierigkeit dar.^[100] Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurde im Rahmen dieser Arbeit das Ziel verfolgt, zunächst die zentrale Tetramsäureeinheit darzustellen und diese in möglichst späten Schritten der Syntheseroute mit den instabilen Polyenseitenketten auszustatten. Als Polyenbausteine wurden insbesondere (*E*)-Octatralinal (**196**) und (*E*)-Dodecapentensäure (**200**) benötigt. Die Synthese von **196** erfolgte aus *E*-Crotonaldehyd (**210**) mit einer Ausbeute von 2% über

zwei Stufen und die von **200** aus Sorbinsäureethylester (**216**) mit einer Ausbeute von 12% über fünf Stufen (Schema **83**).



Schema 83. Darstellung der Polyenbausteine **196** und **200**.

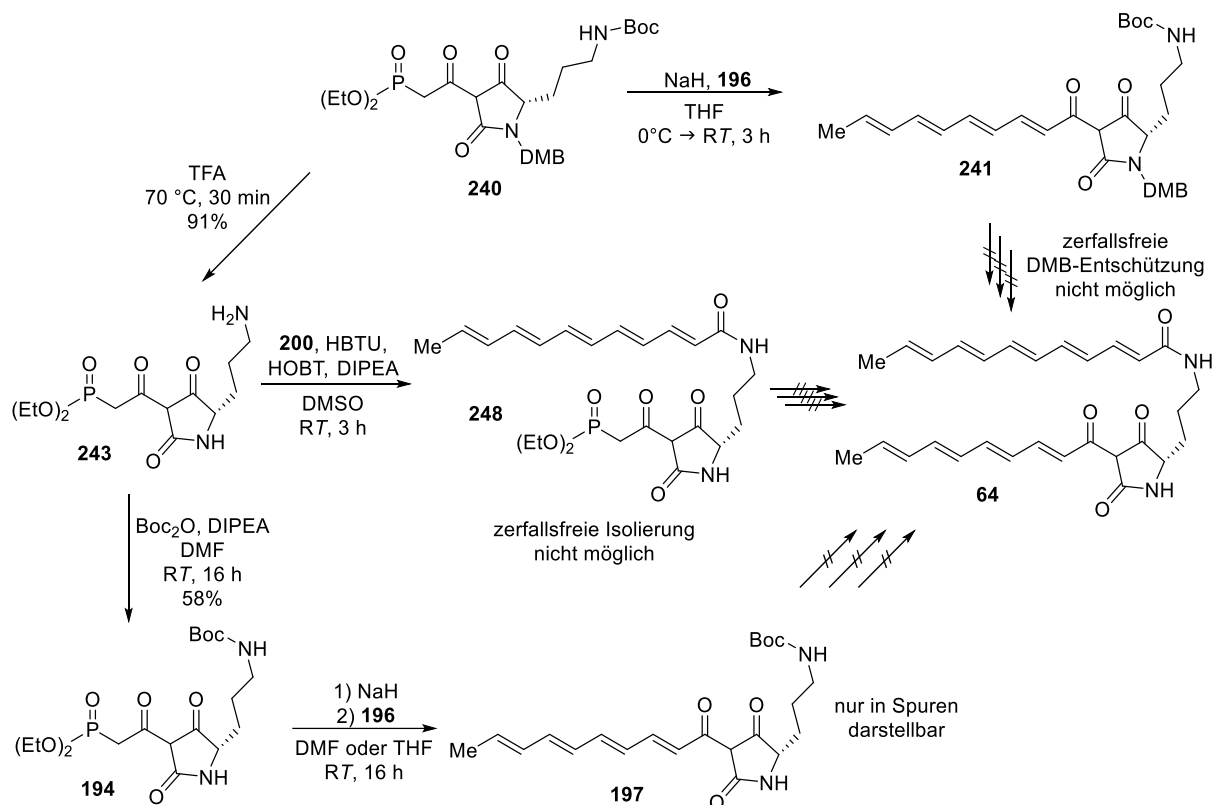
Hinsichtlich der Synthese des Tetramsäurebausteine konnte zunächst gezeigt werden, dass eine Cyclisierung der β -Ketoamide **206**, **232** und **237** ohne Einführung einer N^α -Orn-Schutzgruppe nicht möglich war (vergleiche Schemata **66** und **67**, Kapitel „Synthese der ungeschützten Tetramsäure **194**“). Eine erfolgreiche Darstellung des Tetramsäurephosphonats **240** aus dem β -Ketoamid **239** gelang jedoch unter Verwendung von DMB als N^α -Orn-Schutzgruppe mit einer exzellenten Ausbeute von 98% (Schema **84**), wobei das β -Ketoamid **239** über 3 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 46% ausgehend von Diethylphosphonoessigsäure (**203**) dargestellt werden konnte.



Schema 84. Darstellung der Tetramsäure **240** ausgehend von Diethylphosphonoessigsäure (**203**).

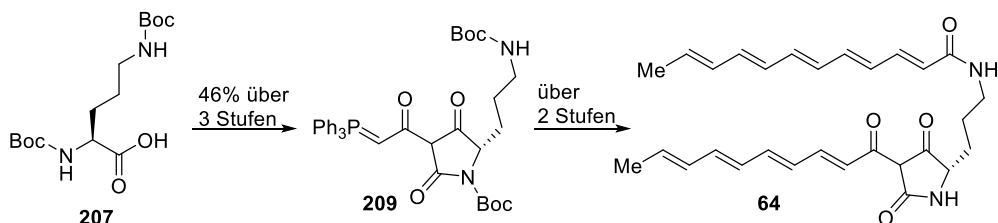
Im weiteren Verlauf wurde die Einführung der Polyenseitenketten untersucht. So war es möglich **241** aus der HWE-Reaktion von Polyen **196** und dem Phosphonat **240** zu bilden (Schema **85**). Jedoch zeigte sich, dass nach Einführung des Polyens die zersetzungsfreie Abspaltung der DMB-Schutzgruppe nicht mehr möglich war. Dies führte zu einer Reaktionsumstellung, in der die DMB- und Boc-Schutzgruppe von **240** zunächst entfernt wurden und die daraus resultierende Tetramsäure **243** mit **200** amidiert wurde. Zwar konnte die Bildung von **248** nachgewiesen werden, jedoch war eine zerfallsfreie Isolierung der Substanz nicht möglich. Alternativ wurde die HWE-Reaktion von **196** mit den Tetramsäuren **243** und **194** geprüft. Hier zeigte sich, dass aufgrund der fehlenden DMB-Schutzgruppe die Reaktivität des Phosphonats von **243** bzw. **194** nicht mehr ausreichend war und das gewünschte Produkt **248** bzw. **197** in nur sehr geringen Mengen gebildet wurde.

Mit dem Wissen um die Notwendigkeit einer Schutzgruppe am Tetramsäureamid und der Erkenntnis, dass die Boc-Gruppe im Beisein der Decatetraenyl-Seitenkette zerfallsfrei entfernt werden kann, wurde eine Syntheseroute entwickelt, in der sowohl die Amin-Funktion der Ornithin-Seitenkette als auch das Tetramsäureamid Boc-geschützt waren.



Schema 85. Fehlgeschlagene Versuche zur Darstellung von Ikarugamycin-Intermediat **64** mittels HWE-Reaktion.

Ausgehend vom bereits Di-Boc-geschützten Ornithin (**207**) konnte unter Einsatz von Meldrumsäure und des Bestmanns-Ylids die Phosphorantetramsäure **209** mit einer Ausbeute von 46% über drei Stufen dargestellt werden. Diese konnte anschließend über eine Wittig-Reaktion mit *E*-Octatrienal (**196**) olefiniert werden, sodass nach einer sauren Boc-Entschützung und einer finalen Amidierungsreaktion mit Dodecapentensäure (**200**) das gewünschte Ikarugamycin-Intermediat **64** erstmals synthetisch dargestellt werden konnte. Damit war ein wichtiges Ziel dieser Arbeit erreicht. Lediglich die Isolierung der Verbindung **64** muss in folgenden Arbeiten noch optimiert werden. Anschließend sollte die Reinsubstanz in Enzymassays zur Aufklärung der von IkaB katalysierten Cyclisierung genutzt werden. Nach einer erfolgreichen Etablierung der Enzymassays könnten zudem weitere Derivate des Ikarugamycin-Intermediats **64** dargestellt werden, die sich in der Länge ihrer Polyketten sowie in ihrer Modifikation an der Tetramsäureeinheit unterscheiden.



Schema 86. Darstellung von Ikarugamycin-Intermediat **64** ausgehend von Diboc-L-Ornithin (**207**).

Abschließend kann zusammengefasst werden, dass im Rahmen dieser Arbeit die Totalsynthese des Ikarugamycin-Intermediats **64** erfolgreich durchgeführt werden konnte. Sie erfolgte über eine kurze und konvergente fünfstufige Synthese, in der die Tetramsäure **209** in den finalen Schritten mit den Polyenen **196** und **200** gekuppelt wurde, um das gewünschte Ikarugamycin-Intermediat **64** zu liefern.

Experimenteller Teil

Allgemeine Informationen

Die in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien sind alle kommerziell erhältlich. Die Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destilliert oder in analytischer Reinheit erworben. Die restlichen Chemikalien wurden ohne weitere Aufarbeitung eingesetzt.

Dünnschichtchromatographische Analysen wurden an mit DC Kieselgel 60 F₂₅₄ beschichteten Alufolien von Merck Millipore (Billerica, MA, USA) durchgeführt. Die Analyten wurden durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht ($\lambda=254$ nm) oder/und durch Färbung mit Kaliumpermanganat-, Cer-Molybdatphosphorsäure- oder Ninhydrinlösung und anschließendem Erhitzen sichtbar gemacht.

Tabelle 07. Zusammensetzung der Anfärbereagenzien.

Kaliumpermanganat-Lösung	Cer-Molybdatphosphorsäure-Lösung	Ninhydrinlösung
3.00 g KMnO ₄	12.5 g H ₃ [P(Mo ₃ O ₁₄) ₄]	530 mg Ninhydrin
20.0 g K ₂ CO ₃	5.00 g Ce(SO ₄) ₂ ·4H ₂ O	150 mL Ethanol
5 mL 5% NaOH	16 mL konz. H ₂ SO ₄	
300 mL H ₂ O	450 mL H ₂ O	

Für die präparative Säulenchromatographie wurde das Kieselgel Geduran Si 60 (Korngröße: 40-63 μ m) der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) verwendet. Die Aufreinigung mittels MPLC erfolgte mit einem Reveleris X2 Flash Chromatography System der Firma Grace (Columbia, MD, USA), dessen UV-Detektoren bei einer Wellenlänge von 200 nm, 220 nm und 254 nm betrieben wurden. Als Säulen wurden entweder eine 12 g oder 40 g Reveleris-C18-Kartusche (Partikelgröße: 40 μ m) verwendet. Analytische HPLC-Messungen wurden mit einer Eurosphere II 100-3 C18 A Säule an einer HPLC-Anlage der Firma Jasco mit folgenden Modulen durchgeführt: UV-1575 Intelligent UV/VIS-Detektor, DG-2080-53 3-Line Degasser, 2x PU-1580 Intelligent HPLC Pumpen, AS-1550 Intelligent Sampler, HG-1580-32 Dynamischer Mixer und an einer Azura HPLC der Firma Knauer (Berlin, Deutschland) mit folgenden Modulen: AS 6.1L Sampler, P 6.1L Pumpe und DAD 2.1L Detektor. Präparative HPLC-Trennungen erfolgten an einer HPLC-Anlage der Firma Jasco mit folgenden Modulen: Uv-1575 Intelligent UV-VIS Detector, 2x PU-2086 Plus prep. Pump, LC-Net II/ADC, *Rheodyne* Injektionsventil, MIKA 1000 Dynamic Mixing Chamber.

Die NMR-Spektren wurden auf folgenden Geräten bei 300 K aufgenommen: Bruker Avance III HD 300, Avance II 300, Bruker Avance III HD 400, Bruker Ascend 500, Bruker Avance III HD 500, Bruker Avance 600. ¹H-Spektren wurden bei einer Frequenz von 300, 400, 500 oder 600 MHz, ¹³C-Spektren bei 75, 100, 125 oder 150 MHz gemessen. Die chemische Verschiebung (δ) der Signale wurde in ppm angegeben und ihre Kopplungskonstante in Hertz. Als Referenz wurde das Restsignal der Protonen im Lösungsmittel genutzt. Die Zuordnung der Signale erfolgte durch ¹H-, ¹³C-, COSY-, HMBC-, und HSQC-Experimente. Spinmultiplizitäten sind als Singulett (s), Dublett (d), Dublett von Dubletts (dd), Dublett von Triplets (dt), Triplet (t), Triplet von Quartets (tq), Quartett (q), Quintett (p), und Multipllett (m) gekennzeichnet.

ESI-MS Messungen wurden an einem Expression⁺ CMS (Single Quadrupole Mass Analyzer) Gerät der Firma Advion (Ithaca, NY, USA) mit einem Peak Scientific N118LA Stickstoffgenerator, einer Edwards RV12 Hochvakuum Pumpe und dem oben genannten Azura HPLC-System, oder an einer LCQ-Fleet Ionenfalle der Firma Thermo Scientific (Waltham, MA, USA) in Kombination mit einem UltiMate 3000 HPLC-System durchgeführt. HRMS wurden an einem Agilent Massenspektrometer 6538 (Santa Clara, CA, USA) aufgenommen.

Expressionen wurden mit Hilfe der Inkubationsschüttler Multitron Standard und Ecotron der Firma Infors HT (Bottmingen, Schweiz) durchgeführt.

Allgemeine Synthesevorschriften

Festphasenpeptidsynthese

Die allgemeinen Vorschriften zur Festphasensynthese wurden aus der vorausgegangenen Masterarbeit übernommen.^[82] Wenn nicht anders angegeben, wurden alle Waschschrte mit einem Volumen von 5-10 mL/g Harz des entsprechenden Lösungsmittels durchgeführt. Das verwendete Harz wurde vor jeder Reaktion für eine Dauer von mindestens 30 min in Lösungsmittel gequollen. Die Reaktionen wurden in Spritzen durchgeführt, mit Ausnahme der initialen Beladung des Harzes.

Aktivierung, Beladung und Capping des 2-Chlorotriyl-Harzes

Unter Argonatmosphäre wurde in einem Glasreaktor mit Hahn und Fritte das 2-Chlorotriyl-Harz (1 eq) mit trockenem DMF (3x) und trockenem DCM (3x) gewaschen. Anschließend wurde das Harz mit trockenem DCM (5-10 mL/g Harz) für 30 min gequollen, filtriert und mit einer Lösung aus SOCl₂ (1.5 eq) in trockenem DCM versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei RT geschüttelt, mit trockenem DMF (2x) und trockenem DCM (3x) gewaschen. Zu dem nun aktivierten Harz wurde eine Lösung aus der zu beladenden Fmoc-geschützten Aminosäure (1.5 eq) und NMM (3.2 eq) in DCM/DMF (1:1, 7.5 mL/g Harz) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 24 h geschüttelt. Das Gemisch wurde filtriert, mit trockenem DMF (3x) und trockenem DCM (3x) gewaschen. Um die noch freien Bindungsstellen des beladenen Harzes zu inaktivieren, wurde es mit einer Lösung aus DCM/MeOH/DIPEA (80:15:5, 5-10 mL/g Harz) versetzt, 15 min geschüttelt, filtriert, mit DMF (3x) und DCM (3x) gewaschen. Abschließend wurde der Beladungsgehalt des Harzes photometrisch bestimmt. Dazu wurde das getrocknete Harz (5-10 mg) mit 20% Piperidin in DMF (1 mL) versetzt, 20 min bei RT geschüttelt und filtriert. 100 µL des Filtrats wurden mit DMF (10 mL) verdünnt und die Absorption dieser Lösung bei 301 nm bestimmt, wobei DMF als Referenzlösung diente. Es wurden drei Messungen durchgeführt deren Durchschnittswert zur Berechnung des Beladungsgehaltes nach der folgenden Formel verwendet wurde.

$$\text{Beladungsgehalt} \left[\frac{\text{mmol}}{\text{g}} \right] = \frac{101 \cdot A(301 \text{ nm})}{7.8 \cdot m(\text{Harz})}$$

Fmoc-Entschützung

Das Harz, welches eine N-Fmoc-geschützte Aminosäure trägt, wurde mit 20% Piperidin in DMF (5-10 mL/g Harz) versetzt, für 15 min geschüttelt, filtriert und die Entschützung ein weiteres Mal mit einer Reaktionsdauer von 10 min wiederholt. Abschließend wurde das Harz mit DMF (5x) gewaschen.

Kettenelongation

Bei der Kupplung eines primären Amins wurde das Harz mit einer Lösung aus der zu kuppelnden Aminosäure (3 eq), HBTU (3 eq), HOBt (3 eq) und DIPEA (6 eq) in DMF (7.5 mL/g Harz) versetzt, 30 min geschüttelt und die Kupplung ein weiteres Mal wiederholt. Im Falle eines sekundären Amins wurde das Harz mit einer Lösung aus der zu kuppelnden Aminosäure (3 eq), HATU (3 eq), HOAt (3 eq) und DIPEA (6 eq) in DMF (7.5 mL/g Harz) versetzt, 3 h geschüttelt und die Kupplung ein weiteres Mal wiederholt. Nach erfolgter Kupplung wurde das Harz mit DMF (5x) gewaschen.

Um die Vollständigkeit der Reaktion zu überprüfen, wurde eine Spatelspitze des Harzes entnommen und eine Testabspaltung durchgeführt. Dazu wurde das Harz mit 0.1% TFA in DCM (1 mL) versetzt und 5 min geschüttelt. Anschließend wurde das Gemisch filtriert, das Filtrat eingeeengt, mit ACN (1 mL) versetzt und mittels LC-MS untersucht. Bei vollständiger Umsetzung wurde die Kettenelongation mit der nächsten Aminosäure fortgesetzt.

N-Methylierung

Harz, welches eine N-terminal entschützte Aminosäure trägt, wurde mit NMP (5x) gewaschen, mit einer Lösung aus NBS-Cl (4 eq) und Collidin (10 eq) in NMP (5 mL/g Harz) versetzt, 15 min geschüttelt und erneut mit NMP (5x) gewaschen.

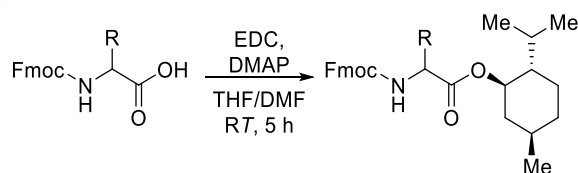
Harz, welches eine N-terminal NBS-geschützte Aminosäure trägt, wurde mit trockenem THF (5x) gewaschen, mit einer Lösung aus Ph₃P (5 eq) und trockenem MeOH (10 eq) in trockenem THF (2.5 mL/g Harz) versetzt und 1 min geschüttelt. Anschließend wurde dem Reaktionsgemisch eine Lösung aus DIAD (5 eq) in trockenem THF (2.5 mL/g Harz) portionsweise hinzugefügt, weitere 10 min geschüttelt und abschließend das Harz mit NMP (5x) gewaschen.

Harz, welches eine N-terminal NBS-geschützte und N-methylierte Aminosäure trägt, wurde mit einer Lösung aus Mercaptoethanol (10 eq) und DBU (5 eq) in NMP (5 mL/g Harz) versetzt, 5 min geschüttelt und die Entschützung ein weiteres Mal wiederholt. Das Harz wurde abschließend mit DMF (5x) gewaschen.

Abspaltung des Peptids

Nach abgeschlossener Synthese des Peptids wurde das Peptid vom Harz abgespalten. Dazu wurde es mit 0.6% TFA in DCM (7.5 mL/g Harz) für 5 min geschüttelt, filtriert und die Abspaltung vier weitere Male durchgeführt. Das Harz wurde mit DCM (5x) gewaschen und die vereinigten organischen Phasen wurden unter vermindertem Druck eingengt. Anschließend wurde der Reaktionslösung auf 4 °C gekühlter Et₂O (10 mL) zugegeben. Die Suspension wurde zentrifugiert (15 min, 8000 U/min) und das rohe Reaktionsprodukt vom Überstand abgetrennt. Die Aufreinigung erfolgte mittels MPLC oder HPLC.

Menthol-Derivatisierung



Zu einer Lösung aus Fmoc-Aminosäure (320 µmol, 1 eq) in THF/DMF (8 mL, 5:3) wurde (-)-Menthol (55 mg, 350 µmol, 1.1 eq), EDCI (73 mg, 380 µmol, 1.2 eq) und DMAP (12 mg, 100 µmol, 0.3 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 5 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion mit EtOAc verdünnt und mit 10% HCl (1x), NaHCO₃-Lösung (1x) und ges. NaCl-Lösung (1x) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das gewünschte Produkt wurde nach einer Aufreinigung an der MPLC erhalten.

Biologische Arbeiten

Proteinexpression der Cycloheptamycin Thioesterase

Die Expression der *cyh*-Thioesterase erfolgte mit einem pHis8C-TEV-orf13-TE Plasmid transformierten *E. coli* BAP1 Expressionsorganismus, welcher freundlicherweise von Dr. Z. Quian bereitgestellt wurde.^[43] Es wurde mit einer Spatelspitze dieser Kryokultur 5 mL LB-Medium inokuliert und mit 5 µL Kanamycin-Lösung (50 mg/mL) versetzt. Die Vorkultur 1 wurde über Nacht (37 °C, 200 U/min) inkubiert. Danach wurde Vorkultur 2 angesetzt, indem 100 mL LB-Medium mit 100 µL Kanamycin-Lösung (50 mg/mL) mit 1 mL Vorkultur 1 versetzt und erneut über Nacht (37 °C, 200 U/min) inkubiert wurde. Dann wurde die Hauptkultur, bestehend aus 2 L LB-Medium und 2 mL Kanamycin-Lösung (50 mg/mL) mit 20 mL Vorkultur 2 angeimpft und bis zu einer OD₆₀₀ von etwa 0.6 inkubiert. Anschließend wurden die Kulturen auf 4 °C temperiert, mit 0.3 mL IPTG-Lösung (1 M) versetzt und über Nacht (16 °C, 200 U/min) inkubiert. Die Zellen wurden per Zentrifugation (4 °C, 4000 U/min, 10 min) pelletiert und bei -78 °C gelagert.

Zellaufschluss und Proteinreinigung

Die bei -78 °C gelagerten Zellpellets wurden im Lysispuffer (4 mL/g Pellet) resuspendiert und die Zellen mittels Ultraschall (35%, 5 s Puls/5 s Pause, 90 s) aufgeschlossen. Anschließend wurde das Lysat zentrifugiert (30 min, 14000 U/min, 4 °C) bis sich ein klarer Überstand ausgebildet hatte. Der Überstand des Lysats wurde dekantiert, mit Ni-NTA-Agarose (1 mL/L Kulturlösung) versetzt und für eine 1 h bei 0 °C geschüttelt. Die Suspension wurde auf eine Säule mit Fritte aufgetragen, mit Waschpuffer (8 mL, 80 µM Imidazol) gewaschen und mit Elutionspuffer (3x2.5 mL, 250 µM Imidazol) eluiert.

Entsalzung und Aufkonzentration

Zunächst wurden PD10-Säulen mit 8 mL des Assay-Puffers gewaschen. Dann wurde begonnen, dass Eluat auf die Säule aufzutragen. Dazu wurden jeweils 2.5 mL Eluat aus der Proteinreinigung auf die Säule gegeben und in das Säulenbett eingesickert. Dies wurde wiederholt, bis alles Eluat auf die Säule aufgetragen war. Anschließend wurde mit 3.5 mL des Assay-Puffers nachgespült. Für die Aufkonzentration wurden Vivaspin-Zentrifugationskonzentratoren genutzt. Die entsalzten Proteinlösungen wurden in Konzentratoren mit einem MWCO von 10 kDa (Größe der Thioesterase 29.4 kDa) gegeben und zentrifugiert (10 min, 4500 U/min, 4 °C). Anschließend wurden die Lösungen durchmischt und erneut zentrifugiert. Diese Schritte wurden wiederholt, bis noch 1.5 mL Proteinlösung verblieben. Die Proteinkonzentration wurde photometrisch bestimmt und das Protein direkt für die Assays genutzt.

Puffer-Zusammensetzungen

Tabelle 08. Zusammensetzung des Lysispuffers, Waschpuffers und Elutionspuffers.

Reagenzien	Lysis-Puffer	Waschpuffer	Elutionspuffer
Imidazol	10 mM	80 mM	250 mM
NaH ₂ PO ₄ *H ₂ O	50 mM	-	-
NaCl	300 mM	-	-
Glycerol	10 Vol%		
pH	7.5	7.5	7.5

Tabelle 09. Zusammensetzung der Assaykonzentration.

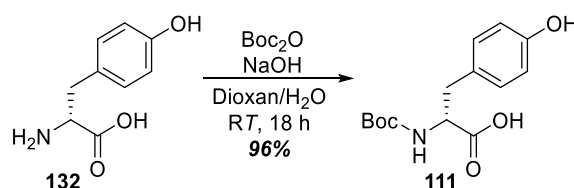
Reagenzien	HEPES-Puffer	MOPS-Puffer
HEPES	25 µM	-
MOPS	-	25 µM
NaCl	50 µM	50 mM
Glykol	10 Vol%	10 Vol%

Synthesen zur Darstellung von Cycloheptamycin (13) und Derivaten

Synthese der Aminosäure-Bausteine

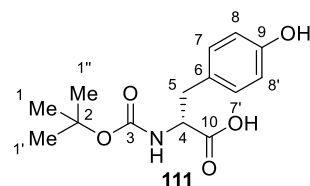
Synthese des *O*-Methyl-D-tyrosins (78)

Synthese von Boc-D-Tyr (111)



Zu einer Lösung aus D-Tyrosin (132, 10.0 g, 55.3 mmol, 1 eq) in Dioxan/H₂O (240 mL, 2:1) wurde 1 M Natronlauge (125 mL) und Boc₂O (13.3 g, 60.9 mmol, 1.1 eq) zugegeben. Das Gemisch wurde bei

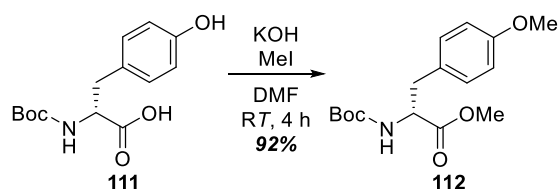
RT für 17 h gerührt, mit 10% HCl auf pH 1-2 angesäuert und mit EtOAc (4x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **111** wurde als gelbliches Öl (14.9 g, 53.0 mmol, 96%) erhalten.



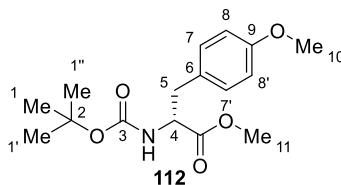
¹H NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.04 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-7, H-7'), 6.70 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-8, H-8'), 4.28 (dd, *J* = 8.7, 5.1 Hz, 1H, H-4), 3.04 (dd, *J* = 13.9, 5.1 Hz, 1H, H-5), 2.81 (dd, *J* = 13.9, 8.7 Hz, 1H, H-5), 1.39 (s, 9H, H-1, H-1', H-1'').

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[118]

Synthese von Boc-D-Tyr(OMe)OMe (**112**)



Zu einer Lösung aus Boc-D-Tyrosin (**111**, 14.9 g, 53.0 mmol, 1 eq) in DMF (100 mL) wurde bei 0 °C KOH (3.84 g, 69.2 mmol, 1.3 eq) zugegeben. Anschließend wurde eine Lösung aus MeI (8.33 g, 58.5 mmol, 1.1 eq) in DMF (120 mL) langsam zugetropft. Das Gemisch wurde bei RT für 1 h gerührt, erneut mit KOH (3.84 g, 69.2 mmol, 1.3 eq) und mit MeI (8.33 g, 58.5 mmol, 1.1 eq) in DMF (120 mL) versetzt. Das Gemisch wurde bei RT weitere 2 h gerührt und mit EtOAc/H₂O (600 mL, 1:1) verdünnt. Nun wurde das Gemisch mit 10% HCl auf pH 1-2 angesäuert und die organische Phase getrennt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x200 mL) re-extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung (3x150mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, Pentan/EtOAc 4:1) wurde das Produkte **112** als gelbliches Öl (15.1 g, 48.8 mmol, 92%) erhalten.

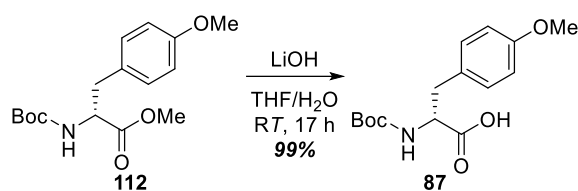


R_f = 0.66 (Pentan/EtOAc 4:1);

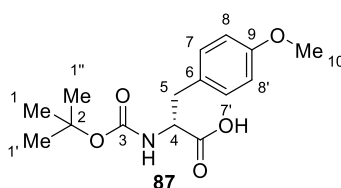
¹H NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.11 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-7, H-7'), 6.83 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-8, H-8'), 4.30 (dd, *J* = 8.7, 5.8 Hz, 1H, H-4), 3.76 (s, 3H, H-10), 3.68 (s, 3H, H-12), 3.02 (dd, *J* = 13.8, 5.7 Hz, 1H, H-5), 2.84 (dd, *J* = 13.8, 8.7 Hz, 1H, H-5), 1.39 (s, 9H, H-1, H-1', H-1'').

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[119]

Synthese von Boc-D-Tyr(OMe)OH (**87**)



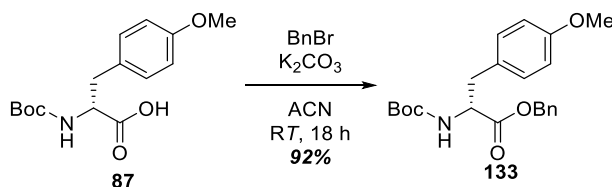
Zu einer Lösung aus D-Tyrosin **112** (15.1 g, 48.8 mmol, 1 eq) in THF (300 mL) wurde LiOH (5.19 g, 217 mmol, 5.5 eq) in H₂O (500 mL) bei 0°C langsam zugetropft und die Reaktionslösung bei RT für 17 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit 10% HCl auf pH 7 neutralisiert und das THF unter vermindertem Druck entfernt. Nun wurde das Reaktionsgemisch mit 10% HCl auf pH 2 angesäuert, mit EtOAc (3x250 mL) extrahiert, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **87** wurde als gelbliches Öl (14.3 g, 48.4 mmol, 99%) erhalten.



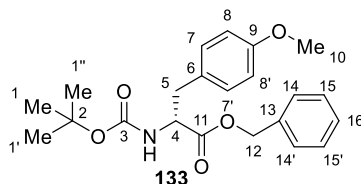
¹H NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.13 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-7, H-7'), 6.83 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-8, H-8'), 4.29 (dd, *J* = 8.8, 5.0 Hz, 1H, H-4), 3.76 (s, 3H, H-10), 3.08 (dd, *J* = 13.9, 5.1 Hz, 1H, H-5), 2.84 (dd, *J* = 13.9, 8.8 Hz, 1H, H-5), 1.39 (s, 9H, H-1, H-1', H-1'').

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[119]

Synthese von Boc-D-Tyr(OMe)OBn (**133**)



Zu einer Lösung aus **87** (4.92 g, 16.6 mmol, 1.0 eq) in ACN (50 mL) wurde K₂CO₃ (3.44 g, 24.9 mmol, 1.5 eq) und BnBr (2.96 mL, 24.9 mmol, 1.5 eq) zugegeben und bei RT für 18 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit H₂O verdünnt bis sich der Niederschlag auflöste und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, Pentan/EtOAc 9:1) wurde das Produkt **133** als farbloses Öl (5.86 g, 15.2 mmol, 92%) erhalten.



R_f = 0.19 (Pentan/EtOAc 9:1);

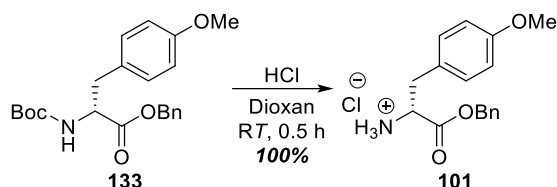
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.40 – 7.27 (m, 5H, H-14, H-14', H-15, H-15', H-16), 6.95 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H-7, H-7'), 6.76 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-8, H-8'), 5.14 (q, *J* = 12.2 Hz, 2H, H-12), 4.96 (d, *J* =

8.4 Hz, 1H, NH), 4.58 (dd, $J = 6.6$ Hz, 1H, H-4), 3.77 (s, 3H, H-10), 3.03 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H, H-5), 1.42 (s, 9H, H-1, H-1', H-1'');

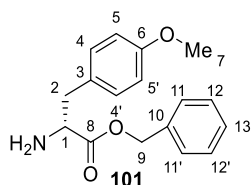
^{13}C NMR (75 MHz, Chloroform- d) δ [ppm]: 171.9, 158.8, 155.2, 135.4, 130.5, 128.7, 128.7, 128.6, 127.9, 114.1, 80.0, 67.2, 55.3, 54.7, 37.5, 28.4;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NNaO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 408.1781, gefunden: 408.1774.

Synthese von $\text{HCl}\cdot\text{H}_2\text{N-D-Tyr(OMe)OMe}$ (**101**)



133 (3.50 g, 9.08 mmol, 1 eq) wurde in 4 M HCl in Dioxan (50 mL) gelöst und bei RT für 30 min gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **101** wurde als weißer Feststoff (2.92 g, 9.07 mmol, 100%) erhalten.



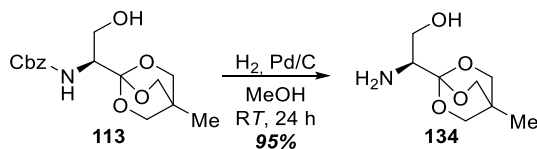
^1H NMR (300 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 7.40 – 7.24 (m, 5H, H-11, H-11', H-12, H-12', H-13), 7.10 – 7.02 (m, 2H, H-4, H-4'), 6.87 – 6.79 (m, 2H, H-5, H-5'), 5.31 – 5.16 (m, 2H, H-9), 4.30 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H, H-1), 3.77 (s, 3H, H-7), 3.14 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H, H-2);

^{13}C NMR (75 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 170.0, 160.9, 136.2, 131.5, 130.0, 129.8, 129.7, 126.8, 115.5, 69.1, 55.7, 55.3, 36.7;

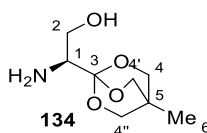
HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 286.1438, gefunden: 286.1430.

Synthesen von anti- β -Hydroxynorvalin (**85**)

Synthese von Serinorthoester **134**



Unter H_2 -Atmosphäre wurde eine Lösung aus **113** (2.46 g, 7.60 mmol, 1 eq) und 10% Pd/C (250 mg) in MeOH (18 mL) bei RT für 24 h gerührt und über Celith filtriert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt **134** als weißer Feststoff (1.36 g, 7.20 mmol, 95%) erhalten.

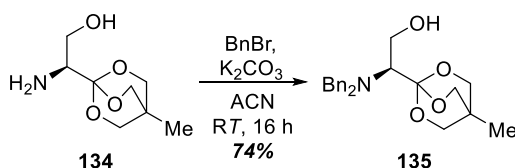


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ [ppm]: 3.93 (s, 6H, H-3, H-3', H-3''), 3.74 (dd, 1H, $J=3.8, 11.2$ Hz, H-2), 3.46 (dd, 1H, $J=7.6, 11.2$ Hz, H-2), 2.83 (dd, 1H, $J=3.8, 7.6$ Hz, H-1), 0.82 (s, 3H, H-6);

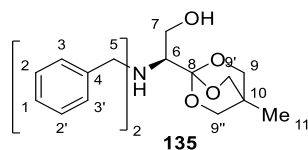
ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 190.1, gefunden: 190.1.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[84]

Synthese von *N,N*-Dibenzylserinorthoester (**135**)



Zu einer Suspension aus **134** (100 mg, 529 μmol , 1 eq) und K_2CO_3 (176 mg, 1.27 mmol, 2.4 eq) in ACN (3.2 mL) wurde BnBr (0.14 mL, 1.16 mmol, 2.2 eq) zugeben und bei RT für 16 h gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch über Celith filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , Pentan/EtOAc 6:1) wurde das Produkt **135** als weißer Feststoff (144 mg, 390 μmol , 74%) erhalten.



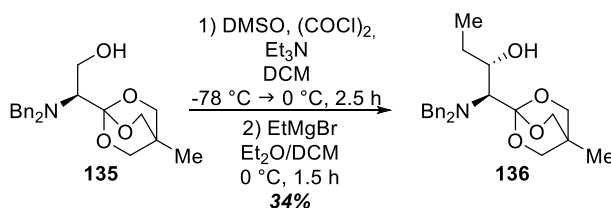
$R_f = 0.29$ (Pentan/EtOAc 6:1);

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ [ppm]: 7.34 – 7.15 (m, 10H, 2x(H-1, H-2, H-2', H-3, H-3')), 3.97 – 3.84 (m, 10H, 2xH-5, H-9, H-9', H-9''), 3.66 – 3.56 (m, 2H, H-7), 2.91 (dd, 1H, $J=5.0, 8.7$ Hz, H-6), 0.81 (s, 3H, H-11);

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NNaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 392.2, gefunden: 392.3.

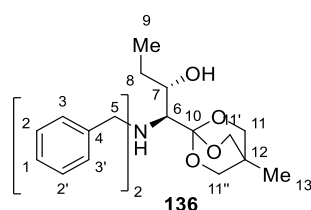
Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[84]

Synthese von *N,N*-Dibenzyl-*anti*- β -Hydroxynorvalinorthoester (**136**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Oxalylchlorid (483 μL , 5.63 mmol, 1.6 eq) in trockenem DCM (30 mL) bei -78 °C DMSO (800 μL , 11.3 mmol, 3.2 eq) zugetropft und bei -78 °C 15 min gerührt. Anschließend wurde Orthoester **135** (1.30 g, 3.51 mmol, 1 eq) in DCM (25 mL) gelöst,

auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und langsam der Oxalylchlorid/DMSO-Lösung zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 1.5 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und mit DIPEA (3.0 mL, 17.6 mmol, 5 eq) versetzt. Anschließend wurde es weitere 45 min bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und 10 min bei RT. Danach wurde das Gemisch mit DCM verdünnt und mit 3% NH_4Cl -Lösung (1x), mit 10% NaHCO_3 -Lösung (1x) und mit ges. NaCl -Lösung (1x) gewaschen. Die organische Phase wurde mit MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Zwischenprodukt wurde unter Argonatmosphäre in trockenem Et_2O (105 mL) gelöst und bei $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit EtMgBr (2.34 mL, 7.02 mmol, 2 eq, 3 M in Et_2O) versetzt. Da das Edukt nach 30 min nicht vollständig umgesetzt war, wurde erneut EtMgBr (0.6 mL, 1.8 mmol, 0.5 eq, 3 M in Et_2O) zugegeben und weitere 60 min gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch die Zugabe von 3% NH_4Cl -Lösung gequenchet und mit Et_2O (3x) extrahiert. Die organische Phase wurde mit 10% NaHCO_3 -Lösung und ges. NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , Pentan/ EtOAc 4:1) wurde das Produkt **136** als gelblicher Feststoff (472 mg, 1.19 mmol, 34%) erhalten.



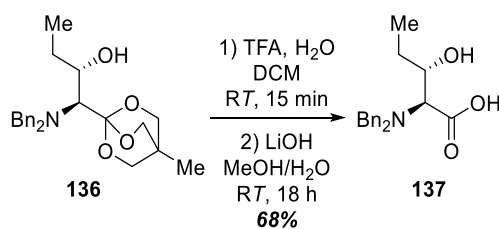
$R_f = 0.25$ (Pentan/ EtOAc 6:1);

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 7.36 – 7.16 (m, 10H, 2x(H-1, H-2, H-2', H-3, H-3')), 3.99 (s, 6H, H-11, H-11', H-11''), 3.94 – 3.81 (m, 4H, 2x(H-5)), 3.75 (td, $J = 8.7, 2.8$ Hz, 1H, H-7), 2.69 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, NCH), 1.96 – 1.84 (m, 1H, H-8), 1.14 – 1.01 (m, 1H, H-8), 0.84 (s, 3H, H-13), 0.71 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-9);

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 140.5, 129.1, 127.7, 126.4, 110.8, 71.62, 71.58, 63.1, 55.3, 30.0, 26.6, 13.0, 8.6.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[84]

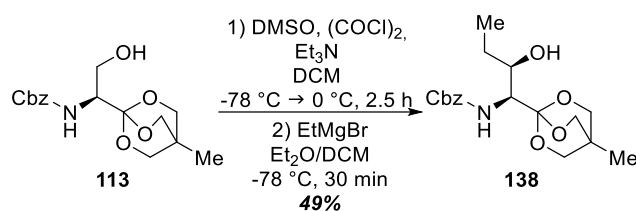
Synthese von *N,N*-Dibenzyl-*anti*- β -Hydroxynorvalin **137**



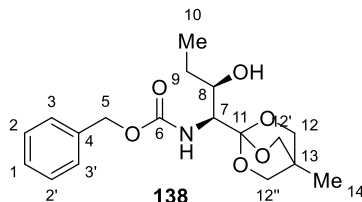
Zu einer Lösung aus **136** (350 mg, 880 μmol , 1 eq) in DCM (15 mL) und H_2O (0.25 mL) wurde TFA (0.35 mL) zugeben und bei RT für 15 min gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit LiOH -Lösung (5.3 mL, 2.64 mmol, 3 eq, 0.5 M) und $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (10 mL, 1:1) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT für 18 h gerührt, mit 10% HCl angesäuert und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **137** wurde als weißer Feststoff (299 mg, 0.954 mmol, 68%) erhalten.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 314.4, gefunden: 314.1.

Synthese von Cbz-*syn*- β -Hydroxynorvalinorthoester **138**



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Oxalylchlorid (425 μ L, 4.95 mmol, 1.6 eq) in trockenem DCM (15 mL) bei -78 °C DMSO (700 μ L, 9.90 mmol, 3.2 eq) zugetropft und bei -78 °C 15 min gerührt. Anschließend wurde Cbz-Ser-Orthoester (**113**, 1.00 g, 3.09 mmol, 1 eq) in DCM (10 mL) gelöst, auf -78 °C gekühlt und langsam der Oxalylchlorid/DMSO-Lösung zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 1.5 h bei -78 °C gerührt und mit DIPEA (2.6 mL, 15.3 mmol, 5 eq) versetzt. Anschließend wurde es weitere 45 min bei -78 °C gerührt und 10 min bei RT. Danach wurde das Gemisch mit DCM (10 mL) verdünnt und mit 3% NH₄Cl-Lösung (1x), mit 10% NaHCO₃-Lösung (1x) und mit ges. NaCl-Lösung (1x) gewaschen. Die organische Phase wurde mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Zwischenprodukt wurde zunächst in trockenem DCM (16 mL) gelöst und mit trockenem Et₂O (60 mL) verdünnt. Anschließend wurde der trüben Lösung bei -78 °C EtMgBr (5 mL, 15 mmol, 4.85 eq, 3 M in Et₂O) zugegeben und weitere 15 min bei -78 °C gerührt. Die Reaktion wurde auf RT erwärmt, mit ges. NH₄Cl-Lösung (1x) gequenchet und mit DCM (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, Pentan/EtOAc 3:2) wurde das Produkt **138** als weißer Feststoff (535 mg, 1.52 mmol, 49%) erhalten.

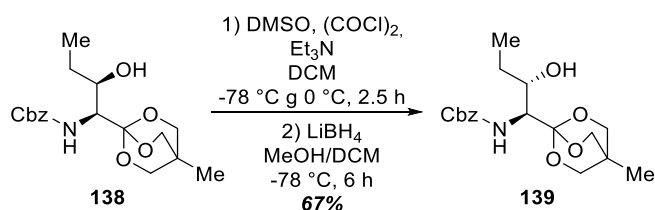


R_f = 0.27 (Pentan/EtOAc 3:2);

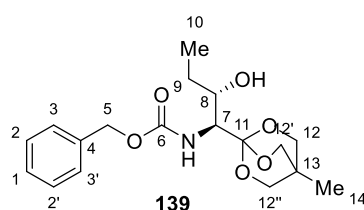
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.41 – 7.27 (m, 5H, H-1, H-2, H-2', H-3, H-3'), 5.75 (d, *J* = 9.1 Hz, 0.5H, NH), 5.34 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, 0.5H, NH), 5.19 – 5.05 (m, 2H, H-5), 4.40 (d, *J* = 8.8 Hz, 0.5H, H-7), 4.31 (d, *J* = 11.0 Hz, 0.5H, H-7), 4.17 – 3.80 (m, 4H, H-12, H-8), 3.54 (s, 2H, H-12'), 3.20 (s, 2H, H-12''), 1.66 – 1.30 (m, 2H, H-9), 0.95 (m, 3H, H-10), 0.81 (s, 3H, H-14);

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₁₈H₂₅NNaO₆ [M+Na]⁺ 374.2, gefunden: 374.2.

Synthese von Cbz-*anti*- β -Hydroxynorvalinorthoester (**139**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Oxalylchlorid (204 μ L, 2.36 mmol, 1.6 eq) in trockenem DCM (7.5 mL) bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ DMSO (334 μ L, 4.70 mmol, 3.2 eq) zugetropft und bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 min gerührt. Anschließend wurde Orthoester **138** (518 mg, 1.47 mmol, 1 eq) in DCM (5 mL) gelöst, auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und langsam der Oxalylchlorid/DMSO-Lösung zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 1.5 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und mit DIPEA (1.25 mL, 7.35 mmol, 5 eq) versetzt. Anschließend wurde es weitere 45 min bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und 10 min bei RT. Danach wurde das Gemisch mit DCM verdünnt und mit 3% NH_4Cl -Lösung (1x), mit 10% NaHCO_3 -Lösung (1x) und mit ges. NaCl -Lösung (1x) gewaschen. Die organische Phase wurde mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Zwischenprodukt wurde in trockenem DCM/MeOH (1:1, 110 mL) gelöst und bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit LiBH_4 (320 mg, 14.7 mmol, 10 eq) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 6 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und dann mit ges. NH_4Cl -Lösung gequenchet. Das Gemisch wurde mit DCM (3x) extrahiert, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , Pentan/EtOAc 3:2) wurde das Produkt **139** als weißer Feststoff (154 mg, 438 μ mol, 24%) erhalten.

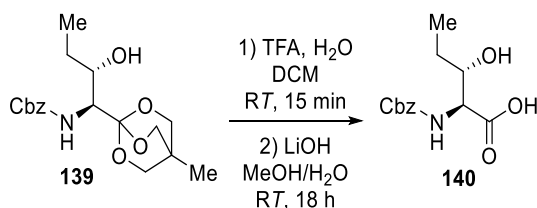


$R_f = 0.25$ (Pentan/EtOAc 3:2);

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.39 – 7.28 (m, 5H, H-1, H-2, H-2', H-3, H-3'), 5.81 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, NH), 5.14 – 5.07 (m, 2H, H-5), 4.30 – 4.17 (m, 1H, H-8), 3.94 – 3.63 (m, 3H, H-7, H-12), 3.55 (s, 2H, H-12'), 3.19 (s, 2H, H-12''), 1.72 – 1.35 (m, 2H, H-9), 0.98 (dt, $J = 11.2, 7.4$ Hz, 1H, H-10), 0.82 (s, 3H, H-14);

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NNaO}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 374.2, gefunden: 374.7.

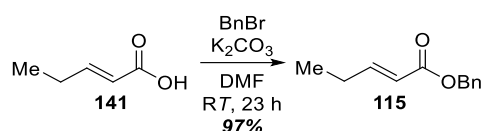
Synthese von Cbz-*anti*- β -Hydroxynorvalin (**140**)



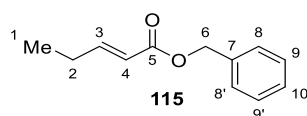
Eine Lösung aus **139** (50 mg, 142 μ mol, 1 eq) in DCM (1.5 mL) und H_2O (25 μ L) wurde mit TFA (35 μ L) versetzt und bei RT für 15 min gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit einer Lösung aus Na_2CO_3 (75 mg, 711 μ mol, 5 eq) in Dioxan/ H_2O (1.5 mL, 1:1) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT für 18 h gerührt, mit 10% HCl angesäuert und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Eine Produktbildung konnte beobachtet werden, jedoch konnte das Produkt **140** nicht als Reinsubstanz isoliert werden.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 268.1, gefunden: 268.0.

Synthese von *E*-Pent-2-enbenzylester (**115**)



Zu einer Lösung aus (*E*)-Pent-2-ensäure (**141**, 5.00 g, 49.9 mmol, 1 eq) in DMF (30 mL) wurde K_2CO_3 (3.47 g, 25.1 mmol, 0.5 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch 5 min gerührt. Dann wurde BnBr (6.56 mL, 55.2 mmol, 1.1 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 19 h gerührt. Anschließend wurde mit H_2O verdünnt bis sich der Niederschlag vollständig auflöste und mit Et_2O (2x100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , Cy/ Et_2O 19:1 \rightarrow Cy/ Et_2O 9:1) konnte das Produkt **115** als farblose Flüssigkeit (9.17 g, 48.2 mmol, 97%) isoliert werden.

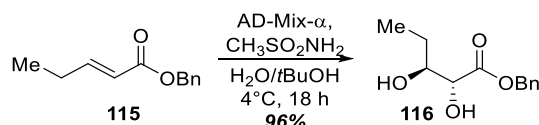


$R_f = 0.33$ (Cy/ Et_2O 19:1 \rightarrow Cy/ Et_2O 9:1);

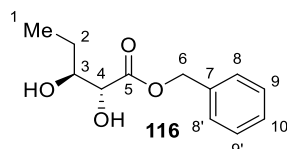
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 7.43 – 7.28 (m, 5H, H-8, H-8', H-9, H-9', H-10), 7.08 (dt, $J = 15.7, 6.3$ Hz, 1H, H-3), 5.87 (dt, $J = 15.7, 1.7$ Hz, 1H, H-4), 5.18 (s, 2H, H-6), 2.43 – 2.10 (m, 2H, H-1), 1.07 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-5).

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[120]

Synthese von Diolester **116**



Zu einer Lösung aus AD-Mix α (29.4 g) und Methansulfonamid (2.00 g, 21.0 mmol, 1.0 eq.) in $\text{H}_2\text{O}/t\text{BuOH}$ (200 mL, 1:1) wurde bei 4 °C Ester **115** (4.00 g, 21.0 mmol, 1.0 eq) zugegeben. Nach der vollständigen Umsetzung von Ester **115** (48 h) wurde Na_2SO_3 (32.6 g) zugegeben, das Reaktionsgemisch 30 min bei RT gerührt und mit Et_2O (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , EtOAc/Pentan 3:2) wurde das Produkt **116** als klares Öl (4.54 g, 20.3 mmol, 96%) erhalten.



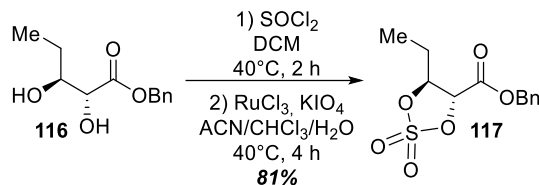
$R_f = 0.63$ (EtOAc/Pentan 3:2);

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 7.39 – 7.29 (m, 5H, H-8, H-8', H-9, H-9', H-10), 5.33 – 5.17 (m, 2H, H-6), 4.16 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, H-4), 3.84 (td, $J = 6.9, 2.1$ Hz, 1H, H-3), 1.64 (p, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-2), 0.98 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-1);

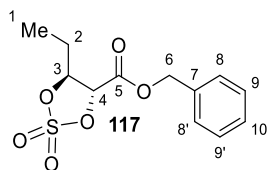
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 173.8, 135.2, 128.8, 128.7, 128.5, 74.1, 73.0, 67.8, 26.8, 10.3;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 247.0941, gefunden: 247.0930.

Synthese von Sulfat **117**



Zu einer Lösung aus Diol **116** (4.50 g, 20.1 mmol, 1 eq) in DCM (34 mL) wurde SOCl_2 (2.92 mL, 40.2 mmol, 2 eq) bei 0°C langsam zugetropft und 5 min bei 0°C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung bei 40°C für 2 h gerührt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in H_2O (40 mL), CHCl_3 (26 mL) und ACN (26 mL) gelöst und mit KIO_4 (13.9 g, 60.3 mmol, 3 eq) und RuCl_3 (63 mg, 302 μmol , 0,015 eq) versetzt. Die Reaktion wurde bei 40°C für 4 h gerührt und mit Et_2O (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , EtOAc / Pentan 1:8) wurde das Produkt **117** als klares Öl (4.69 g, 16.4 mmol, 81%) erhalten.



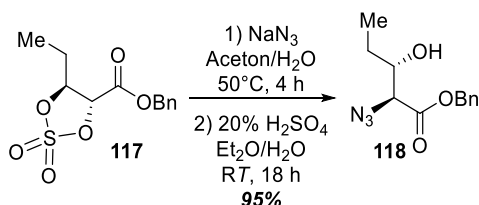
$R_f = 0.31$ (EtOAc / Pentan 1:8);

^1H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ [ppm]: 7.46 – 7.31 (m, 5H, H-8, H-8', H-9, H-9', H-10), 5.30 (s, 2H, H-6), 4.99 – 4.77 (m, 2H, H-3, H-4), 2.07 – 1.95 (m, 2H, H-2), 1.10 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-1);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 164.9, 134.1, 129.1, 128.9, 128.6, 85.2, 79.6, 68.8, 26.4, 9.1;

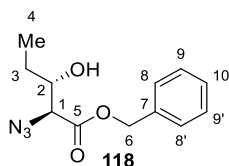
HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{NaO}_6\text{S}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 309,0403, gefunden: 309.0382.

Synthese von Azidester **118**



Zu einer Lösung aus Sulfat **117** (5.71 g, 22.1 mmol, 1 eq) in Aceton (100 mL) und H_2O (10 mL) wurde NaN_3 (1.89 g, 65.0 mmol, 1.3 eq) zugegeben und die Reaktionslösung bei 50°C für 5.5 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung unter vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand bei 0°C mit Ether (150 mL) und 20% H_2SO_4 (9.5 mL) versetzt. Die Lösung wurde bei RT für 17 h gerührt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit ges. NaHCO_3 -Lösung neutralisiert und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer Aufreinigung mittels MPLC (A= ACN+0.05% TFA, B= H_2O +0.05% TFA; 0-1.4 min 5% A, 1.4-16.4 min 5-95% A, 16.4-19.0 min

95% A; Säule: Reveleris C18 12 g, Flussrate: 30 mL/min) wurde das Produkt **118** als farbloses Öl (5.17 g, 20.7 mmol, 94%) erhalten.

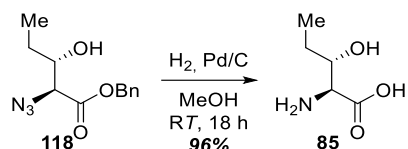


^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 7.44 – 7.30 (m, 5H, H-8, H-8', H-9, H-9', H-10), 5.26 (d, $J = 1.6$ Hz, 2H, H-6), 4.00 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, H-1), 3.94 – 3.83 (m, 1H, H-2), 3.31 (s, 1H, OH), 1.69 – 1.39 (m, 2H, H-3), 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-4);

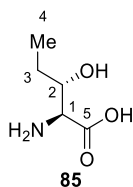
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 169.1, 134.9, 128.8, 128.8, 128.6, 73.5, 67.8, 66.1, 26.2, 9.9;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{NaO}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 272.1006, gefunden: 272.0986.

Synthese von *anti*- β -Hydroxynorvalin (**85**)



Unter H_2 -Atmosphäre wurde eine Lösung aus Azid **118** (1.10 g, 4.39 mmol, 1 eq) und 10% Pd/C (100 mg) in MeOH (33 mL) bei RT für 12 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit MeOH verdünnt bis kein weißer Niederschlag mehr zu beobachten war und anschließend filtriert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Produkt **85** als weißer Feststoff (1.07 g, 8.80 mmol, 100%) erhalten.

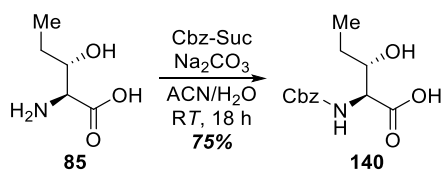


^1H NMR (300 MHz, Deuterium Oxide) δ [ppm]: 3.94 – 3.88 (m, 1H, H-2), 3.70 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, H-1), 1.48 (qd, $J = 7.6, 5.7$ Hz, 2H, H-3), 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-4);

^{13}C NMR (75 MHz, Deuterium Oxide) δ [ppm]: 171.7, 71.2, 59.3, 24.3, 9.9.

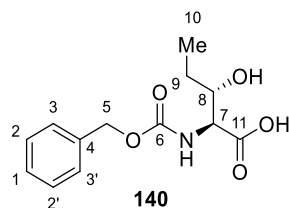
Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[86]

Synthese von Cbz-*anti*- β -Hydroxynorvalin (**140**)



Zu einer Lösung aus *anti*- β -Hydroxynorvalin (**85**, 1.17 g, 8.80 mmol, 1 eq) in ACN/10% aq. Na_2CO_3 (45 mL, 1:1) wurde Cbz-OSu (2,30 g, 9.24 mmol, 1.05 eq) zugegeben und bei RT für 16 h gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit H_2O verdünnt, bis kein Niederschlag mehr zu

beobachten war. Die klare Lösung wurde mit Et₂O (1x) gewaschen, mit 10% HCl auf pH 1-2 angesäuert und mit Et₂O (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **140** wurde als weißer Feststoff (2.26 g, 8.47 mmol, 96%) erhalten.



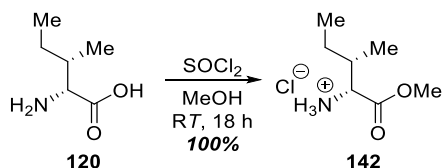
¹H NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.40 – 7.25 (m, 5H, H-1, H-2, H-2', H-3, H-3'), 5.10 (s, 2H, H-5), 4.26 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, H-7), 3.77 (dt, *J* = 9.2, 4.7 Hz, 1H, H-8), 1.71 – 1.44 (m, 2H, H-9), 0.99 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, H-10);

¹³C NMR (75 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 173.9, 158.7, 138.2, 129.6, 129.1, 129.0, 74.5, 67.9, 60.3, 27.3, 10.7;

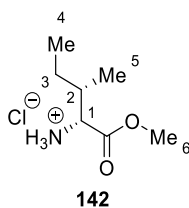
HR-MS (ESI⁺): *m/z* berechnet für C₁₃H₁₇NNaO₅ [M+Na]⁺: 290.0999, gefunden: 290.1010.

Synthese von *N*-Methyl-*allo*-isoleucinmethylester (**119**)

Synthese von *D*-*allo*-Isoleucinmethylester (**142**)

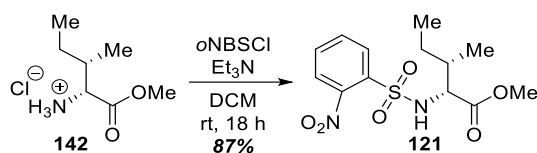


Zu einer Lösung aus *D*-*allo*-Isoleucin (**120**, 5.42 g, 41.3 mmol, 1 eq) in MeOH (120 mL) wurde SOCl₂ (3.6 mL, 62.0 mmol, 1.2 eq) langsam zugetropft und bei RT für 18 h gerührt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Produkt **142** als weißer Feststoff (7.49 g, 41.2 mmol, 100%) erhalten.

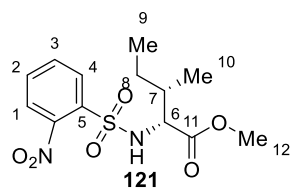


¹H NMR (300 MHz, Deuterium Oxide) δ [ppm]: 4.13 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, H-1), 3.84 (d, *J* = 2.0 Hz, 3H, H-6), 2.21 – 2.07 (m, 1H, H-2), 1.54 – 1.40 (m, 1H, H-3), 1.39 – 1.22 (m, 1H, H-3), 1.02 – 0.89 (m, 6H, H-4, H-5).^[121]

Synthese von *o*NBS-D-*allo*-Isoleucinmethylester (**121**)



Zu einer Lösung aus **142** (1.48 g, 8.17 mmol, 1 eq) und Et₃N (2.8 mL, 20.4 mmol, 2.5 eq) in DCM (80 mL) wurde *o*-NBS-Cl (1.90 g, 8.58 mmol, 1.05 eq) zugegeben und bei RT für 22 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion mit 1 M HCl angesäuert und mit DCM (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, Pentan/EtOAc 2:1) wurde das Produkt **121** als klares gelbliches Öl (2,36 g, 7.14 mmol, 87%) erhalten.



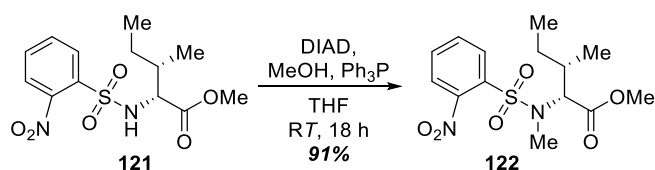
R_f = 0.31 (Pentan/EtOAc 2:1);

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 8.08 – 8.01 (m, 1H, H-1), 7.96 – 7.90 (m, 1H, H-4), 7.76 – 7.68 (m, 2H, H-2, H-3), 6.02 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, NH), 4.19 (dd, *J* = 10.0, 4.2 Hz, 1H, H-6), 3.44 (s, 3H, H-12), 2.01 – 1.83 (m, 1H, H-7), 1.56 – 1.42 (m, 1H, H-8), 1.38 – 1.21 (m, 1H, H-8), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, H-9), 0.89 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-10);

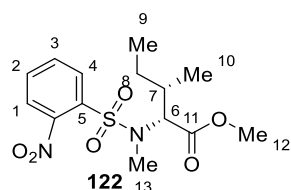
¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 171.6, 134.4, 133.7, 133.0, 130.5, 125.8, 60.3, 52.4, 38.1, 26.1, 14.6, 11.6;

HR-MS (ESI⁺): *m/z* berechnet für C₁₃H₁₈KN₂O₆S [M+K]⁺: 369.0517, gefunden: 369.0501.

Synthese von *N*-Methyl-*o*NBS-D-*allo*-isoleucinmethylester (**99**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus **121** (2.04 g, 6.18 mmol, 1 eq), trockenem MeOH (275 µL, 6.79 mmol, 1.1 eq) und Ph₃P (1,70 g, 6.48 mmol, 1.05 eq) in trockenem THF (15 mL) DIAD (1.31 g, 6.48 mmol, 1.05 eq) bei 0 °C zugegeben. Die Reaktion wurde auf RT erwärmt, bei RT für 3 h gerührt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, DCM) wurde das Produkt **122** als klares Öl (1.93 g, 5.60 mmol, 91%) erhalten.



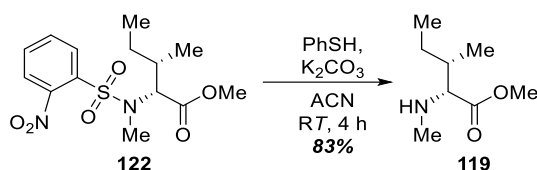
R_f = 0.38 (DCM);

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 8.07 – 7.93 (m, 1H, H-1), 7.72 – 7.65 (m, 2H, H-3, H-4), 7.62 – 7.60 (m, 1H, H-2), 4.25 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-6), 3.55 (s, 3H, H-12), 3.04 (s, 3H, H-13), 2.09 – 1.92 (m, 1H, H-7), 1.46 – 1.35 (m, 1H, H-8), 1.20 – 1.11 (m, 1H, H-8), 0.96 – 0.85 (m, 6H, H-9, H-10);

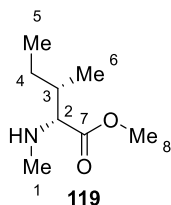
¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 170.9, 133.6, 132.9, 131.5, 131.2, 124.2, 63.8, 51.9, 34.5, 31.1, 26.0, 15.4, 11.2;

HR-MS (ESI+): *m/z* berechnet für C₁₄H₂₀KN₂O₆S [M+K]⁺: 383.0674, gefunden: 383.0648.

Synthese von *N*-Methyl-*D*-*allo*-isoleucinmethylester (**119**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus **122** (3.75 g, 10.8 mmol, 1.0 eq) und K₂CO₃ (4.51 g, 32.6 mmol, 3 eq) in DMF (190 mL) PhSH (1.33 mL, 13.1 mmol, 1.2 eq) zugegeben und bei RT für 3 h gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit EtOAc verdünnt, mit ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, 3% MeOH/DCM) wurde das Produkt **119** als klares Öl (1.42 mg, 8.92 mmol, 83%) erhalten.



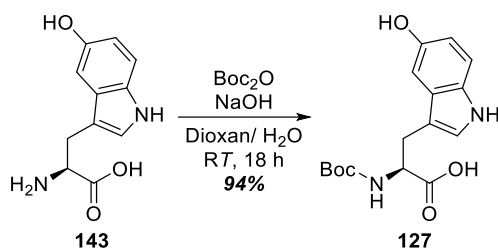
R_f = 0.27 (3% MeOH/DCM);

¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 3.73 (s, 3H, H-8), 3.06 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, H-2), 2.37 (s, 3H, H-1), 1.75 – 1.67 (m, 1H, H-3), 1.50 – 1.42 (m, 1H, H-4), 1.26 – 1.17 (m, 1H, H-4), 0.94 – 0.83 (m, 6H, H-5, H-6);

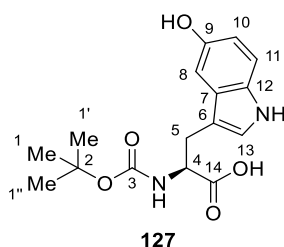
¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 182.5, 66.9, 53.2, 38.5, 36.2, 25.0, 15.9, 11.7.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[122]

Synthese von Boc-5-Hydroxytryptophan (127)



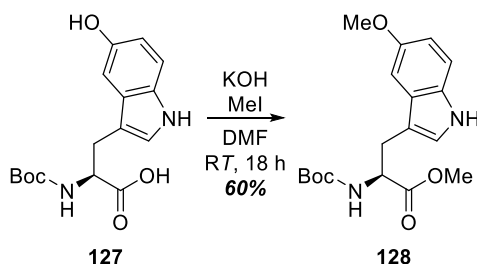
Boc₂O (5.20 g, 23.8 mmol, 1.05 eq) wurde zu einer Lösung aus 5-Hydroxy-L-tryptophan (**143**, 5.00 g, 8.80 mmol, 1 eq) in 1 M Natronlauge (50 mL) und Dioxan/H₂O (120 mL, 2:1) zugegeben. Die Reaktionslösung wurde bei RT für 16 h gerührt und mit 10% HCl auf pH 1-2 angesäuert. Anschließend wurde das Gemisch mit EtOAc (3x) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **127** wurde als farbloses Öl (6.82 g, 21.3 mmol, 94%) erhalten.



¹H NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.15 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, Aromat), 7.02 (s, 1H, Aromat), 6.96 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Aromat), 6.66 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H, Aromat), 4.39 (dd, *J* = 7.8, 5.1 Hz, 1H, H-4), 3.22 (dd, *J* = 14.7, 5.1 Hz, 1H, H-5), 3.04 (dd, *J* = 14.6, 7.9 Hz, 1H, H-5), 1.39 (s, 9H, H-1, H-1', H-1'').

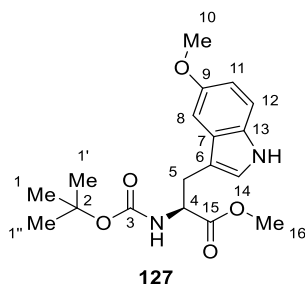
Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[123]

Synthese von Boc-5-Methoxytryptophanmethylester (128)



KOH (0.84 mg, 14.9 mmol, 1 eq) wurde zu einer Lösung aus Boc-5-hydroxy-L-tryptophane (**127**, 4.78 g, 14.9 mmol, 1 eq) in DMF (100 mL) bei 0 °C zugegeben und gerührt bis kein Feststoff mehr zu beobachten war. Es wurde MeI (2.33 g, 16.5 mmol, 1.1 eq) in DMF (30 mL) zugetropft und bei RT für 30 min gerührt. Anschließend wurde das Gemisch auf 0 °C gekühlt, ein weiteres Mal KOH (0.84 mg, 14.9 mmol, 1 eq) zugegeben und dann MeI (2.33 g, 16.5 mmol, 1.1 eq) in DMF (30 mL) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT für 2 h gerührt und mit 10% HCl auf pH 2 angesäuert. Nun wurde das Gemisch mit H₂O (150 mL) verdünnt und mit EtOAc (3x100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter

vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, Pentan/EtOAc 2:1) wurde das Produkt **128** als farbloses Öl (3.60 g, 10.3 mmol, 69%) erhalten.



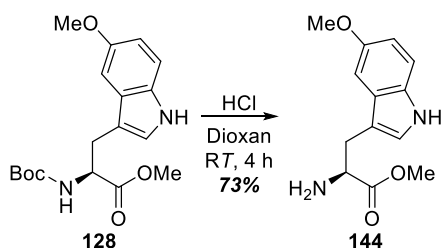
R_f = 0.32 (Pentan/EtOAc 2:1);

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 8.22 (s, 1H, Aromat NH), 7.25 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, Aromat), 7.03 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Aromat), 6.98 (s, 1H, Aromat), 6.88 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H, Aromat), 5.15 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, NH), 4.74 – 4.62 (m, 1H, H-4), 3.89 (s, 3H, H-10), 3.71 (s, 3H, H-16), 3.27 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H, H-5), 1.45 (s, 9H, H-1, H-1', H-1'');

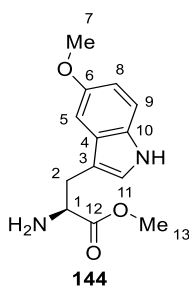
¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 172.9, 155.3, 154.2, 131.4, 128.0, 123.6, 112.5, 112.0, 109.9, 100.5, 79.9, 55.9, 54.2, 52.3, 28.3, 28.2;

HR-MS (ESI⁺): *m/z* berechnet für C₁₈H₂₄N₂NaO₅ [M+Na]⁺: 371.1577, gefunden: 371.1572.

Synthese von 5-Methoxytryptophanmethylester (**144**)



128 (5.10 g, 14.6 mmol, 1.0 eq) wurde in 4 M HCl in Dioxan (70 mL) gelöst und bei RT für 4 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit 10% Na₂CO₃-Lösung ins alkalische überführt und mit EtOAc (3x250 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **144** wurde als klares Öl (2.66 g, 9.34 mmol, 73%) erhalten.

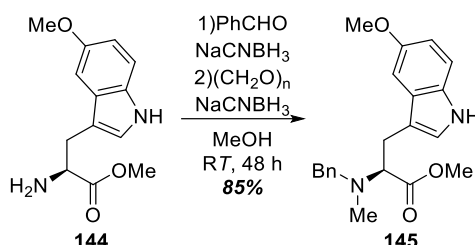


¹H NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.23 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, Aromat), 7.04 (s, 1H, Aromat), 7.01 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Aromat), 6.76 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H, Aromat), 3.82 (s, 3H, H-7), 3.77 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H, H-1), 3.66 (s, 3H, H-13), 3.22 – 3.03 (m, 2H, H-2);

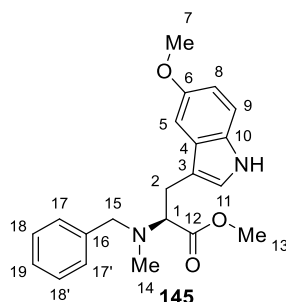
^{13}C NMR (75 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 176.7, 155.3, 133.4, 129.2, 125.5, 113.1, 112.9, 110.4, 101.3, 56.4, 56.0, 52.6, 31.4;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 249.1234, gefunden: 249.1310.

Synthese von *N*-Benzyl-*N*-Methyl-5-Methoxytryptophanmethylester (**145**)



PhCHO (45 μL , 0.444 mmol, 1.05 eq) wurde zu einer Lösung aus **144** (105 mg, 0.423 mmol, 1 eq) in MeOH (4.3 mL) zugegeben und bei RT für eine 1 h gerührt. Anschließend wurde NaBH₃CN (63 mg, 1.00 mmol, 2.4 eq) zugegeben und die Reaktionslösung bei RT für 22 h gerührt. Nun wurde Paraformaldehyd (38.1 mg, 1.27 mmol, 3 eq) zugegeben. Nachdem das Paraformaldehyd sich vollständig gelöst hat, wurde erneut NaBH₃CN (63 mg, 1.00 mmol, 2.4 eq) zugeben und das Reaktionsgemisch für weitere 22 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde in EtOAc aufgenommen und über Celith filtriert. Das Filtrat wurde mit H₂O (1x) und ges. NaCl-Lösung (1x) gewaschen und die vereinigten wässrigen Phasen mit EtOAc (1x) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, Pentan/EtOAc 3:1) wurde das Produkt **145** als farbloses Öl (127 mg, 0.361 mmol, 85%) erhalten.



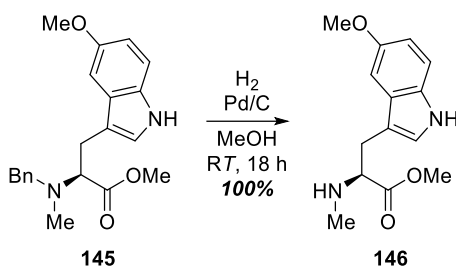
$R_f = 0.33$ (Pentan/EtOAc 3:1);

^1H NMR (300 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 7.30 – 7.15 (m, 6H, *Indol*, H-17, H-17', H-18, H-18', H-19), 6.96 (s, 1H, *Indol*), 6.86 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, *Indol*), 6.72 (dd, $J = 8.8, 2.5$ Hz, 1H, *Indol*), 3.82 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H, H-15), 3.74 (s, 3H, H-7) 3.68 (dd, $J = 9.6, 5.7$ Hz, 1H, H-1), 3.61 (s, 3H, H-13), 3.57 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H, H-15), 3.29 – 3.20 (m, 1H, H-2), 3.03 (dd, $J = 14.1, 5.6$ Hz, 1H, H-2), 2.37 (s, 3H, H-14);

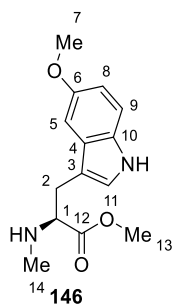
^{13}C NMR (75 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 174.1, 154.9, 140.2, 133.2, 130.1, 129.2, 129.0, 128.2, 124.9, 112.9, 112.6, 111.7, 101.1, 67.3, 60.1, 56.3, 51.4, 38.6, 26.8;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 375.1679, gefunden: 375.1677.

Synthese von *N*-Methyl-5-Methoxytryptophanmethylester (**146**)



Unter H₂-Atmosphäre wurde eine Lösung aus **145** (449 mg, 1.27 mmol, 1.0 eq) und 10% Pd/C (50 mg) in MeOH (18 mL) bei RT für 12 h gerührt und über Celith filtriert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt **146** als klares Öl (333 mg, 1.27 mmol, 100%) erhalten.

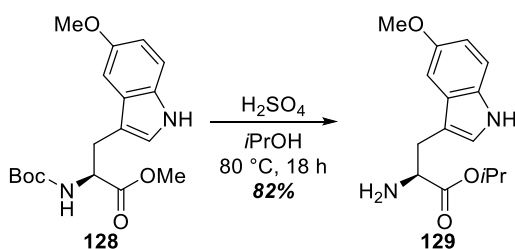


¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 8.52 (s, 1H, Aromat NH), 7.29 (s, 1H, Aromat), 7.22 (s, 1H, Aromat), 6.96 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Aromat), 6.87 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H, Aromat), 4.16 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, H-1), 3.86 (s, 3H, H-7), 3.77 (s, 3H, H-13), 3.52 (dd, *J* = 4.0, 2.0 Hz, 2H, H-2), 2.69 (s, 3H, H-14);

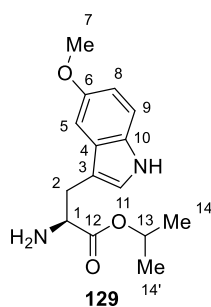
¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 168.6, 154.5, 131.5, 127.1, 125.3, 112.7, 112.5, 105.7, 100.1, 61.4, 55.9, 53.5, 32.6, 25.9;

HR-MS (ESI⁺): *m/z* berechnet für C₁₄H₁₈N₂NaO₃ [M+Na]⁺: 263.1390, gefunden: 263.1408.

Synthese von 5-Methoxytryptophanisopropylester (**129**)

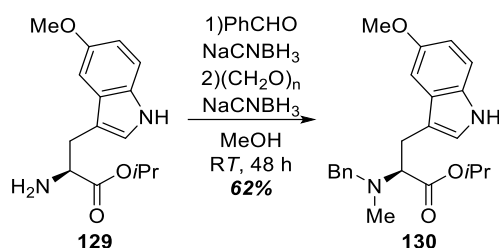


Zu einer Lösung aus **128** (200 mg, 574 μmol, 1 eq) in *i*PrOH (23 mL) wurde H₂SO₄ (0.75 mL) zugegeben und das Gemisch unter Rückfluss erhitzt für 18 h. Anschließend wurde die Lösung mit ges. NaHCO₃-Lösung ins alkalische überführt und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **129** wurde als klares Öl (130 mg, 470 μmol, 82%) erhalten.

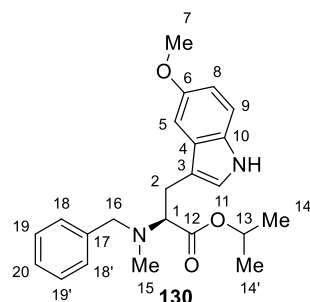


^1H NMR (300 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 7.22 (d, J = 8.8 Hz, 1H, Aromat), 7.04 (d, J = 3.0 Hz, 2H, Aromat), 6.76 (dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1H, Aromat), 4.96 – 4.88 (m, 1H, H-13), 3.82 (s, 3H, H-7), 3.70 (t, J = 6.4 Hz, 1H, H-1), 3.20 – 2.95 (m, 2H, H-2), 1.14 (d, J = 6.2 Hz, 3H, H-14), 1.08 (d, J = 6.3 Hz, 3H, H-14').

Synthese von *N*-Benzyl-*N*-Methyl-5-Methoxytryptophanisopropylester (**130**)



PhCHO (634 μL , 6.27 mmol, 1.05 eq) wurde zu einer Lösung aus **129** (1.60 g, 5.97 mmol, 1 eq) in MeOH (45 mL) zugegeben und bei RT für eine 1 h gerührt. Anschließend wurde NaBH_3CN (0.413 g, 5.97 mmol, 1.1 eq) zugegeben und die Reaktionslösung bei RT für 22 h gerührt. Nun wurde Paraformaldehyd (0.538 g, 5.97 mmol, 1 eq) zugegeben. Nachdem das Paraformaldehyd sich vollständig gelöst hat, wurde erneut NaBH_3CN (0.413 g, 5.97 mol, 1.1 eq) zugeben und das Reaktionsgemisch für weitere 22 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde in EtOAc aufgenommen und über Celith filtriert. Das Filtrat wurde mit H_2O (1x) und ges. NaCl-Lösung (1x) gewaschen und die vereinigten wässrigen Phasen mit EtOAc (1x) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , Pentan/EtOAc 4:1) wurde das Produkt **130** als farbloses Öl (1.41 g, 3.71 mmol, 62%) erhalten.



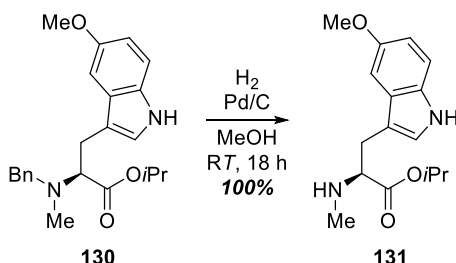
R_f = 0.39 (Pentan/EtOAc 4:1);

^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ [ppm]: 7.94 (s, 1H, Indol NH), 7.44 – 7.20 (m, 5H, H-18, H-18', H-19, H-19', H-20), 7.02 (d, J = 2.5 Hz, 1H, Indol), 7.00 (d, J = 2.7 Hz, 1H, Indol), 6.88 (d, J = 2.4 Hz, 1H, Indol), 6.85 (d, J = 2.4 Hz, 1H, Indol), 5.05 (h, J = 6.3 Hz, 1H, H-13), 3.93 (d, J = 13.6 Hz, 1H, H-1), 3.85 (s, 3H, H-7), 3.69 (d, J = 10.0 Hz, 2H, H-16), 3.33 (dd, J = 14.4, 9.0 Hz, 1H, H-2), 3.16 – 3.00 (m, 1H, H-2), 2.43 (s, 3H, H-15), 1.28 (d, J = 6.3 Hz, 3H, H-14), 1.14 (d, J = 6.3 Hz, 3H, H-14');

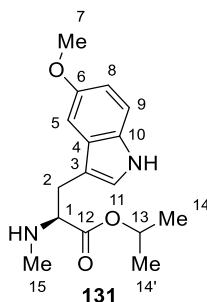
^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 154.0, 140.9, 131.3, 129.0, 128.9, 128.6, 128.3, 128.0, 127.7, 127.0, 123.5, 112.2, 111.7, 100.6, 65.4, 60.4, 56.0, 38.2, 25.8, 22.3, 21.8, 14.2;

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 381.2, gefunden: 381.1.

Synthese von *N*-Methyl-5-Methoxytryptophanisopropylester (**131**)



Unter H_2 -Atmosphäre wurde eine Lösung aus **130** (1.41 g, 3.68 mmol, 1.0 eq) und 10% Pd/C (120 mg) in MeOH (75 mL) bei RT für 22 h gerührt und über Celith filtriert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt **131** als klares Öl (1.09 g, 3.76 mmol, 100%) erhalten.



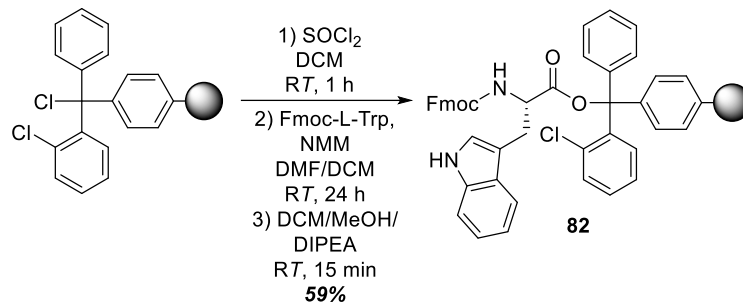
^1H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.38 – 7.17 (m, 2H, *Aromat*), 7.02 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, *Aromat*), 6.75 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H, *Aromat*), 4.93 – 4.80 (m, 1H, H-13), 3.82 (s, 3H, H-7), 3.45 (dd, $J = 7.7, 6.2$ Hz, 1H, H-1), 3.12 – 2.98 (m, 2H, H-2), 2.33 (s, 3H, H-15), 1.10 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, H-14), 0.95 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, H-14');

^{13}C NMR (101 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 173.9, 153.7, 131.9, 127.9, 127.7, 126.9, 126.6, 123.8, 111.5, 111.3, 109.2, 100.0, 68.2, 63.9, 54.9, 33.0, 28.6, 20.6, 20.3;

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 291.2, gefunden: 291.0.

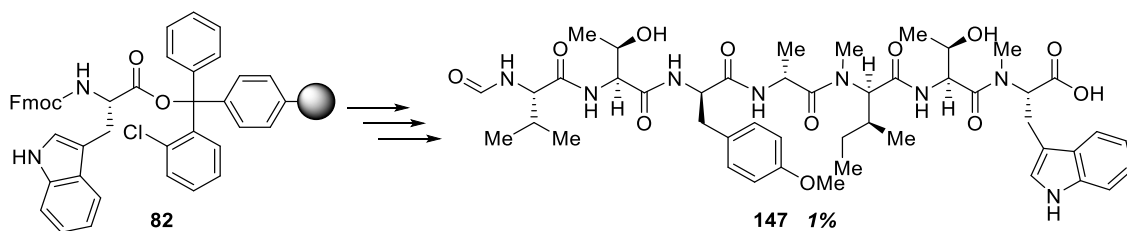
Synthesen zur Makrolactonisierung

Synthese von Fmoc-Trp beladenes Harz **82**



Entsprechend der allgemeinen Vorgehensweise zur Beladung des 2-Chlorotrityl-Harzes wurde 2-Chlorotrityl-Harz (9.30 g, 7.82 mmol, 1 eq, 0.840 mmol/g Harz) mit SOCl₂ (0.85 mL, 11.7 mmol, 1.5 eq) aktiviert und mit Fmoc-L-Trp (5.00 g, 11.7 mmol, 1.5 eq) und NMM (2.75 mL, 25.0 mmol, 3.2 eq) beladen. Mit Hilfe photometrischer Messungen konnte eine Beladungsdichte von 0.494 mmol/g Harz (59%) für **82** ermittelt werden.

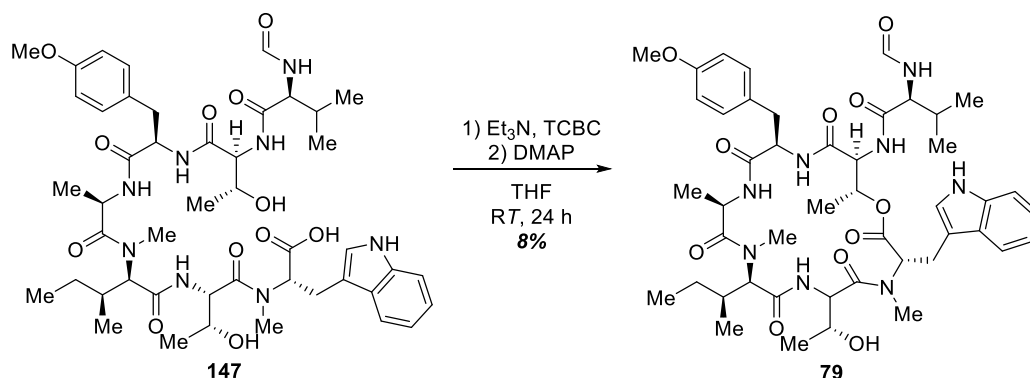
Synthese von Heptapeptidsäure **123**



Entsprechend der allgemeinen Vorgehensweise zur Festphasenpeptidsynthese wurde das Peptid **147** ausgehend von Harz **82** (3.00 g, 1.48 mmol, 1 eq) dargestellt. Die Abspaltung des Peptids erfolgte abweichend zur allgemeinen Vorgehensweise mit 20% TFA/DCM. Das Rohpeptid wurde mittels HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B=H₂O+0.05% TFA, 0-1 min 5% A, 1-3 min 5-20% A, 3-33 min 20-50% A, 33-35 min 50-95% A, 35-38 min 95% A, 38-40 min 95-5%, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) aufgereinigt und lyophilisiert. Das Produkt **147** wurde als weißer Feststoff (17 mg, 18.4 μmol, 1%) erhalten.

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₄₆H₆₇N₈O₁₂ [M+H]⁺ 923.5, gefunden: 923.2.

Synthese von Cycloheptamycin-Derivat **79**

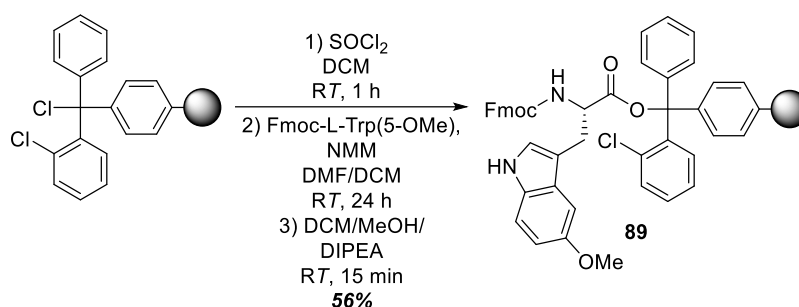


Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Heptapeptid **147** (10 mg, 10.8 μmol , 1 eq) in trockenem THF (2 mL) Et_3N (8 μL , 54.2 μmol , 5 eq) und TCBC (9 μL , 54.2 μmol , 5 eq) zugegeben und bei RT für 2 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit trockenem THF (2 mL) verdünnt. Die verdünnte Peptid-Lösung wurde mit Hilfe einer Spritzenpumpe (Zugabegeschwindigkeit: 13.3 $\mu\text{L}/\text{min}$) bei RT über eine Dauer von 5 h zu einer Lösung aus DMAP (8 mg, 65.0 μmol , 6 eq) in trockenem THF (6 mL) zugegeben. Es wurde eine Endkonzentration von 10^{-3} mmol/mL für das Peptid erreicht und das Gemisch wurde weitere 19 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt mit der HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B= H_2O +0.05% TFA, 0-1 min 5% A, 1-3 min 5-20% A, 3-33 min 20-50% A, 33-35 min 50-95% A, 35-40 min 95% A, 40-41 min 95-5%, 41-43 min 5%, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) aufgereinigt und lyophilisiert. Das Peptid **79** wurde als weißer Feststoff (0.8 mg, 0.886 μmol , 8%) erhalten.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ [ppm]: 10.96 (s, 1H), 8.30 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 8.10 – 8.06 (m, 1H), 7.85 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.19 – 7.08 (m, 2H), 7.07 – 7.02 (m, 2H), 6.99 – 6.93 (m, 1H), 6.76 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 5.11 (dt, $J = 6.8, 2.1$ Hz, 1H), 4.79 (dd, $J = 7.6, 4.8$ Hz, 1H), 4.71 (dd, $J = 10.5, 7.3$ Hz, 1H), 4.51 – 4.45 (m, 1H), 4.42 (dd, $J = 8.8, 6.1$ Hz, 1H), 4.31 (dd, $J = 9.2, 6.0$ Hz, 1H), 4.20 (t, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.16 – 4.09 (m, 1H), 3.89 – 3.78 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.05 – 2.92 (m, 2H), 2.90 (s, 3H), 2.76 (s, 3H), 2.71 – 2.62 (m, 2H), 2.00 (td, $J = 14.4, 13.9, 7.5$ Hz, 2H), 1.83 (m, 1H), 1.32 – 1.21 (m, 4H), 1.18 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.02 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.89 – 0.77 (m, 9H), 0.70 – 0.67 (m, 3H);

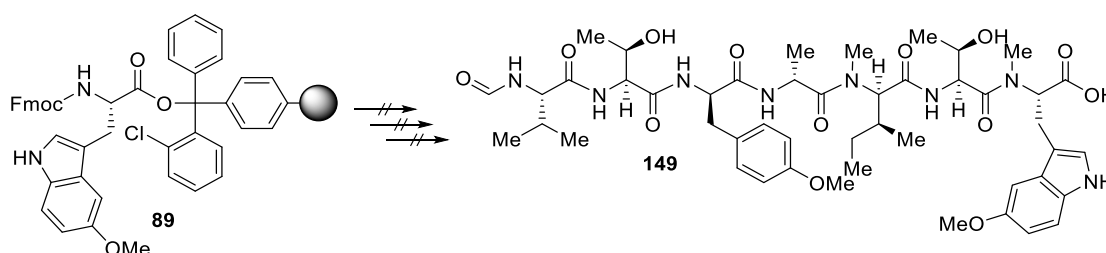
ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{46}\text{H}_{65}\text{N}_8\text{O}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 905.5, gefunden: 905.4.

Synthese von Fmoc-Trp(5-MeO) beladenes Harz **89**



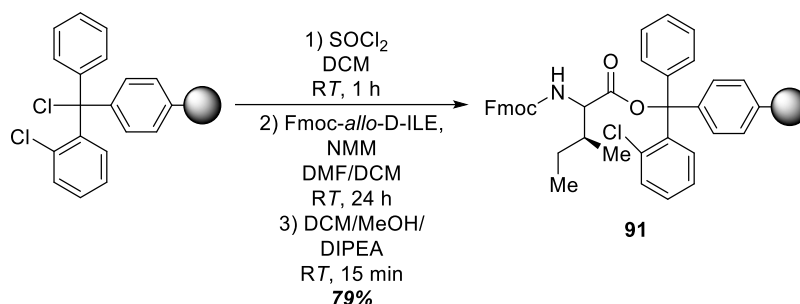
Entsprechend der allgemeinen Vorgehensweise zur Beladung des 2-Chlorotrityl-Harzes wurde 2-Chlorotrityl-Harz (8.42 g, 7.07 mmol, 1 eq, 0.840 mmol/g Harz) mit SOCl_2 (0.77 mL, 10.6 mmol, 1.5 eq) aktiviert und mit Fmoc-L-Trp(5-OMe) (3.52 g, 7.70 mmol, 1.1 eq) und NMM (2.5 mL, 22.6 mmol, 3.2 eq) beladen. Mit Hilfe photometrischer Messungen konnte eine Beladungsdichte von 0.470 mmol/g Harz (56%) für **89** ermittelt werden.

Synthese von Heptapeptidsäure **149**



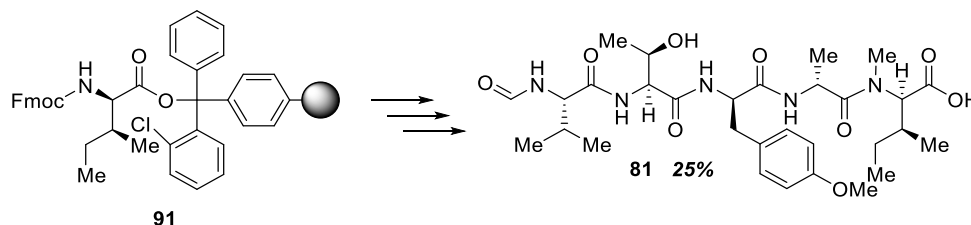
Entsprechend der allgemeinen Vorgehensweise zur Festphasenpeptidsynthese wurde versucht das Peptid **149** ausgehend von Harz **89** (6.08 g, 2.86 mmol, 1 eq, 0.470 mmol/g Harz) darzustellen. Jedoch konnte nach dem ersten und zweiten Kettenelongationsschritt festgestellt werden, dass es zu einer starken Nebenproduktbildung kommt, weshalb die Synthese nach dem zweiten Elongationsschritt abgebrochen wurde.

Synthese von Fmoc-D-*allo*-Isoleucin beladenes Harz **91**



Entsprechend der allgemeinen Vorgehensweise zur Beladung des 2-Chlorotrityl-Harzes wurde 2-Chlorotrityl-Harz (10.0 g, 8.40 mmol, 1 eq, 0.840 mmol/g Harz) mit SOCl₂ (0.89 mL, 12.6 mmol, 1.5 eq) aktiviert und mit Fmoc-D-*allo*-Ile (4.45 g, 12.6 mmol, 1.5 eq) und NMM (3.0 mL, 26.9 mmol, 3.2 eq) beladen. Mit Hilfe photometrischer Messungen konnte eine Beladungsdichte von 0.664 mmol/g Harz (79%) für **91** ermittelt werden.

Synthese von Pentapeptid **81**



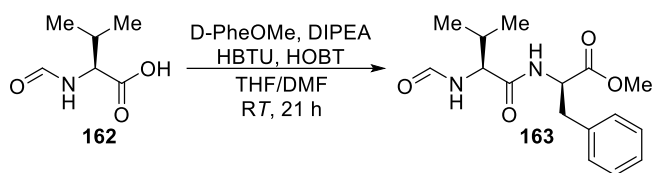
Entsprechend der allgemeinen Vorgehensweise zur Festphasenpeptidsynthese wurde das Peptid **81** ausgehend von Harz **91** (4.54 g, 2.54 mmol, 1 eq) dargestellt. Das Rohpeptid wurde mittels MPLC (A=ACN+0.05% TFA, B=H₂O+0.05% TFA, 0-1.1 min 5% A, 1.1-14.2 min 5%-95% A, 14.2-15.9 min 95% A, Säule: Reveleris C18 12 g, Flussrate: 30 mL/min) aufgereinigt und lyophilisiert. Das Produkt **81** wurde als weißer Feststoff (390 mg, 627 μmol, 25%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ [ppm]: 0.79 (m, 3H), 0.88-1.02 (m, 12H), 1.14-1.24 (m, 1H), 1.33 (t, 3H, *J*=7.3 Hz), 1.52-1.64 (m, 1H), 1.95-2.05 (m, 2H), 2.65-2.89 (m, 2H), 3.06 (d, 3H, NCH₃, *J*=13.6 Hz), 3.12-3.22 (m, 1H), 3.75 (d, 3H, OCH₃, *J*=1.3 Hz), 4.00-4.27 (m, 2H), 4.28-4.36 (m, 1H), 4.59-4.67 (m, 1H), 4.81-4.84 (m), 6.76-6.85 (m, 2H, *Aromat*), 7.06-7.17 (m, 2H, *Aromat*), 8.08-8.18 (m, 1H, NCHO);

¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) δ [ppm]: 11.4, 11.5, 15.6, 15.6, 17.2, 17.2, 18.3, 18.6, 19.7, 19.8, 19.9, 20.2, 27.6 (d, *J* = 2.0 Hz), 31.7, 31.9, 32.1, 32.2, 34.7, 37.7, 46.9, 47.0, 55.6, 55.9, 56.2, 58.9, 59.2, 60.3, 61.1, 61.9, 62.1, 67.7, 68.2, 114.9, 130.1, 130.4, 131.3, 131.4, 160.0, 160.0, 163.9, 164.1, 172.2, 172.7, 172.7, 172.7, 173.4, 173.6, 173.6, 173.7, 175.1, 175.1;

HRMS: *m/z* berechnet für C₃₀H₄₈N₅O₉=622.3452 [M+H]⁺, gefunden: 622.3447.

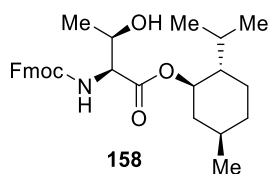
Synthese von Dipeptid **163**



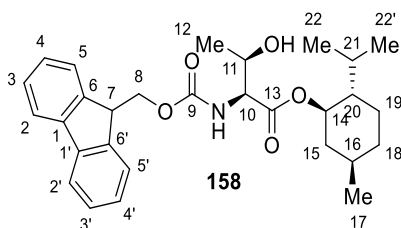
Zu einer Lösung aus Formyl-L-Valin (**162**, 100 mg, 0.689 mmol, 1.2 eq) in DMF (4 mL) wurde bei 0 °C DIPEA (0.24 μ L, 1.44 mmol, 2.5 eq), HOBT (93 mg, 0.698 mmol, 1.2 eq), D-Phenylalaninmethylester Hydrochlorid (124 mg, 0.574 mmol, 1 eq) und HBTU (261 mg, 0.689 mmol, 1.2 eq) zugegeben und bei RT für 21 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit EtOAc verdünnt, mit H₂O (2x) gewaschen und die wässrige Phase mit EtOAc (2x) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 40% Zitronensäure (3x) und mit ges. NaCl (1x) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Eine Untersuchung des Rohprodukts von **163** durch LCMS zeigte eine geringe, aber vernachlässigbare, Isomerisierung.

ESI-MS (+): m/z berechnet für C₁₆H₂₃N₃O₈ [M+H]⁺ 307.2, gefunden: 307.0.

Synthese von Fmoc-Threonin-(-)-mentholester (**158**)

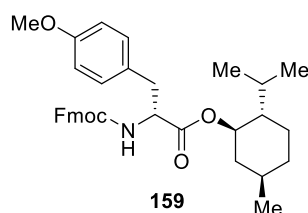


Entsprechend der allgemeinen Methode zur Derivatisierung von Fmoc-Aminosäuren mit (-)-Menthol wurde das Produkt **158** (4 mg, 8.34 μ mol, 3%) dargestellt. Es konnte keine Isomerisierung beobachtet werden.

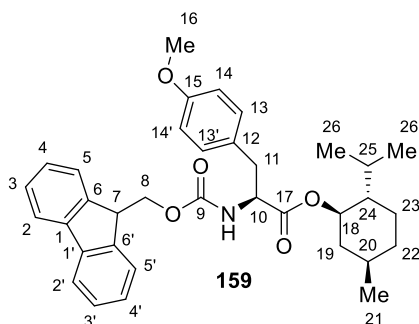


¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 7.77 (d, J = 7.4 Hz, 2H, Aromat), 7.62 (d, J = 6.8 Hz, 2H, Aromat), 7.41 (t, 2H, Aromat), 7.32 (t, 2H, Aromat), 5.58 (d, J = 9.5 Hz, 1H, NH), 4.78 (td, J = 10.6, 10.2, 4.0 Hz, 1H, H-14), 4.43 (d, J = 6.9 Hz, 2H, H-8), 4.37 – 4.19 (m, 3H, H-10, H-11, H-7), 2.06 – 0.98 (m, 12H, H-14, H-15, H-16, H-18, H-19, H-20, H-21, H-12), 0.97 – 0.82 (m, 6H, H-22, H-22'), 0.75 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-17).

Synthese von Fmoc-D-Tyr(OMe)-(-)-mentholester (159)



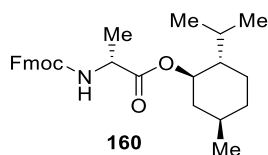
Entsprechend der allgemeinen Methode zur Derivatisierung von Fmoc-Aminosäuren mit (-)-Menthol wurde das Produkt **159** (24 mg, 43.1 μ mol, 14%) dargestellt. Es konnte keine Isomerisierung beobachtet werden.



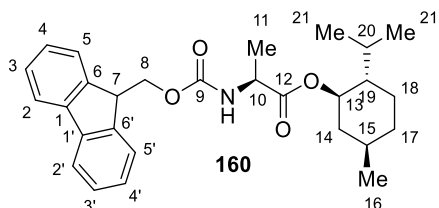
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 7.77 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, Aromat), 7.57 (t, 2H, Aromat), 7.42 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, Aromat), 7.32 (t, 2H, Aromat), 7.07 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, Aromat), 6.82 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, Aromat), 5.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, NH), 4.76 – 4.56 (m, 2H, H-8), 4.48 – 4.27 (m, 2H, H-10, H-18), 4.20 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-7), 3.78 (s, 3H, H-16), 3.20 – 2.91 (m, 2H, H-11), 2.07 – 0.92 (m, 9H, H-18, H-19, H-20, H-22, H-23, H-24, H-25), 0.91 – 0.79 (m, 6H, H-26, H-26'), 0.74 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-21);

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 171.5, 158.8, 155.7, 144.0, 143.9, 141.4, 130.52, 127.8, 127.2, 125.3, 125.2, 120.1, 114.1, 76.0, 67.1, 55.3, 55.3, 47.3, 46.9, 40.8, 37.6, 34.2, 31.5, 26.0, 23.1, 22.1, 21.0, 16.1.

Synthese von Fmoc-D-Ala(-)-mentholester (160)



Entsprechend der allgemeinen Methode zur Derivatisierung von Fmoc-Aminosäuren mit (-)-Menthol wurde das Produkt **160** (36 mg, 80.0 μ mol, 25%) dargestellt. Es konnte keine Isomerisierung beobachtet werden.

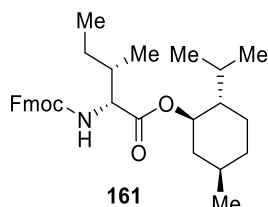


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 7.77 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H, Aromat), 7.61 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, Aromat), 7.41 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, Aromat), 7.32 (dt, $J = 7.4, 1.1$ Hz, 2H, Aromat), 5.44 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, NH), 4.73 (td, $J = 10.9, 4.4$ Hz, 1H, H-13), 4.52 – 4.28 (m, 3H, H-7, H-8), 4.23 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-10), 2.13 – 1.32

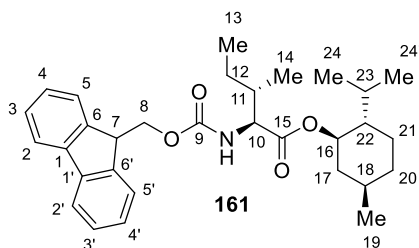
(m, 9H, H-14, H-15, H-17, H-18, H-19, H-20) 1.15 – 0.93 (m, 3H, H-11), 0.91 (t, $J = 6.1$ Hz, 6H, H-21, H-21'), 0.76 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-16);

^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 172.8, 155.7, 143.9, 141.4, 127.8, 127.2, 125.2, 120.1, 75.9, 67.1, 50.1, 47.3, 47.1, 40.8, 34.3, 31.5, 26.2, 23.2, 22.1, 20.9, 19.0, 16.1.

Synthese von Fmoc-D-*allo*-Isoleucin-(-)-mentholester (**161**)



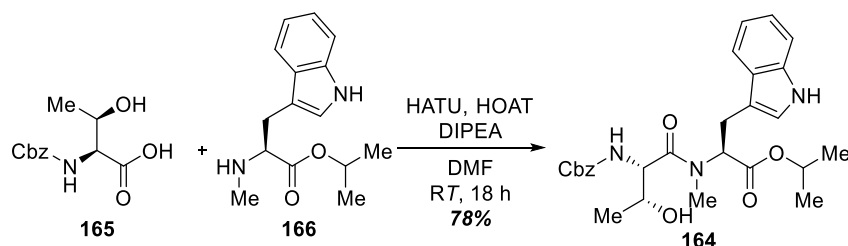
Entsprechend der allgemeinen Methode zur Derivatisierung von Fmoc-Aminosäuren mit (-)-Menthol wurde das Produkt **161** (21 mg, 42.7 μmol , 13%) dargestellt. Es konnte keine Isomerisierung beobachtet werden.



^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 7.77 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, *Aromat*), 7.61 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, *Aromat*), 7.41 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, *Aromat*), 7.32 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, *Aromat*), 5.27 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H, NH), 4.73 (td, $J = 10.8, 4.2$ Hz, 1H, H-16), 4.46 (dd, $J = 9.4, 3.4$ Hz, 1H, H-7), 4.40 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H, H-8), 4.24 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-10), 2.09 – 0.99 (m, 12H, H-11, H-12, H-17, H-18, H-20, H-21, H-22, H-23), 0.96 – 0.78 (m, 12H, H-13, H-14, H-24, H-24'), 0.75 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-19);

^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 172.2, 156.5, 144.1, 143.9, 141.4, 127.8, 127.2, 125.3, 120.1, 120.1, 75.9, 67.2, 57.5, 47.4, 47.0, 40.9, 37.9, 34.3, 31.6, 26.6, 26.2, 23.1, 22.1, 21.0, 15.9, 14.3, 12.0.

Synthese von Dipeptid **164**



Zu einer Lösung aus Cbz-L-Thr (**165**, 1.62 g, 6.36 mmol, 1.2 eq) in DMF/DCM/THF (60 mL, 1:1:1) wurde Collidin (1.75 mL, 13.2 mmol, 2.05 eq), HOAT (867 mg, 6.36 mmol, 1.2 eq) und HATU (2.42 g, 6.36 mmol, 1.2 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 5 min gerührt. Anschließend wurde der Reaktionslösung *N*-Methyl-L-Tryptophanisopropylester (**166**, 1.38 g, 5.3 mmol, 1 eq) in DMF (20 mL) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 12 h gerührt. Die Lösung wurde mit EtOAc verdünnt

und mit 0.1 M HCl (1x), ges. NaHCO₃-Lösung (1x) und ges. NaCl-Lösung (1x) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, EtOAc/Pentan 2:1) wurde das Produkt **164** als klares Öl (2.09 g, 4.22 mmol, 78%) erhalten.

R_f = 0.53 (EtOAc/Pentan 2:1);

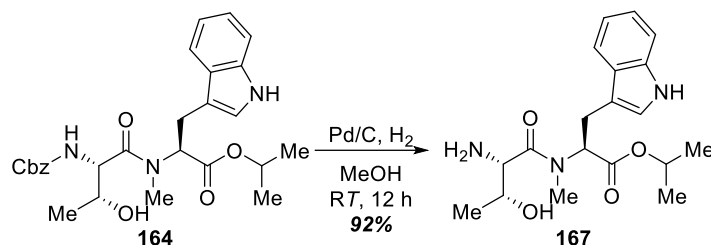
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.39 – 7.25 (m, 7H, *Aromat*), 7.22 – 7.07 (m, 2H, *Aromat*), 6.93 (d, *J* = 24.9 Hz, 1H, *Aromat*), 5.45 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H, NH), 5.42 – 5.30 (m, 1H, Trp-H_α), 5.15 – 4.97 (m, 3H, PhCH₂, CH(CH₃)₂), 4.49 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, Thr-H_α), 4.11 – 4.04 (m, 1H, Thr-H_β), 3.60 – 3.43 (m, 1H, Trp-H_β), 3.27 – 3.07 (m, 1H, Trp-H_γ), 2.90 (s, 3H, NCH₃), 1.29 – 1.21 (m, 6H, CH(CH₃)₂), 1.16 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, Thr-H_γ);

¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 174.2, 172.5, 170.2, 169.4, 156.4, 156.3, 136.5, 136.3, 136.1, 136.1, 128.6, 128.6, 128.5, 128.3, 128.1, 128.1, 127.7, 127.1, 126.6, 123.2, 122.7, 122.3, 122.2, 120.3, 119.5, 118.4, 111.5, 111.2, 110.7, 110.5, 69.4, 69.3, 67.4, 67.0, 66.7, 60.8, 60.4, 57.9, 54.3, 51.2, 32.8, 29.6, 24.9, 24.1, 21.8, 21.8, 21.7, 18.6, 17.6, 14.2;

Aufgrund der *cis/trans*-Stellung der Amidbindung wurde in den NMR-Spektren doppelte Signalsätze beobachtet. Im ¹H-Spektrum wurde das Isomer mit höherer Intensität, im ¹³C-Spektrum wurden alle detektierten Signale dokumentiert.

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₂₇H₃₄N₃O₆ [M+H]⁺ 496.2, gefunden: 496.0.

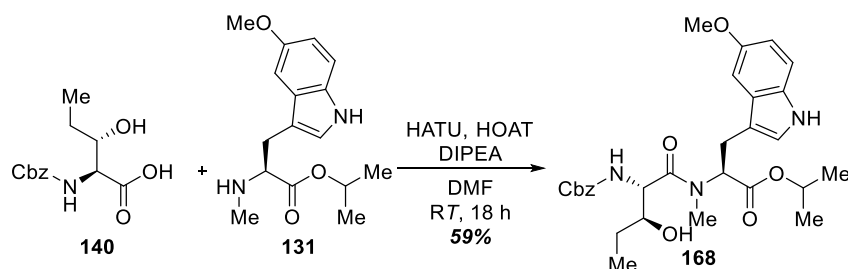
Synthese von Dipeptid **167**



Unter H₂-Atmosphäre wurde eine Lösung aus Dipeptid **164** (300 mg, 605 μmol, 1.0 eq) und 10% Pd/C (30 mg) in MeOH (8 mL) bei RT für 6 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Produkt **167** als klares Öl (201 mg, 556 μmol, 92%) erhalten.

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₁₉H₂₈N₃O₃ [M+H]⁺ 362.2, gefunden: 362.1.

Synthese von Dipeptid **168**



Zu einer Lösung aus Cbz-*anti*-HNV (**140**, 50 mg, 187 μmol , 1.0 eq) in DMF/DCM/THF (1.9 mL, 1:1:1) wurde Collidin (62 μL , 468 μmol , 2.5 eq), HOAT (26 mg, 196 μmol , 1.05 eq) und HATU (75 mg, 196 μmol , 1.05 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 5 min gerührt. Anschließend wurde der Reaktionslösung MeTrp(5-OMe)O*i*Pr (**131**, 52 mg, 187 μmol , 1 eq) in DMF (0.6 mL) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 16 h gerührt. Die Lösung wurde mit EtOAc und H₂O verdünnt und mit 10% Zitronensäure (1x) und ges. NaCl-Lösung (1x) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, EtOAc/Pentan 1:1) wurde das Produkt **168** als klares Öl (57 mg, 106 μmol , 59%) erhalten.

$R_f = 0.29$ (EtOAc/Pentan 1:1);

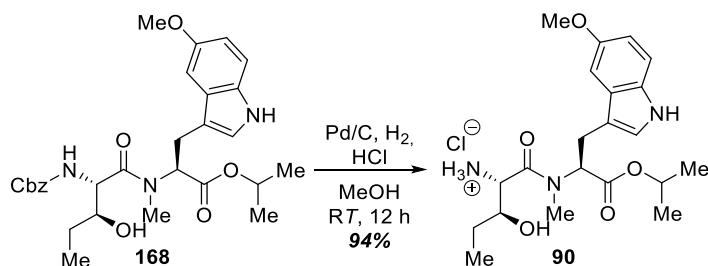
¹H NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.35 – 7.27 (m, 5H, Aromat), 7.23 – 7.18 (m, 2H, Aromat), 7.06 (dd, $J = 18.7, 16.3$ Hz, 1H, Aromat), 6.75 (t, $J = 9.6$ Hz, 1H, Aromat), 5.11 – 4.94 (m, 4H, OCH(CH₃)₂, PhCH₂, Trp-H _{α}), 4.58 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, HNV-H _{α}), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.66 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H, HNV-H _{β}), 3.39 (dd, $J = 15.1, 5.6$ Hz, 1H, Trp-H _{β}), 3.22 – 3.16 (m, 1H, Trp-H _{β}), 3.05 (s, 3H, NCH₃), 1.61 (m, 1H, HNV-H _{γ}), 1.41 – 1.34 (m, 1H, HNV-H _{γ}), 1.22 – 1.18 (m, 6H, CH(CH₃)₂), 0.96 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, HNV-H _{δ});

¹³C NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 174.5, 174.1, 172.0, 171.5, 158.2, 158.0, 155.5, 155.2, 138.3, 133.3, 129.6, 129.1, 129.0, 125.8, 125.4, 113.4, 113.3, 113.1, 112.7, 111.1, 110.4, 101.2, 75.1, 74.2, 70.6, 70.2, 67.9, 67.8, 61.8, 61.0, 56.4, 55.1, 34.9, 30.0, 27.0, 26.6, 26.5, 25.6, 22.1, 22.0, 22.0, 10.2, 10.2;

Aufgrund der *cis/trans*-Stellung der Amidbindung wurde in den NMR-Spektren doppelte Signalsätze beobachtet. Im ¹H-Spektrum wurde das Isomer mit höherer Intensität, im ¹³C-Spektrum wurden alle detektierten Signale dokumentiert.

HR-MS (ESI⁺): m/z berechnet für C₂₉H₃₈N₃O₇ [M+H]⁺: 540.2704, gefunden: 540.2756.

Synthese von Dipeptid **90**



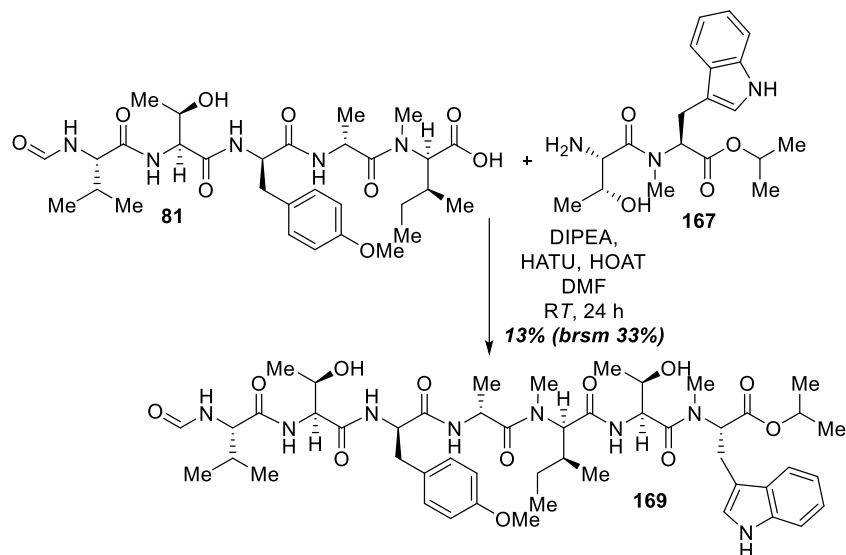
Unter H₂-Atmosphäre wurde eine Lösung aus Dipeptid **168** (98 mg, 182 μmol , 1.0 eq), 4 M HCl (0.455 μL , 1.82 mmol, 10 eq) und 10% Pd/C (5 mg) in MeOH (8 mL) bei RT für 3 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celith filtriert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Produkt **90** als weißer Feststoff (59 mg, 171 μmol , 94%) erhalten.

¹H NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.21 (dd, $J = 8.8, 0.6$ Hz, 1H, Aromat), 7.14 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, Aromat), 7.03 (s, 1H, Aromat), 6.74 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H, Aromat), 4.25 (td, $J = 4.6, 1.2$ Hz, 1H, Trp-H _{α}), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (dd, $J = 5.5, 1.1$ Hz, 1H, HNV-H _{α}), 3.57 (dd, $J = 15.1, 4.6$ Hz, 1H, Trp-H _{β}), 3.38 (dd, $J = 15.1, 4.6$ Hz, 1H, Trp-H _{β}), 2.96 (s, 3H, NCH₃), 2.74 – 2.70 (m, 1H, HNV-H _{β}), 0.62 – 0.51 (m, 5H, HNV-H _{γ} , HNV-H _{δ});

^{13}C NMR (151 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 169.7, 167.4, 155.5, 133.2, 129.6, 126.2, 113.2 (d, $J = 21.4$ Hz), 109.6, 101.6, 75.2, 64.2, 60.7, 56.3, 33.7, 28.9, 25.2, 10.5;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 406.2337, gefunden: 406.2355.

Synthese von Heptapeptidester 169

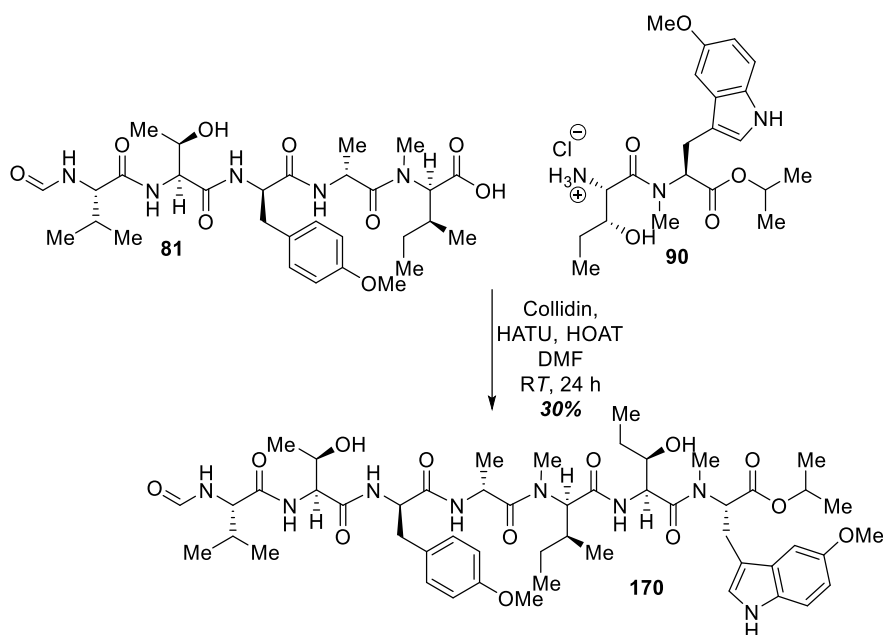


Zu einer Lösung aus Pentapeptid **81** (30 mg, 48.3 μmol , 1 eq) in DMF (300 μL) wurde DIPEA (16.5 μL , 96.5 μmol , 2 eq), HOAT (15 mg, 53.1 μmol , 1.1 eq) und HATU (21 mg, 53.1 μmol , 1.1 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 5 min bei RT gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus Dipeptid **167** (24 mg, 62.7 μmol , 1.3 eq) in DMF (300 μL) in fünf Portionen aufgeteilt, welche in jeweils 5 min Intervallen der Reaktionslösung zugegeben wurden. Nach vollendeter Zugabe wurde das Gemisch bei RT für 24 h gerührt, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, an der präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B= H_2O +0.05% TFA, 0-1 min 5% A, 1-35 min 5-60% A, 35-37 min 60% A, 37-39 min 95% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) aufgereinigt und lyophilisiert. Das Produkt **169** wurde als weißer Feststoff (6 mg, 6.22 μmol , 13%) erhalten. Weiterhin konnte ein Isomer des Produkts (3 mg, 3.63 μmol , 6%) und Edukt (18 mg, 29.0 μmol , 60%) isoliert werden. Unter Berücksichtigung des wiedergewonnenen Startmaterials betrug die Ausbeute 32%.

^1H NMR (500 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 8.15 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.68 – 7.54 (m, 1H), 7.39 – 7.30 (m, 1H), 7.18 – 6.98 (m, 5H), 6.79 (dt, $J = 8.7, 3.1$ Hz, 2H), 5.40 – 5.33 (m, 1H), 5.03 (p, $J = 6.3$ Hz, 1H), 4.82 – 4.74 (m, 1H), 4.71 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 4.64 – 4.56 (m, 1H), 4.31 (dd, $J = 7.0, 3.2$ Hz, 1H), 4.15 – 4.02 (m, 2H), 3.99 – 3.92 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.45 (dd, $J = 15.1, 5.3$ Hz, 1H), 3.25 – 3.07 (m, 3H), 2.90 (s, 3H), 2.85 – 2.73 (m, 1H), 2.57 (s, 3H), 2.16 – 2.06 (m, 1H), 2.01 – 1.92 (m, 1H), 1.44 – 1.18 (m, 11H), 1.09 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H), 1.01 – 0.87 (m, 12H), 0.74 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H);

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{49}\text{H}_{73}\text{N}_8\text{O}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 965.5, gefunden: 965.0.

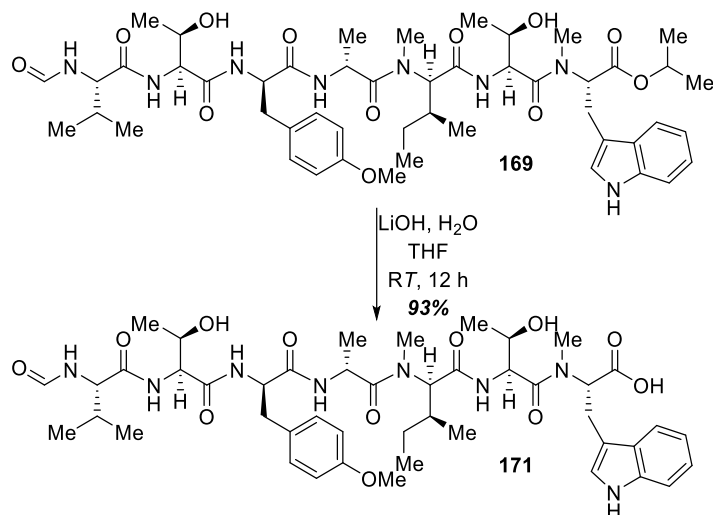
Synthese von Heptapeptidester 170



Zu einer Lösung aus Pentapeptid **81** (50 mg, 80.4 μmol , 1 eq) in DMF/DCM (500 μL , 1:1) wurde Collidin (32 μL , 240 μmol , 3 eq), HOAT (22 mg, 160 μmol , 2 eq) und HATU (34 mg, 88.4 μmol , 1.1 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 5 min bei RT gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus Dipeptid **90** (71 mg, 160 μmol , 2 eq) in DMF (250 μL) in fünf Portionen eingeteilt, wovon in 5 min Intervallen eine Portion der Reaktionslösung zugegeben wurde. Nach vollendeter Zugabe wurde das Gemisch bei RT für 24 h gerührt, mit ges. NaCl-Lösung und EtOAc verdünnt und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde über MgSO_4 getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt an der präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B= H_2O +0.05% TFA, 0-2 min 5% A, 1-15 min 5-45% A, 15-20 min 45% A, 20-28 min 45-95% A, 28-31 min 5% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) aufgereinigt und lyophilisiert. Das Produkt **170** wurde als Isomerengemisch in Form eines weißen Feststoffs (24 mg, 23.8 μmol , 30%) erhalten.

HR-MS (ESI⁺): m/z berechnet für $\text{C}_{51}\text{H}_{77}\text{N}_8\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1009.5605, gefunden: 1009.5723.

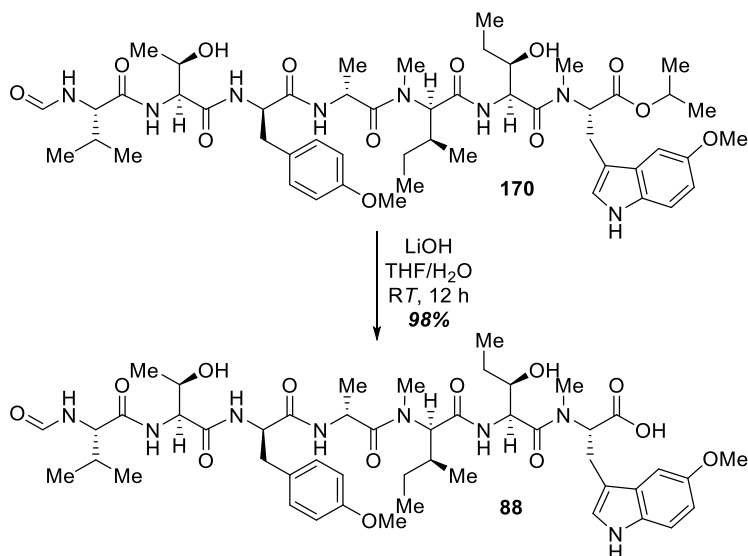
Synthese von Heptapeptidsäure 171



Zu einer Lösung aus Heptapeptid **169** (18 mg, 18.6 μmol , 1 eq) in THF (3.6 mL) wurde eine 0.1 M LiOH-Lösung (0.58 mL, 58 μmol , 3 eq) bei 0°C zugetropft und bei RT für 23 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit EtOAc verdünnt und mit 1 M HCl gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (2x) reextrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet. Nachdem das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurde, wurde das Produkt **171** als klares Öl (16 mg, 17.3 μmol , 93%) erhalten.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{46}\text{H}_{67}\text{N}_8\text{O}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 923.5, gefunden: 922.9.

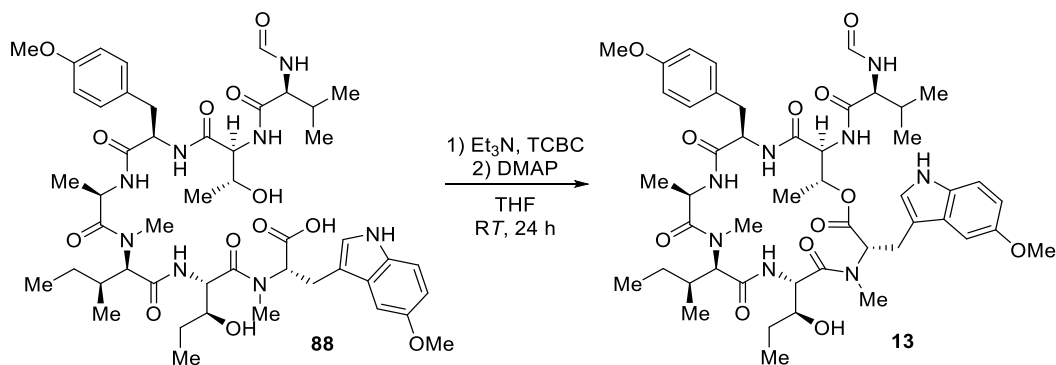
Synthese von Heptapeptidsäure **88**



Zu einer Lösung aus Heptapeptid **170** (15 mg, 14.8 μmol , 1 eq) in THF (3 mL) wurde 0.1 M LiOH-Lösung (0.44 mL, 44.0 μmol , 3 eq) bei 0°C zugetropft und bei RT für 23 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 10% HCl auf pH 1 eingestellt und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **88** wurde als Isomerenmischung in Form eines klaren Öls (14 mg, 14.5 μmol , 98%) erhalten.

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{71}\text{N}_8\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 967.5135, gefunden: 967.5133.

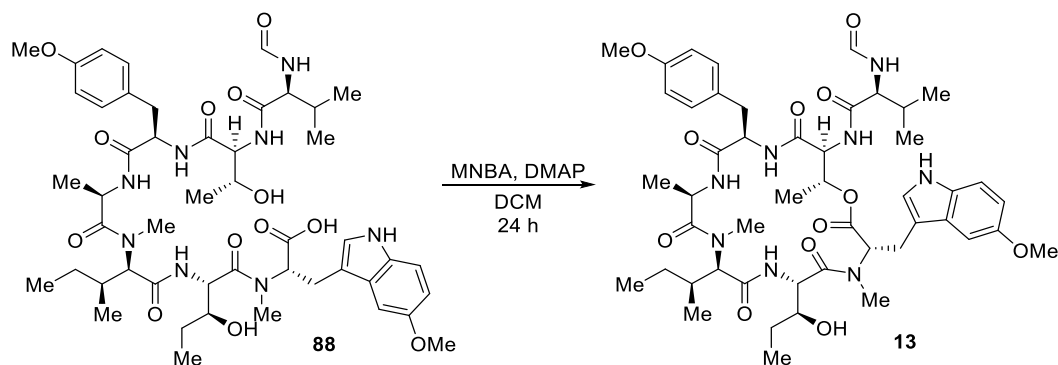
Synthese von Cycloheptamycin (**13**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Heptapeptid **88** (8 mg, 8.27 μmol , 1 eq) in trockenem THF (5 mL) Et₃N (5.7 μL , 41.4 μmol , 5 eq) und TCBC (6.5 μL , 41.4 μmol , 5 eq) zugegeben und

bei RT für 2 h gerührt. Die Peptid-Lösung wurde mit Hilfe einer Spritzenpumpe (Zugabegeschwindigkeit: 8.3 $\mu\text{L}/\text{min}$) bei RT über eine Dauer von 10 h zu einer Lösung aus DMAP (6 mg, 49.6 μmol , 6 eq) in trockenem THF (2 mL) zugegeben. Es wurde eine Endkonzentration von 10^{-3} mmol/mL für das Peptid erreicht und das Gemisch wurde weitere 24 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt mittels LC-HRMS untersucht. Die Bildung des Produkts **13** konnte massenspektrometrisch nachgewiesen werden.

HR-MS (ESI⁺): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{69}\text{N}_8\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 949.5030, gefunden: 949.5039.

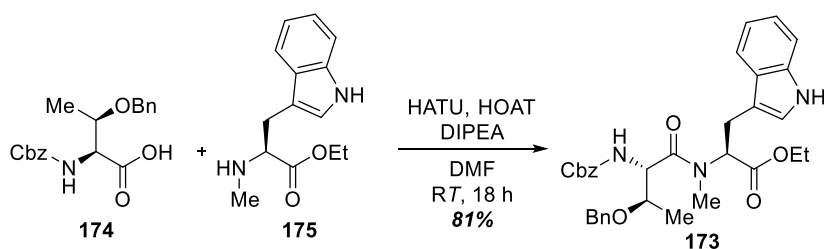


Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus MNBA (3.2 mg, 9.41 μmol , 1.3 eq) und DMAP (3.0 mg, 21.7 μmol , 21.7 μmol , 3 eq) in trockenem DCM (2 mL) mit Hilfe einer Spritzenpumpe (Zugabegeschwindigkeit: 8.3 $\mu\text{L}/\text{min}$) über einen Zeitraum von 10 h bei RT eine Lösung aus Heptapeptid **88** (7 mg, 7.24 μmol , 1 eq) in trockenem DCM (5 mL) zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wurde die Reaktionslösung bei RT weitere 24 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt mittels LC-HRMS untersucht. Die Bildung des Produkts **13** konnte massenspektrometrisch nachgewiesen werden.

HR-MS (ESI⁺): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{69}\text{N}_8\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 949.5030, gefunden: 949.5030.

Synthesen zur Makrolactamisierung

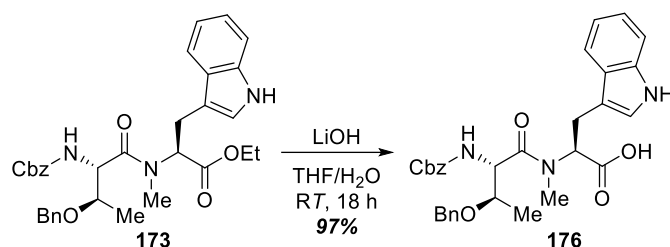
Synthese von Dipeptid **173**



Zu einer Lösung aus Cbz-L-Thr(OBn) (**174**, 279 mg, 812 μmol , 1 eq), HATU (324 mg, 853 μmol , 1.05 eq), HOAT (116 mg, 853 μmol , 1.05 eq) und DIPEA (270 μL , 1.62 mmol, 2 eq) in DMF (10 mL) wurde Me-L-TrpOEt (**175**, 200 mg, 812 μmol , 1 eq) zugegeben und bei RT für 18 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit EtOAc und H_2O verdünnt und mit 40% Zitronensäure (1x), ges. NaHCO_3 -Lösung (1x) und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , Pentan/EtOAc 2:1) wurde das Produkt **173** als klares Öl (374 mg, 654 μmol , 81%) erhalten.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{33}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{NaO}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 594.3, gefunden: 594.3.

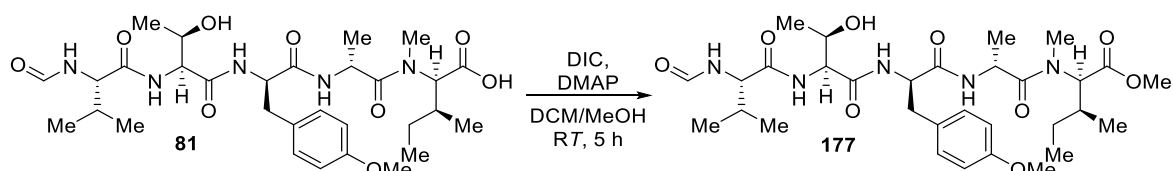
Synthese von Dipeptidsäure **176**



Zu einer Lösung aus Dipeptid **173** (374 mg, 654 μmol , 1 eq) in THF (5 mL) wurde 0.1 M LiOH-Lösung (20 mL, 1.96 mmol, 3 eq) bei 0 °C zugegeben und bei RT für 24 h gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit 10% HCl auf pH 1 gebracht und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **176** wurde als klares Öl (344 mg, 0.635 μmol , 97%) erhalten.

ESI-MS (+): m/z berechnet für C₃₁H₃₄N₃O₆ [M+H]⁺ 544.2, gefunden: 544.1.

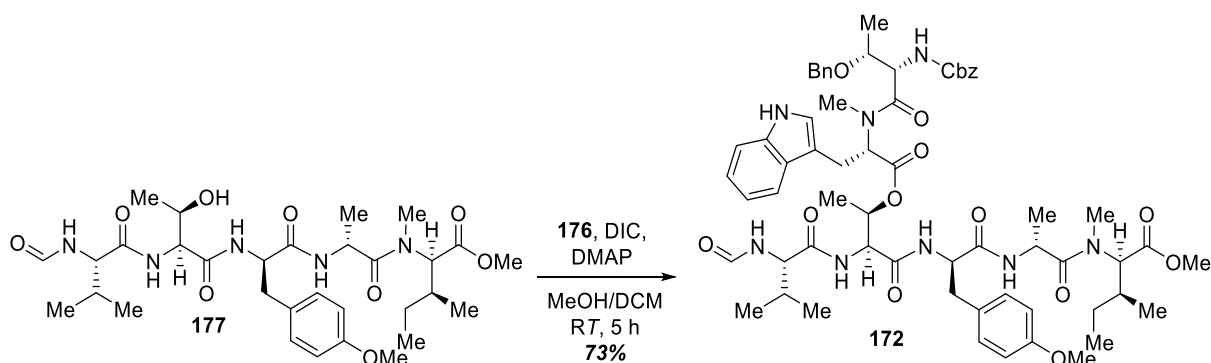
Synthese von Pentapeptidmylester **177**



Zu einer Lösung aus Pentapeptid **81** (50 mg, 80.4 μmol , 1 eq) und DMAP (10 mg, 80.4 μmol , 1 eq) in DCM/MeOH (11 mL, 10:1) wurde DIC (18.5 μL , 120 μmol , 1.5 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 5 h gerührt. Anschließend wurde das DCM unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand mit H₂O versetzt und lyophilisiert. Das Rohprodukt **177** wurde ohne weitere Aufreinigung verwendet.

ESI-MS (+): m/z berechnet für C₃₁H₅₀N₅O₉ [M+H]⁺ 636.4, gefunden: 636.1.

Synthese von Heptapeptidester **172**

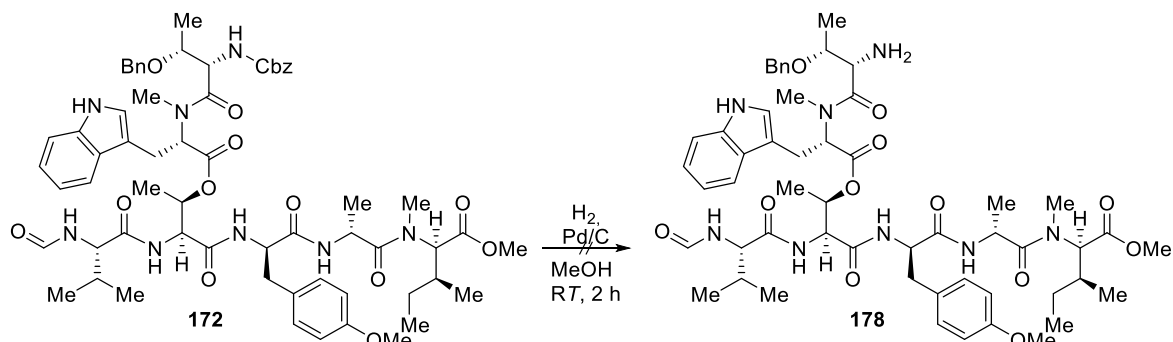


Zu einer Lösung aus Rohprodukt **177** (52.9 μmol , 1 eq), Dipeptid **176** (29 mg, 52.9 μmol , 1 eq) und DMAP (6 mg, 52.9 μmol , 1 eq) in DCM (10 mL) wurde DIC (16 μL , 159 μmol , 3 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 9 h gerührt. Nach einer Aufreinigung an der präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B=H₂O+0.05% TFA, 0-1 min 5% A, 1-35 min 5-95% A, 35-37 min 95% A, 37-38 min 95-5% A, 38-

40 min 5% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) wurde das Produkt **172** als weißer Feststoff (39 mg, 38.5 μ mol, 73%) erhalten.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $C_{62}H_{81}N_8O_{14}$ $[M+H]^+$ 1161.6, gefunden: 1161.2.

Synthese von Heptapeptidester **154**



Unter H_2 -Atmosphäre wurde eine Lösung aus Peptidester **172** (10 mg, 8.61 μ mol, 1 eq) und Pd/C (4 mg) in MeOH (2 mL) bei RT für 6 h gerührt. Eine Produktbildung konnte nicht beobachtet werden. Stattdessen wurde der Zerfall von **178** in das Diketopiperazin **179** und das Pentapeptid **177** beobachtet.

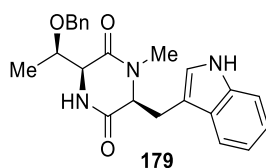
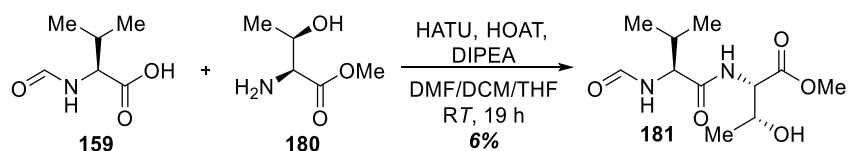


Abbildung 20. Nebenprodukt **179** aus der fehlgeschlagenen Synthese der Verbindung **178**.

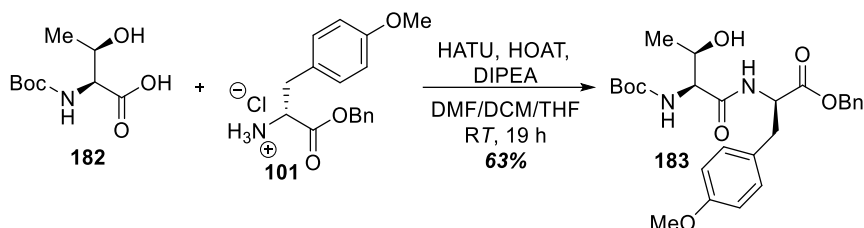
Synthese von Dipeptid **181**



Zu einer Lösung aus *N*-Formyl-L-Valin (**159**, 502 mg, 3.45 mmol, 1 eq), HOAT (563 mg, 4.14 mmol, 1.2 eq), HATU (1.57 g, 4.14 mmol, 1.2 eq) und DIPEA (2.93 mL, 17.25 mmol, 5 eq) in DMF/THF/DCM (28 mL, 2:1:1) wurde L-Threoninmethylester (**180**, 554 mg, 4.14 mmol, 1.2 eq) zugegeben und bei RT für 19 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit EtOAc (80 mL) verdünnt und mit H_2O (2x40 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit EtOAc (3x100 mL) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 10% Zitronensäure (1x40 mL) und ges. NaCl-Lösung (1x40 mL) gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , EtOAc) wurde das Produkt **181** als braunes Öl (52 mg, 0.200 mmol, 6%) erhalten.

1H NMR (300 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 8.13 (s, 1H, CHO), 5.49 (s, 1H, NH), 4.51 – 4.38 (m, 1H, Val- H_α), 4.30 (m, 1H, Thr- H_α), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 2.93 – 2.75 (m, 1H, Thr- H_β), 2.24 – 2.04 (m, 1H, Val- H_β), 1.18 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Thr- H_γ), 1.05 – 0.88 (m, 6H, Val- H_γ).

Synthese von Dipeptid **183**

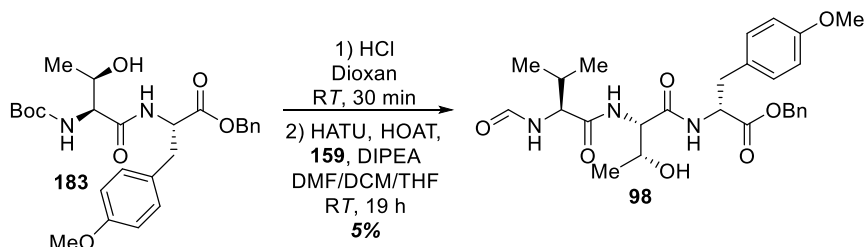


Zu einer Lösung aus Boc-L-Threonin (**182**, 295 mg, 1.26 mmol, 1.2 eq), HOAT (174 mg, 1.27 mmol, 1.2 eq), HATU (481 mg, 1.27 mmol, 1.2 eq) und DIPEA (0.9 mL, 5.29 mmol, 5 eq) in DMF/THF/DCM (12 mL, 2:1:1) wurde Tyrosin-Derivat **101** (299 mg, 1.27 mmol, 1 eq) bei 0 °C zugegeben und bei RT für 18 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit EtOAc (35 mL) verdünnt und mit H₂O (2x35 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit EtOAc (3x50 mL) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 10% Zitronensäure (1x35 mL) und ges. NaCl-Lösung (1x35 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, Pentan/EtOAc 1:1) wurde das Produkt **183** als weißer Feststoff (381 mg, 0.661 mmol, 63%) erhalten.

R_f = 0.37 (Pentan/EtOAc 1:1);

¹H NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.39 – 7.24 (m, 5H, *Aromat*), 7.03 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, *Aromat*), 6.77 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, *Aromat*), 5.12 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H, PhCH₂), 4.69 (dd, *J* = 7.5, 6.2 Hz, 1H, Thr-H_α), 4.09 – 3.97 (m, 2H, Thr-H_β, Tyr-H_α), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.02 (qd, *J* = 13.9, 6.9 Hz, 2H, Tyr-H_β).

Synthese von Tripeptid **98**

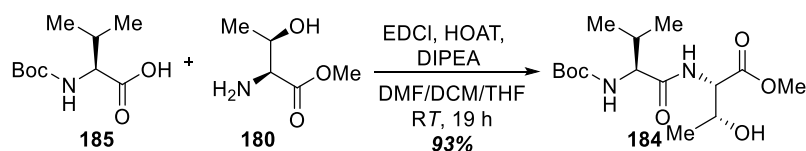


Eine Lösung aus Dipeptid **183** (115 mg, 236 μmol, 1 eq) in 4 M HCl/Dioxan-Lösung wurde bei RT für 30 min gerührt und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der entstandene Niederschlag wurde zu einer Lösung aus *N*-Formyl-L-valin (**159**, 45 mg, 313 μmol, 1.3 eq), HATU (119 mg, 313 μmol, 1.3 eq), HOAT (43 mg, 313 mmol, 1.3 eq) und DIPEA (221 μL, 1.3 mmol, 5.5 eq) in DMF/THF/DCM (4 mL, 2:1:1) bei 0 °C zugegeben und bei RT für 17 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit EtOAc (20 mL) verdünnt und mit H₂O (2x15 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit EtOAc (3x25 mL) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 10% Zitronensäure (1x50 mL) und ges. NaCl-Lösung (1x50 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, EtOAc) wurde das Produkt **98** als farbloses Öl (6 mg, 11.7 μmol, 5%) erhalten.

R_f = 0.20 (EtOAc);

^1H NMR (500 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 8.12 (d, J = 1.0 Hz, 1H, CHO), 7.37 – 7.24 (m, 5H, Aromat), 7.08 – 7.01 (m, 2H, Aromat), 6.80 – 6.75 (m, 2H, Aromat), 5.11 (d, J = 3.8 Hz, 2H, PhCH₂), 4.71 – 4.61 (m, 1H, Val-H _{α}), 4.33 – 4.27 (m, 2H, Thr-H _{α} , Tyr-H _{α}), 4.21 – 4.14 (m, 1H, Thr-H _{β}), 3.74 (s, 3H, CH₃), 3.10 – 2.94 (m, 2H, Tyr-H _{β}), 2.22 – 2.05 (m, 1H, Val-H _{β}), 1.09 (d, J = 6.4 Hz, 3H, Thr-H _{γ}), 1.02 – 0.89 (m, 6H, Val-H _{γ});

Synthese von Dipeptid **184**



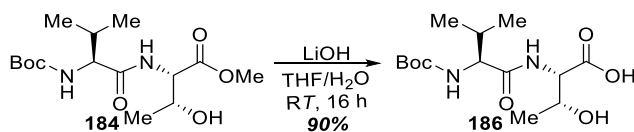
Zu einer Lösung aus Boc-L-Valin (**185**, 1.92 g, 8.84 mmol, 1 eq), L-Threoninmethylester Hydrochlorid (**180**, 1.50 g, 8.84 mmol, 1 eq), HOAT (1.20 g, 8.84 mmol, 1 eq) und DIPEA (5.6 mL, 30.9 mmol, 3.5 eq) in DMF (70 mL) wurde EDCI (1.70 g, 8.84 mmol, 1 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 19 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit EtOAc verdünnt, mit H₂O (1x), 1 M HCl (1x) und ges. NaCl-Lösung (1x) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, EtOAc/Pentan 1:1) wurde das Produkt **184** als klares Öl (2.72 g, 8.19 mmol, 93%) erhalten.

^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ [ppm]: 6.88 (d, J = 9.0 Hz, 1H, NH), 5.18 (d, J = 8.8 Hz, 1H, NH), 4.62 (dd, J = 9.0, 2.6 Hz, 1H, Thr-H _{α}), 4.36 (qd, J = 6.4, 2.6 Hz, 1H, Thr-H _{β}), 3.94 (dd, J = 8.6, 6.8 Hz, 1H, Val-H _{α}), 2.18 – 1.98 (m, 1H, Val-H _{β}), 1.43 (s, 9H, Boc), 1.20 (d, J = 6.4 Hz, 3H, Thr-H _{γ}), 0.97 (dd, J = 8.3, 6.7 Hz, 6H, Val-H _{γ});

ESI-MS (+): m/z berechnet für C₁₅H₂₈N₂NaO₆ [M+Na]⁺ 355.2, gefunden: 355.2.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[124]

Synthese von Dipeptidsäure **186**



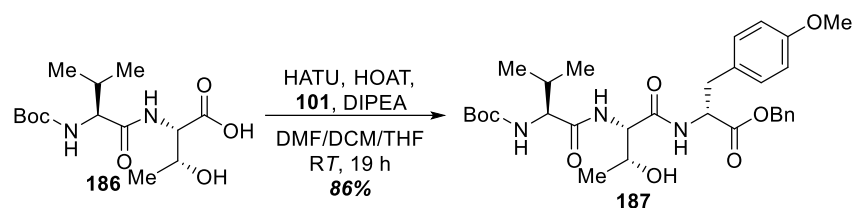
Zu einer Lösung aus Dipeptid **184** (2.65 g, 7.98 mmol, 1 eq) in THF (235 mL) und H₂O (40 mL) wurde LiOH (573 mg, 23.9 mmol, 3 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 16 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion mit 10% HCl auf pH 7 neutralisiert und das THF unter vermindertem Druck entfernt. Der wässrige Rückstand wurde mit EtOAc (3x) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **186** wurde als klares Öl (2.29 g, 7.18 mmol, 90%) erhalten.

^1H NMR (300 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 4.53 (d, J = 3.0 Hz, 1H, Thr-H _{α}), 4.41 (qd, J = 6.5, 3.0 Hz, 1H, Thr-H _{β}), 4.04 (d, J = 6.9 Hz, 1H, Val-H _{α}), 2.26 – 2.08 (m, 1H, Val-H _{β}), 1.55 (s, 9H, Boc), 1.28 (d, J = 6.4 Hz, 3H, Thr-H _{γ}), 1.06 (dd, J = 11.3, 6.8 Hz, 6H, Val-H _{γ});

^{13}C NMR (75 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 174.9, 173.4, 158.0, 80.6, 68.6, 61.8, 59.0, 31.8, 28.7, 20.4, 19.8, 18.5.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[125]

Synthese von Tripeptidbenzylester **187**



Zu einer Lösung aus Dipeptid **186** (100 mg, 314 μmol , 1.0 eq), HATU (120 mg, 314 μmol , 1 eq), HOAT (43 mg, 314 μmol , 1.0 eq) und DIPEA (160 μL , 942 μmol , 3.0 eq) in DMF/THF/DCM (2.5 mL, 2:1:1) wurde Tyrosin-Derivat **101** (100 mg, 314 μmol , 1.0 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 18 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit EtOAc verdünnt, mit H₂O (1x), 1 M HCl (1x) und ges. NaCl-Lösung (1x) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, EtOAc/Pentan 1:1) wurde das Produkt **187** als weißer Feststoff (2.90 g, 4.95 mmol, 86%) erhalten.

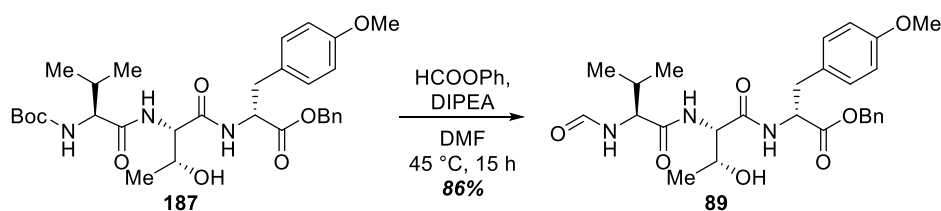
R_f = 0.32 (EtOAc/Pentan 1:1);

¹H NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.36 – 7.22 (m, 5H, *Aromat*), 7.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, *Aromat*), 6.78 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, *Aromat*), 5.13 – 5.07 (m, 2H, PhCH₂), 4.66 – 4.64 (m, 1H, Tyr-H _{α}), 4.31 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, Thr-H _{α}), 4.14 – 4.06 (m, 1H, Thr-H _{β}), 3.89 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H, Val-H _{α}), 3.75 (s, 3H, PCH₃), 3.08 (dd, *J* = 13.8, 6.1 Hz, 1H, Tyr-H _{β}), 2.98 (dd, *J* = 14.0, 8.1 Hz, 1H, Tyr-H _{β}), 2.11 – 2.03 (m, 1H, Val-H _{β}), 1.45 (s, 9H, *Boc*), 1.05 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, Thr-H _{γ}), 0.94 – 0.89 (m, 6H, Val-H _{γ});

¹³C NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 174.7, 172.6, 172.2, 160.2, 158.4, 137.0, 131.4, 129.5, 129.4, 129.3, 128.3, 128.0, 115.0, 80.9, 68.3, 68.0, 62.1, 59.7, 55.8, 55.6, 37.5, 31.5, 28.7, 20.0, 19.8, 18.4;

HR-MS (ESI⁺): *m/z* berechnet für C₃₁H₄₄N₃O₈ [M+H]⁺: 586.3123, gefunden: 586.3199.

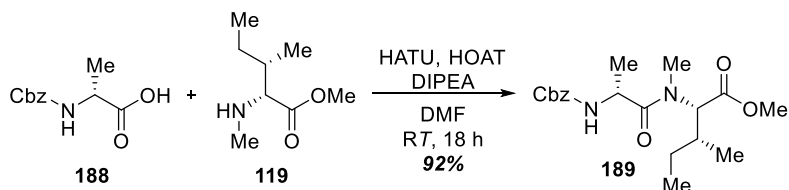
Synthese von *N*-Formyltripeptidbenzylester **187**



Eine Lösung aus Tripeptid **187** (197 mg, 337 μmol , 1 eq) in 4 M HCl/Dioxan-Lösung (4 mL) wurde bei RT für 30 min gerührt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wurde der Niederschlag mit DMF (3.4 mL), DIPEA (63 μL , 0.371 μmol , 1.1 eq) und HCOOPh (47 μL , 354 μmol , 1.05 eq) versetzt und bei 45 °C für 15 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit EtOAc verdünnt und mit 0.1 M HCl sowie ges. NaCl-Lösung (3x) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **89** wurde als weißer Feststoff (148 mg, 288 μmol , 86%) erhalten. Eine NMR-Analyse war aufgrund der schlechten Löslichkeit nicht möglich.

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₂₇H₃₅N₃NaO₇ [M+Na]⁺ 536.2, gefunden: 536.4.

Synthese von Dipeptidmethylester **189**



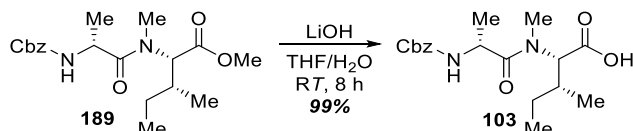
Zu einer Lösung aus Cbz-D-Alanin (**188**, 1.01 g, 4.52 mmol, 1.2 eq), HOAT (0.615 g, 4.52 mmol, 1.2 eq), DIPEA (1.28 mL, 7.54 mmol, 2.0 eq) und **119** (0.600 g, 3.77 mmol, 1.0 eq) in DMF (23 mL) wurde HATU (1.72 g, 4.52 mmol, 1.2 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 18 h gerührt. Anschließend wurde es mit H₂O verdünnt und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit H₂O, 1 M HCl (1x) und ges. NaCl-Lösung (1x) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, Pentan/EtOAc 3:1) wurde das Produkt **189** als weißer Feststoff (1.27 g, 3.47 mmol, 92%) erhalten.

¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.39 – 7.28 (m, 5H), 5.69 (s, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.97 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 4.69 (s, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.03 (s, 2H, *NMe*), 2.90 (s, 1H, *NMe*), 2.07 – 1.97 (m, 1H), 1.55 – 1.40 (m, 1H), 1.33 (d, *J* = 5.4 Hz, 3H), 1.19 – 1.09 (m, 1H), 0.93 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 0.82 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H);

¹³C NMR (151 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 173.5, 171.5, 155.6, 136.4, 128.5, 128.1, 128.0, 66.8, 60.4, 52.0, 47.2, 33.6, 31.4, 26.3, 18.7, 15.1, 11.2;

HR-MS (ESI⁺): *m/z* berechnet für C₁₉H₂₉N₂O₅ [M+H]⁺: 365.2071, gefunden: 365.2088.

Synthese von Dipeptidsäure **103**



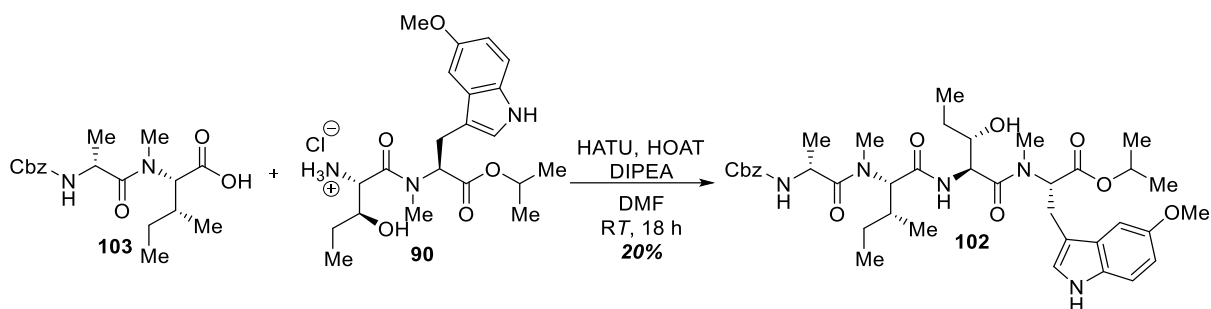
Zu einer Lösung aus Dipeptid **189** (1.25 g, 3.44 mmol, 1 eq) in H₂O/THF (140 mL, 5:2) wurde bei 0 °C LiOH (99 mg, 4.12 mmol, 1.2 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 20 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion mit 1 M HCl auf pH 1-2 angesäuert und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **103** wurde als racemisches Gemisch in Form eines klaren Öls (1.19 g, 3.40 mmol) erhalten.

¹H NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 7.37 – 7.25 (m, 5H, *Aromat*), 5.07 (s, 2H, PhCH₂), 4.90 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H, Ile-H_α), 4.65 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H, Ala-H_α), 3.08 (s, 3H, NCH₃), 2.07 – 1.99 (m, 1H, Ile-H_β), 1.61 – 1.55 (m, 1H, Ile-H_γ), 1.29 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, Ala-H_β), 1.22 – 1.16 (m, 1H, Ile-H_γ), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, Ile-H_δ), 0.85 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, Ile-H_{γ'});

¹³C NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm]: 176.2, 173.8, 158.2, 138.4, 129.5, 129.1, 128.9, 67.7, 62.0, 34.8, 32.2, 27.6, 17.4, 15.6, 11.6;

HR-MS (ESI⁺): *m/z* berechnet für C₁₈H₂₇N₂O₅ [M+H]⁺: 351.1914, gefunden: 351.1922.

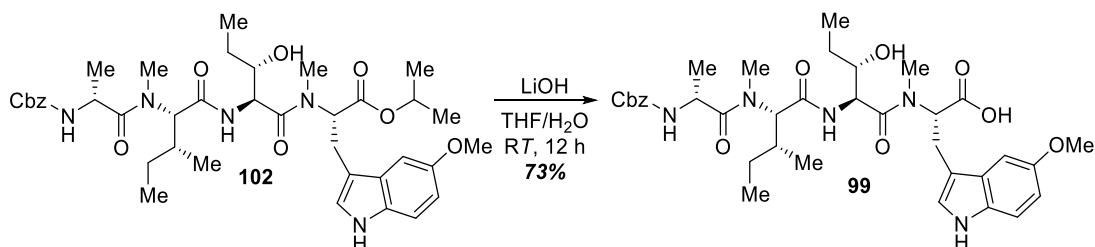
Synthese von Tetrapeptidisopropylester **102**



Zu einer Lösung aus Dipeptid **103** (26 mg, 74.7 μmol , 1 eq), HOAT (11 mg, 78.4 μmol , 1.05 eq) und DIPEA (32 μL , 187 μmol , 2.5 eq) in DMF (0.5 mL) wurde EDCl (15 mg, 78.4 μmol , 1.05 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 15 min gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit einer Lösung aus Dipeptid **90** (33 mg, 74.7 μmol , 1 eq) in DMF (0.5 mL) versetzt und bei RT für 18 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit ges. NaCl-Lösung verdünnt und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer Aufreinigung durch MPLC (A=ACN+0.05% TFA, B= H_2O +0.05% TFA, 0-1.4 min 5% A, 1.4-25 min 5%-95% A, 25-27.5 min 95% A, Säule: Reveleris C18 12 g, Flussrate: 30 mL/min) wurde das Produkt **102** als weißer Feststoff (11 mg, 14.9 μmol , 20%) erhalten.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{39}\text{H}_{55}\text{N}_5\text{NaO}_9$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 760.4, gefunden: 760.7.

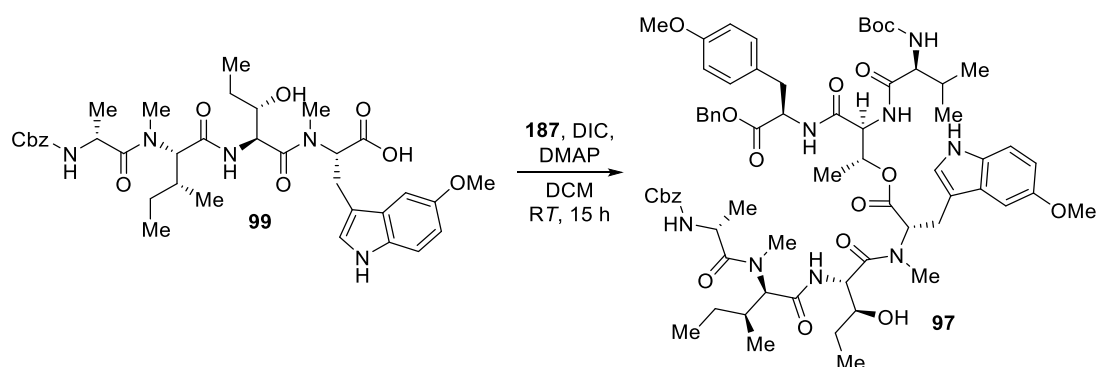
Synthese von Tetrapeptidsäure **99**



Zu einer Lösung aus Tetrapeptid **102** (16 mg, 21.7 μmol , 1 eq) in $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ (6 mL, 5:1) wurde 0.1 M LiOH-Lösung (650 μL , 65.0 μmol , 3 eq) zugegeben und bei RT für 12 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit 1 M HCl auf pH 1 angesäuert und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **99** wurde als weißer Feststoff (11 mg, 15.8 μmol , 73%) erhalten.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 696.4, gefunden: 696.7.

Synthese von Heptapeptidester **97**

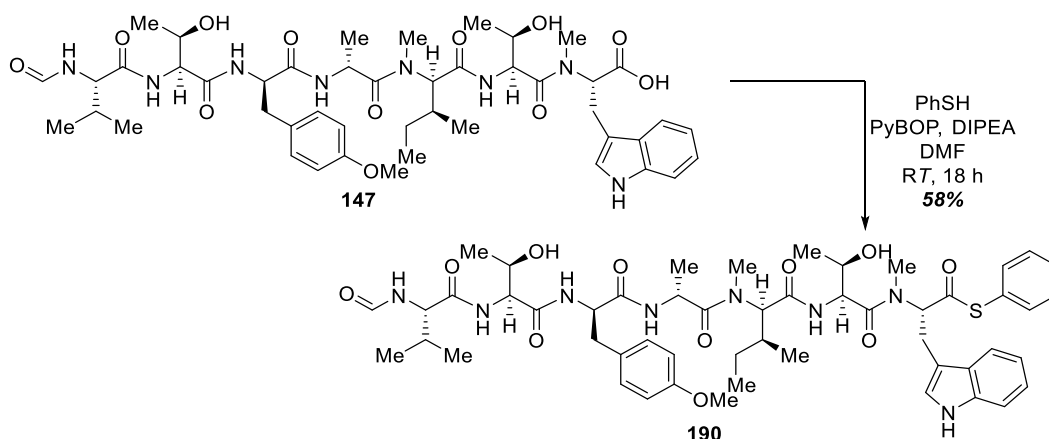


Zu einer Lösung aus Tetrapeptid **99** (5 mg, 7.19 μmol , 1 eq), Tripeptid **187** (8.4 mg, 14.4 μmol , 2 eq), DMAP (0.5 mg, 4.31 μmol , 0.6 eq) und DMAP Hydrochlorid (0.7 mg, 4.31 μmol , 0.6 eq) in DCM (0.5 mL) wurde DIC (1.2 μL , 7.55 mmol, 1.05 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 15 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand durch präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B=H₂O+0.05% TFA, 0-1 min 5% A, 1-35 min 5-60% A, 35-37 min 60%, 37-39 min 95% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) aufgereinigt, jedoch konnte das Produkt nicht als Reinsubstanz isoliert werden. Heptapeptidester **97** wurde als verunreinigter weißer Feststoff (1.5 mg) erhalten.

ESI-MS (+): m/z berechnet für C₆₇H₉₀N₈NaO₁₆ [M+H]⁺ 1285.6, gefunden: 1285.9.

Synthesen zur chemo-enzymatische Totalsynthese

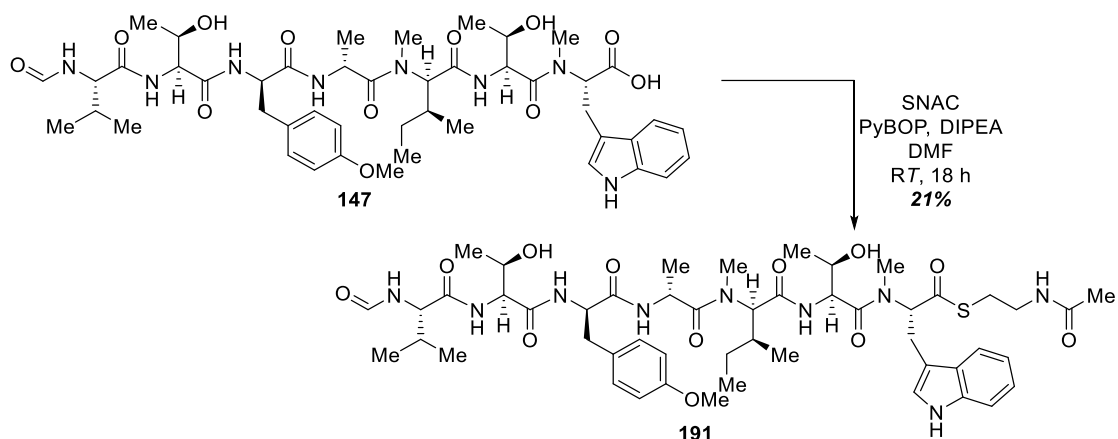
Synthese von Heptapeptidthioester **190**



Zu einer Lösung aus Heptapeptid **147** (30 mg, 32.5 μmol , 1eq), DIPEA (6.5 μL , 39.0 μmol , 1.2 eq) und PhSH (7.8 μL , 76.8 μmol , 2.4 eq) in DMF (750 μL) wurde PyBOP (20 mg, 39.0 μmol , 1.2 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 18 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion mit MeOH verdünnt und durch präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B=H₂O+0.05% TFA, 0-1 min 5% A, 1-35 min 5-95% A, 35-37 min 95% A, 37-38 min 95-5% A, 38-40 min 5% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) gereinigt und lyophilisiert. Das Produkt **190** wurde als weißer Feststoff (19 mg, 18.7 μmol , 58%) erhalten.

ESI-MS (+): m/z berechnet für C₅₂H₇₁N₈O₁₁S [M+H]⁺ 1015.5, gefunden: 1014.9.

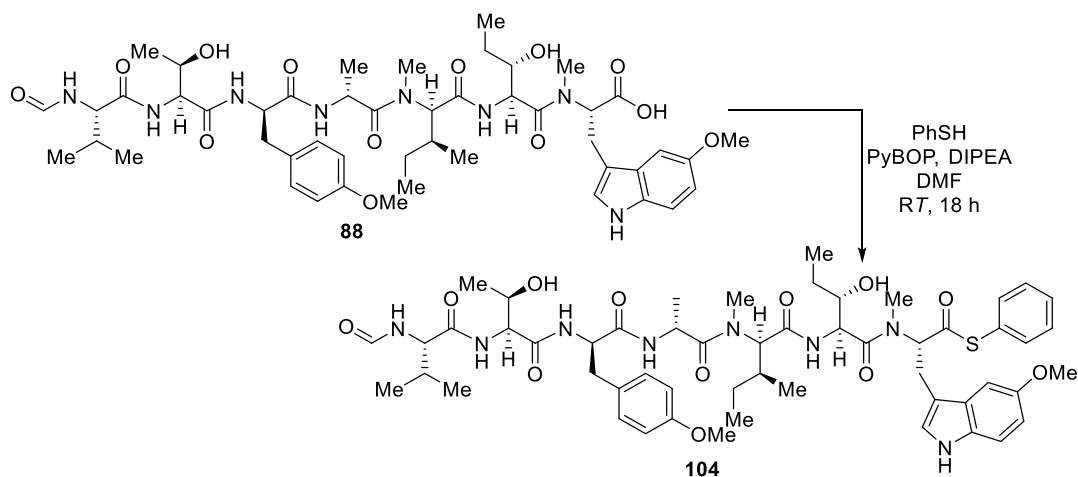
Synthese von Heptapeptidthioester **191**



Zu einer Lösung aus Heptapeptid **147** (30 mg, 32.5 μmol , 1 eq), DIPEA (6.5 μL , 39.0 μmol , 1.2 eq) und PhSH (8.2 μL , 76.8 μmol , 2.4 eq) in DMF (750 μL) wurde PyBOP (20 mg, 39.0 μmol , 1.2 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 18 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion mit MeOH verdünnt und durch präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B=H₂O+0.05% TFA, 0-1 min 5% A, 1-35 min 5-95% A, 35-37 min 95% A, 37-38 min 95-5% A, 38-40 min 5% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) gereinigt und lyophilisiert. Das Produkt **191** wurde als weißer Feststoff (7 mg, 6.83 μmol , 21%) erhalten.

ESI-MS (+): m/z berechnet für C₅₂H₇₁N₈O₁₁S [M+H]⁺ 1024.5, gefunden: 1024.0.

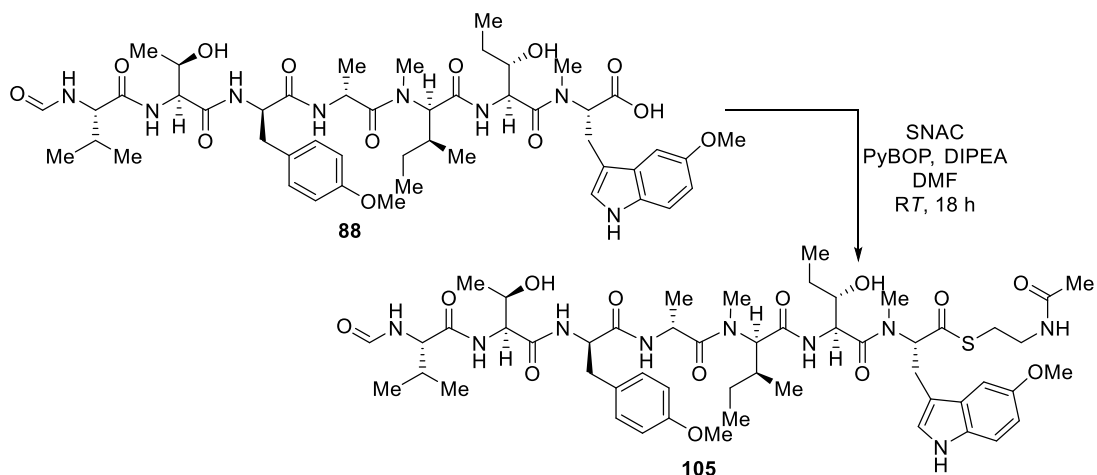
Synthese von Heptapeptidthioester **104**



Zu einer Lösung aus Heptapeptid **88** (20 mg, 20.7 μmol , 1 eq), DIPEA (4.22 μL , 24.8 μmol , 1.2 eq) und PhSH (5 μL , 49.3 μmol , 2.4 eq) in DMF (400 μL) wurde PyBOP (13 mg, 24.8 μmol , 1.2 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 14 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand durch präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B=H₂O+0.05% TFA, 0-1 min 5% A, 1-14 min 5-55% A, 20-25 min 55-95% A, 25-31 min 95% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) aufgereinigt. Das Produkt **104** konnte nicht als Reinstoff isoliert werden und wurde ohne weitere Reinigungsschritte weiterverwendet.

HRMS: m/z berechnet für C₅₄H₇₅N₈O₁₂S=1059.5220 [M+H]⁺, gefunden: 1059.5284.

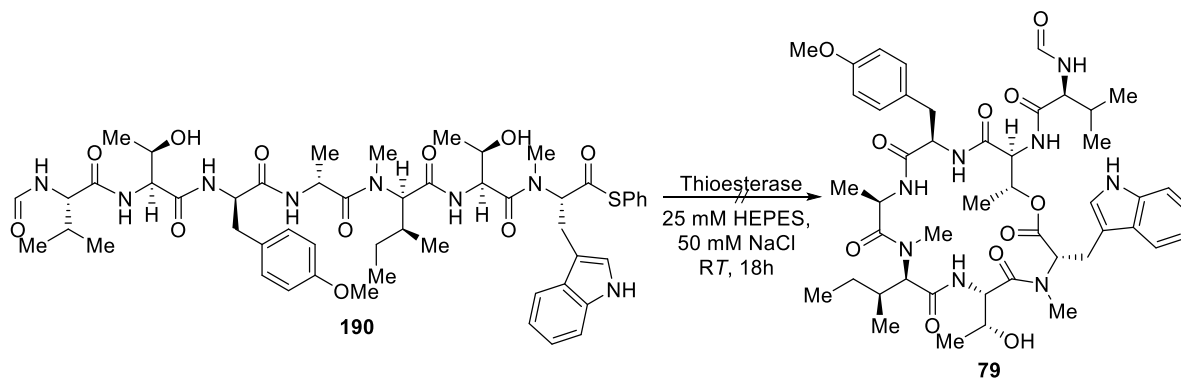
Synthese von Heptapeptidthioester **105**



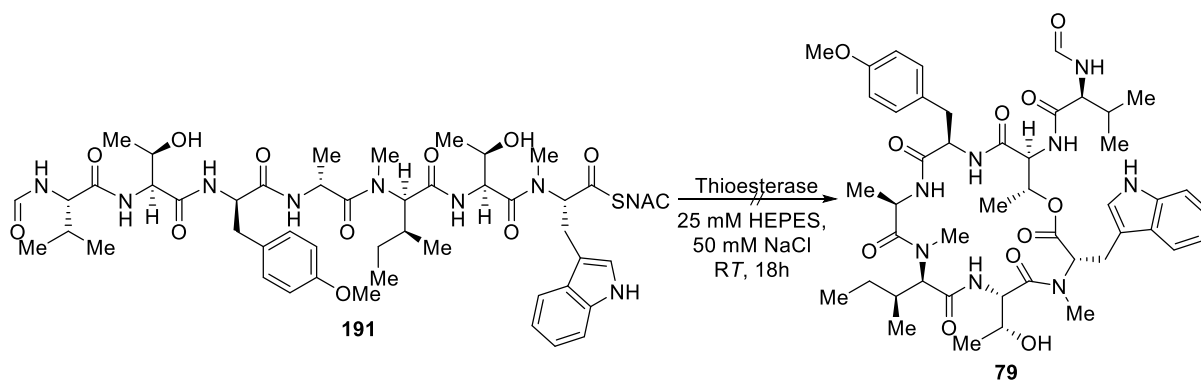
Zu einer Lösung aus Heptapeptid **88** (20 mg, 20.7 μmol , 1 eq), DIPEA (4.22 μL , 24.8 μmol , 1.2 eq) und SNAC (14 mg, 26.5 μmol , 1.3 eq) in DMF (400 μL) wurde PyBOP (13 mg, 24.8 μmol , 1.2 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 14 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit H_2O verdünnt und mit EtOAc (1x) extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (1x) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde durch präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B= H_2O +0.05% TFA, 0-1 min 5% A, 1-14 min 5-55% A, 20-25 min 55-95% A, 25-31 min 95% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) aufgereinigt. Das Produkt **105** konnte nicht als Reinstoff isoliert werden und wurde ohne weitere Reinigungsschritte weiterverwendet.

HRMS: m/z berechnet für $\text{C}_{52}\text{H}_{78}\text{N}_9\text{O}_{13}\text{S}$ =1068.5434, gefunden: 1068.5446 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Synthese von Cycloheptamycin-Derivat (**79**)

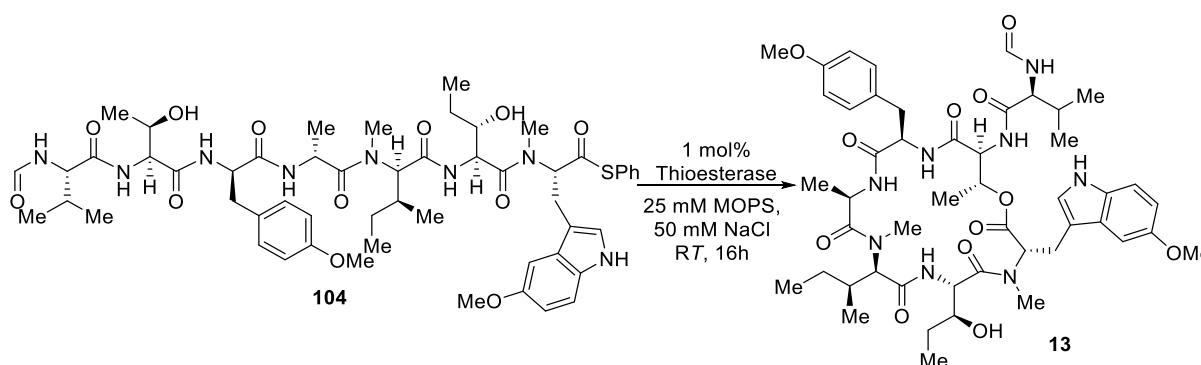


Eine Lösung aus Thioester **190** (0.16 mg, 0.158 μmol , 1 eq) in HEPES-Puffer (100 μL , 25 mM HEPES, 50 mM NaCl, 10% Gylkol) wurde zu einer aufkonzentrierten *cyh*-TE-Lösung (0.9 mL, 2.16 mg/mL) gegeben und bei 28 $^\circ\text{C}$ für 18 h gerührt. Anschließend wurde die Assay-Lösung mittels LCMS-Analysen nach Produkt **79** untersucht. Es konnte kein Umsatz des Thioesters und keine Produktbildung beobachtet werden.



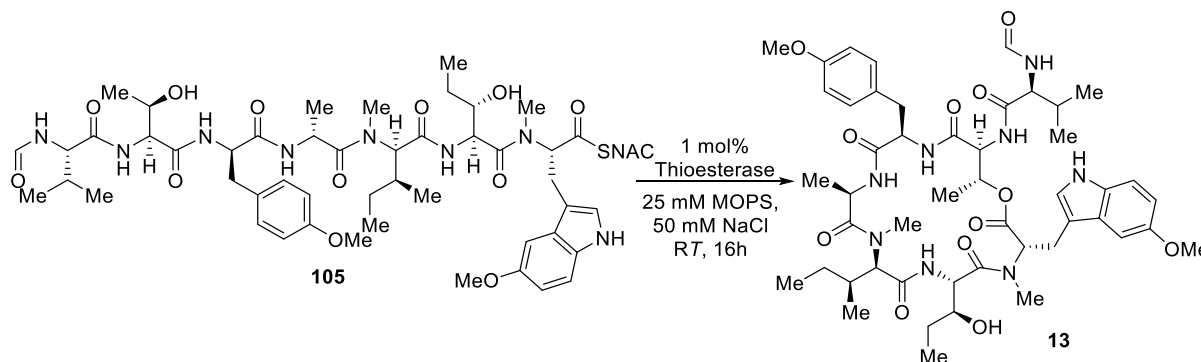
Eine Lösung aus Thioester **191** (0.14 mg, 0.137 μmol , 1 eq) in HEPES-Puffer (100 μL , 25 mM HEPES, 50 mM NaCl, 10% Gylkol) wurde zu einer aufkonzentrierten *chy*-TE in HEPES-Puffer (0.9 mL, 2.16 mg/mL) ingegeben und bei 28 $^{\circ}\text{C}$ für 18 h gerührt. Anschließend wurde die Assay-Lösung mittels LCMS-Analysen nach Produkt **79** untersucht. Es konnte kein Umsatz des Thioesters und keine Produktbildung beobachtet werden.

Synthese von Cycloheptamycin (**13**)



Eine Lösung aus Thioester **104** (Rohsubstanz 36 mg) in MOPS-Puffer (400 μL , 25 mM MOPS, 50 mM NaCl, 10% Gylkol) wurde zu aufkonzentrierter *cyh*-TE in MOPS-Puffer (1 mol%) zugegeben und bei 24 $^{\circ}\text{C}$ für 16 h gerührt. Anschließend wurde die Assay-Lösung mit MeOH verdünnt und durch LCMS analysiert. Es konnte die Bildung von Produkt **13** detektiert werden.

HRMS: m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{69}\text{N}_8\text{O}_{12}$ = 949.5030 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gefunden: 949.4984.



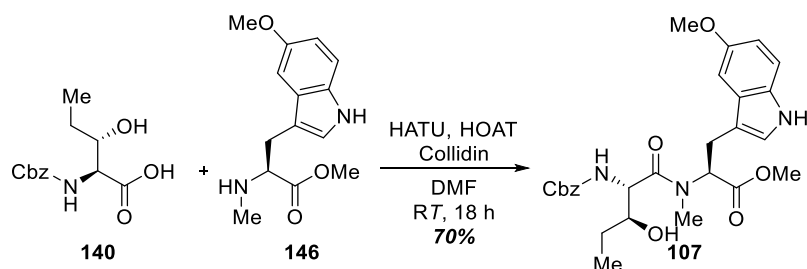
Eine Lösung aus Thioester **105** (Rohsubstanz 27 mg) in MOPS-Puffer (400 μL , 25 mM MOPS, 50 mM NaCl, 10% Gylkol) wurde zu aufkonzentrierter *cyh*-TE in MOPS-Puffer (1 mol%) zugegeben und

bei 24 °C für 16 h gerührt. Anschließend wurde die Assay-Lösung mit MeOH verdünnt und durch LCMS analysiert. Es konnte die Bildung von Produkt **13** detektiert werden.

HRMS: m/z berechnet für $C_{48}H_{69}N_8O_{12}$ = 949.5030 $[M+H]^+$, gefunden: 949.4984.

Synthesen zur Darstellung von Cycloheptamycin Z (**17**)

Synthese von Dipeptidmethylester **107**



Zu einer Lösung aus Cbz-Hydroxynorvalin (**140**, 492 mg, 1.84 mmol, 1.1 eq), HOAT (250 mg, 1.84 mmol, 1.1 eq), Collidin (550 μ L, 4.54 μ mol, 2.5 eq) und Tryptophan **146** (439 mg, 1.67 mmol, 1 eq) in DMF/DCM/THF (16 mL, 2:1:1) wurde HATU (700 mg, 1.84 mmol, 1.1 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 20 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit EtOAc verdünnt und mit H_2O (1x), 1 M HCl und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , 3% MeOH/DCM) wurde das Produkt **107** als klares Öl (595 mg, 1.16 mmol, 70%), welches bei längerer Lagerung auskristallisierte, erhalten.

R_f = 0.32 (3% MeOH/DCM);

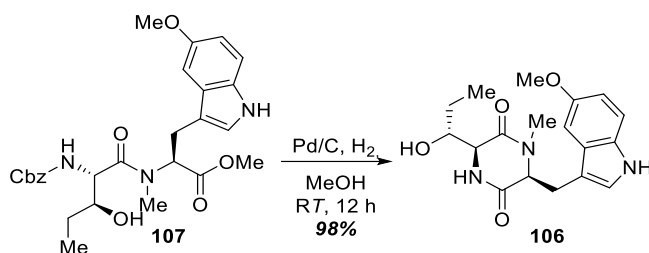
In dem folgenden Spektrum wurde das Hauptisomer der *cis/trans*-Isomerie bedingt durch die Amidbindung angegeben.

1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 7.36 – 7.26 (m, 5H), 7.24 – 7.18 (m, 2H), 7.05 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.75 (ddd, J = 12.4, 8.8, 2.4 Hz, 1H), 5.15 (dd, J = 9.8, 5.5 Hz, 1H), 5.10 – 5.01 (m, 2H), 4.56 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.65 (dd, J = 8.3, 2.6 Hz, 1H), 3.40 (dd, J = 15.1, 5.5 Hz, 1H), 3.21 (dd, J = 15.1, 9.9 Hz, 1H), 3.03 (s, 3H), 1.61 (m, 1H), 1.37 (m, 1H), 0.96 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 0.90 – 0.85 (m, 1H);

^{13}C NMR (151 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 174.3, 174.1, 172.9, 172.5, 158.2, 158.0, 155.4, 155.1, 138.2, 133.3, 133.2, 129.5, 129.0, 128.9, 128.8, 128.8, 128.4, 125.6, 125.2, 113.3, 113.2, 113.0, 112.7, 110.9, 110.2, 101.1, 100.9, 74.9, 74.1, 67.8, 61.3, 60.3, 56.4, 55.0, 52.9, 52.6, 34.4, 29.9, 26.9, 26.5, 26.5, 25.5, 10.1, 10.1;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $C_{27}H_{34}N_3O_7$ $[M+H]^+$: 512.2391, gefunden: 512.2429.

Synthese von Diketopiperazin **106**



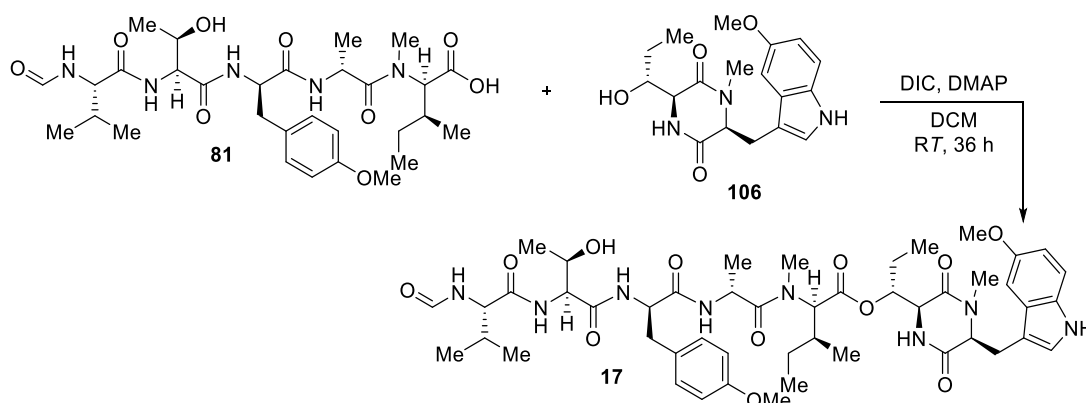
Unter H₂-Atmosphäre wurde eine Lösung aus Dipeptid **107** (1.10 g, 2.15 mmol, 1 eq) und Pd/C (100 mg) in MeOH (20 mL) bei RT für 12 h gerührt und über Celith filtriert. Nachdem das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurde, wurde das Produkt **106** als weißer Feststoff (725 mg, 2.10 mmol, 98%) erhalten.

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm]: 10.74 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.10 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.07 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.68 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 4.81 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.11 (t, *J* = 5.0 Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.63 (t, *J* = 3.7 Hz, 1H), 3.41 (dd, *J* = 14.9, 5.3 Hz, 1H), 3.24 (dd, *J* = 14.9, 4.7 Hz, 1H), 2.91 – 2.85 (m, 1H), 2.74 (s, 3H), 0.71 – 0.63 (m, 1H), 0.62 – 0.57 (m, 0H), 0.54 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H);

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm]: 166.8, 164.4, 153.1, 131.2, 128.1, 125.0, 111.8, 111.1, 108.9, 100.6, 73.6, 62.2, 59.2, 55.2, 32.6, 28.1, 24.1, 10.3;

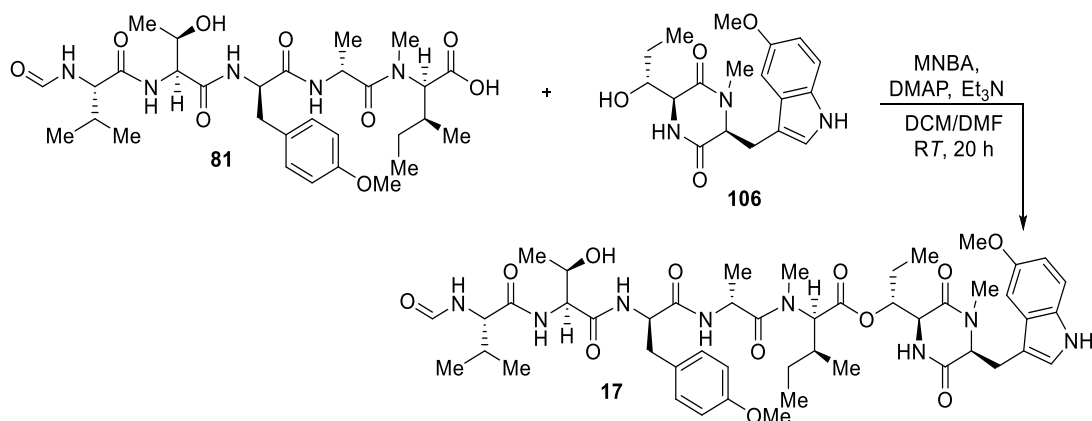
HR-MS (ESI+): *m/z* berechnet für C₁₈H₂₄N₃O₄ [M+H]⁺: 346.1761, gefunden: 346.1834.

Synthese von Cycloheptamycin **Z (17)**



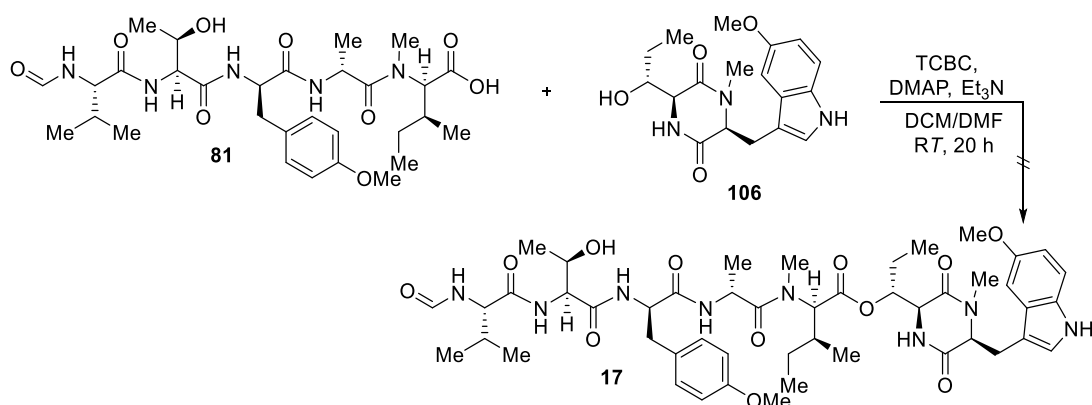
Zu einer Lösung aus Pentapeptid **81** (20 mg, 32.2 μmol, 1 eq), Diketopiperazin **106** (55 mg, 161 μmol, 5 eq) und DMAP (4 mg, 32.2 μmol, 1 eq) in trockenem DCM (0.5 mL) wurde DIC (5.2 μL, 33.8 μmol, 1.05 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 15 h gerührt. Anschließend wurde der Reaktionsumsatz mit der analytischen HPLC überprüft. Es konnte noch Pentapeptid **81** detektiert werden, weshalb erneut DIC (10.4 μL, 67.6 μmol, 2.1 eq) zugegeben wurde. Das Gemisch wurde erneut 3 h gerührt, mit ges. NaCl-Lösung versetzt und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde versucht durch präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B=H₂O+0.05% TFA, 0-2 min 5% A, 2-25 min 5-65% A, 25-28 min 95% A, 28-31 min 5% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) aufzureinigen. Jedoch schlug die Isolierung von **17** aufgrund einer zu niedrigen Produktmenge fehl.

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₄₈H₆₉N₈O₁₂ [M+H]⁺ 949.5, gefunden: 950.3.

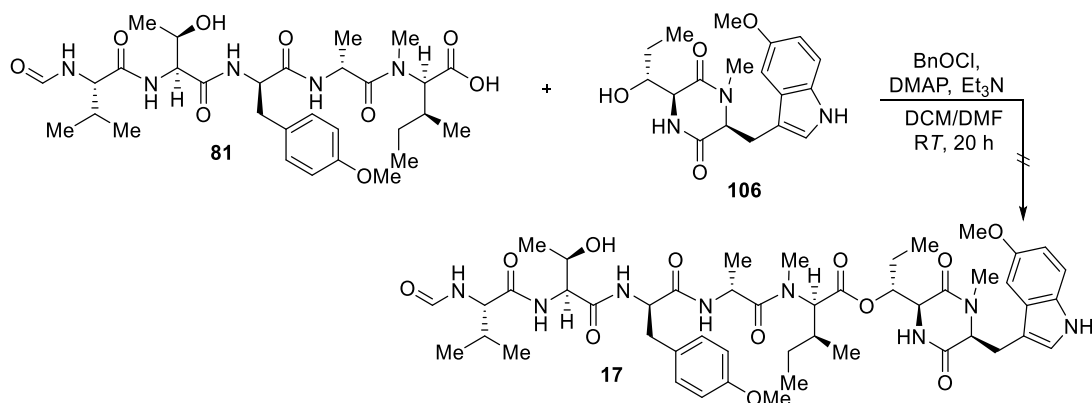


Zu einer Lösung aus Pentapeptid **81** (5 mg, 8.05 μ mol, 1.2 eq), DMAP (10 μ L, 0.671 μ mol, 0.1 eq, 8 mg/mL in DCM) und Et₃N (3 μ L, 21.5 μ mol, 3.2 eq) in trockenem DCM (100 μ L) wurde MNBA (2.7 mg, 8.05 μ mol, 1.2 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 5 min gerührt. Anschließend wurde Diketopiperazin **106** (2.3 mg, 6.70 μ mol, 1 eq) in DMF (50 μ L) zugegeben und das Gemisch weitere 20 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand versucht durch präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B=H₂O+0.05% TFA, 0-2 min 5% A, 2-25 min 5-65% A, 25-28 min 95% A, 28-31 min 5% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) zu reinigen. Jedoch schlug die Isolierung von **17** aufgrund einer zu niedrigen Produktmenge fehl.

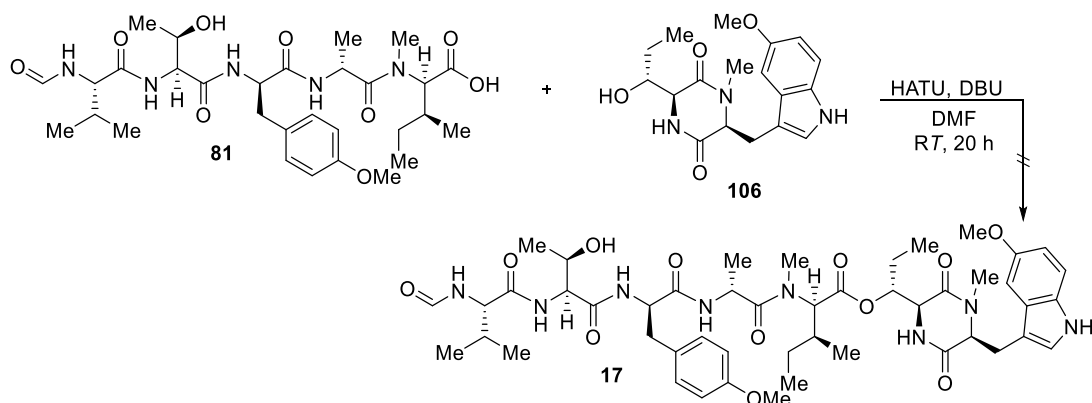
ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₄₈H₆₉N₈O₁₂ [M+H]⁺ 949.5, gefunden: 950.4.



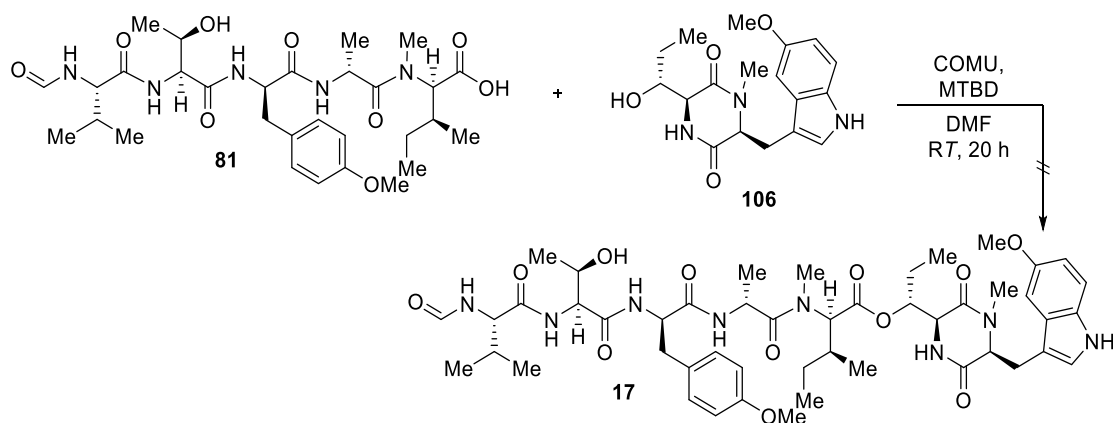
Zu einer Lösung aus Pentapeptid **81** (5 mg, 8.04 μ mol, 1 eq), DMAP (2 mg, 16.1 μ mol, 2 eq) und Et₃N (1.7 μ L, 12.1 μ mol, 1.5 eq) in trockenem DCM (100 μ L) wurde TCBC (2.7 mg, 8.05 μ mol, 1.2 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 5 min gerührt. Anschließend wurde Diketopiperazin **106** (8.5 mg, 24.1 μ mol, 3 eq) in DMF (50 μ L) zugegeben und das Gemisch weitere 20 h gerührt. Eine LCMS-Analyse ließ keine Bildung von **17** beobachten.



Zu einer Lösung aus Pentapeptid **81** (5 mg, 8.04 μmol , 1 eq), DMAP (1 mg, 2.01 μmol , 0.25 eq) und Et_3N (2.2 μL , 16.1 μmol , 2 eq) in trockenem THF (100 μL) wurde BnOCl (1 μL , 8.04 μmol , 1 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 5 min gerührt. Anschließend wurde Diketopiperazin **106** (8.5 mg, 24.1 μmol , 3 eq) in DMF (50 μL) zugegeben und das Gemisch weitere 20 h gerührt. Eine LCMS-Analyse ließ keine Bildung von **17** beobachten.



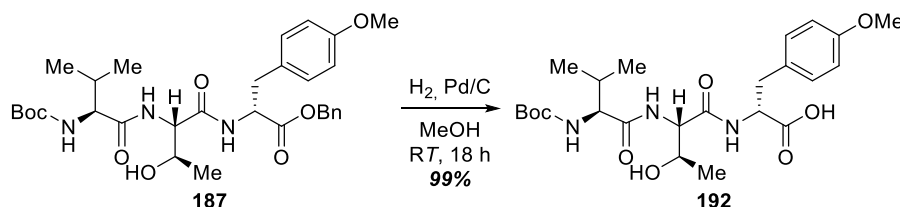
Zu einer Lösung aus Pentapeptid **81** (5 mg, 8.04 μmol , 1 eq) und DBU (2.4 μL , 16.1 μmol , 2 eq) in trockenem DMF (150 μL) wurde HATU (3 mg, 8.04 μmol , 1 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 5 min gerührt. Anschließend wurde Diketopiperazin **106** (8.5 mg, 24.1 μmol , 3 eq) in DMF (50 μL) zugegeben und das Gemisch weitere 20 h gerührt. Eine LCMS-Analyse ließ keine Bildung von **17** beobachten.



Zu einer Lösung aus Pentapeptid **81** (5 mg, 8.04 μmol , 1 eq) und MTBD (2.3 μL , 16.1 μmol , 2 eq) in trockenem DMF (150 μL) wurde COMU (3.5 mg, 8.04 μmol , 1 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT

für 5 min gerührt. Anschließend wurde Diketopiperazin **106** (8.5 mg, 24.1 μmol , 3 eq) in DMF (50 μL) zugegeben und das Gemisch weitere 20 h gerührt. Eine LCMS-Analyse ließ keine Bildung von **17** beobachten.

Synthese von Tripeptidsäure **192**



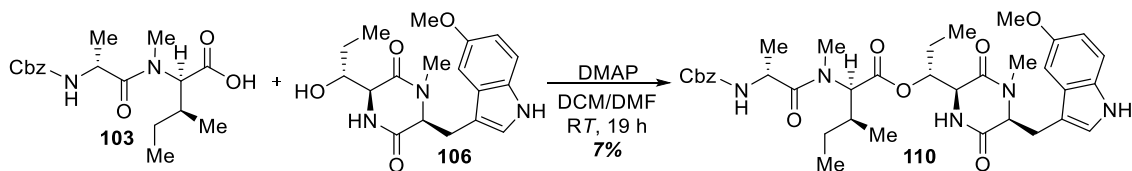
Unter H_2 -Atmosphäre wurde eine Lösung aus Tripeptid **187** (200 mg, 341 μmol , 1.0 eq) und Pd/C (20 mg) in MeOH (3 mL) bei RT für 12 h gerührt und über Celith filtriert. Nachdem das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurde, wurde das Produkt **192** als weißer Feststoff (168 mg, 339 μmol , 99%) erhalten.

^1H NMR (300 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 7.14 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.82 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 4.64 – 4.56 (m, 1H), 4.34 – 4.26 (m, 1H), 4.14 – 4.07 (m, 1H), 3.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.16 (dd, $J = 14.0$, 5.1 Hz, 1H), 2.97 (dd, $J = 14.0$, 8.3 Hz, 1H), 2.05 (dt, $J = 20.1$, 6.6 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.05 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.92 (d, $J = 2.4$ Hz, 3H), 0.90 (d, $J = 2.4$ Hz, 3H);

^{13}C NMR (75 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 174.7, 174.4, 172.2, 160.1, 158.4, 131.4, 130.0, 114.9, 80.9, 68.3, 62.1, 59.8, 55.6, 55.5, 37.3, 31.5, 28.7, 19.9, 19.8, 18.4;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 496.2653, gefunden: 496.2643.

Synthese von Tetrapeptidester **110**



Zu einer Lösung aus Dipeptid **103** (200 mg, 571 μmol , 1.0 eq), Diketopiperazin **106** (236 mg, 685 μmol , 1.2 eq) und DMAP (18 mg, 147 μmol , 0.25 eq) in trockenem DCM/DMF (3.8 mL, 1:1) wurde DIC (91 μL , 588 μmol , 1.03 eq) zugegeben und das Gemisch bei RT für 19 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion mit H_2O versetzt und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B= H_2O +0.05% TFA, 0-2 min 5% A, 2-13 min 5-45% A, 13-25 min 45% A, 25-30 min 45-95% A, 30-33 min 95% A, 33-36 min 5% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) wurde das Produkt **110** als weißer Feststoff (33 mg, 48.7 μmol , 7%) erhalten.

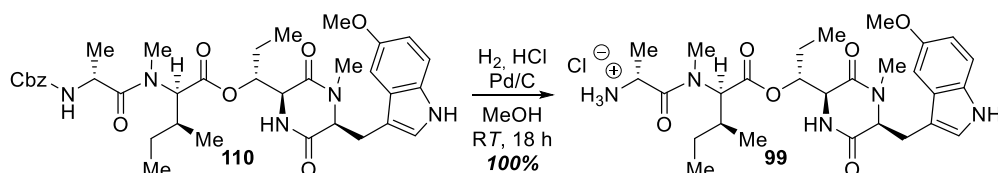
Die folgenden Daten beziehen sich auf das Hauptisomer der durch die *N*-methylierte Amidbindung bedingten *cis/trans*-Isomerie

^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 7.37 – 7.25 (m, 5H), 7.20 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.74 (dd, $J = 8.8$, 2.4 Hz, 1H), 5.13 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 5.04 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 4.60 (dd, $J = 12.0$, 8.6 Hz, 1H), 4.48 – 4.43 (m, 1H), 4.21 – 4.14 (m, 0H), 3.83 (s, 3H), 3.81 – 3.79 (m, 1H), 3.53 (dd, $J = 15.4$, 4.0 Hz, 1H), 3.35 (dd, $J = 15.4$, 4.5 Hz, 1H), 3.10 (s, 3H), 3.00 (d, $J = 1.4$ Hz, 3H), 2.11 – 2.00 (m, 1H), 1.48 – 1.40 (m, 1H), 1.39 – 1.22 (m, 1H), 1.28 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.14 – 1.06 (m, 1H), 0.91 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 0.82 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.37 (t, $J = 5.8$ Hz, 3H);

^{13}C NMR (151 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 176.3, 176.3, 171.0, 170.9, 169.5, 169.3, 165.1, 165.0, 158.2, 158.2, 155.4, 138.5, 138.4, 133.1, 129.4, 129.4, 129.4, 128.9, 128.8, 128.5, 128.5, 126.5, 126.4, 113.1, 113.0, 112.9, 108.9, 101.7, 78.7, 77.5, 67.8, 67.4, 65.0, 63.7, 63.6, 63.1, 58.3, 58.2, 56.3, 56.2, 48.1, 35.6, 34.6, 33.3, 33.3, 33.0, 29.6, 28.1, 27.8, 27.5, 26.9, 22.5, 22.0, 21.3, 18.1, 17.2, 15.3, 15.2, 11.4, 11.3, 10.7, 10.3;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{N}_5\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 678.3560, gefunden: 678.3676.

Synthese von Tetrapeptidester **99**



Unter H_2 -Atmosphäre wurde eine Lösung aus Tetrapeptid **110** (25 mg, 36.9 μmol , 1 eq), Pd/C (8 mg) in MeOH (2.5 mL) und 4 M HCl in Dioxan (95 μL , 369 μmol , 10 eq) bei RT für 6 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch über Celith filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **99** wurde als weißes Hydrochloridsalz (22 mg, 55.2 μmol , 100%) erhalten.

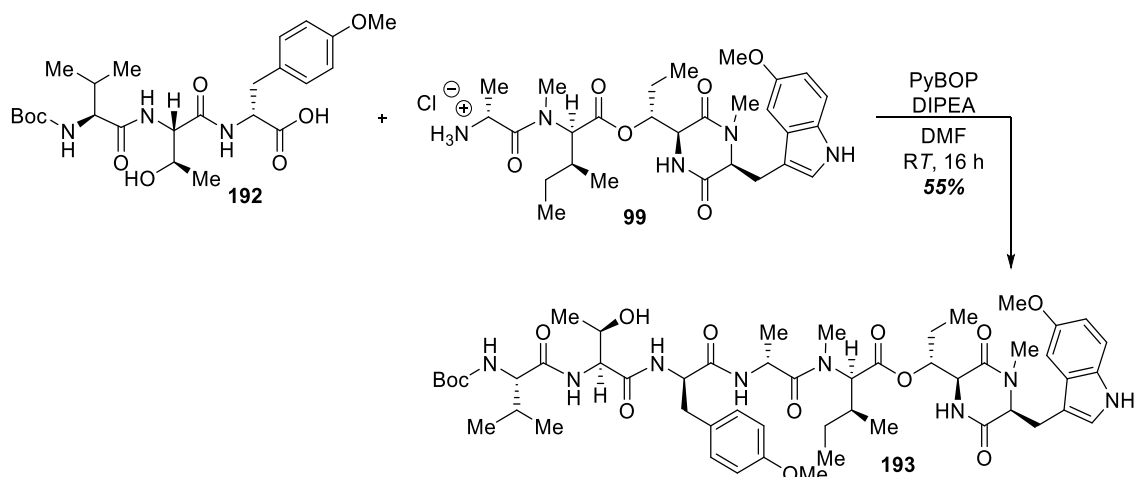
In dem folgenden Spektrum wurde das Hauptisomer der *cis/trans*-Isomerie bedingt durch die *N*-methylierten Amidbindung angegeben.

^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 7.22 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.75 (dd, $J = 8.8, 2.5$ Hz, 1H), 4.69 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 4.42 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H), 4.25 (t, $J = 4.2$ Hz, 1H), 4.21 (td, $J = 6.5, 3.4$ Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.80 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 3.72 – 3.64 (m, 1H), 3.55 (dd, $J = 15.1, 3.8$ Hz, 1H), 3.38 (dd, $J = 15.2, 4.5$ Hz, 1H), 3.06 (s, 3H), 2.99 (s, 3H), 2.19 – 2.00 (m, 1H), 1.48 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.59 – 1.35 (m, 2H), 1.20 – 1.08 (m, 1H), 1.05 – 0.82 (m, 2H), 0.93 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 0.86 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.50 – 0.43 (m, 1H), 0.41 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.33 – 0.27 (m, 1H);

^{13}C NMR (151 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 172.7, 172.1, 170.5, 169.9, 166.2, 165.2, 155.4, 133.1, 129.3, 128.8, 126.8, 126.7, 113.4, 113.2, 113.1, 113.0, 108.9, 108.9, 101.8, 101.6, 77.5, 77.4, 65.2, 64.3, 63.9, 62.9, 58.1, 57.8, 56.4, 56.3, 35.1, 34.2, 33.4, 33.3, 32.3, 29.3, 28.9, 28.3, 27.3, 26.7, 24.3, 22.5, 17.1, 16.3, 15.3, 15.1, 11.3, 10.2, 9.7;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_5\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 544.3130, gefunden: 544.3560.

Synthese von Heptapeptidester **193**



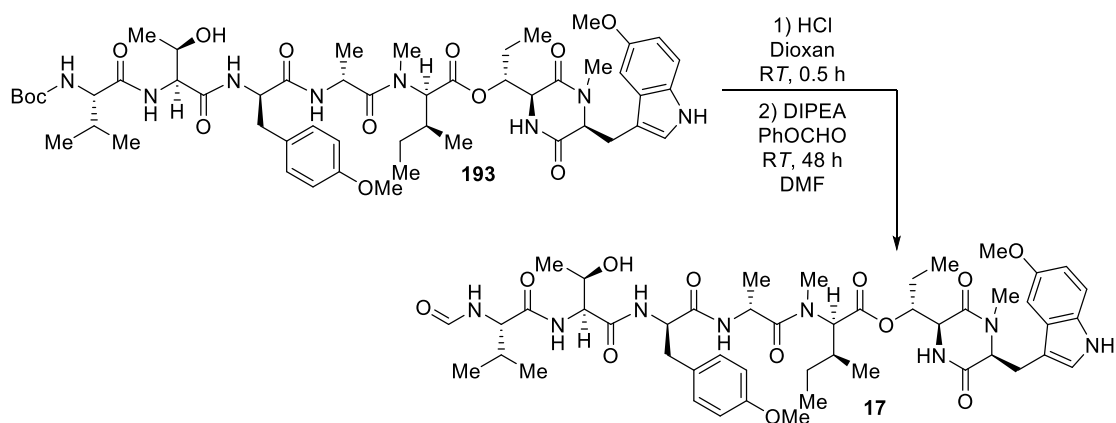
Zu einer Lösung aus Tetrapeptid **99** (42 mg, 72.4 μmol , 1 eq), Tripeptid **192** (40 mg, 79.6 μmol , 1.1 eq) und PyBOP (41 mg, 79.9 μmol , 1.1 eq) in DMF (1 mL) wurde DIPEA (31 μL , 182 μmol , 2.5 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 16 h gerührt. Anschließend wurde der Reaktionslösung ges. NaCl-Lösung zugegeben und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B= H_2O +0.05% TFA, 0-2 min 5% A, 2-14 min 5-45% A, 14-20 min 45% A, 20-25 min 45-95% A, 25-28 min 95%, 28-31 min 5% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) wurde das Produkt **193** als weißer Feststoff (41 mg, 40.1 μmol , 55%) erhalten.

^1H NMR (600 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 7.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.92 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.64 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 5.14 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H), 5.00 (t, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.97 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 4.81 (dt, $J = 11.7, 2.3$ Hz, 1H), 4.54 (dt, $J = 6.4, 3.7$ Hz, 1H), 4.35 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H), 4.13 (dt, $J = 4.9, 2.4$ Hz, 1H), 3.98 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 3.61 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 3.36 – 3.32 (m, 1H), 3.17 (s, 3H), 3.13 – 3.08 (m, 1H), 3.06 (s, 3H), 2.94 (qd, $J = 13.8, 4.2$ Hz, 2H), 2.16 – 2.08 (m, 1H), 2.08 – 1.99 (m, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.35 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 1.33 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.15 – 1.06 (m, 2H), 1.00 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.97 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.89 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 0.85 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.30 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), -0.14 – -0.23 (m, 1H), -0.67 – -0.75 (m, 1H);

^{13}C NMR (151 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm]: 176.4, 175.0, 174.3, 173.0, 171.9, 171.6, 171.3, 168.6, 164.4, 159.8, 158.1, 155.4, 133.0, 132.7, 132.0, 129.7, 129.5, 129.3, 126.5, 126.4, 114.6, 113.6, 113.3, 113.1, 112.9, 112.7, 108.8, 101.2, 80.8, 80.7, 79.1, 70.1, 68.8, 65.5, 63.6, 63.3, 62.1, 58.8, 58.4, 58.0, 56.3, 56.1, 55.6, 55.6, 54.0, 53.9, 47.6, 44.8, 39.2, 36.3, 34.6, 33.3, 33.2, 31.6, 31.5, 29.7, 28.7, 27.9, 27.7, 26.6, 20.5, 20.0, 19.7, 18.5, 18.4, 18.1, 15.5, 15.3, 11.5, 11.5, 11.0, 10.5;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{52}\text{H}_{77}\text{N}_8\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1021.5605, gefunden: 1021.5903.

Synthese von Cycloheptamycin Z (**17**)



Peptid **193** (23 mg, 22.5 μmol , 1 eq) wurde in 4 M HCl in Dioxan (1.5 mL) bei RT für 30 min gerührt und danach wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in DMF (1.5 mL) aufgenommen. Die Lösung wurde zuerst mit DIPEA (7.8 μL , 45.0 μmol , 2 eq) und dann mit Ameisensäurephenylester (5.1 μL , 45.0 μmol , 2 eq) versetzt. Die Reaktion wurde 24 h gerührt, mit EtOAc versetzt und mit ges. NaCl-Lösung (3x) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B= H_2O +0.05% TFA, 0-2 min 5% A, 2-15 min 5-45% A, 15-20 min 45% A, 20-23 min 45-95% A, 23-26 min 5% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) wurde das Produkt **17** als weißer Feststoff (8 mg, 8.43 μmol , 37%) erhalten.

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 10.74 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 9.09 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.67 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.24 (dd, $J = 9.1, 1.9$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.04 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.58

(d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.57 (dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, 1H), 5.04 (p, $J = 6.9$ Hz, 1H), 4.92 (dt, $J = 8.8, 4.2$ Hz, 1H), 4.71 (dt, $J = 11.7, 2.4$ Hz, 1H), 4.67 (dd, $J = 8.9, 2.5$ Hz, 1H), 4.48 – 4.42 (m, 1H), 4.38 (dd, $J = 9.1, 6.0$ Hz, 1H), 4.31 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H), 4.13 (dd, $J = 5.0, 2.9$ Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 3.38 (dd, $J = 2.6$ Hz, 1H), 3.38 – 3.33 (m, 1H), 3.23 (dd, $J = 14.9, 4.8$ Hz, 1H), 3.05 (s, 3H), 2.90 (s, 3H), 2.86 (dd, $J = 13.5, 4.1$ Hz, 1H), 2.73 (dd, $J = 13.5, 4.3$ Hz, 1H), 2.10 – 2.01 (m, 1H), 1.92 – 1.86 (m, 1H), 1.21 (d, $J = 5.5$ Hz, 3H), 1.20 (d, $J = 4.8$ Hz, 3H), 1.12 – 1.01 (m, 2H), 0.90 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.86 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.80 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 0.74 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.19 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), -0.33 (dq, $J = 11.8, 7.4$ Hz, 1H), -0.85 (qd, $J = 8.3, 6.4$ Hz, 1H);

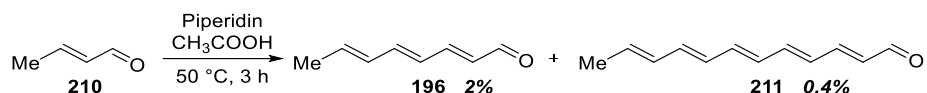
^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 173.6, 170.4, 170.4, 170.1, 170.0, 169.8, 168.8, 161.0, 160.8, 160.8, 157.8, 157.5, 157.4, 152.8, 130.8, 127.8, 127.6, 125.2, 123.0, 113.0, 111.8, 111.3, 111.2, 106.9, 99.5, 76.8, 75.8, 67.6, 62.9, 60.6, 56.9, 56.4, 56.0, 56.0, 55.9, 55.0, 54.6, 54.4, 54.3, 51.5, 42.7, 37.8, 34.2, 32.0, 31.7, 30.1, 30.0, 28.7, 28.2, 25.8, 24.3, 21.8, 20.3, 19.2, 19.0, 17.6, 17.5, 17.5, 17.4, 16.4, 14.6, 14.1, 13.7, 11.1, 10.8, 9.9, 9.5;

HR-MS (ESI+): m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{69}\text{N}_8\text{O}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 949.5029, gefunden: 949.5193.

Synthesen zu Ikarugamycin Biosyntheseintermediaten

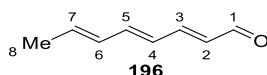
Synthese der Polyenbausteine

Synthese von Octatrienal (**196**) und Dodecapental (**211**)



Zu *trans*-Crotonaldehyd (**210**, 50 mL, 606 mmol, 1 eq) wurde Piperidin (0.5 mL) und AcOH (0.5 mL) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei 50 °C für 3 h gerührt. Anschließend wurde der Reaktion Et₂O (200 mL) zugegeben und die Suspension filtriert. Das Filtrat wurde mit H₂O (4x120 mL) gewaschen und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das ölige Zwischenprodukt mit kaltem MeOH (50 mL) versetzt, 20 min bei -20 °C ruhen gelassen und die Suspension filtriert. Der rote Niederschlag wurde mit MeOH gewaschen, getrocknet und als Produkt **211** (468 mg, 2.69 mmol, 0.4%) bei -20 °C gelagert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde nach einer Vakuumdestillation (58-65 °C, 1 mbar) säulenchromatographisch (SiO₂, Cyc/EtOAc 4:1) gereinigt. Das Produkt **196** wurde als leicht gelber Feststoff (1.28 g, 0.0114 mmol, 2 %) erhalten und konnte bei -20 °C für drei Wochen gelagert werden.

Analytische Daten zu **196**:



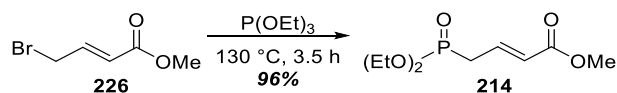
R_f = 0.42 (Cyc/EtOAc 4:1);

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 9.56 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-1), 7.11 (dd, *J* = 15.2, 11.1 Hz, 1H, H-3), 6.64 (dd, *J* = 14.9, 10.5 Hz, 1H, H-5), 6.33 (dd, *J* = 15.0, 11.1 Hz, 1H, H-2), 6.26 – 5.98 (m, 3H, H-4, H-6, H-7), 1.86 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, H-8).

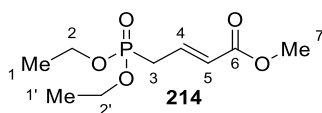
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.57 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J* = 15.1, 11.3, 1H), 6.72 (dd, *J* = 14.7, 11.1, 1H), 6.52 (dd, *J* = 14.2, 10.9 Hz, 1H), 6.48 (dd, *J* = 11.1, 3.4 Hz, 1H), 6.36 (dd, *J* = 10.0, 4.9 Hz, 2H), 6.25 – 6.12 (m, 3H), 5.92 – 5.82 (m, 1H), 1.83 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H).

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[126]

Synthese von Methyl-4-(diethoxyphosphono)but-2-enoat (**226**)



Zu Ester **226** (220 mg, 1.23 mmol, 1 eq) wurde P(OEt)₃ (230 μL, 1.56 mmol, 1.25 eq) zugegeben und das Gemisch für 3.5 h bei 130 °C gerührt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, Pentan/EtOAc 6:1 zu DCM/MeOH 20:1) wurde das Produkt **214** als klare Flüssigkeit (280 mg, 1.19 mmol, 91%) erhalten.

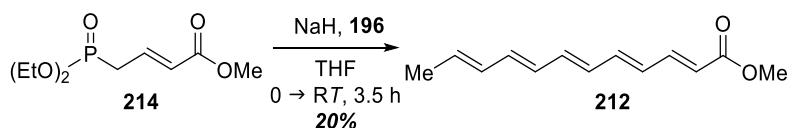


$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 6.87 (dq, $J = 15.4, 7.7$ Hz, 1H, H-4), 5.96 (ddt, $J = 15.6, 5.0, 1.4$ Hz, 1H, H-5), 4.16 – 4.06 (m, 4H, H-2, H-2'), 3.73 (s, 3H, H-7), 2.74 (ddd, $J = 23.0, 7.9, 1.5$ Hz, 2H, H-3), 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H, H-1, H-1');

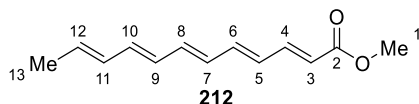
ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_5\text{P}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 237.1, gefunden: 236.9.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[127]

Synthese von Dodeca-2, 4, 6, 8, 10-pentaensäuremethylester (**212**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Phosphonat **214** (364 mg, 1.53 mmol, 1.1 eq) in trockenem THF (8 mL) bei 0 °C NaH (61 mg, 1.53 mmol, 1.1 eq) zugegeben und für 2 min gerührt. Dann wurde der Reaktion eine Lösung aus *E*-Octatrienal (**196**, 170 mg, 1.39 mmol, 1 eq) in trockenem THF (2 mL) zugegeben und die Reaktion 3.5 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , Pentan/EtOAc 100:1) wurde das Produkt **212** als gelber Feststoff (55 mg, 0.269 μmol , 20%) erhalten.

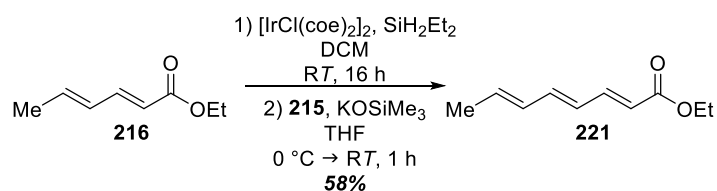


$R_f = 0.66$ (Pentan/EtOAc 10:1);

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.32 (dd, $J = 15.3, 11.4$ Hz, 1H, H-4), 6.59 (dd, $J = 14.7, 11.1$ Hz, 1H, H-6), 6.42 (dd, $J = 14.8, 10.9$ Hz, 1H, H-8), 6.35 – 6.09 (m, 5H, H-5, H-7, H-9, H-10, H-11), 5.86 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H, H-3), 5.84 – 5.77 (m, 1H, H-12), 3.74 (s, 3H, H-1), 1.80 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-13);

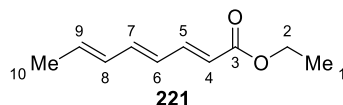
ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 205.1, gefunden: 204.9.

Synthese von Octa-2, 4, 6-triensäureethylester (**221**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Ethylsorbat (**216**, 4.26 mL, 28.6 mmol, 1 eq) und $[\text{IrCl}(\text{coe})_2]_2$ (26 mg, 28.6 μmol , 0.1 mol%) in trockenem DCM (10 mL) SiH_2Et_2 (7.36 mL, 57.2 mmol, 2 eq) gegeben und 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und dem Rückstand Et_2O (10 mL) zugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Es wurde ein weiteres Mal Et_2O zugegeben und das Lösungsmittel erneut entfernt. Das Zwischenprodukt wurde mit trockenem THF (10 mL) verdünnt und zu einer Lösung aus Triethylphosphonoacetat (**215**, 6.25 mL, 31.5 mmol, 1.1 eq) und KOSiMe_3 (14,3 mL, 28.6 mmol, 1 eq, 2 M in THF) bei 0 °C zugetropft und 1 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit ges. NH_4Cl -Lsg. versetzt und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges.

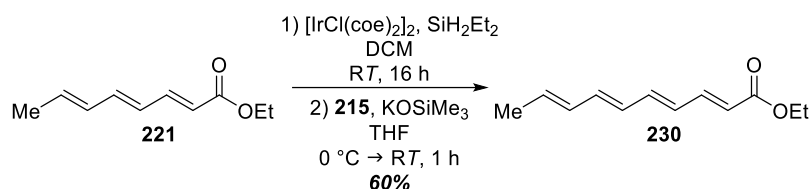
NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, 3% Et₂O/Cyc) konnte das Produkt **221** als leicht gelblicher Feststoff (2.76 g, 16.6 mmol, 58%) erhalten werden.



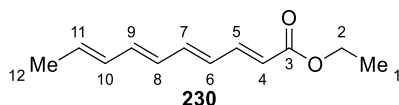
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.28 (dd, *J* = 15.3, 11.4 Hz, 1H, H-5), 6.52 (dd, *J* = 15.0, 10.5 Hz, 1H, H-7), 6.27 – 6.09 (m, 2H, H-6, H-8), 5.93 (dq, *J* = 13.8, 6.8 Hz, 1H, H-9), 5.83 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H, H-4), 4.19 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, H-2), 1.82 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H, H-10), 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, H-1).

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[107]

Synthese für Deca-2, 4, 6, 8-tetraensäureethylester (**230**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Polyenester **221** (1.00 g, 6.02 mmol, 1 eq) und [IrCl(coe)₂]₂ (5 mg, 6.02 μmol, 0.1 mol%) in trockenem DCM (2 mL) SiH₂Et₂ (1.0 mL, 12.0 mmol, 2 eq) gegeben und 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und dem Rückstand Et₂O (2 mL) zugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Es wurde ein weiteres Mal Et₂O zugegeben und das Lösungsmittel erneut entfernt. Das Zwischenprodukt wurde mit trockenem THF (6 mL) verdünnt und zu einer Lösung aus Triethylphosphonoacetat (**215**, 1.3 mL, 6.62 mmol, 1.1 eq) und KOSiMe₃ (3.0 mL, 6.02 mmol, 1 eq, 2 M in THF) bei 0 °C zugetropft und 1 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit ges. NH₄Cl-Lsg. versetzt und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, 5% Et₂O/Cyc) konnte das Produkt **230** als leicht gelblicher Feststoff (0.695 g, 3.61 mmol, 60%) erhalten werden.

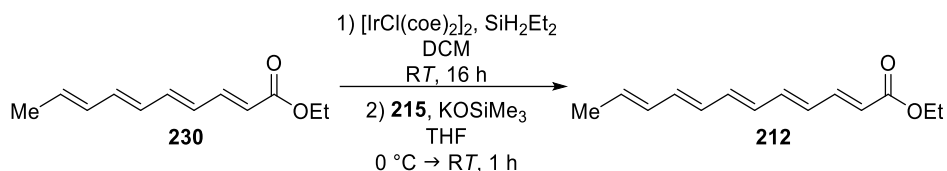


R_f = 0.19 (5% Et₂O/Cyc);

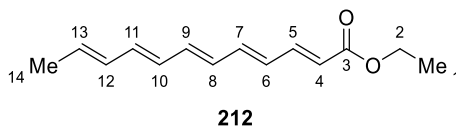
¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.32 (dd, *J* = 15.2, 11.3 Hz, 1H, H-5), 6.58 (dd, *J* = 14.8, 11.0 Hz, 1H, H-7), 6.38 (dd, *J* = 14.9, 10.8 Hz, 1H, H-9), 6.30 (dd, *J* = 14.8, 11.3 Hz, 1H, H-6), 6.24 – 6.11 (m, 2H, H-8, H-10), 5.91 – 5.83 (m, 2H, H-4, H-11), 4.21 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, H-2), 1.83 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-12), 1.31 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, H-1).

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[107]

Synthese von Dodeca-2, 4, 6, 8, 10-pentaensäureethylester (**212**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Polyenester **230** (200 mg, 1.04 mmol, 1 eq) und $[\text{IrCl}(\text{coe})_2]_2$ (1 mg, 1.04 μmol , 0.1 mol%) in trockenem DCM (0,4 mL) SiH_2Et_2 (270 μL , 2,08 mmol, 2 eq) zugegeben und 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und dem Rückstand Et_2O (1 mL) zugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Es wurde ein weiteres Mal Et_2O zugegeben und das Lösungsmittel erneut entfernt. Das Zwischenprodukt wurde mit trockenem THF (1 mL) verdünnt und zu einer Lösung aus Triethylphosphonoacetat (**215**, 225 μL , 1.14 mmol, 1.1 eq) und KOSiMe_3 (502 μL , 1.04 mmol, 1 eq, 2 M in THF) bei 0 °C zugetropft und 1 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit ges. NH_4Cl -Lsg. versetzt und mit EtOAc (3x) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl -Lsg. gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , 5% $\text{Et}_2\text{O}/\text{Cyc}$) wurde ein leicht gelblicher Feststoff erhalten, welcher das Produkt **212** aber auch Silanolverunreinigungen enthielt. Das Produktgemisch wurde in der folgenden Verseifung ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

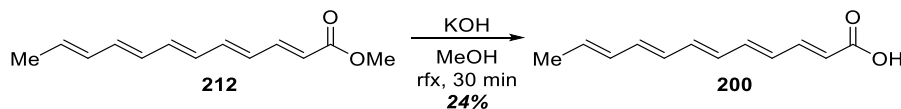


$R_f = 0.26$ (5% $\text{Et}_2\text{O}/\text{Cyc}$);

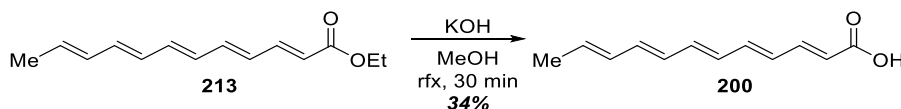
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.20 (dd, $J = 15.3, 11.5$ Hz, 1H, H-5), 6.48 (dd, $J = 14.8, 10.8$ Hz, 1H, H-7), 6.35 – 5.94 (m, 6H, H-6, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12), 5.80 – 5.65 (m, 2H, H-4, H-13), 4.09 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, H-2), 1.69 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H, H-14), 1.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, H-1).

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[128]

Synthese von Dodeca-2, 4, 6, 8, 10-pentaensäure (**200**)

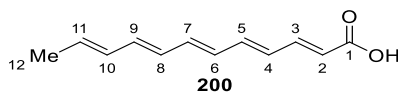


Polyenester **212** (71 mg, 384 μmol , 1 eq) wurde in einer Lösung von 5% KOH in MeOH (3 mL) gelöst und 30 min unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Gemisch auf 0°C abgekühlt und filtriert. Der Niederschlag wurde mit Aceton und 1 M HCl gewaschen und getrocknet. Das Produkt **200** wurde als gelber Feststoff (16 mg, 84.1 μmol , 24%) erhalten und bei -20 °C gelagert.



Die Hälfte des Rohprodukts aus der Synthese des Polyenesters **213** wurde in 5% KOH in MeOH (28 mL) gelöst und 3 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch filtriert. Das Filtrat wurde mit 10% HCl angesäuert und erneut filtriert. Der gesammelte Niederschlag wurde mit auf -20 °C

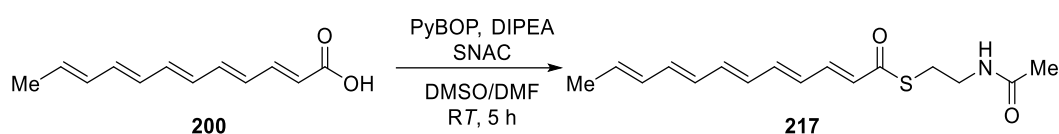
gekühltem MeOH gewaschen. Das Produkt **200** wurde als gelber Feststoff (34 mg, 0.179 mmol, 34%) erhalten.



^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 12.15 (s, 1H, COOH), 7.22 (dd, $J = 15.2, 11.5$ Hz, 1H, H-3), 6.74 (dd, $J = 14.5, 11.2$ Hz, 1H, H-5), 6.54 – 6.32 (m, 4H, H-4, H-6, H-7, H-9), 6.25 (dd, $J = 15.0, 10.8$ Hz, 1H, H-8), 6.19 – 6.12 (m, 1H, H-10), 5.90 – 5.79 (m, 2H, CH-1, H-11), 1.77 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-12).

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[128]

Synthese von Polyenthioester **217**

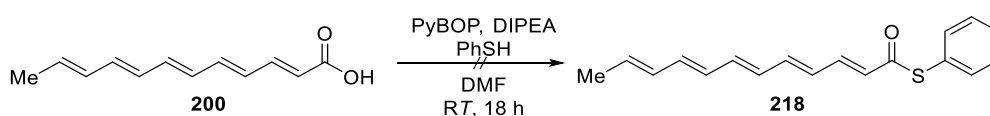


Zu einer Lösung aus Pentensäure **200** (10 mg, 52.6 μmol , 1 eq), PyBOP (30 mg, 57.8 μmol , 1.1 eq) und DIPEA (18 μL , 105 μmol , 2 eq) in DMF (0.7 mL) und DMSO (0.2 mL) wurde SNAC (16 μL , 158 μmol , 3 eq) hinzugegeben und 5 h bei RT gerührt. Anschließend wurde der Reaktionslösung DCM zugegeben und mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit DCM (2x) reextrahiert, die organischen Phasen vereinigt, und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Abschließend wurde eine Säulenchromatographie (SiO₂, Pentan/EtaAc 1:1) durchgeführt, jedoch konnte das Produkt **217** nicht als Reinsubstanz isoliert werden.

$R_f = 0.20$ (Pentan/EtaAc 1:1);

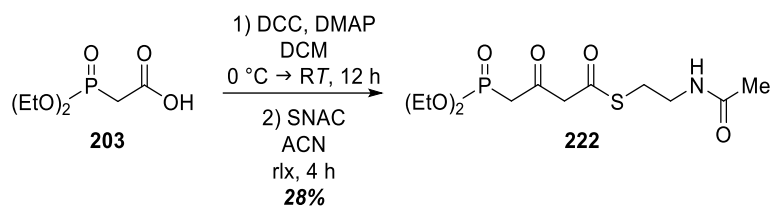
ESI-MS (+): m/z berechnet für C₁₆H₂₁NNaO₂S [M+Na]⁺ 314.2, gefunden: 314.1.

Synthese von Polyenthioester **218**

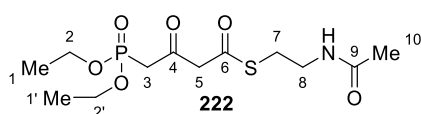


Zu einer Suspension aus Pentensäure **200** (10 mg, 52.6 μmol , 1 eq) und PyBOP (33 mg, 63.1 μmol , 1.2 eq) in DMF (0.9 mL) wurde DIPEA (11 μL , 63.1 μmol , 1.2 eq) zugegeben und gerührt bis sich alle Feststoffe gelöst haben. Anschließend wurde der Reaktionslösung Thiophenol (0.1 mL, 980 μmol , 20 eq) zugegeben und das Gemisch über Nacht gerührt, wobei in verschiedenen Zeitabständen HPLC Proben entnommen wurden. Eine Bildung von **218** konnte nicht beobachtet werden.

Synthese von Phosphonat **222**



Zu einer Lösung aus Säure **203** (1.00 g, 5.10 mmol, 1 eq) und DMAP (0.623 g, 5.10 mmol, 1 eq) in DCM (6 mL) wurde bei 0 °C DCC (1.05 g, 5.10 mmol, 1 eq) zugegeben und die Reaktion bei RT 12 h gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit DCM (10 mL) versetzt und filtriert. Das Filtrat wurde mit 1 M HCl und mit ges. NaCl-Lsg gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in ACN (20 mL) gelöst, mit SNAC (596 µL, 5.61 mmol, 1.1 eq) versetzt und 4 h unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und säulenchromatographisch (2.5% MeOH/DCM zu 5% MeOH/DCM) gereinigt. Das Produkt **222** wurde als klares Öl (0.479 g, 1.41 mmol, 28%) erhalten.



R_f = 0.21 (2.5% MeOH/DCM);

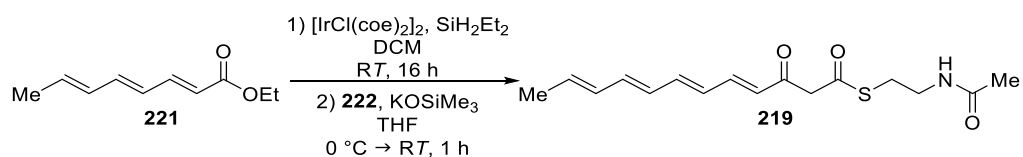
In dem folgenden Spektrum wurde das Keto-Hauptisomer der Keto-Enol-Tautomerie angegeben.

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 6.86 (s, H, NH), 4.13 (p, *J* = 7.3 Hz, 4H, H-2, H-2'), 3.89 (s, 2H, H-5), 3.45 (q, *J* = 5.8 Hz, 2H, H-8), 3.22 (d, *J* = 22.6 Hz, 2H, H-3), 3.08 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, H-7), 2.74 (d, *J* = 22.4 Hz, 0.6H), 2.00 (s, 3H, H-10), 1.33 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H, H-1, H-1');

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₁₂H₂₃NNaO₆PS [M+Na]⁺ 362.1, gefunden: 362.3.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[107]

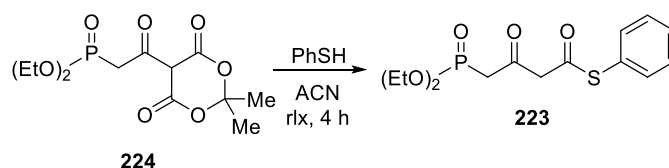
Synthese von Polyen-β-ketothioester **219**



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Polyenester **221** (100 mg, 0.602 mmol, 1 eq) und [IrCl(coe)₂]₂ (0.5 mg, 0.602 µmol, 0.1 mol%) in trockenem DCM (0.2 mL) SiH₂Et₂ (155 µL, 1.20 mmol, 2 eq) zugegeben und 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt, dem Rückstand Et₂O (1 mL) zugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck erneut entfernt. Es wurde ein weiteres Mal Et₂O zugegeben und das Lösungsmittel wieder entfernt. Das Zwischenprodukt wurde mit trockenem THF (660 µL) verdünnt und zu einer Lösung aus Phosphonathioester **222** (204 mg, 0.602 mmol, 1 eq) und KOSiMe₃ (900 µL, 1.80 mmol, 3 eq, 2 M in THF) bei 0 °C zugetropft und 1 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit ges. NH₄Cl-Lsg. versetzt und mit DCM (3x) extrahiert. Dabei wurde ein gelber in MeOH löslicher Niederschlag gebildet, welcher mit in die organischen Phasen aufgenommen wurde. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen und über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, 3% MeOH/DCM) gelang es nicht das Produkt **219** als Reinstoff zu isolieren.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $C_{16}H_{21}NNaO_3S$ $[M+Na]^+$ 330.1, gefunden: 330.1.

Synthese von Phosphonat **223**



Zu einer Lösung aus Phosphonat **224** (350 mg, 1.09 mmol, 1 eq) in ACN (7 mL) wurde PhSH (221 μ L, 2.18 mmol, 2 eq) zugegeben und unter Rückfluss für 4 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand für 3 d bei -20°C gelagert. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , 3% MeOH/DCM) konnte das Produkt **199** nachgewiesen werden, jedoch war es mit weiteren strukturell ähnlichen Substanzen verunreinigt, sodass keine abschließende Ausbeute bestimmt werden konnte. Das Rohprodukt **223** (279 mg, 0.845 mmol, 78%) wurde ohne weitere Aufreinigung in den folge Reaktionen eingesetzt.

$R_f = 0.31$ (3% MeOH/DCM);

ESI-MS (+): m/z berechnet für $C_{14}H_{19}NNaO_5PS$ $[M+Na]^+$ 353.1, gefunden: 353.0.

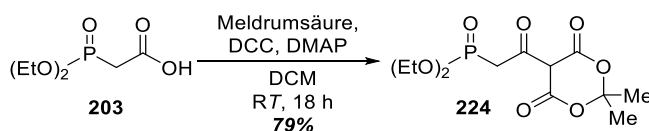
Synthese von Polyen- β -ketothioester **220**



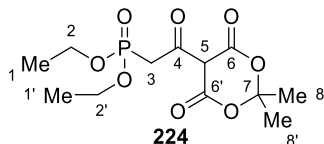
Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Polyenester **221** (100 mg, 0.602 mmol, 1 eq) und $[\text{IrCl}(\text{coe})_2]_2$ (0.5 mg, 0.602 μ mol, 0.1 mol%) in trockenem DCM (0.2 mL) SiH_2Et_2 (155 μ L, 1.20 mmol, 2 eq) zugegeben und 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt, dem Rückstand Et_2O (1 mL) zugegeben und das Lösungsmittel erneut unter vermindertem Druck entfernt. Es wurde ein weiteres Mal Et_2O zugegeben und das Lösungsmittel wieder entfernt. Das Zwischenprodukt wurde mit trockenem THF (350 μ L) verdünnt und zu einer Lösung aus Phosphonatthioester **223** (204 mg, 0.602 mmol, 1 eq) und KOSiMe_3 (900 μ L, 1.80 mmol, 3 eq, 2 M in THF) in THF (350 μ L) bei 0°C zugetropft und 1 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit ges. NH_4Cl -Lsg. versetzt, mit DCM (3x) extrahiert, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Bildung des Produkts **220** konnte nicht beobachtet werden.

Synthesen zur Darstellung von Intermediat **64** mittels HWE-Reaktion

Synthese von Phosphonat **224**



Zu einer Lösung aus Phosphonosäure **203** (2.88 g, 14.7 mmol, 1 eq) in DCM (15 mL) wurde bei 0 °C Meldrumsäure (2.12 g, 14.7 mmol, 1 eq), DMAP (1.79 g, 14.7 mmol, 1 eq) und DCC (3.33 g, 16.2 mmol, 1.1 eq) zugegeben. Die Reaktion wurde anschließend 18 h bei RT gerührt und mit DCM (35 mL) verdünnt, mit 1 M Salzsäure (2x50 mL) und ges. NaCl-Lsg (50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **224** wurde als leicht gelbliches Öl (3.75 g, 11.7 mmol, 79%) erhalten und wurde anschließend ohne weitere Aufarbeitung in der folgenden Reaktion verwendet.

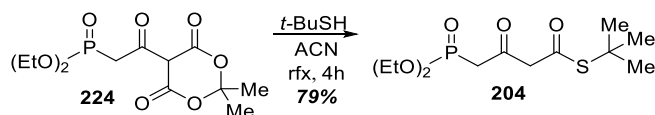


¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 4.23 – 4.12 (m, 4H, H-2, H-2'), 3.94 (d, *J* = 23.9 Hz, 2H, H-3), 1.76 (s, 6H, H-8, H-8'), 1.34 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, H-1, H-1');

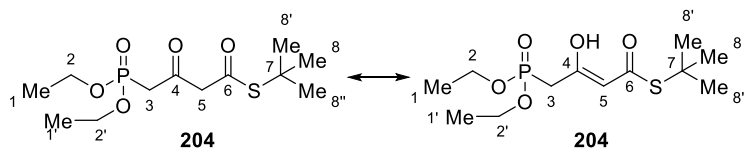
ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₁₂H₂₀O₈P [M+H]⁺ 323.1, gefunden: 322.8.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[129]

Synthese von Phosphonat 204



Eine Lösung aus Phosphonat **224** (3.75 g, 11.6 mmol, 1 eq) in ACN (70 mL) wurde mit *tert*-Butylthiol (2.62 mL, 24.1 mmol, 2 eq) versetzt und für 4 h bei 80 °C unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, DCM/MeOH 97:3) wurde das Produkt **204** als leicht gelbliches Öl (2.83 g, 9.11 mmol, 79%) erhalten.



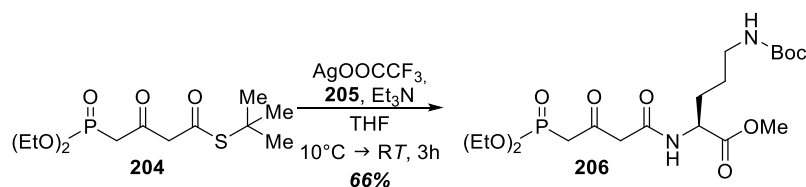
R_f = 0.31 (DCM/MeOH 97:3);

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) (Keto/Enol 3:1) δ [ppm]: 12.96 (s, 0.25H, OH^K), 5.47 (d, *J* = 3.2 Hz, 0.25H, H^E-5), 4.29 – 4.01 (m, 4H, H-2, H-2'), 3.80 (s, 1.5H, H^K-5), 3.25 (d, *J* = 22.6 Hz, 1.5H, H^K-3), 2.72 (d, *J* = 22.3 Hz, 0.5H, H^E-3), 1.51 (s, 2H, H^E-8, H^E-8', H^E-8''), 1.47 (s, 7H, H^K-8, H^K-8', H^K-8''), 1.34 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, H-1, H-1');

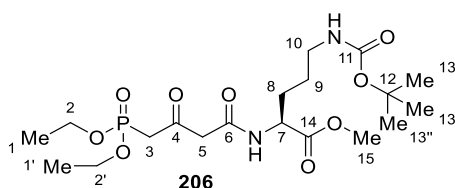
ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₁₂H₂₃NaO₅PS [M+Na]⁺ 333.1, gefunden: 333.1.

Die analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.^[130]

Synthese von Phosphonat 206



Zu einer Suspension aus Thioester **204** (100 mg, 356 μmol , 1 eq), Methylester **205** (100 mg, 406 μmol , 1.15 eq) und Et_3N (100 μL , 721 μmol , 2 eq) in THF (3 mL) wurde bei 10°C Silber(I)trifluoracetat (100 mg, 453 μmol , 1.25 eq) zugegeben und 3 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celith filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingeeengt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , DCM/MeOH 96:4) wurde das Produkt **206** als farbloses Öl (110 mg, 214 μmol , 66%) erhalten.

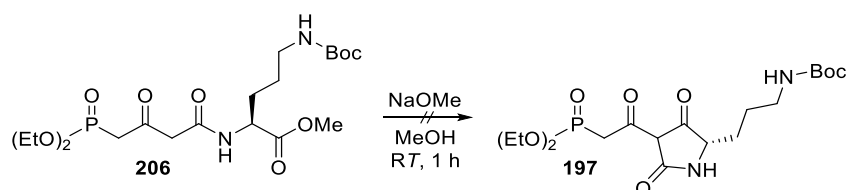


$R_f = 0.28$ (DCM/MeOH 24:1);

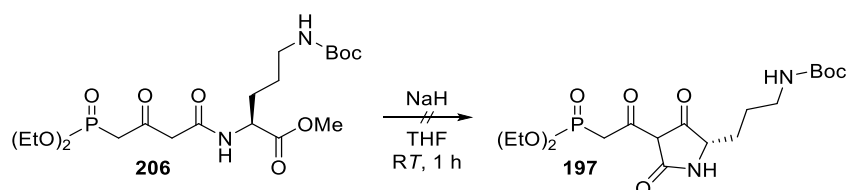
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, Chloroform- d) δ [ppm]: 7.65 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, NH), 4.62 – 4.53 (m, 1H, H-7), 4.22 – 4.10 (m, 4H, H-2, H-2'), 3.73 (s, 3H, H-15), 3.64 (dd, $J = 54.6, 16.2$ Hz, 2H, H-3), 3.42 (dd, $J = 23.1, 13.5$ Hz, 1H, H-5), 3.19 (dd, $J = 21.0, 12.2$ Hz, 1H, H-5), 3.13 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, H-10), 1.95 – 1.85 (m, 1H, H-8), 1.79 – 1.68 (m, 1H, H-8), 1.62 – 1.50 (m, 2H, H-9), 1.43 (s, 9H, H-13, H-13', H-13''), 1.34 (t, $J = 5.9$ Hz, 6H, H-1, H-1');

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 476.2, gefunden: 467.4.

Synthese von Tetramsäurephosphonat **197**

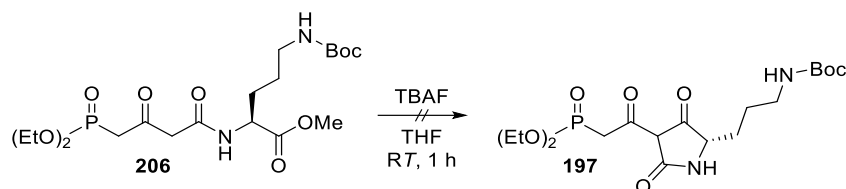


Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus β -Ketoamid **206** (5 mg, 10.7 mmol, 1 eq) in trockenem MeOH (1 mL) NaOMe (1.5 mg, 26.8 μmol , 2.5 eq) zugegeben und 1 h bei RT gerührt. Nach einer massenspektrometrischen Untersuchung konnte keine Bildung von **197** beobachtet werden. Die Reaktion wurde ein weiteres Mal bei 55°C wiederholt, auch hier konnte keine Bildung von **197** beobachtet werden.



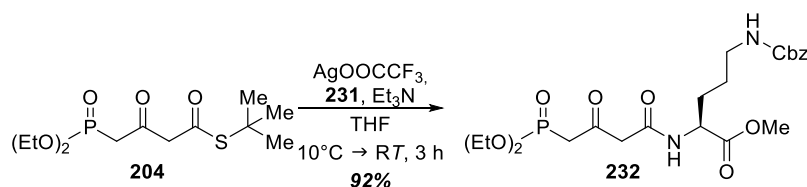
Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus β -Ketoamid **206** (5 mg, 10.7 mmol, 1 eq) in trockenem THF (1 mL) NaH (1 mg, 25.0 μmol , 2.3 eq, 60% in Mineralöldispersion) zugegeben und 1 h

bei RT gerührt. Nach einer massenspektrometrischen Untersuchung konnte keine Bildung von **197** beobachtet werden. Die Reaktion wurde ein weiteres Mal bei 55 °C wiederholt, auch hier konnte keine Produktbildung beobachtet werden.



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus β -Ketoamid **206** (5 mg, 10.7 μ mol, 1 eq) in trockenem THF (1 mL) TBAF (26 μ L, 26.0 μ mol, 2.5 eq, 0.1 M in THF) zugegeben und 1 h bei RT gerührt. Nach einer massenspektrometrischen Untersuchung konnte keine Bildung von **197** beobachtet werden. Die Reaktion wurde ein weiteres Mal bei 55 °C wiederholt, auch hier konnte keine Produktbildung beobachtet werden.

Synthese von Phosphonat **232**

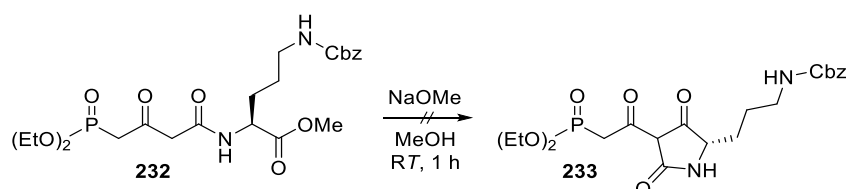


Zu einer Suspension aus Thioester **204** (200 mg, 649 μ mol, 1 eq), Methylester **231** (100 mg, 713 μ mol, 1.1 eq) und Et_3N (280 μ L, 1.95 mmol, 3 eq) in THF (6 mL) wurde bei 10 °C Silber(I)trifluoracetat (176 mg, 789 μ mol, 1.23 eq) zugegeben und 4 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celith filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingengt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO_2 , DCM/MeOH 24:1) wurde das Produkt **232** als farbloses Öl (280 mg, 596 μ mol, 92%) erhalten.

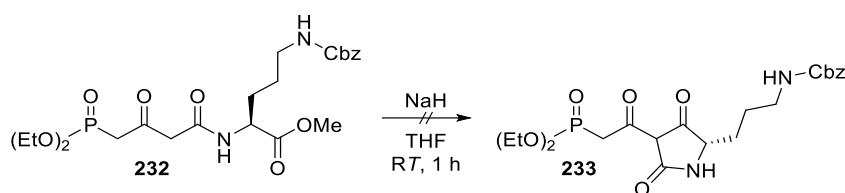
$R_f = 0.30$ (DCM/MeOH 24:1);

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 501.2, gefunden: 500.9.

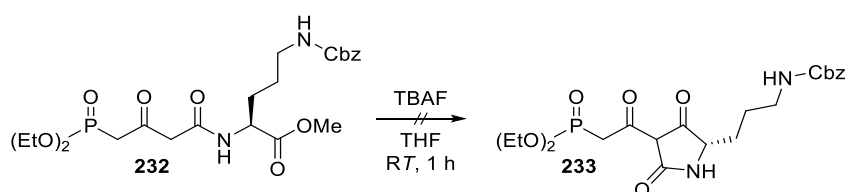
Synthese von Tetraam säurephosphonat **233**



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus β -Ketoamid **232** (5 mg, 10.7 μ mol, 1 eq) in trockenem MeOH (1 mL) NaOMe (1.5 mg, 26.8 μ mol, 2.5 eq) zugegeben und 1 h bei RT gerührt. Nach einer massenspektrometrischen Untersuchung konnte keine Bildung von **233** beobachtet werden. Die Reaktion wurde ein weiteres Mal bei 55 °C wiederholt, auch hier konnte keine Produktbildung beobachtet werden.

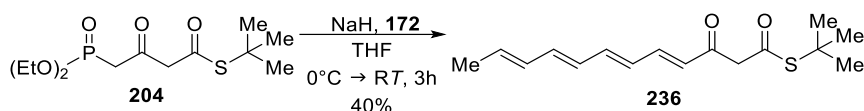


Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus β -Ketoamid **232** (5 mg, 10.7 μ mol, 1 eq) in trockenem THF (1 mL) NaH (1 mg, 25.0 μ mol, 2.3 eq, 60% in Mineralöldispersion) zugegeben und 1 h bei RT gerührt. Nach einer massenspektrometrischen Untersuchung konnte keine Bildung von **233** beobachtet werden. Die Reaktion wurde ein weiteres Mal bei 55 °C wiederholt, auch hier konnte keine Produktbildung beobachtet werden.



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus β -Ketoamid **232** (5 mg, 10.7 μ mol, 1 eq) in trockenem THF (1 mL) TBAF (26 μ L, 26.0 μ mol, 2.5 eq, 0.1 M in THF) zugegeben und 1 h bei RT gerührt. Nach einer massenspektrometrischen Untersuchung konnte keine Bildung von **233** beobachtet werden. Die Reaktion wurde ein weiteres Mal bei 55 °C wiederholt, auch hier konnte keine Produktbildung beobachtet werden.

Synthese von Polyen- β -ketothioester **236**



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Suspension aus NaH (269 mg, 6.71 mmol, 2.25 eq, 60% in Mineralöldispersion) in trockenem THF (20 mL) eine Lösung aus Thioester **204** (1.00 g, 3.58 mmol, 1.2 eq) in trockenem THF (3 mL) bei 0 °C zugegeben und 1 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde dem Reaktionsgemisch eine Lösung aus Polyen **196** (364 mg, 2.98 mmol, 1 eq) in trockenem THF (2 mL) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, Cyc/Et₂O 97:3) wurde das Produkt **236** als oranger Feststoff (332 mg, 1.19 mmol, 40%) erhalten.



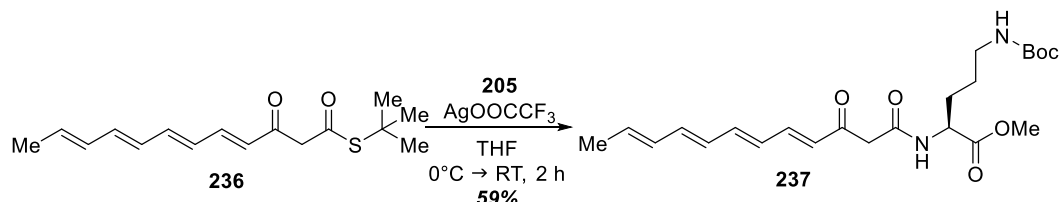
$R_f = 0.31$ (Cyc/Et₂O 97:3);

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) (Keto/Enol 1:1) δ [ppm]: 12.56 (s, 0.5H, *OH^E*), 7.13 (dd, $J = 15.1, 11.4$ Hz, 0.5H, *CH*), 6.66 (dd, $J = 14.7, 11.0$ Hz, 0.5H, *CH*) 6.54 – 6.10 (m, 5.5H, *CH*), 5.87 (m, 0.5H, *CH*),

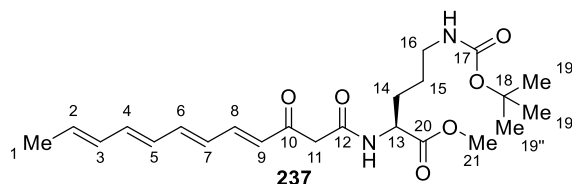
5.76 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H, CH), 5.36 (s, 0.5H, H^E-11), 3.70 (s, 1H, H^K-11), 1.82 (s, $J = 7.6$ Hz, 3H, H-1), 1.52 (s, 4.5H, H-14, H-14', H-14''), 1.47 (s, 4.5H, H-14, H-14', H-14'');

ESI-MS (+): m/z berechnet für C₁₆H₂₃O₂S [M+H]⁺ 279.1, gefunden: 279.3.

Synthese von Polyen-β-Ketoamid **237**



In einem Kolben mit einigen Kugeln 4 Å Molsieb wurden der Polyenthioester **213** (0.22 g, 0.80 mmol, 1.1 eq) und der Methylester **180** (0.18 g, 0.73 mmol, 1.0 Äq.) in trockenem THF (5 mL) gelöst und für 10 min gerührt, anschließend wurde Silber(I)trifluoacetat (0.18 g, 0.80 mmol, 1.1 eq) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 h bei RT gerührt und über Celite filtriert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen und die ausfallenden Silbersalze über Celite abfiltriert. Dieser Schritt wurde zwei bis drei Mal wiederholt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, DCM:MeOH 24:1) wurde das Produkt **214** als oranger Feststoff (0.186 mg, 0.43 mmol, 59%) erhalten.



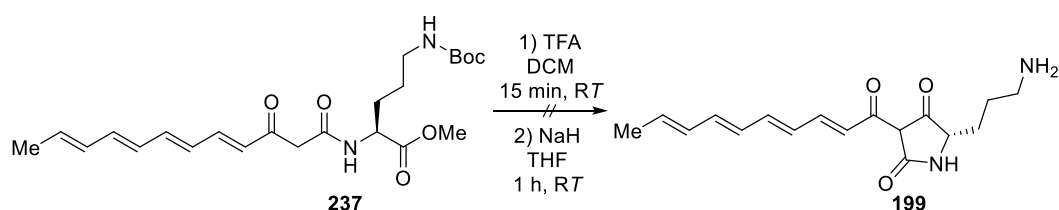
R_f = 0.23 (DCM:MeOH 96:4);

¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) (Keto/Enol 1:1) δ [ppm]: 13.52 (s, 0.5H,), 7.67 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J = 15.4, 11.3$ Hz, 1H), 6.68 (dd, $J = 14.8, 11.1$ Hz, 1H), 6.43 (dd, $J = 14.8, 10.6$ Hz, 1H), 6.36 – 6.09 (m, 4H), 5.96 – 5.85 (m, 1H), 4.67 – 4.55 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.57 (d, Keto, $J = 4.1$ Hz, 1H), 3.12 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 1.94 – 1.85 (m, 1H), 1.83 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.76 – 1.66 (m, 1H), 1.53 (m, 2H), 1.43 (s, 9H);

¹H-NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 195.0, 172.4, 166.1, 156.1, 145.6, 144.2, 139.3, 134.6, 131.7, 129.4, 129.2, 127.7, 100.1, 68.7, 52.6, 52.2, 46.8, 40.5, 29.7, 28.6, 26.2, 18.8;

ESI-MS (+): m/z berechnet für C₂₃H₃₄O₆N₂ [M+H]⁺ 435.3, gefunden: 434.8.

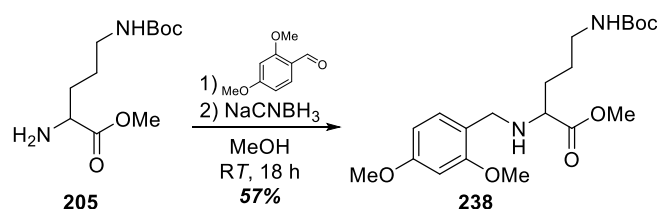
Synthese von Poylentetramsäure **199**



Polyen-β-ketoamid **237** (5 mg, 11.1 μmol, 1 eq) und TFA (0.5 mL) wurde in DCM (2 mL) gelöst und 15 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Gemisch mit 10% NaHCO₃ gequench und mit

Natronlauge auf pH 7.5 eingestellt. Die Lösung wurde mit DCM (3x) extrahiert, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Zwischenprodukt wurde unter vermindertem Druck für 1 h getrocknet, unter Argonatmosphäre gebracht und mit einer Suspension von NaH (0.7 mg, 17.5 μmol, 1.5 eq) in trockenem THF (0.5 mL) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei RT gerührt. Es konnte keine Bildung von **199** beobachtet werden.

Synthese von N_δ-Boc-N_α-DMB-L-Ornithinmethylester (**238**)



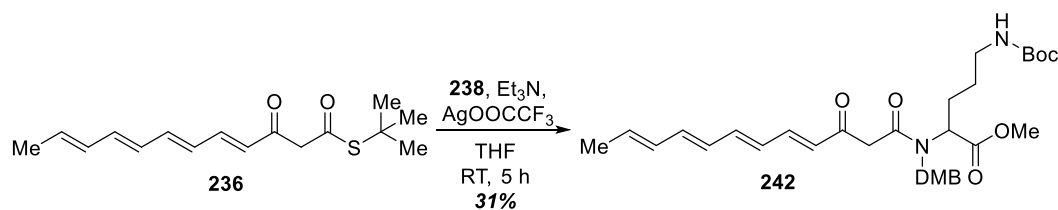
Zu einer Lösung des Ornithin-Derivats **205** (520 mg, 2,15 mmol, 1 eq) in MeOH (10 mL) wurde 2,4-Dimethoxybenzaldehyd (375 mg, 2,23 mg, 1,05 eq) zugegeben und 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde der Reaktion NaBH₃CN (185 mg, 2,95 mmol, 1,4 eq) zugegeben und das Gemisch 18 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, EtOAc/Pentan 1:1) wurde das Produkt **238** als farbloses Öl (487 mg, 1,23 mmol, 57%) erhalten.

R_f = 0.28 (EtOAc/Pentan 1:1);

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.14 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Aromat), 6.43 (s, 1H, Aromat), 6.41 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Aromat), 4.78 (s, 1H, NH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (s, 2H, NCH₂), 3.65 (s, 3H, OCH₃), 3.27 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, Orn-H^α), 3.12 – 3.07 (m, 2H, Orn-H^δ), 1.75 – 1.60 (m, 2H, Orn-H^β), 1.59 – 1.50 (m, 2H, Orn-H^γ), 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃);

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₂₀H₃₂N₂NaO₆P [M+Na]⁺ 419.2, gefunden: 419.5.

Synthese von Polyenaminosäuremethylester **242**

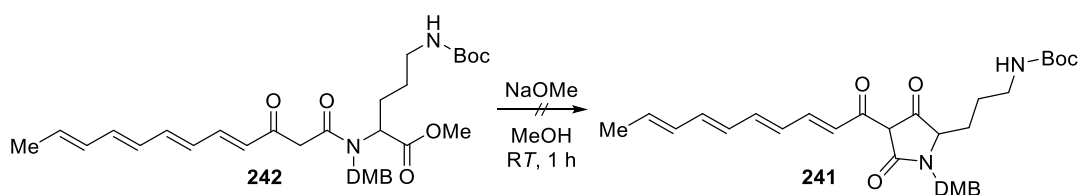


Zu einer Lösung aus Polyenthioester **236** (64 mg, 229 μmol, 1 eq), Aminosäuremethylester **238** (100 mg, 252 μmol, 1.1 eq) und Et₃N (100 μL, 687 μmol, 3 eq) in THF (3 mL) wurde Silber(I)trifluoracetat (62 mg, 282 μmol, 1.2 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 5 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach einer säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, EtOAc/Pentan 1:1) wurde das Produkt **242** als gelbliches Öl (41 mg, 70 μmol, 31%) erhalten.

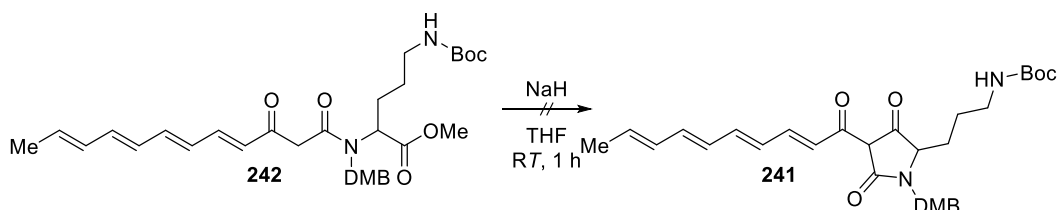
R_f = 0.62 (EtOAc/Pentan 1:1);

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₃₂H₄₄N₂NaO₈ [M+Na]⁺ 607.3, gefunden: 607.3.

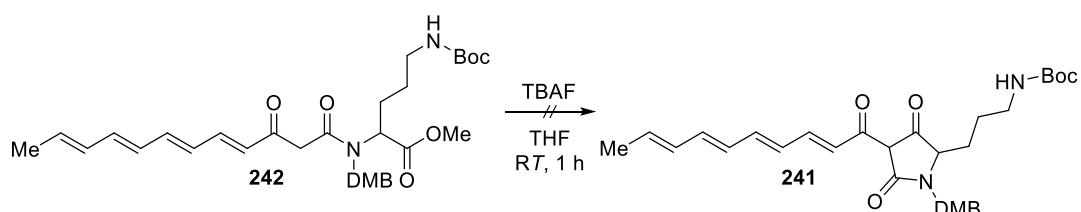
Synthese von Polyentetramsäure **241**



Zu einer Lösung aus Polyenmethylester **242** (5 mg, 8.55 μmol , 1 eq) in trockenem MeOH (1 mL) wurde NaOMe (1.6 mg, 29.6 μmol , 3 eq) zugegeben und 1 h bei RT gerührt. Nach einer massenspektrometrischen Untersuchung konnte keine Bildung von **241** beobachtet werden.

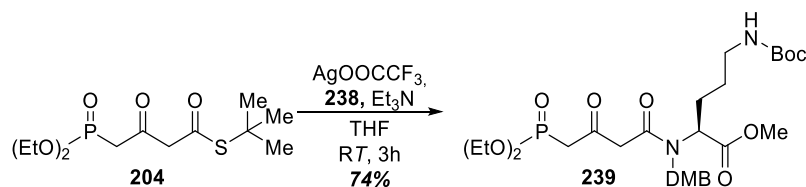


Zu einer Lösung aus Polyenmethylester **242** (5 mg, 8.55 μmol , 1 eq) in trockenem THF (1 mL) wurde NaH (1.0 mg, 25.0 μmol , 3 eq, 60% in Mineralöldispersion) zugegeben und 1 h bei RT gerührt. Nach einer massenspektrometrischen Untersuchung konnte keine Bildung von **241** beobachtet werden.



Zu einer Lösung aus Polyenmethylester **242** (5 mg, 8.55 μmol , 1 eq) in trockenem THF (1 mL) wurde TBAF (26 μL , 26.0 μmol , 3 eq, 0.1 M in THF) zugegeben und 1 h bei RT gerührt. Nach einer massenspektrometrischen Untersuchung konnte keine Bildung von **241** beobachtet werden.

Synthese von Phosphonat **239**



Zu einer Lösung aus Thioester **204** (2.00 g, 7.16 mmol, 1 eq), Aminosäuremethylester **238** (3.12 g, 7.87 mmol, 1.1 eq) und Et_3N (2.0 mL, 14.3 mmol, 2 eq) wurde Silber(I)trifluoroacetat (1.95 g, 8.81 mmol, 1.2 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch 3 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Suspension über Celith filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingedunstet. Nach einer

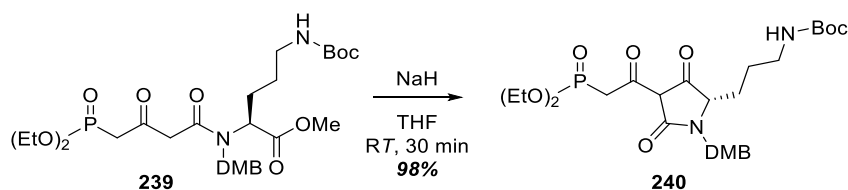
säulenchromatographischen Aufreinigung (SiO₂, DCM/MeOH 24:1) wurde das Produkt **239** als klares Öl (3.27 g, 5.30 mmol, 74%) erhalten.

R_f = 0.38 (DCM/MeOH 24:1);

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.10 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.44 (s, 2H), 4.45 – 4.31 (m, 2H), 4.22 – 4.03 (m, 5H), 3.92 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.30 (d, *J* = 22.5 Hz, 1.5H), 3.00 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.76 (d, *J* = 22.2 Hz, 0.5H), 2.03 – 1.94 (m, 1H), 1.83 – 1.66 (m, 1H), 1.42 (s, 9H), 1.39 – 1.27 (m, 8H);

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₂₈H₄₅N₂NaO₁₁P [M+Na]⁺ 639.3, gefunden: 639.1.

Synthese von Tetramsäurephosphonat **240**



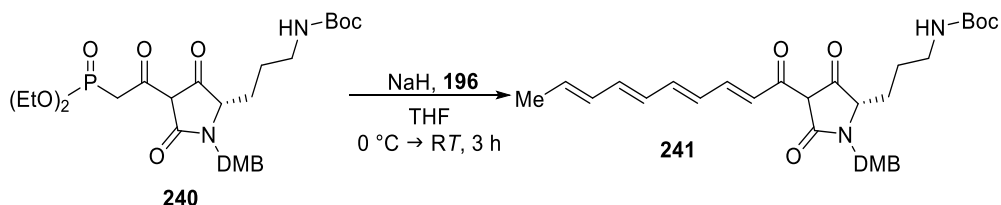
Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Phosphonat **239** (3.00 g, 4.87 mmol, 1 eq) in trockenem THF (15 mL) NaH (389 mg, 9.73 mmol, 2 eq, 60% in Mineralölldispersion) zugegeben und bei RT für 30 min gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Öl wurde in EtOAc aufgenommen und mit ges. NH₄Cl-Lsg. gewaschen. Die organische Phase wurde mit MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **240** wurde als gelbliches Öl (2.79 g, 4.77 mmol, 98%) erhalten.

¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 7.19 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.48 – 6.41 (m, 2H), 4.93 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H), 4.21 – 4.13 (m, 5H), 3.92 – 3.82 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.69 (s, 1H), 3.66 – 3.57 (m, 1H), 3.54 – 3.41 (m, 1H), 3.06 (td, *J* = 6.8, 2.9 Hz, 2H), 1.96 – 1.88 (m, 1H), 1.85 – 1.77 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 1.32 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H), 1.36 – 1.24 (m, 2H);

¹³C NMR (151 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm]: 194.5, 177.1, 161.2, 158.6, 156.4, 131.6, 116.0, 104.7, 98.7, 64.5, 63.3, 63.3, 55.6, 40.5, 38.0, 34.6, 32.4, 31.6, 28.5, 25.5, 23.7, 16.4, 16.4;

ESI-MS (+): *m/z* berechnet für C₂₇H₄₁N₂NaO₁₀P [M+Na]⁺ 607.2, gefunden: 607.0.

Synthese von Polyentetramsäure **241**

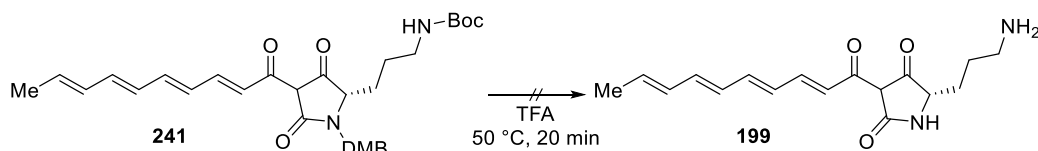


Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Phosphonat **240** (50 mg, 85.5 μmol, 1 eq) in trockenem THF (5 mL) bei 0 °C NaH (7 mg, 171 μmol, 2 eq) zugegeben und 10 min bei RT gerührt. Anschließend wurde zu der Reaktion eine Lösung aus *E*-Octatrienal (**196**, 22 mg, 188 μmol, 2.2 eq) in trockenem THF (1 mL) zugegeben und das Gemisch langsam auf RT erwärmt. Anschließend wurde das

Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **241** wurde im Kühlschrank gelagert und in den folgenden Testreaktionen ohne Aufreinigung verwendet.

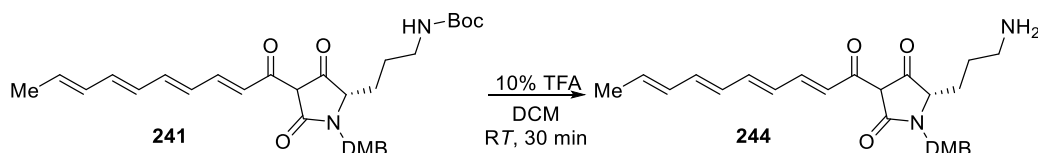
ESI-MS (+): m/z berechnet für $C_{31}H_{41}N_2O_7$ $[M+H]^+$ 552.8, gefunden: 553.3.

Synthese von Polyentetramsäure **199**



Zu einer Lösung aus Polyentetramsäure **241** (10 mg, 17,1 μmol , 1 eq) in trockenem THF (1 mL) wurde TFA (1 mL) zugeben und 10 min bei 70 °C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch massenspektrometrisch untersucht. Es konnten geringe Mengen an Produkt **199** detektiert werden, welche über einen Zeitraum von 2.5 h zerfielen.

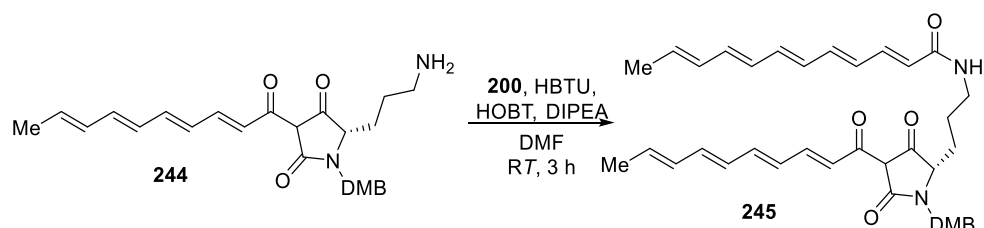
Synthese von Polyentetramsäure **244**



Zur Polyentetramsäure **241** (10 mg, 18.1 μmol , 1 eq) wurde 10 % TFA/DCM zugegeben und das Reaktionsgemisch 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel bei RT mit Druckluft abgeblasen. Das Produkt **244** wurde anschließend ohne weitere Aufarbeitung in den folgenden Testreaktionen verwendet.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $C_{26}H_{33}N_2O_5$ $[M+H]^+$ 453.2, gefunden: 452.9.

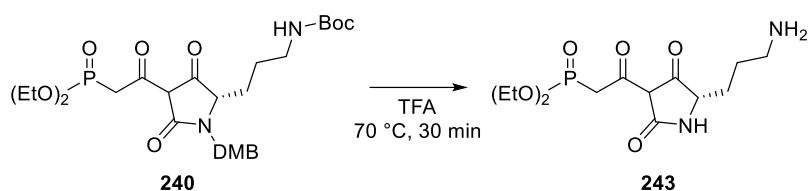
Synthese von Ikarugamycin-Intermediat-Derivat **245**



Zu einer Lösung aus Polyentetramsäure **244** (10 mg, 22.1 μmol , 1 eq) in DMF (1 mL) wurde HBTU (9 mg, 24.3 μmol , 1.1 eq) HOBT (3 mg, 24.3 μmol , 1.1 eq) und DIPEA (20 μL , 110 μmol , 5 eq) gegeben und geprüft, ob der pH-Wert basisch ist. Anschließend wurde die Polyensäure **200** (5 mg, 24.3 μmol , 1.1 eq) der Reaktion zugegeben und das Gemisch 15 min bei Dunkelheit und RT gerührt. Eine massenspektrometrische Untersuchung zeigte das Produkt **245** gebildet wurde, jedoch war dies nach einer weiteren Reaktionszeit von 2 h nicht mehr detektierbar. Ebenfalls konnte die Reaktion nicht reproduziert werden.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $C_{38}H_{45}N_2O_5$ $[M+H]^+$ 625.3, gefunden: 624.8.

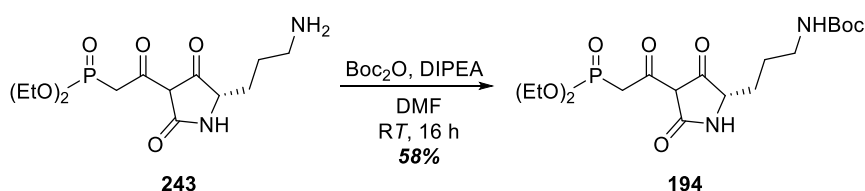
Synthese von Tetramsäurephosphonat **243**



Zum Phosphonat **240** (1.20 g, 2.05 mmol, 1 eq) wurde 50% TFA/DCM (20 mL) zugegeben und 30 min bei 70 °C gerührt, wobei sich kurz nach Reaktionsbeginn die Reaktion violett verfärbte. Anschließend wurde die Reaktion mit MeOH versetzt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **243** wurde als violettes und zähes Öl (0.624 g, 1.87 mmol, 91%) erhalten. Aufgrund der sehr schweren Löslichkeit des Produktes in den üblichen im Labor verwendeten Lösungsmitteln wurde auf die Aufreinigung und eine NMR-Analyse verzichtet.

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 335.1, gefunden: 335.0.

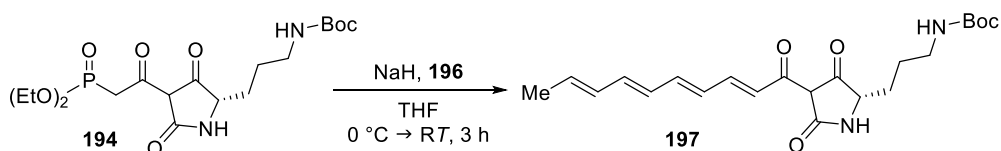
Synthese von Tetramsäurephosphonat **194**



Zu einer Suspension von Phosphonat **243** (200 mg, 0.60 mmol, 1 eq) und DIPEA (0.26 μL , 1.50 mmol, 2.5 eq) in DMF (5 mL) wurde Boc_2O (144 mg, 0.66 mmol, 1.1 eq) zugegeben und das Reaktionsgemisch 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt durch präp. HPLC (A=ACN+0.05% TFA, B= H_2O +0.05% TFA, 0-1 min 5% A, 1-35 min 5%-95% A, 35-37 min 95% A, 37-38 min 95-5% A, 38-40 min 5% A, Säule: Eurosphere II, 250x16 mm, Flussrate: 12 mL/min) aufgereinigt. Das Produkt **194** wurde als klares Öl (151 mg, 348 μmol , 58%)

ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{NaO}_8\text{P}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 457.2, gefunden: 457.0.

Synthese von Polyentetramsäure **197**

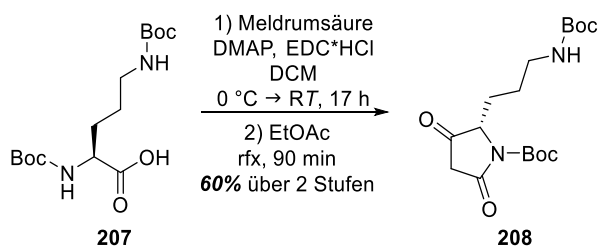


Zu einer Lösung aus Phosphonat **194** (5 mg, 11.5 μmol , 1 eq) in trockenem THF (1 mL) wurde NaH (1.5 mg, 37.5 μmol , 3 eq) zugegeben und die Reaktion 15 min bei RT gerührt. Anschließend wurde aus Octatrienal (**196**, 2.1 mg, 17.3 μmol , 1.5 eq) in trockenem THF (0.5 mL) langsam bei RT zugetropft und die Reaktion für 16 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt bei -20 °C gelagert. Durch eine massenspektrometrische Untersuchung der Reaktionslösung nach 16 h Reaktionszeit konnte eine Bildung von **197** beobachtet werden. Jedoch war diese nicht ausreichend für weitere präparative Arbeiten.

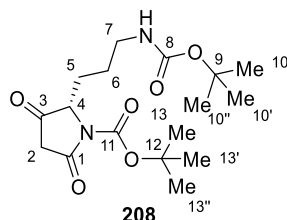
ESI-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{NaO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 425.2, gefunden: 425.3.

Synthesen zur Darstellung des IkaA Indermediats **64** mittels Wittig-Reaktion

Synthese von Tetramsäure **208**



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Meldrumsäure (238 mg, 1.65 mmol, 1.65 eq) und DMAP (276 mg, 2.26 mmol, 1.5 eq) in trockenem DCM (15 mL) Aminosäure **107** (500 mg, 1.5 mmol, 1 eq) und EDC·HCl (665 mg, 3.61 mmol, 2.4 eq) bei 0 °C zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 10 min bei 0 °C gerührt dann langsam auf RT erwärmt und weitere 17 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (60 mL) versetzt, mit 5% KHSO₄-Lsg. (3x30mL) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **208** wurde als klares Öl (323 mg, 907 μmol, 60%) erhalten.

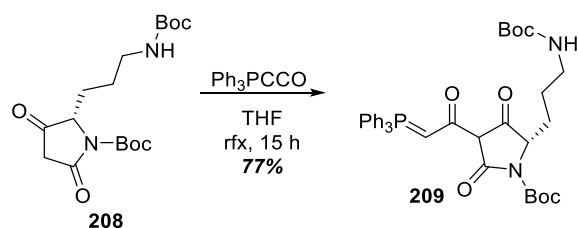


¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm]: 6.80 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H, NH), 4.58 (s, 0.3H, H-4), 4.20 (s, 0.35H, H-4), 4.11 (s, 0.35H, H-4), 2.93 – 2.79 (m, 2H, H-7), 1.95 – 1.65 (m, 2H, H-5), 1.44 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.35 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.29 – 1.13 (m, 2H, H-6);

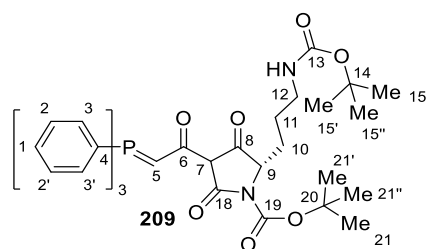
¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm]: 223.1, 169.6, 155.5, 77.3, 28.3, 27.8, 27.6, 26.5, 22.9;

HR-MS (+): *m/z* berechnet für C₁₇H₂₈N₂NaO₆ [M+Na]⁺ 379.1840, gefunden: 379.1859.

Synthese von Phosphorylid **209**



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Tetramsäure **208** (539 mg, 1.51 mmol, 1 eq) in trockenem THF (90 mL) (Triphenylphosphoranyliden)keten (458 mg, 1.51 mmol, 1 eq) in trockenem THF (30 mL) zugegeben und unter Rückfluss für 15 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt durch MPLC (A= ACN, B= H₂O; 0-1.1 min 5% A, 1.1-20.1 min 5%-95% A, 20.1-23.0 min 95% A; Säule: Reveleris C18 12 g, Flussrate: 30 mL/min) gereinigt. Das Produkt **209** wurde als weißer Feststoff (769 mg, 1.17 mmol, 77%) erhalten.

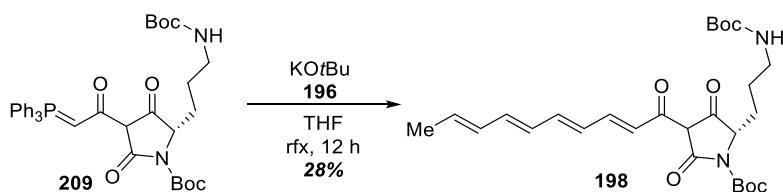


^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm]: 7.89 – 7.48 (m, 15H, 3x(H-1, H-2, H-2', H-3, H-3')), 6.80 (q, $J = 6.1$ Hz, 1H, NH), 5.59 – 5.17 (m, 1H, H-5), 4.02 (s, 0.35H, H-9), 3.71 (s, 0.65H, H-9), 2.82 (m, 2H, H-12), 1.81 – 1.62 (m, 2H, H-10), 1.44 (s, 3.5H, H-21, H-21', H-21''), 1.42 (s, 5.5H, H-21, H-21', H-21''), 1.35 (s, 9H, H-15, H-15', H-15''), 1.26 – 0.99 (m, 2H, H-11);

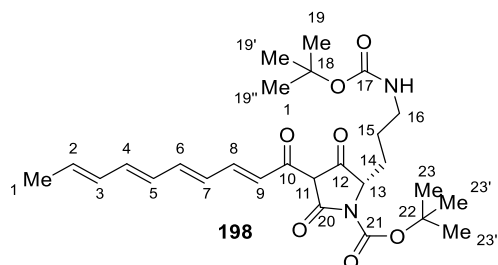
^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm]: 179.2, 155.5, 149.5, 134.2, 134.2, 133.7, 133.6, 133.6, 133.5, 133.1, 132.8, 132.8, 132.4, 132.0, 132.0, 131.5, 131.4, 129.8, 129.7, 128.8, 128.7, 123.7, 123.1, 120.5, 119.9, 101.6, 79.8, 77.3, 60.9, 28.3, 27.9, 27.8, 27.5, 23.6;

HR-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{37}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{NaO}_7\text{P}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 681.2700, gefunden: 681.2731.

Synthese von Polyentetramsäure **198**



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Tetramsäure **209** (760 mg, 1.15 mmol, 1 eq) in trockenem THF (45 mL) KOtBu (129 mg, 1.15 mmol, 1 eq) gegeben und die Reaktionslösung unter Rückfluss für 20 min gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus *E*-Octatrienal (**196**, 176 mg, 1.44 mmol, 1.25 eq) in trockenem THF (14 mL) zur Reaktionslösung hinzugetropft und das Gemisch weitere 12 h unter Rückfluss gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt durch MPLC (A=ACN, B= H_2O ; 0-1.1 min 5% A, 1.1-6.0 min 5-45% A, 6.0-16 min 45-95% A, 16.0-23.0 min 95% A; Säule: Reveleris C18 12 g, Flussrate: 30 mL/min) gereinigt. Das Produkt **198** wurde als roter Feststoff (219 mg, 436 μmol , 28%) erhalten.

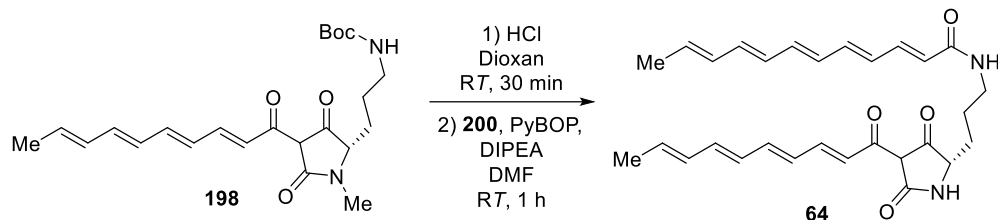


^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm]: 7.66 (dd, $J = 15.1, 11.6$ Hz, 1H, CH), 7.18 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H, CH), 7.02 (dd, $J = 14.6, 11.2$ Hz, 1H, CH), 6.96 – 6.85 (m, 1H, CH), 6.80 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H, NH), 6.68 – 6.58 (m, 2H, CH), 6.46 – 6.36 (m, 1H, CH), 6.28 – 6.21 (m, 1H, CH), 6.05 – 5.97 (m, 1H, CH), 4.30 (s, 1H, 13), 2.91 – 2.78 (m, 2H, H-16), 1.95 – 1.87 (m, 1H, H-14), 1.81 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-1), 1.85 – 1.76 (m, 1H, H-14), 1.48 (s, 9H, Boc), 1.35 (s, 9H, Boc), 1.33 – 1.28 (m, 1H, H-15), 1.17 – 1.10 (m, 1H, H-15);

^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm]: 175.1, 174.1, 155.5, 151.5, 148.5, 147.2, 146.2, 140.9, 140.4, 139.2, 137.7, 135.5, 135.3, 131.9, 131.8, 130.4, 130.0, 130.0, 129.9, 128.0, 124.9, 119.1, 82.4, 77.4, 40.1, 34.4, 30.4, 28.2, 27.7, 27.2, 23.7, 21.0, 18.5, 13.8, 1.1;

HR-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{NaO}_7$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 525.2571, gefunden: 525.2596.

Ikarugamycin-Intermediat **64**



Polyentetramsäure **198** (10 mg, 20.9 μmol , 1 eq) wurde in 4 M HCl in Dioxan (1 mL) gelöst und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde massenspektrometrisch untersucht (HR-MS (+): berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 303.1703, gefunden m/z : 303.1735) und dunkel gelagert. In der Zwischenzeit wurde Pentensäure **200** (4 mg, 20.9 μmol , 1 eq), PyBOP (11 mg, 20 μmol , 1 eq) und DIPEA (9 μL , 52.3 μmol , 2.5 eq) in DMSO (1 mL) vermischt und gerührt bis sich der Niederschlag aufgelöst hat. Die klare Lösung wurde dem gelagerten Rückstand zugegeben und 1 h unter Ausschluss von Licht bei RT gerührt. Die Bildung von **64** konnte anhand von massenspektrometrischen und UV-VIS-spektroskopischen Untersuchungen bestätigt werden. Eine Isolierung des Produkts als Reinsubstanz schlug fehl.

HR-MS (+): m/z berechnet für $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 475.2591, gefunden: 475.2585.

Literaturverzeichnis

- [1] G. M. Cragg, D. J. Newman, *Pure and Applied Chemistry* **2005**, *77*, 7–24.
- [2] A. G. Atanasov, S. B. Zotchev, V. M. Dirsch, I. E. Orhan, M. Banach, J. M. Rollinger, D. Barreca, W. Weckwerth, R. Bauer, E. A. Bayer, M. Majeed, A. Bishayee, V. Bochkov, G. K. Bonn, N. Braidy, F. Bucar, A. Cifuentes, G. D’Onofrio, M. Bodkin, M. Diederich, A. T. Dinkova-Kostova, T. Efferth, K. El Bairi, N. Arkells, T.-P. Fan, B. L. Fiebich, M. Freissmuth, M. I. Georgiev, S. Gibbons, K. M. Godfrey, C. W. Gruber, J. Heer, L. A. Huber, E. Ibanez, A. Kijjoo, A. K. Kiss, A. Lu, F. A. Macias, M. J. S. Miller, A. Mocan, R. Müller, F. Nicoletti, G. Perry, V. Pittalà, L. Rastrelli, M. Ristow, G. L. Russo, A. S. Silva, D. Schuster, H. Sheridan, K. Skalicka-Woźniak, L. Skaltsounis, E. Sobarzo-Sánchez, D. S. Bredt, H. Stuppner, A. Sureda, N. T. Tzvetkov, R. A. Vacca, B. B. Aggarwal, M. Battino, F. Giampieri, M. Wink, J.-L. Wolfender, J. Xiao, A. W. K. Yeung, G. Lizard, M. A. Popp, M. Heinrich, I. Berindan-Neagoe, M. Stadler, M. Daglia, R. Verpoorte, C. T. Supuran, the I. N. P. S. Taskforce, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2021**, *20*, 200–216.
- [3] D. J. Newman, G. M. Cragg, *J. Nat Prod* **2020**, *83*, 770–803.
- [4] G. M. Cragg, S. A. Schepartz, M. Suffness, M. R. Grever, *J Nat Prod* **1993**, *56*, 1657–1668.
- [5] C. Harrison, *Nat Biotechnol* **2014**, *32*, 403–404.
- [6] J. Vederas, W.-H. Li Jesse, *Science (1979)* **2009**, *325*, 161–165.
- [7] M. S. Butler, *J Nat Prod* **2004**, *67*, 2141–2153.
- [8] M. Feher, J. M. Schmidt, *J Chem Inf Comput Sci* **2003**, *43*, 218–227.
- [9] W. R. J. D. Galloway, A. Isidro-Llobet, D. R. Spring, *Nat Commun* **2010**, *1*, 80.
- [10] E. C. Barnes, R. Kumar, R. A. Davis, *Nat. Prod. Rep.* **2016**, *33*, 372–381.
- [11] Q. Su, A. B. Beeler, E. Lobkovsky, Porco John A., J. S. Panek, *Org Lett* **2003**, *5*, 2149–2152.
- [12] C. Bruns, I. Lewis, U. Briner, G. Meno-Tetang, G. Weckbecker, *Eur J Endocrinol* **2002**, *146*, 707–716.
- [13] H. Ueda, H. Nakajima, Y. Hori, T. Fujita, M. Nishimura, T. Goto, M. Okuhara, *J Antibiot (Tokyo)* **1994**, *47*, 301–310.
- [14] S. Naicker, R. W. Yatscoff, R. T. Foster, *Deuterated Cyclosporine Analogs and Their Use as Immunomodulating Agents*, **1998**, US6605593B1.
- [15] Y. Hisanaga, H. Ago, N. Nakagawa, K. Hamada, K. Ida, M. Yamamoto, T. Hori, Y. Arii, M. Sugahara, S. Kuramitsu, S. Yokoyama, M. Miyano, *Journal of Biological Chemistry* **2004**, *279*, 31717–31726.
- [16] R. Dieckmann, Y.-O. Lee, H. van Liempt, H. von Döhren, H. Kleinkauf, *FEBS Lett* **1995**, *357*, 212–216.
- [17] E. Conti, T. Stachelhaus, M. A. Marahiel, P. Brick, *EMBO J* **1997**, *16*, 4174–4183.
- [18] A. M. Gulick, *ACS Chem Biol* **2009**, *4*, 811–827.
- [19] T. Stachelhaus, H. D. Mootz, M. A. Marahiel, *Chem Biol* **1999**, *6*, 493–505.
- [20] D. Baranašić, J. Zucko, J. Diminic, R. Gacesa, P. F. Long, J. Cullum, D. Hranueli, A. Starcevic, *J Ind Microbiol Biotechnol* **2014**, *41*, 461–467.

- [21] H. Kries, R. Wachtel, A. Pabst, B. Wanner, D. Niquille, D. Hilvert, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 10105–10108.
- [22] K. Eppelmann, T. Stachelhaus, M. A. Marahiel, *Biochemistry* **2002**, *41*, 9718–9726.
- [23] R. H. Lambalot, A. M. Gehring, R. S. Flugel, P. Zuber, M. LaCelle, M. A. Marahiel, R. Reid, C. Khosla, C. T. Walsh, *Chem Biol* **1996**, *3*, 923–936.
- [24] L. E. N. Quadri, P. H. Weinreb, M. Lei, M. M. Nakano, P. Zuber, C. T. Walsh, *Biochemistry* **1998**, *37*, 1585–1595.
- [25] T. Weber, M. A. Marahiel, *Structure* **2001**, *9*, R3–R9.
- [26] T. A. Keating, C. G. Marshall, C. T. Walsh, A. E. Keating, *Nat Struct Biol* **2002**, *9*, 522–526.
- [27] K. Bloudoff, D. Rodionov, T. M. Schmeing, *J Mol Biol* **2013**, *425*, 3137–3150.
- [28] S. D. Bruner, T. Weber, R. M. Kohli, D. Schwarzer, M. A. Marahiel, C. T. Walsh, M. T. Stubbs, *Structure* **2002**, *10*, 301–310.
- [29] J. W. Trauger, R. M. Kohli, C. T. Walsh, *Biochemistry* **2001**, *40*, 7092–7098.
- [30] R. M. Kohli, J. W. Trauger, D. Schwarzer, M. A. Marahiel, C. T. Walsh, *Biochemistry* **2001**, *40*, 7099–7108.
- [31] J. W. Trauger, R. M. Kohli, H. D. Mootz, M. A. Marahiel, C. T. Walsh, *Nature* **2000**, *407*, 215–218.
- [32] C. C. Tseng, S. D. Bruner, R. M. Kohli, M. A. Marahiel, C. T. Walsh, S. A. Sieber, *Biochemistry* **2002**, *41*, 13350–13359.
- [33] S. Mori, A. H. Pang, T. A. Lundy, A. Garzan, O. V Tsodikov, S. Garneau-Tsodikova, *Nat Chem Biol* **2018**, *14*, 428–430.
- [34] A. Haese, R. Pieper, T. von Ostrowski, R. Zocher, *J Mol Biol* **1994**, *243*, 116–122.
- [35] O. E. Zolova, S. Garneau-Tsodikova, *J Antibiot (Tokyo)* **2014**, *67*, 59–64.
- [36] S. Mori, A. Garzan, O. V Tsodikov, S. Garneau-Tsodikova, *Biochemistry* **2017**, *56*, 6087–6097.
- [37] G. Weber, K. Schörgendorfer, E. Schneider-Scherzer, E. Leitner, *Curr Genet* **1994**, *26*, 120–125.
- [38] S. A. Samel, P. Czodrowski, L.-O. Essen, *Acta Crystallographica Section D* **2014**, *70*, 1442–1452.
- [39] D. Schwarzer, R. Finking, M. A. Marahiel, *Nat Prod Rep* **2003**, *20*, 275–287.
- [40] W. O. Godtfredsen, S. Vangedal, D. W. Thomas, *Tetrahedron* **1970**, *26*, 4931–4946.
- [41] Z. Qian, J. Antosch, J. Wiese, J. F. Imhoff, H.-P. Fiedler, A. Pöthig, T. A. M. Gulder, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 6595–6600.
- [42] J. Antosch, Untersuchungen Zur Biosynthese Und Produktion Bioaktiver Polycyclischer Makrolactam-Naturstoffe, Technische Universität München, **2016**.
- [43] Z. Qian, Unlocking the Biosynthetic Potential of Streptomyces Sp. Tü6314, Technische Universität München, **2019**.
- [44] A. Perry, P. Lambert, *Expert Rev Anti Infect Ther* **2011**, *9*, 1149–1156.

- [45] H. C. Williams, R. P. Dellavalle, S. Garner, *The Lancet* **2012**, *379*, 361–372.
- [46] R. Popescu, E. H. Heiss, F. Ferk, A. Peschel, S. Knasmueller, V. M. Dirsch, G. Krupitza, B. Kopp, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **2011**, *709–710*, 60–66.
- [47] M. BERTASSO, M. HOLZENKÄMPFER, A. ZEECK, E. STACKEBRANDT, W. BEIL, H.-P. FIEDLER, *J Antibiot (Tokyo)* **2003**, *56*, 364–371.
- [48] L. Xu, P. Wu, S. J. Wright, L. Du, X. Wei, *J Nat Prod* **2015**, *78*, 1841–1847.
- [49] H.-L. Yu, S.-H. Jiang, X.-L. Bu, J.-H. Wang, J.-Y. Weng, X.-M. Yang, K.-Y. He, Z.-G. Zhang, P. Ao, J. Xu, M.-J. Xu, *Sci Rep* **2017**, *7*, 40689.
- [50] H. Shigemori, M. A. Bae, K. Yazawa, T. Sasaki, J. Kobayashi, *J Org Chem* **1992**, *57*, 4317–4320.
- [51] S. Saha, W. Zhang, G. Zhang, Y. Zhu, Y. Chen, W. Liu, C. Yuan, Q. Zhang, H. Zhang, L. Zhang, W. Zhang, C. Zhang, *Chem Sci* **2017**, *8*, 1607–1612.
- [52] Y. Ding, Z. Li, Y. Li, C. Lu, H. Wang, Y. Shen, L. Du, *RSC Adv* **2016**, *6*, 30895–30904.
- [53] Y. Ding, Y. Li, Z. Li, J. Zhang, C. Lu, H. Wang, Y. Shen, L. Du, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **2016**, *1860*, 2097–2106.
- [54] Y. Li, J. Huffman, Y. Li, L. Du, Y. Shen, *Medchemcomm* **2012**, *3*, 982–986.
- [55] Y. Ding, Y. Li, Z. Li, J. Zhang, C. Lu, H. Wang, Y. Shen, L. Du, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **2016**, *1860*, 2097–2106.
- [56] R. Lacret, D. Oves-Costales, C. Gómez, C. Díaz, M. la Cruz, I. Pérez-Victoria, F. Vicente, O. Genilloud, F. Reyes, *Mar Drugs* **2015**, *13*, 128–140.
- [57] S. AIZAWA, H. AKUTSU, T. SATOMI, T. NAGATSU, R. TAGUCHI, A. SEINO, *J Antibiot (Tokyo)* **1979**, *32*, 193–196.
- [58] N. Takato, H. Yoshihisa, H. Yasuyuki, M. Junya, T. Satoshi, *Appl Environ Microbiol* **1999**, *65*, 4334–4339.
- [59] M. JAKOBI, G. WINKELMANN, D. KAISER, C. KEMPTER, G. JUNG, G. BERG, H. BAHL, *J Antibiot (Tokyo)* **1996**, *49*, 1101–1104.
- [60] S. Li, C. C. Jochum, F. Yu, K. Zaleta-Rivera, L. Du, S. D. Harris, G. Y. Yuen, *Phytopathology* **2008**, *98*, 695–701.
- [61] F. Brescia, A. Vlassi, A. Bejarano, B. Seidl, M. Marchetti-Deschmann, R. Schuhmacher, G. Puopolo, *Microorganisms* **2021**, *9*, DOI 10.3390/microorganisms9061320.
- [62] K. Kyeremeh, K. S. Acquah, A. Sazak, W. Houssen, J. Tabudravu, H. Deng, M. Jaspars, *Mar Drugs* **2014**, *12*, 999–1012.
- [63] K. JOMON, Y. KURODA, M. AJISAKA, H. SAKAI, *J Antibiot (Tokyo)* **1972**, *25*, 271–280.
- [64] K. HASUMI, C. SHINOHARA, S. NAGANUMA, A. ENDO, *Eur J Biochem* **1992**, *205*, 841–846.
- [65] S. R. Elkin, N. W. Oswald, D. K. Reed, M. Mettlen, J. B. MacMillan, S. L. Schmid, *Traffic* **2016**, *17*, 1139–1149.

- [66] E. Onelli, C. Prescianotto-Baschong, M. Caccianiga, A. Moscatelli, *J Exp Bot* **2008**, *59*, 3051–3068.
- [67] V. Bandmann, J. D. Müller, T. Köhler, U. Homann, *FEBS Lett* **2012**, *586*, 3626–3632.
- [68] K. Daub, D. Siegel-Axel, T. Schönberger, C. Leder, P. Seizer, K. Müller, M. Schaller, S. Penz, D. Menzel, B. Büchele, A. Bültmann, G. Münch, S. Lindemann, T. Simmet, M. Gawaz, *J Mol Med* **2010**, *88*, 909–920.
- [69] L. Tianci, F. B. L, H. Keiji, E. Akira, G. J. Victor, *J Virol* **2001**, *75*, 2488–2492.
- [70] J. Staunton, B. Wilkinson, *Chem Rev* **1997**, *97*, 2611–2630.
- [71] L. B. Folman, Biological Control of Pythium Aphanidermatum in Soilless Systems., PhD thesis, Leiden University, **2003**.
- [72] F. Yu, K. Zaleta-Rivera, X. Zhu, J. Huffman, J. C. Millet, S. D. Harris, G. Yuen, X.-C. Li, L. Du, *Antimicrob Agents Chemother* **2007**, *51*, 64–72.
- [73] C. Bihlmaier, E. Welle, C. Hofmann, K. Welzel, A. Vente, E. Breitling, M. Müller, S. Glaser, A. Bechthold, *Antimicrob Agents Chemother* **2006**, *50*, 2113–2121.
- [74] J. A. V Blodgett, D.-C. Oh, S. Cao, C. R. Currie, R. Kolter, J. Clardy, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2010**, *107*, 11692–11697.
- [75] L. Lou, G. Qian, Y. Xie, J. Hang, H. Chen, K. Zaleta-Rivera, Y. Li, Y. Shen, P. H. Dussault, F. Liu, L. Du, *J Am Chem Soc* **2011**, *133*, 643–645.
- [76] J. Antosch, F. Schaefers, T. A. M. Gulder, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 3011–3014.
- [77] G. Zhang, W. Zhang, Q. Zhang, T. Shi, L. Ma, Y. Zhu, S. Li, H. Zhang, Y.-L. Zhao, R. Shi, C. Zhang, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 4840–4844.
- [78] C. Greunke, A. Glöckle, J. Antosch, T. A. M. Gulder, *Angewandte Chemie International Edition* **2017**, *56*, 4351–4355.
- [79] Y. Li, H. Chen, Y. Ding, Y. Xie, H. Wang, R. L. Cerny, Y. Shen, L. Du, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 7524–7530.
- [80] Y. Li, H. Wang, Y. Liu, Y. Jiao, S. Li, Y. Shen, L. Du, *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, *57*, 6221–6225.
- [81] X. Li, H. Wang, Y. Shen, Y. Li, L. Du, *Biochemistry* **2019**, *58*, 5245–5248.
- [82] M. Malay, Totalsynthese von Cycloheptamycin , Technische Universität München, **2016**.
- [83] S. A. Sieber, J. Tao, C. T. Walsh, M. A. Marahiel, *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, *43*, 493–498.
- [84] J. M. Andrés, N. de Elena, R. Pedrosa, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 1523–1531.
- [85] M. A. Blaskovich, G. A. Lajoie, *J Am Chem Soc* **1993**, *115*, 5021–5030.
- [86] M. A. Blaskovich, G. Evindar, N. G. W. Rose, S. Wilkinson, Y. Luo, G. A. Lajoie, *J Org Chem* **1998**, *63*, 3631–3646.
- [87] H. Shao, M. Goodman, *J Org Chem* **1996**, *61*, 2582–2583.

- [88] T. Fukuyama, C.-K. Jow, M. Cheung, *Tetrahedron Lett* **1995**, *36*, 6373–6374.
- [89] K. N. White, J. P. Konopelski, *Org Lett* **2005**, *7*, 4111–4112.
- [90] J. R. McDermott, N. L. Benoiton, *Can J Chem* **1973**, *51*, 2555–2561.
- [91] M. Marek, Chemo-Enzymatische Synthese von Cycloheptamycin, Technische Universität Dresden, **2020**.
- [92] J. W. Trauger, R. M. Kohli, C. T. Walsh, *Biochemistry* **2001**, *40*, 7092–7098.
- [93] V. J. Lee, A. R. Branfman, T. R. Herrin, K. L. Rinehart, *J Am Chem Soc* **1978**, *100*, 4225–4236.
- [94] K. Hori, M. Arai, K. Nomura, E. Yoshii, *Chem Pharm Bull (Tokyo)* **1987**, *35*, 4368–4371.
- [95] R. C. F. Jones, A. D. Bates, *Tetrahedron Lett* **1987**, *28*, 1565–1567.
- [96] R. K. Boeckman, A. J. Thomas, *J Org Chem* **1982**, *47*, 2823–2824.
- [97] B. Barnickel, F. Bayliffe, R. Diestel, K. Kempf, S. Laschat, S. Pachali, F. Sasse, A. Schlenk, R. Schobert, *Chem Biodivers* **2010**, *7*, 2830–2845.
- [98] A. Schlenk, R. Diestel, F. Sasse, R. Schobert, *Chemistry – A European Journal* **2010**, *16*, 2599–2604.
- [99] A. R. Healy, F. Vinale, M. Lorito, N. J. Westwood, *Org Lett* **2015**, *17*, 692–695.
- [100] T. Stimpel, Untersuchungen Zur Chemoenzymatischen Synthese Des Ikarugamycins, Technische Universität München, **2017**.
- [101] S. V Ley, P. R. Woodward, *Tetrahedron Lett* **1987**, *28*, 345–346.
- [102] M. Storgaard, F. Z. Dörwald, B. Peschke, D. Tanner, *J Org Chem* **2009**, *74*, 5032–5040.
- [103] F. G. Fischer, K. Hultsch, W. Flaig, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)* **1937**, *70*, 370–375.
- [104] E. Pini, V. Bertacche, F. Molinari, D. Romano, R. Gandolfi, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8638–8641.
- [105] H. Yu, S. Ru, G. Dai, Y. Zhai, H. Lin, S. Han, Y. Wei, *Angewandte Chemie International Edition* **2017**, *56*, 3867–3871.
- [106] A. A. Souto, A. U. Acuña, F. Amat-Guerri, *Tetrahedron Lett* **1994**, *35*, 5907–5910.
- [107] J. Wunderlich, T. Roß, M. Schröder, F. Hahn, *Org Lett* **2020**, *22*, 4955–4959.
- [108] U. S. Dakarapu, A. Bokka, P. Asgari, G. Trog, Y. Hua, H. H. Nguyen, N. Rahman, J. Jeon, *Org Lett* **2015**, *17*, 5792–5795.
- [109] S. V Ley, S. C. Smith, P. R. Woodward, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 1145–1174.
- [110] N. Riache, C. Bailly, A. Deville, L. Dubost, B. Nay, *European J Org Chem* **2010**, *2010*, 5402–5408.
- [111] S. V Pronin, A. Martinez, K. Kuznedelov, K. Severinov, H. A. Shuman, S. A. Kozmin, *J Am Chem Soc* **2011**, *133*, 12172–12184.
- [112] O. Hartmann, M. Kalesse, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 7335–7338.
- [113] S. V Ley, S. C. Smith, P. R. Woodward, *Tetrahedron Lett* **1988**, *29*, 5829–5832.

- [114] R. H. Schlessinger, G. R. Bebernitz, *J Org Chem* **1985**, *50*, 1344–1346.
- [115] N. Riache, C. Bailly, A. Deville, L. Dubost, B. Nay, *European J Org Chem* **2010**, *2010*, 5402–5408.
- [116] H. Yoshimura, K. Takahashi, J. Ishihara, S. Hatakeyama, *Chemical Communications* **2015**, *51*, 17004–17007.
- [117] G. Zhang, W. Zhang, Q. Zhang, T. Shi, L. Ma, Y. Zhu, S. Li, H. Zhang, Y.-L. Zhao, R. Shi, C. Zhang, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 4840–4844.
- [118] P. S. Fier, K. M. Maloney, *Org Lett* **2017**, *19*, 3033–3036.
- [119] A. J. Borah, P. Goswami, N. C. Barua, P. Phukan, *Tetrahedron Lett* **2012**, *53*, 7128–7130.
- [120] D.-N. Liu, S.-K. Tian, *Chemistry – A European Journal* **2009**, *15*, 4538–4542.
- [121] U. Schmidt, M. Kroner, H. Griesser, *Synthesis (Stuttg)* **1989**, *1989*, 832–835.
- [122] M. L. Di Gioia, A. Leggio, A. Le Pera, A. Liguori, A. Napoli, C. Siciliano, G. Sindona, *J Org Chem* **2003**, *68*, 7416–7421.
- [123] M. Reinfelds, K. Kalinins, D. Katkevica, R. Zemribo, M. Katkevics, *Tetrahedron Lett* **2015**, *56*, 5882–5885.
- [124] Y. Liu, X. Zhao, H. Wang, H. Liu, Z. Sui, B. Yan, Y. Du, *J Org Chem* **2021**, *86*, 1065–1073.
- [125] C. Meneses, S. L. Nicoll, L. Trembleau, *J Org Chem* **2010**, *75*, 564–569.
- [126] H. Sun, R. Kong, D. Zhu, M. Lu, Q. Ji, C. W. Liew, J. Lescar, G. Zhong, Z.-X. Liang, *Chemical Communications* **2009**, 7399.
- [127] M. Tian, Z. Tian, D. Yao, J. Ning, S. Deng, L. Feng, X. Huo, X. Tian, B. Zhang, C. Wang, Z. Yu, X. Ma, *J. Mater. Chem. B* **2021**, *9*, 6460–6465.
- [128] J. Shi, Y. Shi, J. C. Li, W. Wei, Y. Chen, P. Cheng, C. L. Liu, H. Zhang, R. Wu, B. Zhang, R. H. Jiao, S. Yu, Y. Liang, R. X. Tan, H. M. Ge, *J Am Chem Soc* **2022**, *144*, 7939–7948.
- [129] A. R. Healy, M. Izumikawa, A. M. Z. Slawin, K. Shin-ya, N. J. Westwood, *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54*, 4046–4050.
- [130] M. Petermichl, R. Schobert, *Chemistry – A European Journal* **2017**, *23*, 14743–14746.

Abkürzungsverzeichnis

ACN	Acetonitril
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
ACP	Acetylträgerprotein (acetyl carrier protein)
A	Adenosierung
AT	Acyltransferase
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BnBr	Benzylbromid
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
C	Kondensations (condensation)
Cbz	Benzyloxycarbonyl
(CH ₂ O) _n	Paraformaldehyd
CoA	Coenzym A
coe	<i>cis</i> -Cycloocten
COSY	engl. correlation spectroscopy
Cy	Cyclisierungs
δ	chemische Verschiebung
d	Doublett
Da	Dalton
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCC	N, N'-Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
DH	Dehydratase
DIAD	Azodicarbonsäurediisopropylester
DIC	Diisopropylcarbodiimid
Dipea	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
DMB	2,4-Dimethoxybenzyl
DMF	Dimethylformamid
DMS	Dimethylsulfat
DMSO	Dimethylsulfoxid
E	Epimerisierungs
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
ER	Enoylreduktase
ESI	Elektronensprayionisation
Et	Ethyl
<i>et al.</i>	„et alii“ (und andere)
Et ₂ O	Diethylether
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
F	Formylierungs
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
g	Gramm
h	Stunde
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorphosphat
HBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HMBC	engl. heteronuclear multiple bond correlation
HNV	Hydroxynorvalin
HOAT	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
HOBT	Hydroxybenzotriazol

HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (high pressure liquid chromatography)
HRMS	hochauflösende Massenspektrometrie
HSAF	hitzebeständiger Anti-Pilz-Faktor (heat stable anti-fungal factor) oder Dihydromaltophilin
HSQC	engl. heteronuclear single quantum coherence
HTS	Hochdurchsatzscreening
HWE-Reaktion	Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion
Hz	Hertz
IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
<i>i</i> Pr	<i>iso</i> -Propyl
KR	Ketoreduktase
KS	Ketosynthase
λ	Wellenlänge
L	Liter
LDL	Lipoprotein niedriger Dichte
μ	mikro
m	milli (Präfix), Meter (Maßeinheit)
M	Mega
Me	Methyl
Me-Domäne	<i>N</i> -Methylierungs-Domäne
MeI	Methyliodid
MeOH	Methanol
min	Minute
MNBA	2-Methyl-6-nitrobenzoesäureanhydrid
MPLC	Mitteldruckflüssigkeitschromatographie (Medium pressure liquid chromatography)
MS	Massenspektrometrie
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
<i>m/z</i>	Masse-Ladungs-Verhältnis
n	nano
NaCNBH ₃	Natriumcyanoborhydrid
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMR	Kernspinresonanz
NRP	nichtribosomales Peptid
NRPS	nichtribosomale Peptidsynthetase
<i>o</i> NBS	<i>ortho</i> -Nitrobenzolsulfonyl
p	Quintett
ppm	Anteile pro Millionen (parts per million)
präp.	präperativ
PCP	Peptidylträgerprotein (peptide carrier protein)
PhSH	Thiophenol
PKS	Polyketidsynthase
PKS/NRPS	Polyketidsynthase-nichtribosomale Peptidsynthetase-Hybridenzym
PoTeM	Polycyclisches Tetramsäure-Macrolactam
PPant	Phosphopantethein
PPh ₃	Triphenylphosphin
PhCHO	Benzaldehyd
PPT	Phosphopantetheinyltransferase
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
q	Quartett
R _f	Verhältnis aus Produktlaufweite zu Laufmittellaufweite

RT	Raumtemperatur
rfx	refluxieren
s	Singulett
SAM	S-Adenosylmethionin
SNAC	<i>N</i> -Acetylcysteamin
Suc	Succinimid
t	Triplett
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl
TCBC	2,4,6-Trichlorobenzoylchlorid
TE	Thioesterase
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
tRNA	transfer-Ribonukleinsäure
U	Umdrehungen
UV/VIS	ultraviolett/sichtbar