

# **Synthese und biologische Evaluierung von Inhibitoren der Acyl-Protein-Thioesterase 1**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)  
von der Fakultät für Chemie  
der Universität Dortmund  
angenommene

## **DISSERTATION**

von

Diplom-Chemiker

**Patrick Hugo Deck**

aus Mörsch / Baden

**Dekan: Prof. Dr. K. Jurkschat**

**1. Gutachter: Prof. Dr. H. Waldmann**

**2. Gutachter: Prof. Dr. P. Eilbracht**

**Tag der mündlichen Prüfung: 24.10.2002**



Die vorliegende Arbeit wurde unter der Betreuung von Prof. Dr. Herbert Waldmann am Institut für Organische Chemie der Universität Karlsruhe (TH) und an der Universität Dortmund sowie am Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie, Dortmund in der Zeit vom 01.10.1998 bis zum 13.08.2002 angefertigt.



*Meinen Eltern  
und  
Maren*



*„Wie sehr ich zeitlebens mit allen Herzfasern an jener Stadt hing, in der ich Kindheit und Jugend verlebte, wo ich mir das Rüstzeug für mein späteres Schaffen holte.“*

CARL BENZ über Karlsruhe





# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einführung</b>	<b>1</b>
<b>2. Allgemeiner Teil</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Lipidierung von Signalproteinen</b>	<b>2</b>
2.1.1. Arten und Vorkommen von Lipidmodifizierungen	2
2.1.2. Funktionen der Lipidmodifizierungen	4
<b>2.2. Mechanismen der Palmitoylierung von Signalproteinen</b>	<b>5</b>
2.2.1. Enzymatische Palmitoylierung / Depalmitoylierung von Signalproteinen	6
2.2.2. Autoacylierung von Signalproteinen	8
<b>2.3. Das Enzym Acyl-Protein-Thioesterase 1</b>	<b>11</b>
2.3.1. Substratspezifität der APT1	12
2.3.2. Struktur und Mechanismus der APT1	13
<b>3. Ziel der Arbeit</b>	<b>15</b>
<b>4. Spezieller Teil</b>	<b>17</b>
<b>4.1. Konzeption der zu synthetisierenden Mimetika</b>	<b>17</b>
<b>4.2. Synthese der unterschiedlich modifizierten Benzodiazepin-Mimetika</b>	<b>20</b>
4.2.1. Retrosynthetische Analyse	20
4.2.2. Synthese des zweifach lipidmodifizierten Benzodiazepins	21
4.2.3. Synthese des monolipidierten Benzodiazepins	25
4.2.4. Synthese des farnesylierten und mesylierten Benzodiazepins	26
<b>4.3. Synthese der Mimetika mit Prolin-Substruktur</b>	<b>28</b>
4.3.1. Synthese des zentralen, kupplungsfähigen Prolinderivats	28
4.3.2. Synthese des $\beta$ -Alanin-Sulfonamids	29
4.3.3. Synthese des $\beta$ -Alanyl-Prolyl-Cystein-Mimetikums	30
4.3.4. Synthese des Diaminopropionsäurederivats	31

4.3.5.	Synthese des Diaminopropionsäure-Prolin-Cystein-Mimetikums	31
<b>4.4.</b>	<b>Synthese der Lactam-Mimetika</b>	<b>32</b>
4.4.1.	Retrosynthetische Analyse	32
4.4.2.	Synthese der Lactam-Grundstruktur	33
4.4.3.	Synthese des für die Alkylierung benötigten Mesylats	36
4.4.4.	Alkylierung des Lactams	37
4.4.5.	Exkurs: Zuvor fehlgeschlagene Cyclisierungsvarianten	39
4.4.6.	Fortführung der Synthese der Lactam-Mimetika	41
<b>4.5.</b>	<b>Synthese der unterschiedlich modifizierten Pentapeptide</b>	<b>43</b>
4.5.1.	Synthese des zentralen Diaminopropionsäurederivats	43
4.5.2.	Synthese des ersten Pentapeptids	44
4.5.3.	Synthese der zentralen C <sub>21</sub> -Aminosäure	46
4.5.4.	Synthese des zweiten Pentapeptids	47
<b>4.6.</b>	<b>Synthese des tripeptidischen Inhibitors</b>	<b>48</b>
<b>4.7.</b>	<b>Synthese des Substrats für die APT1-Inhibitionstests</b>	<b>49</b>
<b>4.8.</b>	<b>Biologische Evaluierung der synthetisierten Verbindungen</b>	<b>51</b>
4.8.1.	Der fluoreszenzbasierte APT1-Inhibitionsassay	51
4.8.2.	Ergebnisse der Inhibitionstests	53
4.8.3.	Ergebnisse der Mikroinjektionsstudien an PC12-Zellen	62
4.8.4.	Abschließende Bewertung der gezeigten Ergebnisse	64
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>65</b>
<b>6.</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>76</b>
<b>6.1.</b>	<b>Messgeräte und Hilfsmittel</b>	<b>76</b>
<b>6.2.</b>	<b>Versuche zu Kapitel 4.2.</b>	<b>78</b>
6.2.1.	Versuche zu Kapitel 4.2.2.	78
6.2.2.	Versuche zu Kapitel 4.2.3.	91
6.2.3.	Versuche zu Kapitel 4.2.4.	92

<b>6.3. Versuche zu Kapitel 4.3.</b>	<b>98</b>
6.3.1. Versuche zu Kapitel 4.3.1.	98
6.3.2. Versuche zu Kapitel 4.3.2.	103
6.3.3. Versuche zu Kapitel 4.3.3.	104
6.3.4. Versuche zu Kapitel 4.3.4.	108
6.3.5. Versuche zu Kapitel 4.3.5.	110
<b>6.4. Versuche zu Kapitel 4.4.</b>	<b>114</b>
6.4.1. Versuche zu Kapitel 4.4.2.	114
6.4.2. Versuche zu Kapitel 4.4.3.	121
6.4.3. Versuche zu Kapitel 4.4.4.	123
6.4.4. Versuche zu Kapitel 4.4.6.	124
<b>6.5. Versuche zu Kapitel 4.5.</b>	<b>127</b>
6.5.1. Versuche zu Kapitel 4.5.1.	127
6.5.2. Versuche zu Kapitel 4.5.2.	128
6.5.3. Versuche zu Kapitel 4.5.3.	134
6.5.4. Versuche zu Kapitel 4.5.4.	139
<b>6.6. Versuche zu Kapitel 4.6.</b>	<b>142</b>
<b>6.7. Versuche zu Kapitel 4.7.</b>	<b>147</b>
<b>6.8. Versuche zu Kapitel 4.8.</b>	<b>152</b>
6.8.1. Puffer- und Probenvorbereitung	152
6.8.2. Durchführung der Inhibitionstests	153
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>157</b>
<b>8. Anhang</b>	<b>162</b>



# 1. Einführung

„*A discipline buried by success*“ titelte die Fachzeitschrift „Nature“ im Mai 2001, als es um die Frage ging, welche Wertschätzung der Chemie von der Gesellschaft und unter Wissenschaftlern entgegengebracht wird.<sup>[1]</sup> Die Chemie wird heute als zentrale Wissenschaft angesehen, die für ihre Beiträge zur positiven Entwicklung von Nachbardisziplinen wie der Nanotechnologie, Medizin oder Biologie ein hohes Maß an Anerkennung verdient.<sup>[2]</sup> So hat gerade in der Biologie in den letzten zwanzig Jahren der Einsatz kleiner, gegen spezielle Proteine gerichteter Moleküle dazu geführt, dass komplexe biologische Vorgänge nun besser verstanden werden. Diese Art der Vorgehensweise wird oftmals mit den Schlagworten „Chemische Biologie“ oder „Chemische Genetik“ umschrieben.<sup>[3]</sup>

Ein wesentlicher Gegenstand solcher Untersuchungen stellt die biologische Signaltransduktion dar.<sup>[4]</sup> In die dabei ablaufenden Prozesse sind eine Vielzahl unterschiedlicher Proteine eingebunden, von denen sich einige durch kovalent gebundene Lipidreste auszeichnen.<sup>[5,6]</sup> Diese Lipidmodifizierungen sind in den meisten Fällen essenziell für eine korrekte Funktion der betreffenden Proteine.<sup>[7-9]</sup>

Prominente Vertreter dieser Substanzklasse sind die sogenannten *Ras*-Proteine.<sup>[10]</sup> Sie sind in Signaltransduktionskaskaden involviert, über die unter anderem das Zellwachstum und die Zellteilung gesteuert werden. Durch Mutationen in den entsprechenden *ras*-Genen, die Defekte in den *Ras*-Proteinen nach sich ziehen, kann diese Regulation gestört werden. In 30 % aller menschlichen Krebserkrankungen sind onkogene Formen der *Ras*-Proteine beteiligt.<sup>[11]</sup>

Unter den Lipidmodifizierungen, die bei *Ras*-Proteinen essenziell sind, befinden sich die *N*-Myristoylierung terminaler Glycine, die *S*-Prenylierung terminaler sowie die *S*-Palmitoylierung interner Cysteine.<sup>[7]</sup> Während die Mechanismen der Myristoylierung und Prenylierung weitgehend verstanden sind,<sup>[12,13]</sup> herrscht im Hinblick auf die molekulare Maschinerie und Bedeutung der Palmitoylierung nach wie vor Forschungsbedarf.

Motiviert durch die kürzlich erfolgte Charakterisierung der Acyl-Protein-Thioesterase 1 (APT1), einem Enzym, welches in der Lage ist, unter anderem das H-*Ras*-Protein zu depalmitoylieren,<sup>[14]</sup> sollten im Rahmen der vorliegenden Arbeit potenzielle Inhibitoren der APT1 synthetisiert und in biologischen Untersuchungen evaluiert werden. Dies könnte neue Erkenntnisse bezüglich der physiologischen Bedeutung der Palmitoylierung von Signalproteinen liefern.

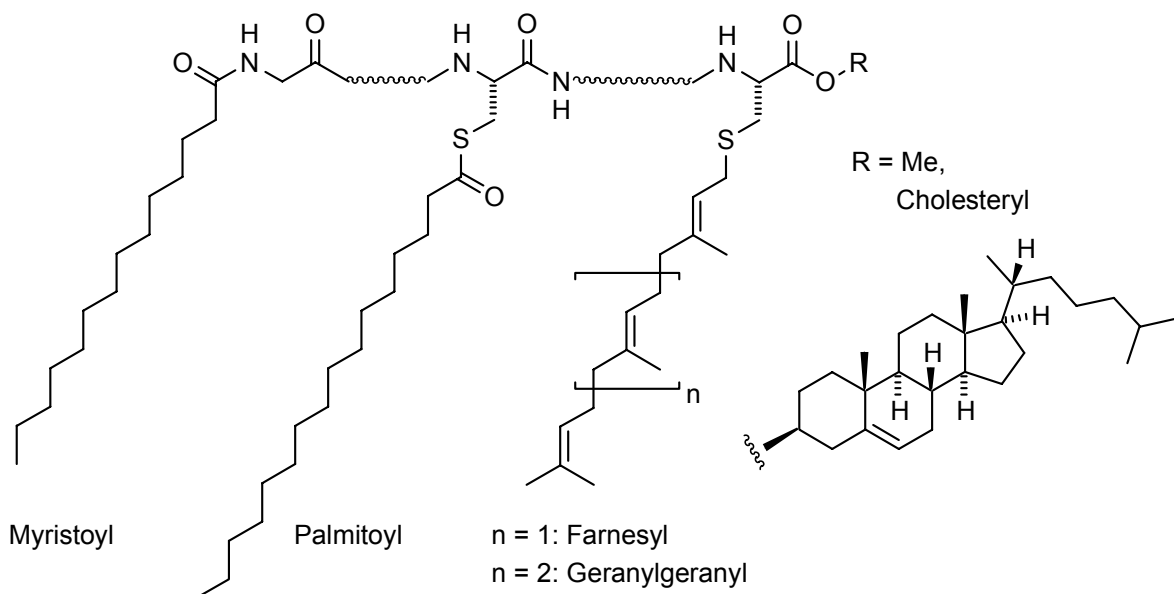
## 2. Allgemeiner Teil

### 2.1. Lipidierung von Signalproteinen

#### 2.1.1. Arten und Vorkommen von Lipidmodifizierungen

Die kovalente Anknüpfung von Lipidresten an Proteine wurde erstmals 1951 am Gehirnprotein Myelin beobachtet.<sup>[15]</sup> Im Gegensatz zur Glycosylierung und Phosphorylierung rückte die Lipidierung von Proteinen allerdings erst seit den achtziger Jahren verstärkt in den Fokus des wissenschaftlichen Interesses. Inzwischen unterscheidet man folgende Lipidmodifizierungen (Abbildung 1):<sup>[5,6]</sup>

- Die *N*-Myristoylierung, bei der die unverzweigte C<sub>14</sub>-Fettsäure amidisch an die Aminogruppe eines N-terminalen Glycins gebunden ist.
- Die *S*-Palmitoylierung, bei der die C<sub>16</sub>-Fettsäure als Thioester an ein nicht terminales Cystein eines Proteins gebunden ist.
- Die Prenylierung, bei der ein terpenoider Farnesyl- (C<sub>15</sub>) oder Geranylgeranylrest (C<sub>20</sub>) als Thioether an ein Cystein am oder nahe des C-Terminus eines Proteins geknüpft ist.
- Die Veresterung der C-terminalen Aminosäure eines Proteins mit Cholesterin.



**Abbildung 1:** Bekannte Lipidmodifizierungen von Proteinen.

Die *N*-Myristoylierung von Proteinen geschieht kotranslational, nachdem die Initiatoramino­säure Methionin am Aminoterminus durch eine Methionylamino­peptidase entfernt wurde.<sup>[12]</sup> Die Übertragung der Fettsäureeinheit erfolgt anschließend durch die *N*-Myristoylproteintransferase (NMT) hochspezifisch auf die Aminofunktion eines N-terminalen Glycins der Konsensussequenz GXXXS- (G steht hierbei für Glycin, X für eine beliebige Aminosäure und S für Serin).<sup>[16,17]</sup> Beispiele myristoylierter Peptide stellen die  $\alpha$ -Untereinheiten heterotrimerer G-Proteine dar. Durch Ausbildung der unter physiologischen Bedingungen stabilen Amidbindung ist die *N*-Myristoylierung irreversibel.

Die Prenylierung erfolgt posttranslational an den Rohproteinen, die carboxyterminal spezielle Erkennungssequenzen tragen. So werden nur solche Proteine prenyliert, die C-terminal ein -CAAX, -CC, -CXC oder -CCXX-Motiv tragen.<sup>[18,19]</sup> Hierbei steht C für Cystein, A für eine aliphatische und X für eine beliebige Aminosäure. Im Fall der -CAAX-Sequenz, wie sie bei *Ras*-Proteinen auftritt, wird anhand von X die Art der Prenylierung festgelegt. Ist X gleich Serin, Methionin oder Glutamin wird das Cystein durch die entsprechende Farnesylproteintransferase (FPT) farnesyliert. Im Fall von X gleich Leucin überträgt die Geranylgeranylproteintransferase I (GGPT I) den dazugehörigen Prenylrest auf die Thiolfunktion. Anschließend wird die AAX-Sequenz proteolytisch abgebaut und der Carboxyterminus durch die Prenylcysteinocarboxymethyltransferase (pcCMT) carboxymethyliert. Bei den -CC, -CXC und -CCXX-Erkennungssequenzen, die bei der Familie der *Rab*-Proteine angetroffen werden, überträgt die Geranylgeranylproteintransferase II (GGPT II oder auch *Rab*-GGPT) den Geranylgeranylrest auf beide Cysteine. Während bei *Rab*-Proteinen mit -CC oder -CCXX-Motiv der C-Terminus unverändert als Carboxylat verbleibt, erfolgt beim -CXC-Motiv ebenfalls eine Carboxymethylierung.<sup>[20]</sup> Da die Lipidreste als Thioether angebunden werden, ist die Prenylierung ebenso irreversibel wie die *N*-Myristoylierung.

Als eine weitere, noch wenig erforschte Lipidmodifizierung wurde 1996 bei der aktiven Form des Hedgehog-Proteins das an den Carboxyterminus des Proteins als Ester verknüpfte Cholesterin identifiziert.<sup>[21]</sup>

Die *S*-Palmitoylierung von Proteinen ist nicht an spezielle Erkennungssequenzen gebunden und der Mechanismus dieser Lipidmodifizierung ist noch weitgehend ungeklärt. Verschiedene Befunde sprechen für eine enzymatische Übertragung des Fettsäurerestes<sup>[22-27]</sup>, allerdings laufen Palmitoylierungen *in vitro* auch unter nichtenzymatischen Bedingungen ab.<sup>[28,29]</sup> Diese Art der Modifizierung ist im Gegensatz zu allen anderen vorgestellten Lipidierungen unter

physiologischen Bedingungen reversibel. In Abschnitt 2.2. werden unterschiedliche derzeit diskutierte Theorien zur Palmitoylierung von Proteinen vorgestellt werden.

### **2.1.2. Funktionen der Lipidmodifizierungen**

Zurzeit kennt man zwei verschiedene Funktionen der Lipidmodifizierungen. Es wird sowohl die Membranassoziation von Proteinen reguliert als auch ein direkter Einfluss auf Protein-Protein-Wechselwirkungen diskutiert.<sup>[5]</sup>

Durch die Anbindung von Lipidresten wird zweifelsohne die Hydrophobizität eines Proteins erhöht. Die Anknüpfung einer Myristoyl- bzw. Prenylgruppe verleiht den Proteinen eine mäßige Membrangängigkeit sowohl für die Zellmembran als auch für die Membranen von Zellorganellen. Durch die Einführung zusätzlicher Palmitoylgruppen wird eine feste Membranassoziation erreicht. Doppel- oder Mehrfachlipidierungen treten zum Beispiel bei den  $\alpha$ -Untereinheiten heterotrimerer G-Proteine und bei *Ras*-Proteinen auf. Für die Palmitoylierung solcher mehrfach lipidierter Proteine ist dabei das Vorhandensein einer Myristoyl- bzw. einer Prenylgruppe essenziell.<sup>[5]</sup>

Eine feste Membranassoziation kann aber auch, wie im Fall des *K-Ras-4B*-Proteins, durch eine Polylysindomäne nahe des C-Terminus erreicht werden. Hier interagieren die positiv geladenen Aminogruppen der Lysine mit den Phosphatgruppen der Lipiddoppelschicht.<sup>[30]</sup>

Palmitoylierung tritt auch bei Proteinen auf, die in die Membran eingelagert sind, zum Beispiel bei vielen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCR). Durch die Palmitoylierung wird in diesen Fällen eine feste Membranassoziation bestimmter Proteinabschnitte erreicht.<sup>[31]</sup>

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass die Palmitoylierung auch Beiträge zur Lokalisierung unterschiedlicher *Ras*-Proteine in verschiedenen Mikrodomänen der Plasmamembran leistet.<sup>[32]</sup> Hierbei werden H- und N-*Ras* nach ihrer posttranslationalen Modifikation über den exocytischen sekretorischen Weg zur Plasmamembran geschleust. Dort wechseln sie in einem GTP-regulierten Gleichgewicht zwischen ungeordneten Plasmamembran-Bereichen und sogenannten „lipid-rafts“ hin und her. *K-Ras* hingegen wird am Golgi-Apparat vorbei über einen bislang unbekanntem Weg ausschließlich zu ungeordneten Membranbereichen verbracht.<sup>[32]</sup> Diese Beobachtungen könnten eine Erklärung für die biologischen Unterschiede der ansonsten hochkonservierten *Ras*-Proteine liefern.

Neben der Regulierung der Membranassoziation gibt es auch Hinweise auf die Beeinflussung von Protein-Protein-Wechselwirkungen durch die Lipidmodifizierungen.<sup>[5,6]</sup> Durch ihre



Membranlokalisierung kommen bestimmte Proteine in räumliche Nähe zueinander, sodass mit der Erhöhung der lokalen Konzentration die gegenseitige Erkennung und Interaktion verstärkt werden kann.<sup>[5]</sup> Solche Effekte können auch direkt durch Wechselwirkung der Lipidreste der Proteine selbst hervorgerufen werden. Beispielsweise wurde gezeigt, dass bei bestimmten heterotrimeren G-Proteinen durch das Fehlen von Lipidresten bzw. möglichen Lipidierungsstellen die gegenseitige Interaktion gestört wird.<sup>[33]</sup>

Ein direkter Hinweis auf die Beteiligung des Farnesylrestes an der Protein-Protein-Wechselwirkung konnte am *Ras2*-Protein aus Hefe gezeigt werden. Das farnesylierte Protein zeigt gegenüber dem nichtfarnesylierten eine etwa 100-fach höhere Affinität für die Adenylatcyclase, wobei als Ursache dieses Effekts die Membranrekrutierung allein ausgeschlossen werden kann.<sup>[34]</sup>

Auch bei bestimmten G-Protein-gekoppelten Rezeptoren konnte die Bedeutung der Palmitoylierung auf die Protein-Protein-Wechselwirkung gezeigt werden.<sup>[35]</sup> So wurden Hinweise für eine direkte Einflussnahme der Lipidgruppe auf die Interaktion zwischen Rezeptor und Effektor gefunden.<sup>[36]</sup> In anderen Fällen konnte eine Auswirkung auf die Phosphorylierung des Rezeptors gezeigt werden, welche hier die Protein-Protein-Wechselwirkung reguliert.<sup>[37]</sup>

## 2.2. Mechanismen der Palmitoylierung von Signalproteinen

Die reversible Modifizierung mit Palmitat ist ein Merkmal vieler Signalproteine, die mit der cytoplasmatischen Seite der Plasmamembran assoziiert sind.<sup>[5,7]</sup> Unter diesen Proteinen befinden sich  $\alpha$ -Untereinheiten von G-Proteinen, Kinasen aus der *Src*-Familie sowie verschiedene *Ras*-Proteine. Palmitat oder auch andere langkettige Fettsäuren werden hierbei als Thioester an die Sulfhydrylgruppe eines Cysteins geknüpft. Da die Thioacylierung aufgrund dieser Verknüpfungsweise ein reversibler Prozess ist, könnten dynamische Acylierungs-/Deacylierungszyklen eine regulatorische Funktion in der Signaltransduktion besitzen. Die Thioacylierung von Signalproteinen trägt, wie schon erwähnt, zur Membranassoziation und Protein-Protein-Wechselwirkung bei; die Mechanismen dieser Modifizierung sind jedoch völlig unklar. Die Frage, ob es sich hierbei um einen enzymatischen oder nichtenzymatischen Prozess handelt, blieb bislang unbeantwortet. In den folgenden Abschnitten soll daher der Stand der aktuellen Diskussion beleuchtet werden.

### 2.2.1. Enzymatische Palmitoylierung / Depalmitoylierung von Signalproteinen

#### Protein-Acyltransferasen

In verschiedenen Arbeitsgruppen wurden Protein-Acyltransferase-(PAT)-Aktivitäten unter Zuhilfenahme von Signalproteinen als Substrate charakterisiert. Darunter finden sich das Protein p59<sup>Fyn</sup>,<sup>[24]</sup> Ras<sup>[22,23]</sup> sowie heterotrimere G-Proteine.<sup>[26]</sup> Die PAT-Aktivitäten, die für Acylierung von p59<sup>Fyn</sup> und G<sub>α</sub> beschrieben wurden, besitzen einige Gemeinsamkeiten. Ihre Substratspezifität zeichnet sich durch eine Präferenz für myristoylierte Proteine sowie für langkettige Acyl-CoAs aus.<sup>[24,26]</sup> Für die Isolierung beider Enzyme war die Verwendung von Detergenzien notwendig. Die Transferase-Aktivität im G-Protein-Fall wurde hierbei in der Plasmamembranfraktion von Rattenleber gefunden, was mit ihrer mutmaßlichen Rolle in der Modulation der Funktion der G-Proteine einhergeht. Die Lokalisierung im Falle des *Fyn*-Proteins wurde nicht bestimmt. Leider konnte in beiden Fällen nur eine partielle Reinigung der Acyltransferase-Aktivitäten erreicht werden, sodass weitere Studien bezüglich der Identität und physiologischen Bedeutung der beiden Enzyme nötig sind.

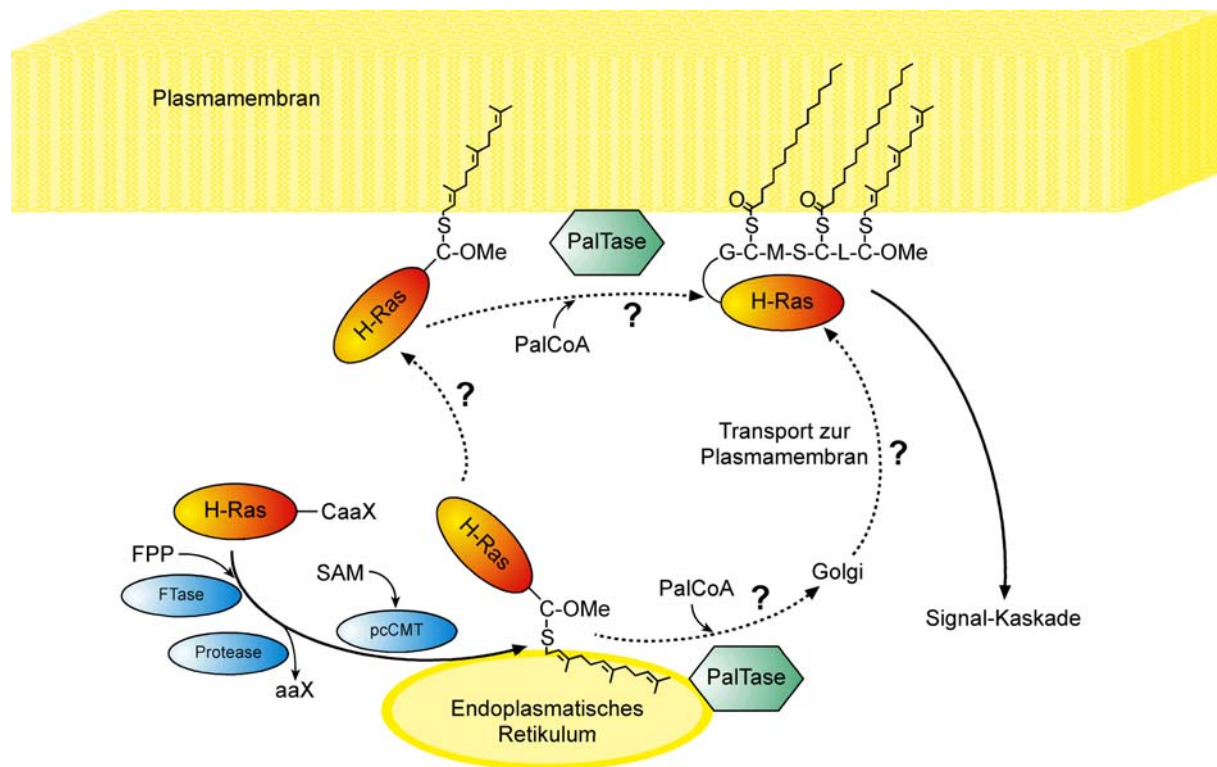
Eine Protein-Acyltransferase, die H-Ras als Substrat akzeptiert, wurde in Rattenleber-Mikrosomen gefunden.<sup>[23]</sup> Nach Sequenzierung wurde dieses Enzym jedoch als peroxysomale Thiolase A identifiziert, ein Enzym das in die Fettsäure-β-Oxidation involviert ist.<sup>[27]</sup> Eine Beteiligung dieses Enzyms in der Palmitoylierung von Ras scheint daher unwahrscheinlich zu sein.

Die löslichen Proteine p260/270 aus *Bombyx mori* sind in der Lage, Palmitat auf synthetische Peptide der C-terminalen Region von *Drosophila-ras1* und *-ras2*-Sequenzen zu übertragen.<sup>[38]</sup> Diese Transferase-Aktivitäten scheinen jedoch nicht physiologisch relevant zu sein, da keine Abhängigkeit von einer vorherigen Prenylierung besteht, was für eine Palmitoylierung *in vivo* charakteristisch wäre.<sup>[39]</sup>

Unter Zuhilfenahme von Spectrin als Substrat konnte eine Protein-Palmitoyltransferase aus roten Blutzellen zu scheinbarer Homogenität gereinigt werden.<sup>[40]</sup> Die enzymatische Aktivität fand sich in den Membranen und resultierte nach 86facher Reinigung in einer einzelnen 70 kDa-Bande im SDS-PAGE-Gel. Es wurde jedoch keine Sequenzierung dieses Enzyms vorgenommen. Es bleibt daher weiter unklar, ob das isolierte Protein intrinsische PAT-Aktivität besitzt.

Die bisherigen Ergebnisse lassen die folgende Hypothese für die Palmitoylierung von Signalproteinen der inneren Plasmamembran zu (Abbildung 2): Einerseits könnten Signalproteine, wie hier an H-Ras gezeigt, nach erfolgter Prozessierung im

Endoplasmatischen Retikulum (ER) an die Plasmamembran gelangen, um von einer dort lokalisierten Palmitoyltransferase palmitoyliert zu werden. Andererseits könnte eine Palmitoylierung auch direkt im Anschluss an die Modifizierungen im ER erfolgen, woraufhin das Protein über den Golgi-Apparat durch vesikulären Transport an die Innenseite der Plasmamembran gelangt. Beiden Vorgängen würde sich dann eine Aktivierung der Signalkaskade anschließen.



**Abbildung 2:** Hypothese für die enzymatische Palmitoylierung von Signalproteinen.

### Palmitoyl- / Acyl-Protein-Thioesterasen

Ein weiteres Feld der Enzymologie der Proteinpalmitylierung stellen verschiedene charakterisierte Thioesterasen dar. So konnte eine Palmitoyl-Protein-Thioesterase (PPT1) aus Rattenleber isoliert werden, die H-Ras und  $G_{\alpha}$ -Untereinheiten deacyliert.<sup>[41]</sup> Nachfolgende Untersuchungen ergaben, dass dieses Enzym in Lysosomen lokalisiert und somit für die Deacylierung von Signalproteinen an der Plasmamembran wahrscheinlich nicht relevant ist.<sup>[42]</sup> Eine zweite lysosomale Thioesterase (PPT2) mit unterschiedlicher Substratspezifität konnte später ebenfalls isoliert und charakterisiert werden.<sup>[43]</sup>

Ein neuer Kandidat für ein Regulationsenzym von palmitoylierten Signalproteinen wurde 1996 identifiziert. Aus dem Cytosol von Rattenleber konnte das Enzym Acyl-Protein-

Thioesterase 1 (APT1) isoliert werden.<sup>[14]</sup> Dieses Enzym katalysiert die Depalmitoylierung von  $\alpha$ -Untereinheiten heterotrimerer G-Proteine sowie von H-Ras. APT1 wurde bereits früher als Lysophospholipase isoliert<sup>[44]</sup> und Orthologe davon wurden in verschiedenen Organismen wie *Saccharomyces cerevisiae* oder *Caenorhabditis elegans* entdeckt. Als Substrate bevorzugt dieses Enzym acylierte Proteine. In Säugetierzellen, die eine stabile Expression von APT1 zeigen, ist die Geschwindigkeit der Depalmitoylierung von  $G_{s\alpha}$  signifikant höher als bei Kontrollzellen. Diese Tatsache deutet auf eine erhebliche biologische Relevanz dieses Enzyms hin.

### 2.2.2. Autoacylierung von Signalproteinen

Versuche, Palmitoyltransferase-Aktivitäten aus biologischen Systemen zu isolieren, wurden von vielen Seiten unternommen, jedoch bisher ohne durchschlagenden Erfolg (vgl. Abschnitt 2.2.1.) Die Tatsache jedoch, dass einfache, nichtenzymatische Acylierungen *in vitro* beobachtet werden konnten, leisteten der Vermutung Vorschub, dass die *in vivo*-Palmitoylierung von Signalproteinen ein nicht-enzymatischer Prozess sein könnte.

Schon 1987 konnte gezeigt werden, dass der Transfer einer Palmitoylgruppe von Palmitoyl-CoA auf Rhodopsin<sup>[45]</sup> oder auf das Hauptproteolipid von Myelin<sup>[46]</sup> nichtenzymatisch erfolgen kann. Ebenso fand man wenige Jahre später, dass lipidmodifizierte, cysteininhaltige Peptide *in vitro* effizient S-acyliert werden, wenn sie Palmitoyl-CoA in Liposomen ausgesetzt werden.<sup>[47]</sup>

Einer anderen Arbeitsgruppe gelang es, *in vitro* myristoylierte  $\alpha$ -Untereinheiten von G-Proteinen schnell und stöchiometrisch mit Palmitoyl-CoA auf nichtenzymatischem Wege zu acylieren.<sup>[28]</sup> Die Reaktion fand am entsprechenden Cystein unter physiologischen Temperatur- und pH-Bedingungen statt. Die Ergebnisse der *in vitro*-Reaktion waren erstaunlicherweise denen sehr ähnlich, die mit einer G-Protein-Palmitoyltransferase-Aktivität aus Rinderhirn *in vivo* erzielt wurden.<sup>[26]</sup> Die Palmitoylierung war hierbei abhängig von dem Vorhandensein eines intakten Proteinsubstrats mit vorheriger Myristoylierung, außerdem konnte eine Beschleunigung der Acylierung in Anwesenheit der  $\beta\gamma$ -Untereinheiten auf das Fünffache festgestellt werden.

Kürzlich wurde die nichtenzymatische Palmitoylierung eines myristoylierten Peptids mit der N-terminalen Sequenz der p62<sup>Yes</sup>-Protein-Tyrosin-Kinase aus der Familie der *Src*-Kinasen beschrieben.<sup>[29]</sup> Es wurde beobachtet, dass, wie im Fall der G-Protein-Untereinheiten, mit

steigendem pH-Wert und Konzentration an Palmitoyl-CoA und Peptid sowie längerer Dauer auch die nichtenzymatische Reaktion zunimmt. Außerdem wurde festgestellt, dass nach Zugabe von subzellulären Fraktionen aus COS-Zellen, die eine Acyltransferase-Aktivität beinhalten,<sup>[29]</sup> keine Beschleunigung der Acylierungsreaktion erfolgte.

Eine ebenfalls nichtenzymatische Palmitoylierung konnte für das synaptosomale Protein SNAP-25 *in vitro* gezeigt werden. Hierbei musste SNAP-25 jedoch durch Interaktion mit seinem physiologischen Bindungspartner, dem SNARE-Protein Syntaxin 1, aktiviert werden.<sup>[48]</sup>

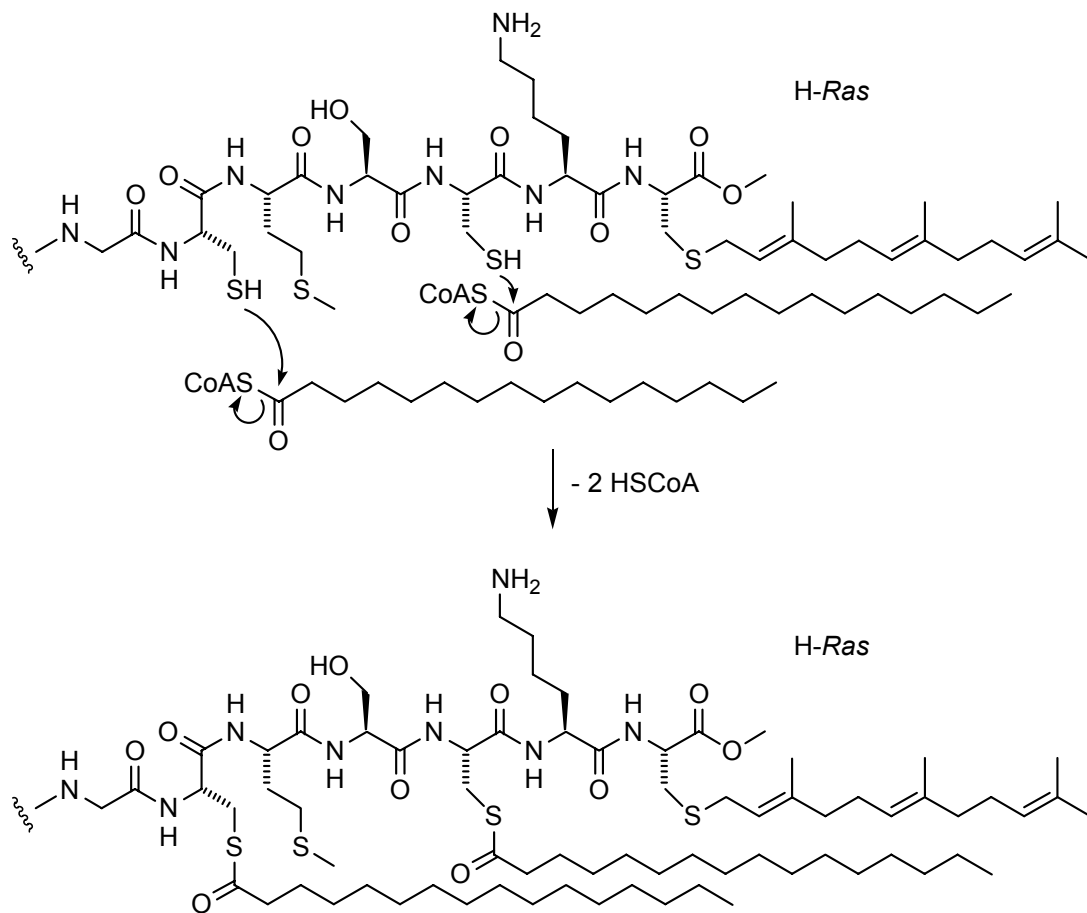
Eine weitere Stufe der Komplexität der Autoacylierungshypothese wurde mit Studien an dem Acyl-CoA-bindenden Protein (ACBP) erreicht.<sup>[49]</sup> Das in Zellen redundant vorkommende ACBP bindet langkettige zelluläre Acyl-CoA-Verbindungen, wie etwa Palmitoyl-CoA. Für die *in vivo*-Palmitoylierung würde dies bedeuten, dass die verfügbare cytosolische Konzentration an Palmitoyl-CoA im femtomolaren Bereich für eine nichtenzymatische Reaktion zu niedrig wäre.<sup>[50,51]</sup> In der Tat wurde die Autoacylierung von G-Protein- $\alpha$ -Untereinheiten bei Anwesenheit von ACBP zu 90 % inhibiert. Die entsprechende enzymatische Reaktion war noch zu etwa 50 % präsent.<sup>[49]</sup>

Diese Daten lassen den Schluss zu, dass cytosolische Proteine aufgrund der zu geringen Verfügbarkeit an freiem Palmitoyl-CoA *in vivo* nicht einfach autoacyliert werden können. Die einzige verfügbare Acyl-CoA-Quelle befindet sich in den Zellmembranen. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden Modelle für die *in vitro*- sowie die *in vivo*-Autoacylierung von Proteinen entwickelt (Abbildungen 3 und 4).<sup>[29]</sup>

*In vitro* könnte eine vorhandene Farnesyl-, Geranylgeranyl- oder Myristoylgruppe eine zu ihr parallele Orientierung der Palmitoyl-CoA-Kette vermitteln. Die würde eine chemische Übertragung des Acylrests auf ein sich in der Nachbarschaft befindliches Cystein ermöglichen (Abbildung 3).

*In vivo* würden Proteine, die nach ihrer Prozessierung im Endoplasmatischen Retikulum zur Membranassoziation fähig sind, mit diesen interagieren und mit dem dort verfügbaren Palmitoyl-CoA reagieren (Abbildung 4). Immerhin sind in Zellen 10 % des verfügbaren Palmitoyl-CoAs an der Plasmamembran lokalisiert.<sup>[29]</sup> Hierbei würden nur Proteine palmitoyliert, die außer einer membranbindenden Einheit, wie Myristoyl-, Farnesyl- oder Geranylgeranylreste sowie Polylysindomänen auch ein oder mehrere Cysteine in richtiger Orientierung und annehmbarem Abstand in Richtung Acyl-CoA präsentieren, wie es hier am Beispiel von H-Ras gezeigt ist. Dies wäre im Einklang mit den Merkmalen der Palmitoylierung *in vivo*.<sup>[39]</sup> Die Acyl-Protein-Thioesterase 1 (APT1) könnte bei der

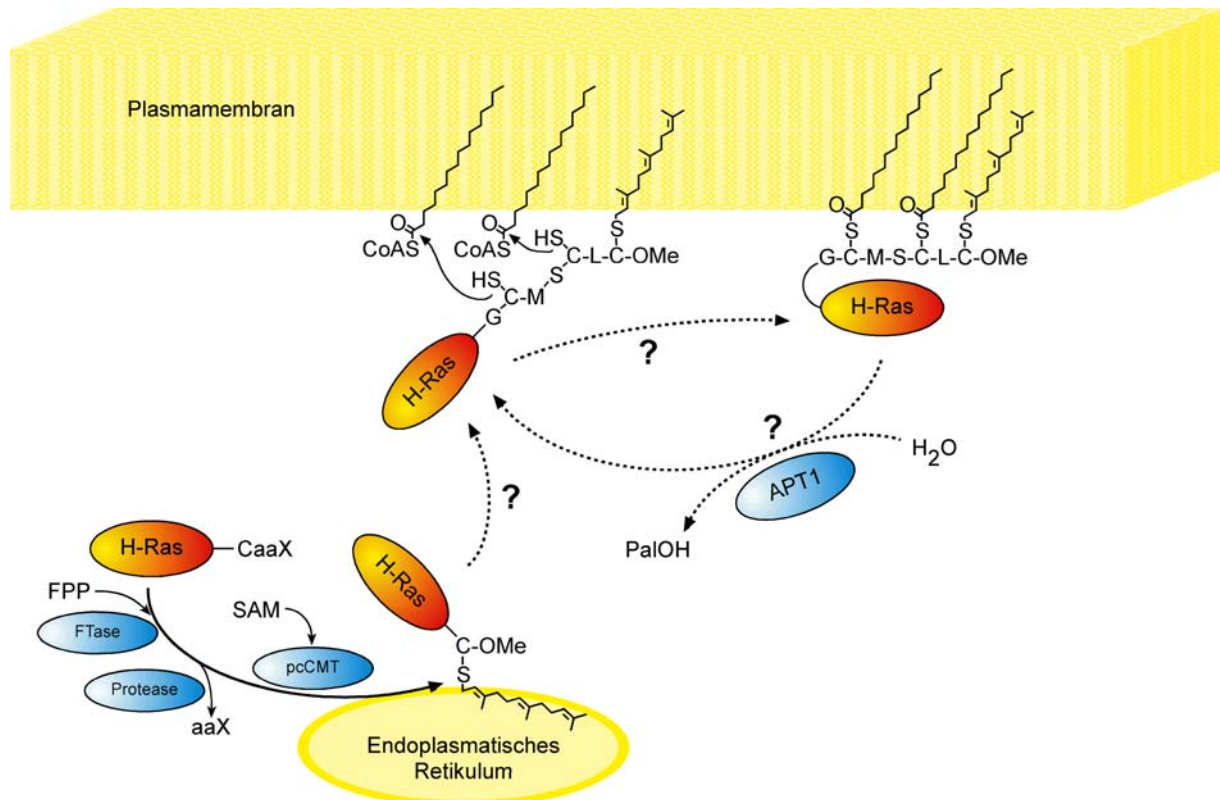
Deacylierung der modifizierten Proteine und der damit verbundenen Regulation palmitoylierter Signalproteine eine bedeutende Funktion übernehmen.



**Abbildung 3:** Hypothese für die *in vitro*-Autoacylierung von Proteinen.

Die Frage, ob der Mechanismus der Palmitoylierung *in vivo* enzymatischer oder nichtenzymatischer Natur ist, lässt sich erst dann beantworten, wenn nach Isolierung, Sequenzierung und Klonierung ein Enzym gefunden wird, welches eindeutig eine Palmitoyltransferase-Aktivität zeigt.

Kennt man dessen Gen, wäre der finale Beweis ein entsprechendes Knock-Out-Experiment mit einhergehendem Ausbleiben der Protein-S-Acylierung. Solange jedoch ein solcher Kandidat nicht zweifelsfrei gefunden wurde, sollte die Möglichkeit, dass die nichtenzymatische S-Acylierung ein wichtiges *in vivo*-Phänomen darstellt, jederzeit in Betracht gezogen werden. Hierbei wäre das regulierende Element die enzymatische Deacylierung, wofür die Acyl-Protein-Thioesterase 1 durchaus in Frage kommen könnte.<sup>[29]</sup>



**Abbildung 4:** Hypothese für die *in vivo*-Autoacylierung von Proteinen.

### 2.3. Das Enzym Acyl-Protein-Thioesterase 1

Das Enzym Acyl-Protein-Thioesterase 1 wurde aus dem Cytosol von Rattenleber isoliert und charakterisiert.<sup>[14]</sup> Es handelt sich um ein Protein der molekularen Masse von 25 kDa, welches bereits zuvor als Lysophospholipase ebenfalls in Rattenleber identifiziert werden konnte.<sup>[44]</sup> Das Enzym wird in sämtlichen bislang untersuchten Säugetier-Zelltypen exprimiert und Homologe davon wurden auch in niederen Organismen wie *Saccharomyces cerevisiae* und *Caenorhabditis elegans* gefunden.<sup>[44]</sup> Bisher wurden verschiedene Studien zur Substratspezifität der APT1 unternommen<sup>[14,52,53]</sup> und kürzlich gelang sogar die Lösung einer Kristallstruktur des Enzyms.<sup>[54]</sup>

### 2.3.1. Substratspezifität der APT1

Nach der Isolierung und Charakterisierung der Acyl-Protein-Thioesterase 1 konnte von verschiedenen Arbeitsgruppen gezeigt werden, dass das Enzym in der Lage ist, sowohl *in vitro* als auch *in vivo* palmitoylierte Signalproteine zu deacylieren. Darunter befinden sich  $\alpha$ -Untereinheiten von G-Proteinen, H-Ras, die Endothel-Stickstoffmonoxid-Synthase sowie verschiedene virale Glycoproteine.

Beim Vergleich der katalytischen Effizienz des Enzyms gegenüber  $G_{i\alpha_1}$ -Untereinheiten bzw. H-Ras und dem Substrat der Lysophospholipase-Aktivität, Lysophosphatidylcholin, konnte festgestellt werden, dass im Falle der Palmitoyl-Protein-Substrate die Effizienz etwa 200mal höher war als für Lysophosphatidylcholin.<sup>[14]</sup> Dies ist ein Beleg dafür, dass zumindest *in vitro* acylierte Proteine die bevorzugten Substrate für die APT1 darstellen. Um ein Gefühl für die Substrat-Spezifität *in vivo* zu bekommen, wurden Untersuchungen an transfizierten HEK293-Zellen unternommen, die eine stabile APT1-Expression zeigten. Aus den Experimenten resultierte, dass die Acyl-Protein-Thioesterase 1 auch *in vivo* in der Lage ist,  $G_s\alpha$ -Untereinheiten zu depalmitoylieren.<sup>[14]</sup>

In weiteren Untersuchungen konnte bewiesen werden, dass die APT1 die Depalmitoylierung der Endothel-Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) reguliert.<sup>[52]</sup> Sowohl bei der Koexpression von APT1 und eNOS in COS-7-Zellen *in situ*, als auch bei Versuchen, mit eNOS und isolierter APT1 *in vitro* konnte eine Beschleunigung der Depalmitoylierung von eNOS beobachtet werden. Diese wird durch  $Ca^{2+}$ -Calmodulin (CaM), einem allosterischen Aktivator von eNOS, noch potenziert. Im Gegensatz dazu scheint Caveolin, ein palmitoyliertes Membranprotein, kein Substrat für die Acyl-Protein-Thioesterase 1 darzustellen.<sup>[52]</sup>

In Studien an viralen Glycoproteinen konnte gezeigt werden, dass APT1 eine schnelle und effiziente Depalmitoylierung unterschiedlicher Virusproteine bewirkt. Hierunter befinden sich ein G-Protein aus dem vesikulären Stomatitisvirus, Hämagglutinin-Proteine aus dem Influenza-A- und -C-Virus sowie dem Protein E2 des Semikli-Forest-Virus (SFV).<sup>[53]</sup> Im Gegensatz dazu zeigte das entsprechende E1-Protein aus SFV eine Resistenz gegen die APT1-Aktivität.

Bei Untersuchungen zur subzellulären Lokalisierung der Lysophospholipase bzw. Acyl-Protein-Thioesterase 1 an menschlichen WISH-Zellen wurde festgestellt, dass sich das Enzym hauptsächlich am Endoplasmatischen Retikulum, dem Ort der posttranslationalen Prozessierung von Ras-Proteinen, sowie an der Außenhülle des Zellkerns befindet.<sup>[55]</sup>



Alle gezeigten Ergebnisse lassen auf eine physiologische Bedeutung der Acyl-Protein-Thioesterase 1 bei der Regulierung der posttranslationalen Palmitoylierung schließen.

### **2.3.2. Struktur und Mechanismus der APT1**

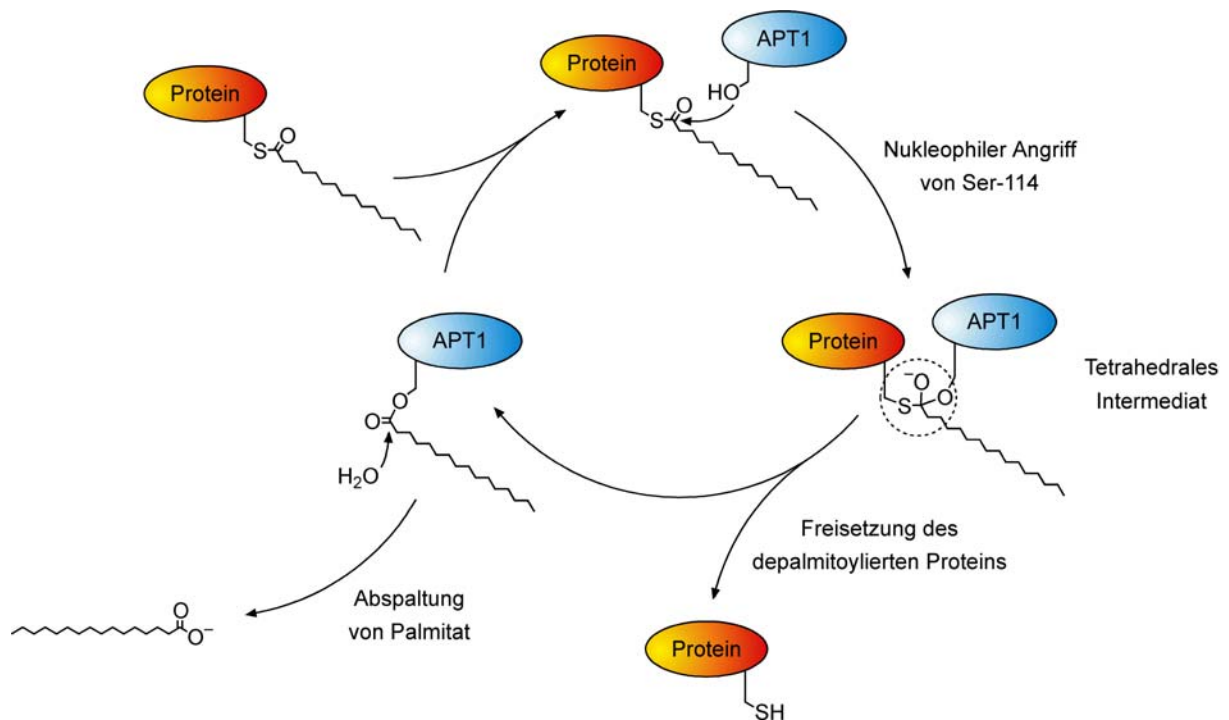
Kürzlich gelang es einer Arbeitsgruppe, nach Überexpression in *E. coli* und anschließender Aufreinigung eine Kristallstruktur der menschlichen APT1 zu erhalten.<sup>[54]</sup>

Das Enzym Acyl-Protein-Thioesterase 1 ist ein Mitglied der Familie der ubiquitären  $\alpha/\beta$ -Hydrolasen. Es zeigt hierbei eine ausgeprägte strukturelle Ähnlichkeit mit einer Carboxylesterase aus *Pseudomonas fluorescens* (Cpf).<sup>[56]</sup> Durch Sequenzvergleiche konnte festgestellt werden, dass mindestens 34 eindeutige Homologe dieses Enzyms in unterschiedlichsten Organismen existieren. Darunter sind unter anderem der Mensch, *Schistosoma mansoni*, *Drosophila melanogaster*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans*, *Arabidopsis thaliana* sowie *Mycobacterium leprea*.<sup>[54]</sup>

Mit wenigen Ausnahmen sind  $\alpha/\beta$ -Hydrolasen monomere Enzyme, wobei die homodimere Variante Cpf aus *Pseudomonas fluorescens* eine Ausnahme darstellt. So zeigte sich auch bei der APT1 eine homodimerische Struktur. Hierbei ist es wichtig zu erwähnen, dass der Zugang zu beiden aktiven Zentren durch die Dimerisierung stark eingeschränkt wird. Die Grenzfläche zwischen beiden Enzymhälften bildet einen recht großen Hohlraum von etwa  $200 \text{ \AA}^3$ , der mit mindestens zehn geordneten Wassermolekülen gefüllt ist. Hierdurch sollte die Dissoziationskonstante beider Dimerhälften im Vergleich zu anderen Homodimeren erhöht werden. Dies könnte auf einen Regulationsmechanismus bezüglich der Substratspezifität hindeuten.<sup>[54]</sup>

Das aktive Zentrum beherbergt eine katalytische Triade aus Ser-114, His-203 und Asp-169, wie es für Serin-abhängige Hydrolasen üblich ist. In Abbildung 5 ist der wahrscheinliche Mechanismus der Depalmitoylierung durch APT1 dargestellt. Der Einfachheit halber ist nur Ser-114 dargestellt. Zunächst findet eine Transacylierung des Palmitoylrestes vom Substrat auf die APT1 statt. Hierbei fungiert Ser-114 als Nukleophil, wobei eine Aktivierung durch die Diade Asp-His stattfindet, die eine Protonensenke darstellt. Es bildet sich im Übergangszustand ein tetrahedrales Intermediat aus, welches dann unter Freisetzung der Sulfhydrylgruppe am Substrat in ein Acyl-Enzym-Intermediat übergeht. Dieser Ester wird nun seinerseits von einem durch Asp-His aktivierten Wassermolekül angegriffen, wodurch Palmitat abgespalten und das aktive Ser-114 zurückgebildet wird. Die in den

Übergangszuständen gebildeten Oxyanionen werden, wie erwartet, in positiv geladenen Oxyanionenlöchern des Enzyms stabilisiert.



**Abbildung 5:** Mechanismus der Depalmitoylierung durch APT1.

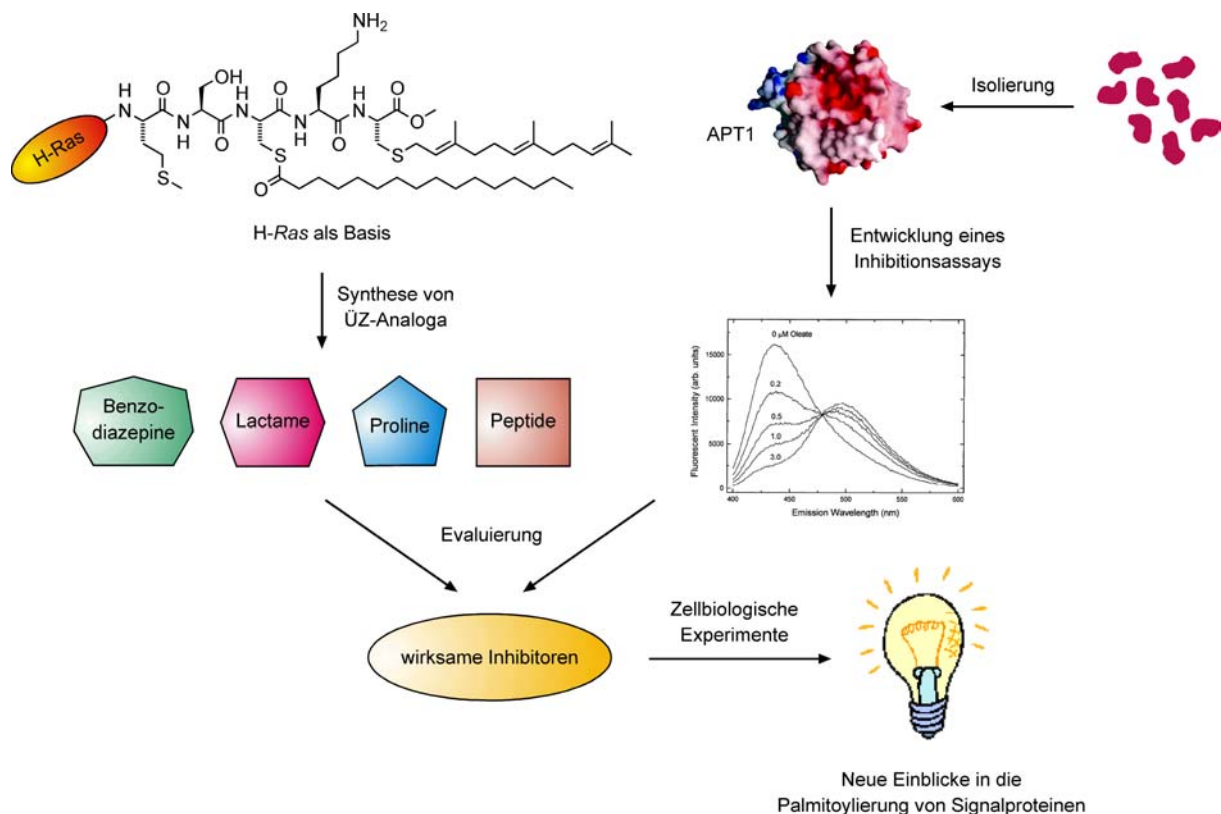
Die Bindungstasche für die Acyl-Protein-Substrate ist mit zahlreichen hydrophoben Aminosäuren, wie Trp-140, Leu-68, Leu-73 und Phe-176, ausgekleidet. Dies geht mit einer Substratspezifität für langkettige Acylverbindungen einher. Betrachtet man das elektrostatische Potenzial um das aktive Zentrum herum, so stellt man eine stark negative Polarisierung fest. Dieses Merkmal aller Esterasen und Lipasen unterstützt die Dissoziation vom negativ geladenen Reaktionsprodukt, wie in diesem Fall Palmitat.<sup>[54]</sup>

Für Untersuchungen der physiologischen Bedeutung der Acyl-Protein-Thioesterase 1 wären Inhibitoren des Enzyms ein nützliches Werkzeug. Aufgrund des beschriebenen Mechanismus bietet sich hierfür die Synthese von Übergangszustandsanaloga des tetrahedralen Intermediates an. Ein Zugang zu solchen Verbindungen sowie deren biologische Evaluierung wird im Folgenden beschrieben werden.

### 3. Ziel der Arbeit

Das Interesse an der Aufklärung der molekularen Prozesse während der Signaltransduktion nimmt stetig zu. Einen bislang völlig unverstandenen Vorgang stellt hierbei die Palmitoylierung bzw. Depalmitoylierung von Signalproteinen wie *H-Ras* dar. Kürzlich gelang es, mit der Acyl-Protein-Thioesterase 1 (APT1) ein Enzym zu charakterisieren, das neben *H-Ras* noch zahlreiche weitere Signalproteine deacylieren kann.<sup>[14]</sup> Durch diese Ergebnisse motiviert, sollten im Rahmen der vorliegenden Arbeit Inhibitoren dieses Enzyms synthetisiert und in biologischen Testsystemen evaluiert werden, um so tiefere Einblicke in die molekulare Maschinerie der Depalmitoylierung von Proteinen zu erhalten.

Zunächst sollten basierend auf dem C-Terminus des *H-Ras*-Proteins, einem Substrat der APT1, Mimetika des Übergangszustands der Enzymreaktion (vgl. Abschnitt 2.3.2.) dargestellt werden (Abbildung 6). Dabei wurden unterschiedliche Substanzklassen anvisiert, wie etwa Benzodiazepine, Lactame, Prolinderivate oder peptidische Verbindungen.



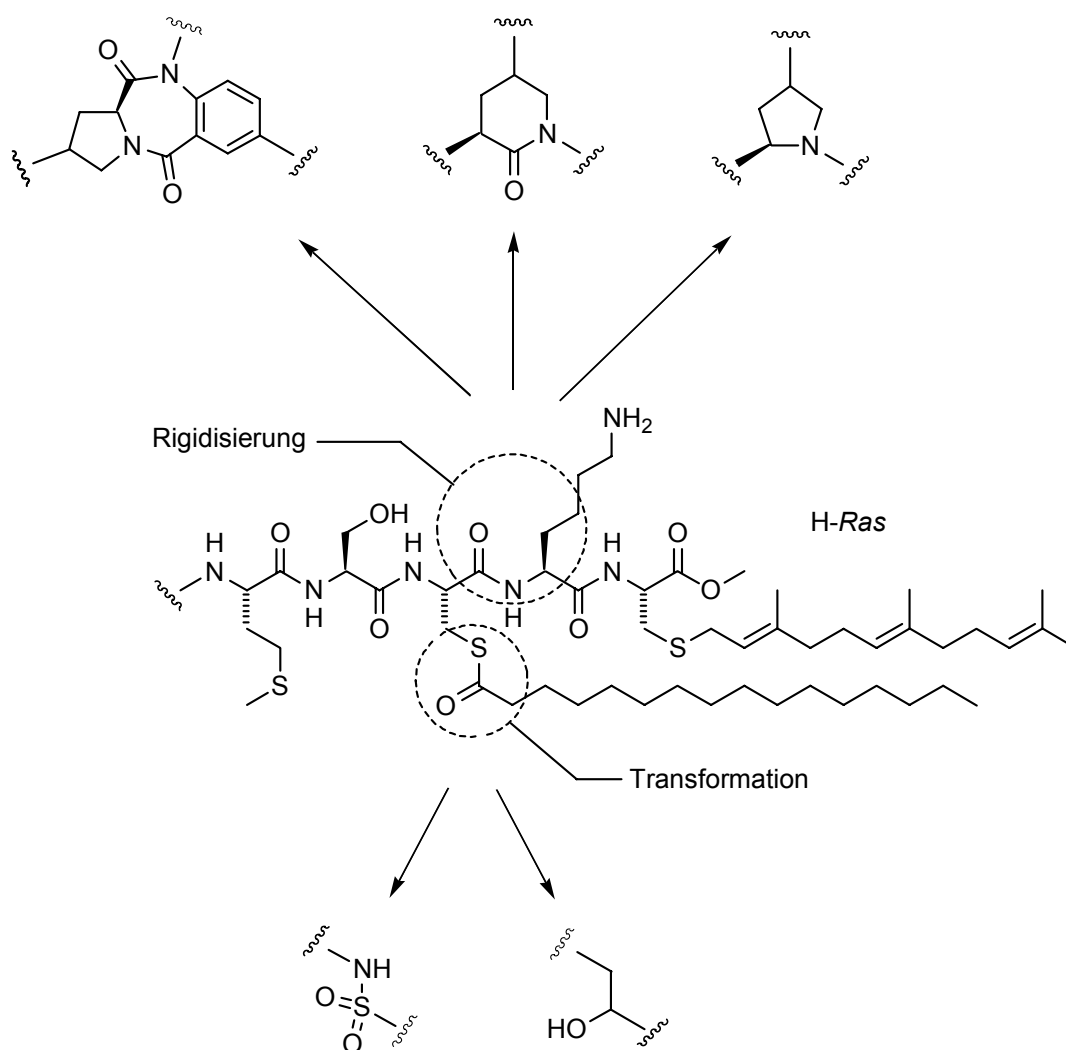
**Abbildung 6:** Ziele der vorliegenden Arbeit.

Nach Isolierung der APT1 aus Rattenleber<sup>[14]</sup> sollte dann ein fluoreszenzbasiertes Assaysystem entwickelt werden, um die inhibitorische Wirkung der generierten Verbindungen zu evaluieren. Auf diese Weise sollte ein Zugang zu wirksamen Inhibitoren geschaffen werden, die abschließend in biologischen Untersuchungen helfen sollten, wertvolle neue Erkenntnisse zum Vorgang der Palmitoylierung bzw. Depalmitoylierung von Signalproteinen zu erlangen.

## 4. Spezieller Teil

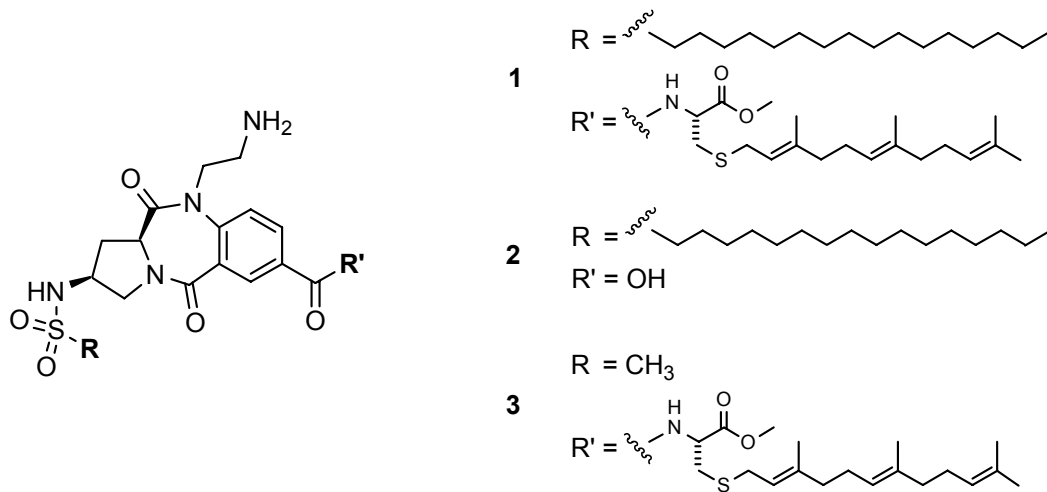
### 4.1. Konzeption der zu synthetisierenden Mimetika

Das menschliche H-Ras-Protein stellt *in vitro* ein Substrat für die Acyl-Protein-Thioesterase 1 (APT1) dar. Aus diesem Grund wurde H-Ras als Basis für die Konzeption<sup>[57-59]</sup> der potenziellen Inhibitoren gewählt (Abbildung 7). Der Thioester sollte hierbei im Hinblick auf den postulierten Mechanismus der Enzymreaktion (vgl. Abschnitt 2.3.2) in eine Sulfonamideinheit beziehungsweise eine sekundäre Alkoholfunktion transformiert werden. Um den Verbindungen eine gewisse konformationelle Fixierung zu geben, sollte ein Teil des Peptidrückgrats durch Benzodiazepin-,  $\delta$ -Lactam- oder Prolin-Grundkörper ersetzt werden.



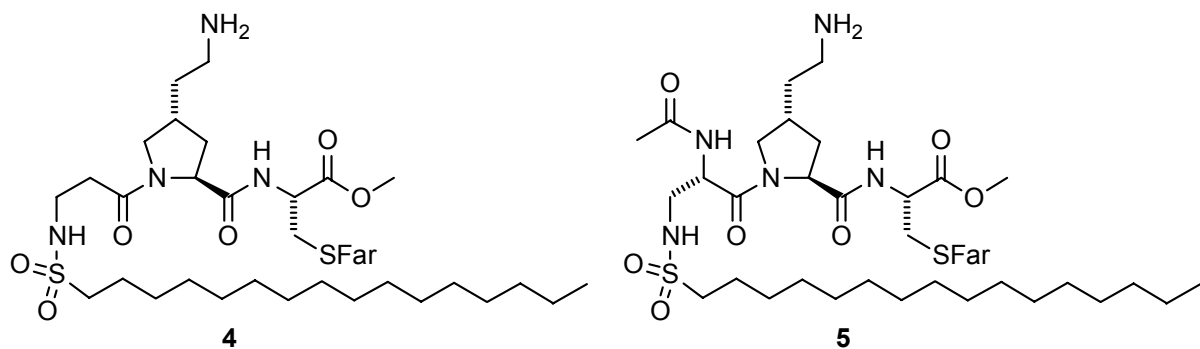
**Abbildung 7:** Konzeption der zu synthetisierenden Mimetika.

Unter den zu synthetisierenden Benzodiazepinen befinden sich die Strukturen **1**, **2** und **3**. **1** ist hierbei doppelt lipidmodifiziert, **2** und **3** besitzen jeweils einen Lipidrest (Abbildung 8).



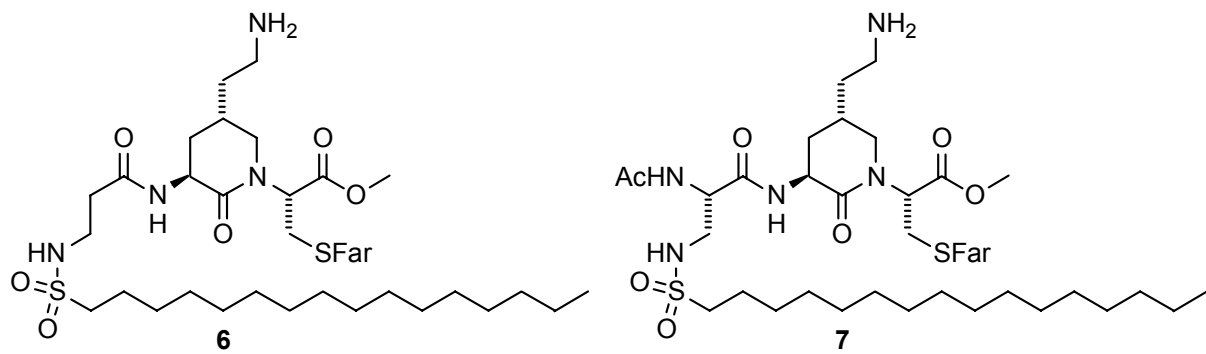
**Abbildung 8:** Zu synthetisierende Benzodiazepine.

Die beiden Prolinderivate **4** und **5**, die als Inhibitoren vorgesehen sind, unterscheiden sich lediglich in der N-terminalen Aminosäure. Bei Verbindung **4** ist diese ein  $\beta$ -Alaninderivat, beim Prolinderivat **5** handelt es sich um eine Diaminopropionsäure (Abbildung 9).



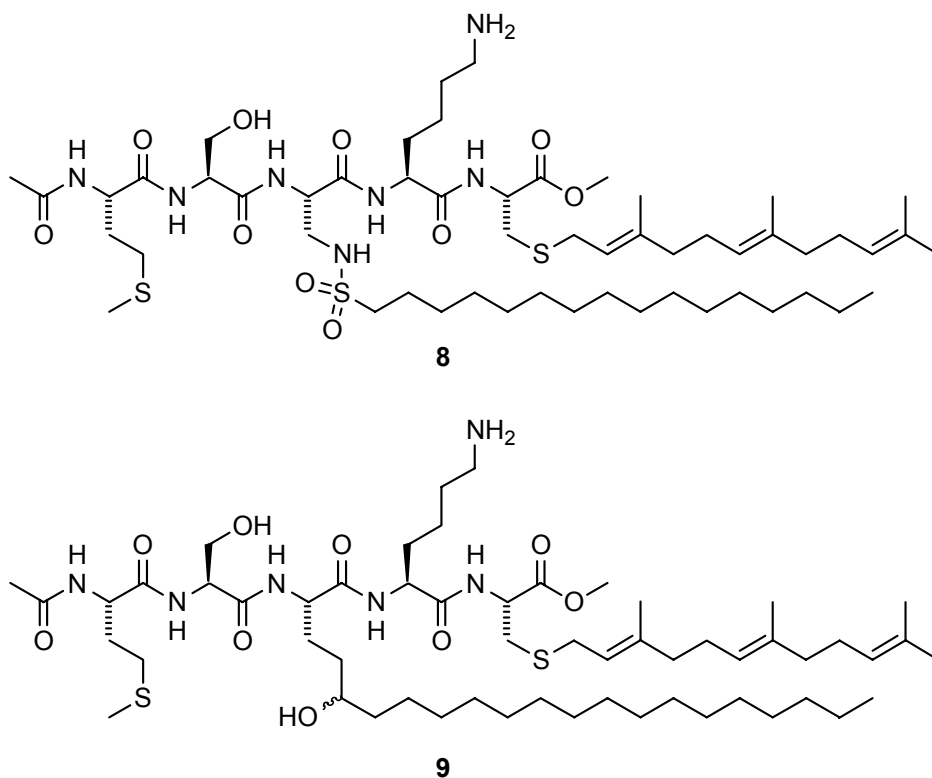
**Abbildung 9:** Zu synthetisierende Prolinderivate.

Auch die beiden Lactame **6** und **7** unterscheiden sich in der N-terminal angeknüpften Aminosäure (Abbildung 10). Wie bei den Prolinderivaten bestehen diese auch hier aus modifizierten  $\beta$ -Alanin- und Diaminopropionsäureeinheiten.



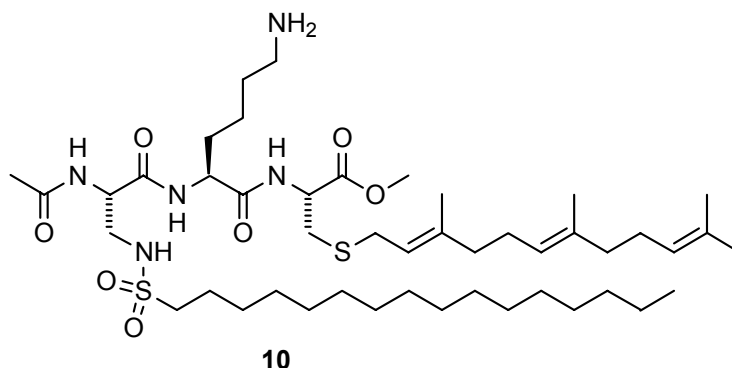
**Abbildung 10:** Zu synthetisierende Lactame.

Die beiden geplanten Pentapeptide tragen jeweils zentral unterschiedliche Aminosäuren (Abbildung 11). Bei Verbindung **8** handelt es sich um ein Diaminopropionsäurederivat, bei Peptid **9** um eine von Homoserin abgeleitete C<sub>21</sub>-Aminosäure.



**Abbildung 11:** Zu synthetisierende Pentapeptide.

Das als Inhibitor vorgesehene Tripeptid **10** ist in Abbildung 12 dargestellt. Auch hier wurde das palmitoylierte Cystein durch eine modifizierte Diaminopropionsäure ersetzt.



**Abbildung 12:** Zu synthetisierendes Tripeptid.

Mit den vorgestellten Strukturen sollten Verbindungen zugänglich sein, die ein hohes inhibitorisches Potenzial mit einer guten chemischen Stabilität vereinen. Dies sind die Grundvoraussetzungen für eine anschließende biologische Evaluierung an unterschiedlichen Zellsystemen.

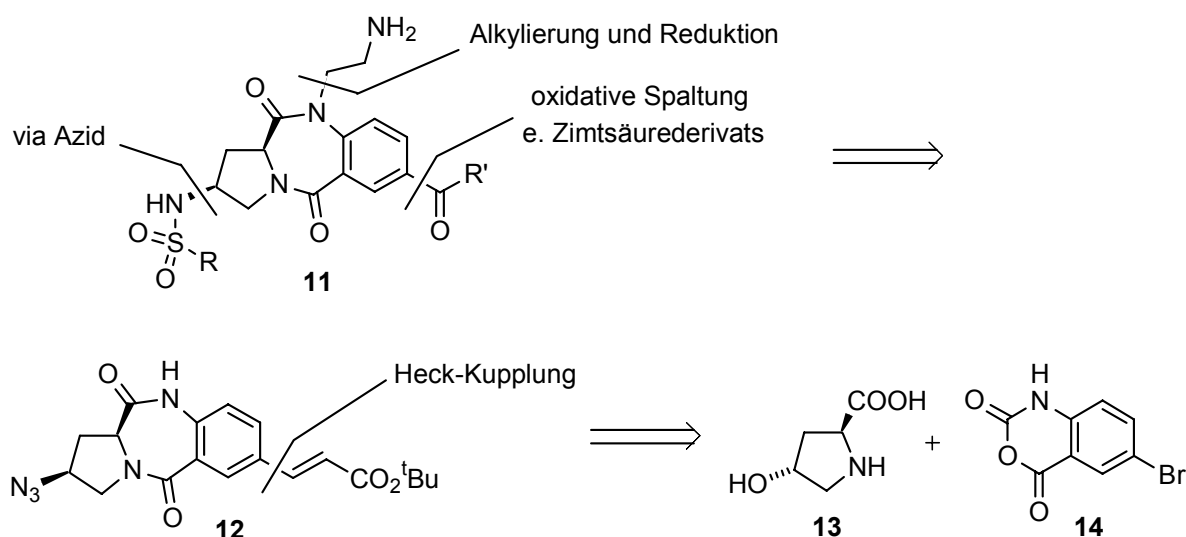
## 4.2. Synthese der unterschiedlich modifizierten Benzodiazepin-Mimetika

### 4.2.1. Retrosynthetische Analyse

Bei einer retrosynthetischen Betrachtung der allgemeinen Zielstruktur **11** fällt deren modularer Aufbau ins Auge (Schema 1). Die Aminoethylgruppe kann hier durch Alkylierung der Amidfunktion mit Bromacetonitril und anschließender Reduktion der Cyanogruppe aufgebaut werden. Die Acylgruppe am Benzolring sollte durch eine oxidative Spaltung eines entsprechenden Zimtsäurederivats **12** generierbar sein. Dieses kann konventionell über eine Heck-Kupplung erhalten werden. Die Sulfonamidstruktur in **11** könnte über die Einführung einer Azidgruppe nach deren Reduktion dargestellt werden. Das Benzodiazepin-Grundgerüst selbst ließe sich durch Kondensation von 4-(*R*)-Hydroxy-L-prolin **13** und



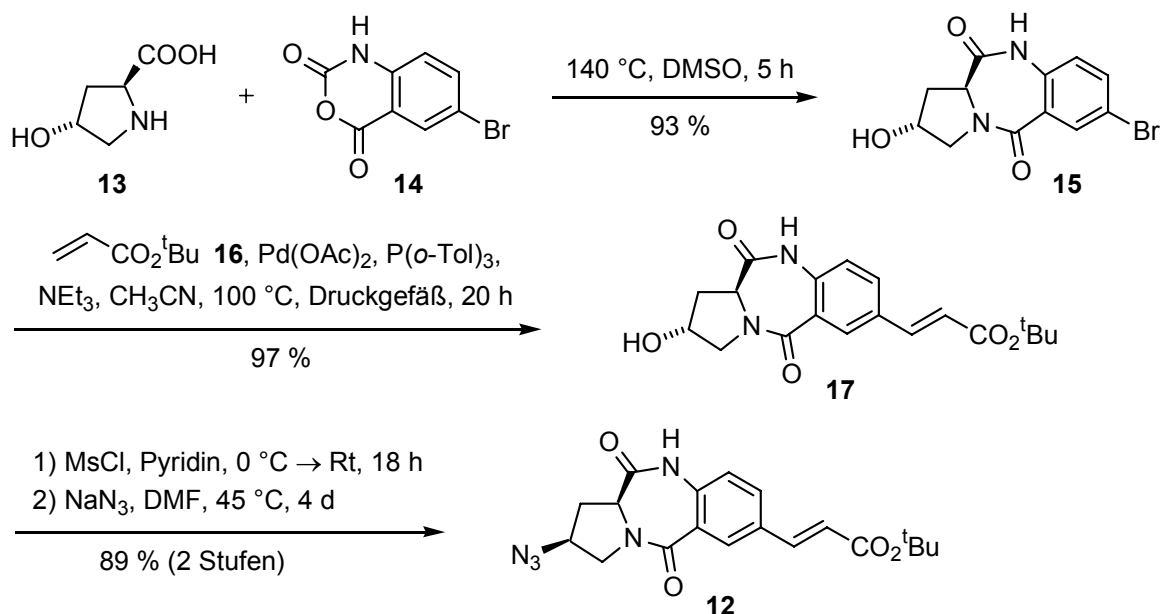
5-Bromisatosäureanhydrid **14** generieren. Insgesamt bietet die vorgestellte Benzodiazepin-Struktur breite Variationsmöglichkeiten der verschiedenen Gruppen, was im Rahmen der geplanten Wirkstruktursuche grundsätzlich von Vorteil ist.



**Schema 1:** Retrosynthetische Analyse der Benzodiazepin-Strukturen.

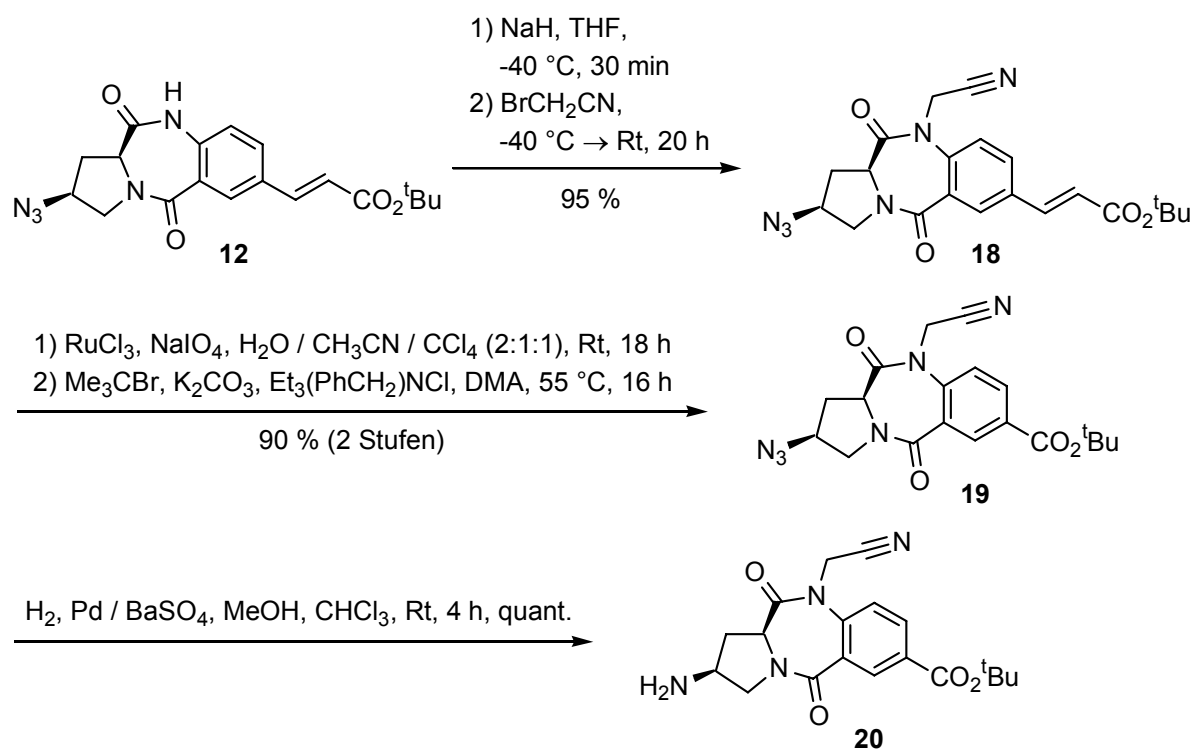
#### 4.2.2. Synthese des zweifach lipidmodifizierten Benzodiazepins

Der Beginn der Synthese führte über eine Kondensationsreaktion von *trans*-Hydroxy-L-prolin **13** und 5-Bromisatosäureanhydrid **14** zum Benzodiazepin-Grundgerüst<sup>[60,61]</sup>, welches auf diese Weise in hoher Ausbeute erhalten werden konnte (Schema 2). Eine sich anschließende Heck-Reaktion<sup>[62,63]</sup> mit Acrylsäure-*tert*-butylester **16** in einem Druckgefäß transformierte das Bromid in das entsprechende Zimtsäurederivat **17**. Hierbei wurde zunächst mit Triphenylphosphin als Ligand gearbeitet, wobei jedoch eine maximale Ausbeute von 20 % erzielt werden konnte. Durch Verwendung von Tri-*o*-tolylphosphin<sup>[64]</sup> als Ligand für das Palladium konnte diese auf 97 % gesteigert werden. Im weiteren Verlauf wurde die Hydroxygruppe unter Standardbedingungen mesyliert und nachfolgend zum Azid **12** derivatisiert. Hierbei mussten 50 Äquivalente Natriumazid, sowie lange Reaktionszeiten angewendet werden, um präparativ wertvolle Ausbeuten zu erhalten. Schließlich konnte die Verbindung **12** mit 89 % Ausbeute über zwei Stufen ausgehend vom Alkohol **17** erhalten werden.



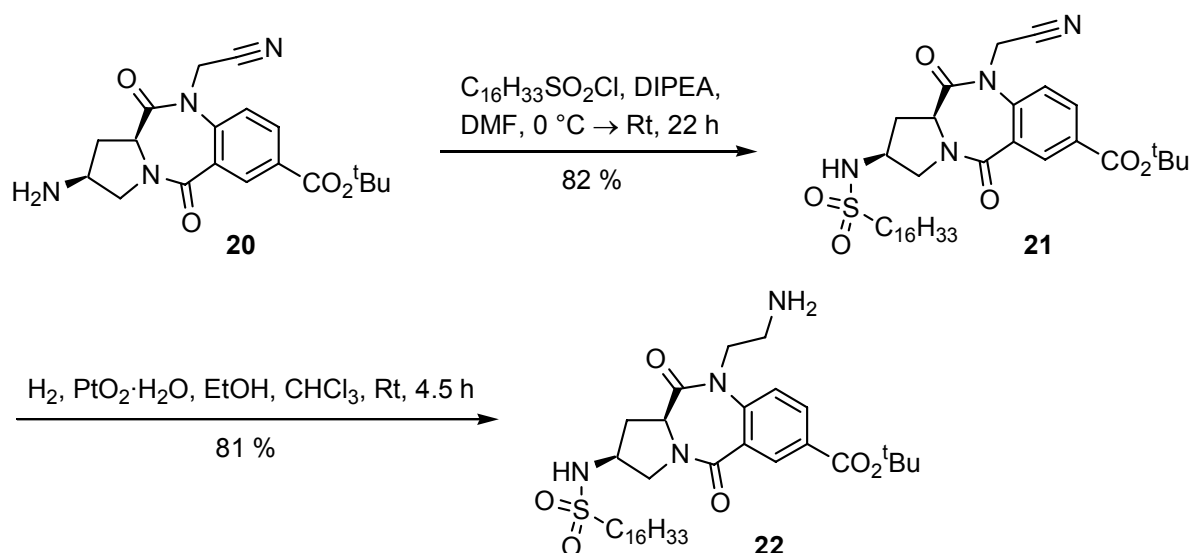
**Schema 2:** Synthese des Azido-Zimtsäurederivats **12**.

Für die Einführung der Aminoethylgruppe sollte nun die Amidfunktion in **12** alkyliert werden. Hierzu wurde die Verbindung **12** zunächst bei  $-40\text{ }^\circ\text{C}$  mit Natriumhydrid deprotoniert und anschließend mit Bromacetonitril als Elektrophil gequench (Schema 3). Es gelang so, eine Ausbeute von 95 % an alkyliertem Benzodiazepin **18** zu erzielen. Ursprünglich war an dieser Stelle geplant, an die Zimtsäureester-Gruppe als Michael-Akzeptor mit Farnesylthiol nukleophil zu addieren. Da diese Syntheseroute jedoch bereits in der Gruppe von Prof. Dr. A. Giannis an der Universität Karlsruhe im Rahmen einer Kooperation angegangen worden war, wurde entschieden die Kettenlänge an dieser Stelle zu verkürzen und eine oxidative Spaltung der Doppelbindung vorzunehmen. Dies konnte mit Ruthenium(III)chlorid und Natriumperodat als Spaltungsreagenzien erreicht werden. Hierbei wird zunächst die Doppelbindung durch *in situ* generiertes Ruthenium(VIII)oxid bishydroxyliert und anschließend mit Natriumperodat einer Glycolspaltung unterzogen.<sup>[65]</sup> Die nachfolgende Umsetzung mit *tert*-Butylbromid<sup>[66,67]</sup> führte zum *tert*-Butylester **19** in hoher Ausbeute. Die selektive Reduktion der Azidfunktion zum Amin **20** in Gegenwart eines Nitrils gelang in quantitativem Umfang durch Hydrogenolyse unter Verwendung von Palladium auf Bariumsulfat. Das in geringen Mengen eingesetzte Chloroform spielt hierbei als kontrollierte Chlorwasserstoffquelle eine entscheidende Rolle als aktivierendes Reagenz.<sup>[68]</sup> Ohne Zusatz von Chloroform verlief die Reaktion äußerst langsam, wobei erhebliche Mengen an reduziertem Nitril gefunden wurden.



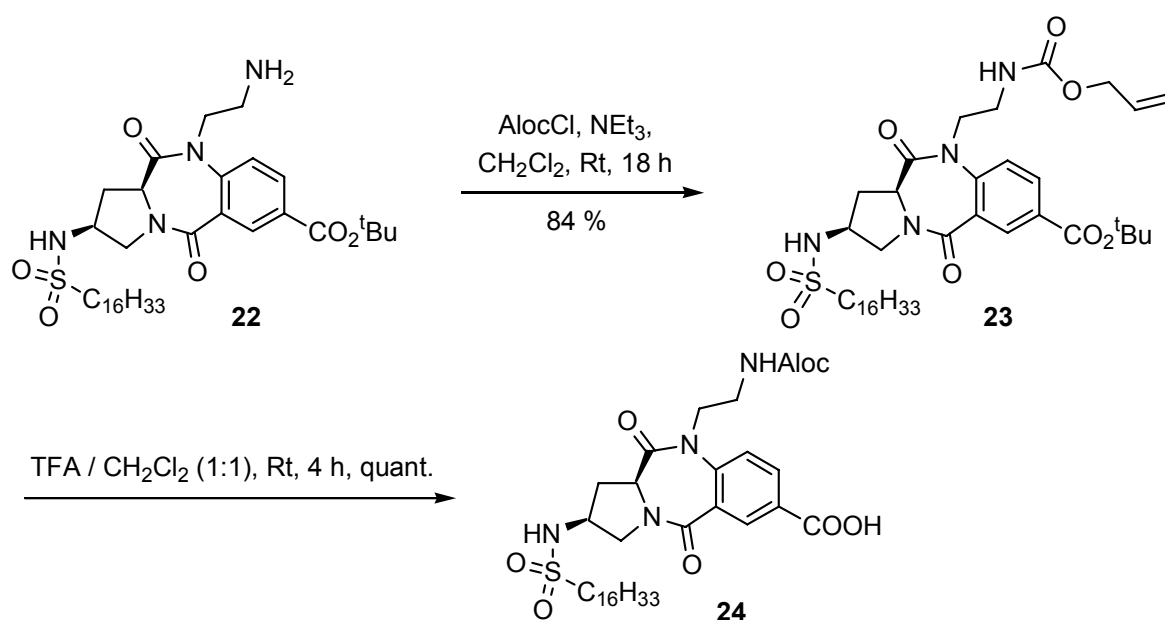
**Schema 3:** Darstellung des Aminoesters **20**.

Die weitere Derivatisierung von **20** wurde nun durch Umsetzung der Aminofunktionalität mit Hexadecansulfonsäurechlorid zum entsprechenden Sulfonamid **21** vorgenommen (Schema 4). Hierbei wurde als Base Ethyldiisopropylamin eingesetzt und das Produkt in guter Ausbeute erhalten. Die nachfolgende hydrogenolytische Reduktion der Nitrilfunktion mit Platin(IV)oxid als Katalysator ergab das Amin **22** mit 81 % Ausbeute. Auch hier fungiert das in Spuren zugesetzte Chloroform als aktivierendes Agens unter Bildung von Chlorwasserstoff.<sup>[68]</sup> Ohne Zusatz von Chloroform fand auch hier so gut wie keine Reaktion statt. Die Abtrennung des entstehenden Platins gestaltete sich mitunter schwierig. In einigen Fällen wurde ein extrem fein verteilter Niederschlag von Platin erhalten, der nur durch mehrmalige chromatographische Aufreinigung entfernt werden konnte. Die Reaktion selbst verläuft jedoch sehr glatt und ist hervorragend geeignet, um Nitrile zu reduzieren. Im Vergleich zur Reduktion mit Raney-Nickel, bei der oftmals hohe Drücke und erhöhte Temperaturen nötig sind, kann hier mittels eines Wasserstoff-Ballons und bei Raumtemperatur gearbeitet werden.



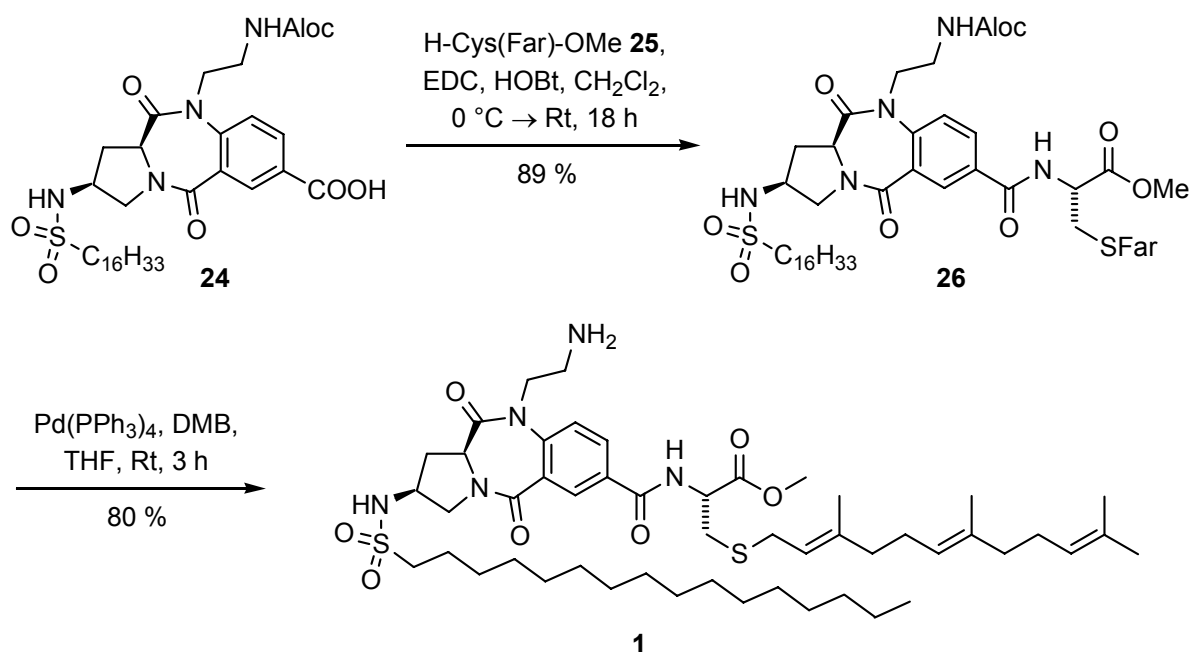
**Scheme 4:** Darstellung des derivatisierten Sulfonamids **22**.

Die auf diese Weise generierte Aminofunktion in **22** sollte nun für die weitere Synthese geschützt werden. Hierfür wurde die Allyloxycarbonylgruppe<sup>[69]</sup> gewählt. Die anschließende saure Spaltung des *tert*-Butylesters in Verbindung **23** lieferte sodann die kupplungsfähige Carbonsäure **24** in quantitativer Ausbeute.



**Scheme 5:** Darstellung der kupplungsfähigen Carbonsäure **24**.

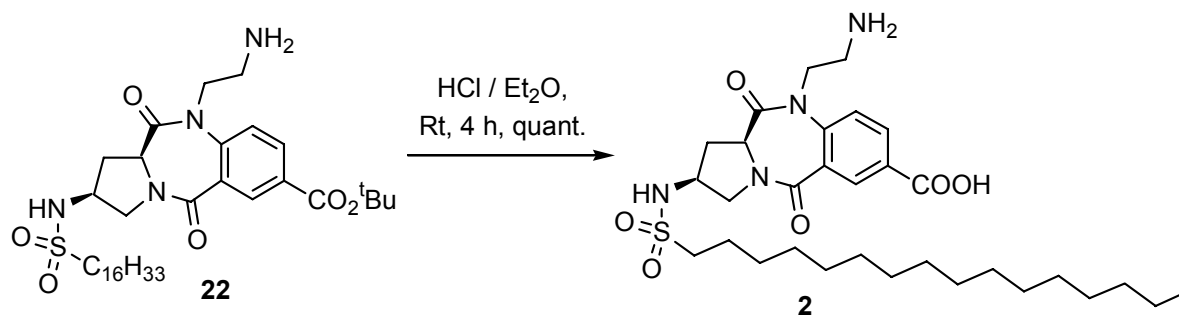
Für die Synthese des zweifach lipidmodifizierten Benzodiazepins wurde nun die Carbonsäure **24** mit farnesyliertem L-Cysteinmethylester<sup>[70]</sup> **25** zum entsprechenden Amid **26** gekuppelt. (Schema 6). Durch nachfolgende Abspaltung der Allyloxycarbonyl-Schutzgruppe mittels Palladiumkatalyse<sup>[71-73]</sup> und *N,N'*-Dimethylbarbitursäure als Allylakzeptor konnte das Zielmolekül **1** in hoher Ausbeute dargestellt werden.



**Schema 6:** Darstellung des zweifach lipidmodifizierten Benzodiazepins **1**.

#### 4.2.3. Synthese des monolipidierten Benzodiazepins

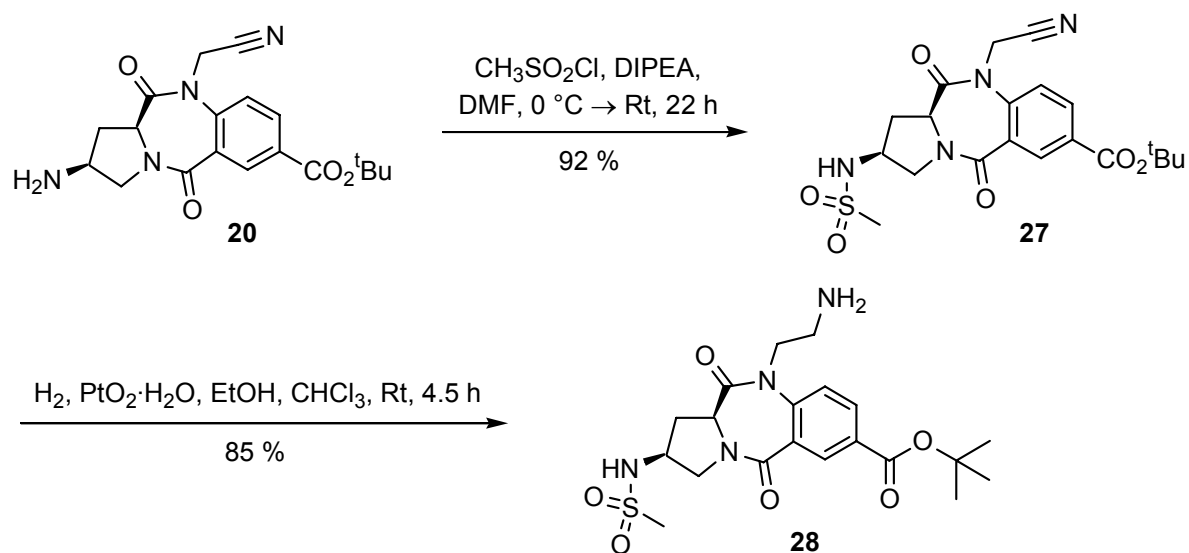
Um Aussagen darüber machen zu können, welche funktionelle Gruppen für eine eventuelle Inhibition notwendig sind, sollten verschiedene Derivate von **1** synthetisiert werden. Für die Darstellung der hexadecylierten und an der Carboxylfunktion deblockierten Verbindung **2** konnte vom bereits vorgestellten Benzodiazepin **22** ausgegangen werden, wobei lediglich die *tert*-Butylschutzgruppe entfernt werden musste (Schema 7). Dies gelang quantitativ mit einer gesättigten Lösung von Chlorwasserstoff in Diethylether. Das resultierende Zielmolekül, die Aminosäure **2**, konnte nach Digerieren mit Ethylacetat in reiner Form erhalten werden



**Schema 7:** Darstellung des ausschließlich hexadecylierten Benzodiazepins **2**.

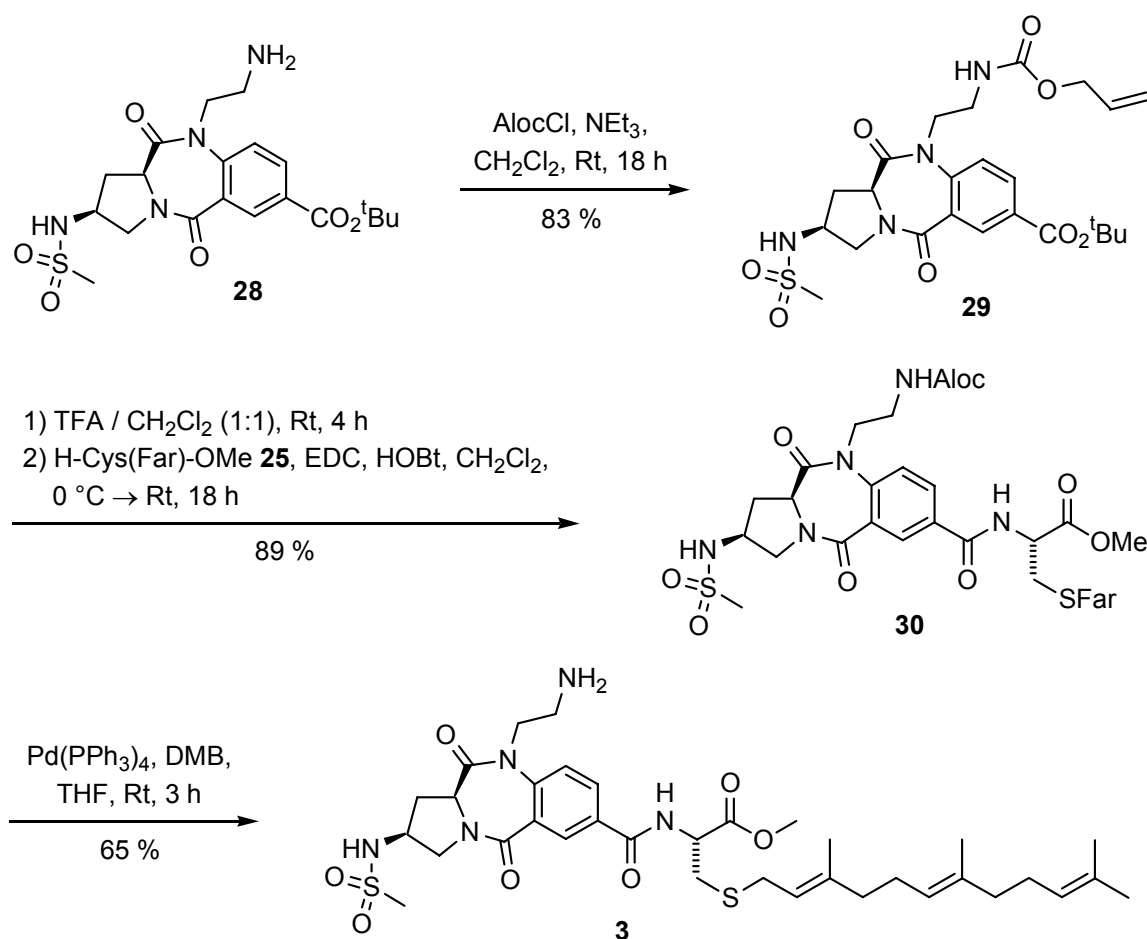
#### 4.2.4. Synthese des farnesylierten und mesylierten Benzodiazepins

Für die Darstellung der gewünschten Verbindung mit Farnesyl- und Mesylrest konnte vom in Abschnitt 4.1.2. bereits beschriebenen Aminoester **20** ausgegangen werden. Die Umsetzung mit Methansulfonsäurechlorid führte in nahezu quantitativer Ausbeute zum Sulfonamid **27** (Schema 8). Die Cyanogruppe wurde anschließend mit Platin(IV)oxid als Katalysator hydrogenolytisch reduziert.<sup>[68]</sup> In einer glatten Reaktion konnte so das Amin **28** in hoher Ausbeute dargestellt werden. Dieses Derivat sollte später ebenfalls in Inhibitionsstudien Verwendung finden.



**Schema 8:** Darstellung des mesylierten Sulfonamids **28**.

Für die Vervollständigung der Synthese des farnesylierten Zielmoleküls musste nun wieder die erzeugte Aminofunktion blockiert werden. Auch hier wurde die Allyloxycarbonylgruppe gewählt, die mit 83 %iger Ausbeute eingeführt werden konnte (Schema 9). Die Spaltung des *tert*-Butylesters in **29** mit Trifluoressigsäure führte zur freien Carbonsäure, die mit farnesyliertem L-Cysteinmethylester **25** in hoher Ausbeute zum entsprechenden Amid **30** umgesetzt werden konnte. Als Kupplungsreagenzien fanden hier wieder EDC und HOBt Verwendung. Die abschließende palladiumvermittelte Deblockierung der Aminofunktion verlief mit einer noch akzeptablen Ausbeute von 65 % unter Generierung der gewünschten Zielverbindung **3**.



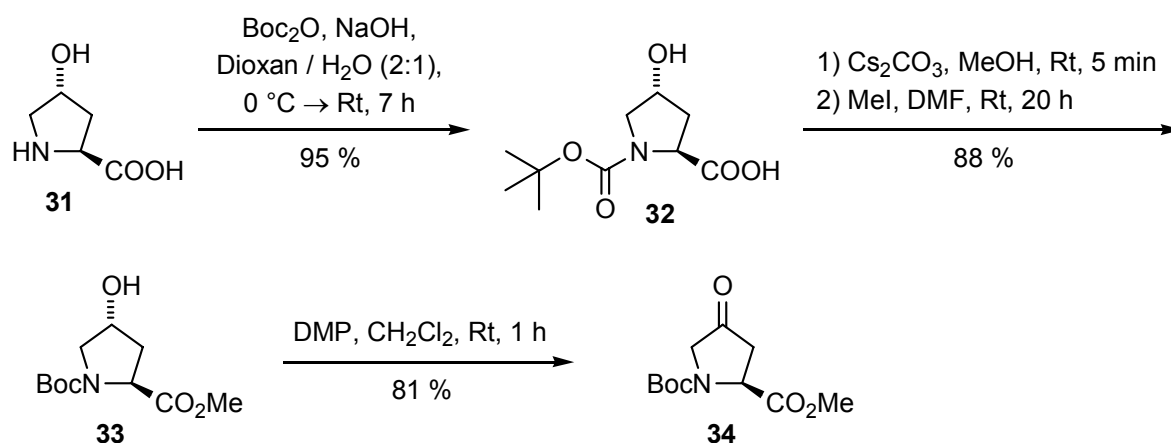
**Schema 9:** Darstellung des mesylierten und farnesylierten Benzodiazepins **3**.

Das Verhalten der synthetisierten Verbindungen in den Inhibitionstests und biologischen Studien wird in Kapitel 4.8. erläutert und beurteilt.

### 4.3. Synthese der Mimetika mit Prolin-Substruktur

#### 4.3.1. Synthese des zentralen, kupplungsfähigen Prolinderivats

Die Synthese des zentralen, modifizierten Prolin-Bausteins ging aus von 4-(*R*)-Hydroxy-L-Prolin **31**, welches durch Umsetzung mit Di-*tert*-butyldicarbonat unter Schotten-Baumann-Bedingungen<sup>[74]</sup> an der Aminofunktion mit der *tert*-Butyloxycarbonylfunktion blockiert wurde (Schema 10). Anschließend wurde die freie Carboxylfunktion in **32** mit der Cäsiumcarbonat-Methode verestert, wobei zunächst das Cäsiumsalz der Säure generiert wird, welches anschließend mit Methyljodid abgefangen wird. Das Produkt **33** konnte so in guter Ausbeute erhalten werden. Die verbliebene Hydroxylfunktion wurde nachfolgend mittels Dess-Martin-Periodinan (DMP)<sup>[75]</sup> mit einem guten Ergebnis zum Keton **34** oxidiert. Dieses erwies sich als äußerst stabil und bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  über einen längeren Zeitraum als lagerungsfähig.

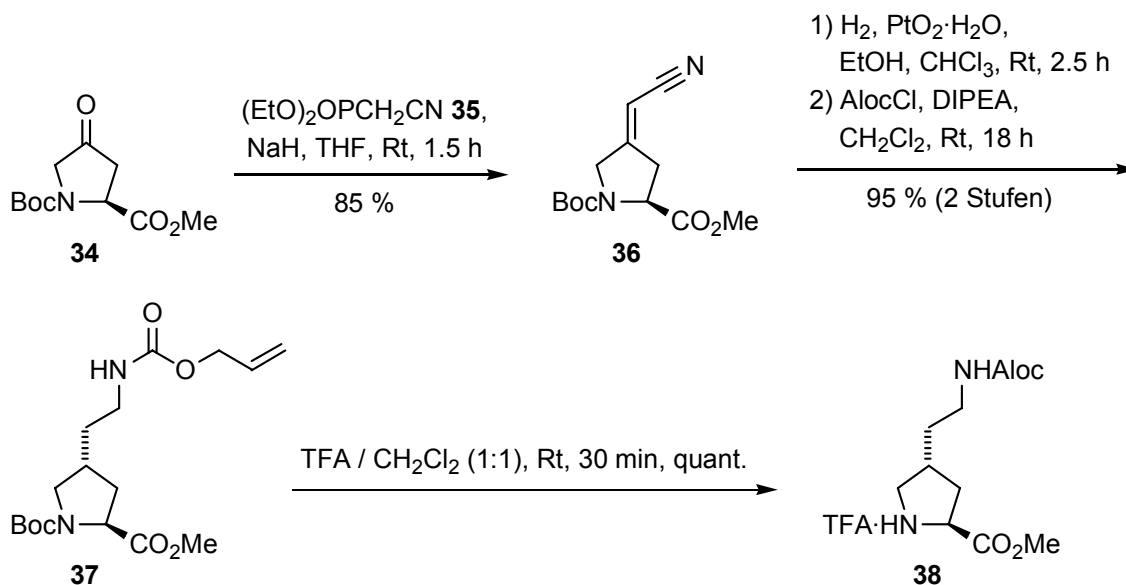


**Schema 10:** Darstellung des Ketons **34**.

Für die Erzeugung der gewünschten Aminoethylgruppe sollte im Folgenden zunächst mittels Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion (HWE)<sup>[76]</sup> ein Acrylnitril-Derivat aufgebaut werden, welches anschließend reduziert werden sollte. Hierzu wurde das Keton **34** mit Cyanomethyldiethylphosphonat **35** umgesetzt, wobei in guter Ausbeute die Cyanomethylenverbindung **36** resultierte (Schema 11). Diese wurde im weiteren Verlauf hydrogenolytisch mittels Platin(IV)oxid-Katalyse reduziert. Hierbei konnte festgestellt werden, dass lediglich das Reduktionsprodukt mit (*S*)-Konfiguration am neu generierten Stereozentrum entstanden war. Dies ist scheinbar auf den sterischen Anspruch der Boc-



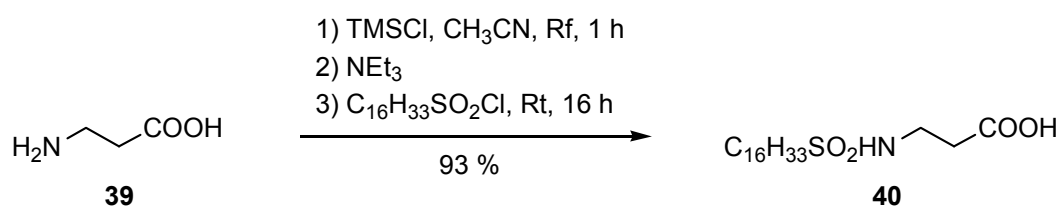
Gruppe zurückzuführen. Aufgrund dieser ist eine Wasserstoff-Übertragung nur von einer Seite her möglich. Die weitere Umsetzung erfolgte ohne Aufreinigung sofort mit Chlorameisensäureallylester zum Aloc-geschützten Prolin **37**. Die Abspaltung der *tert*-Butyloxycarbonylgruppe gelang quantitativ unter Generierung des zentralen Prolins **38**.



**Schema 11:** Darstellung des zentralen Prolin-Bausteins **38**.

#### 4.3.2. Synthese des $\beta$ -Alanin-Sulfonamids

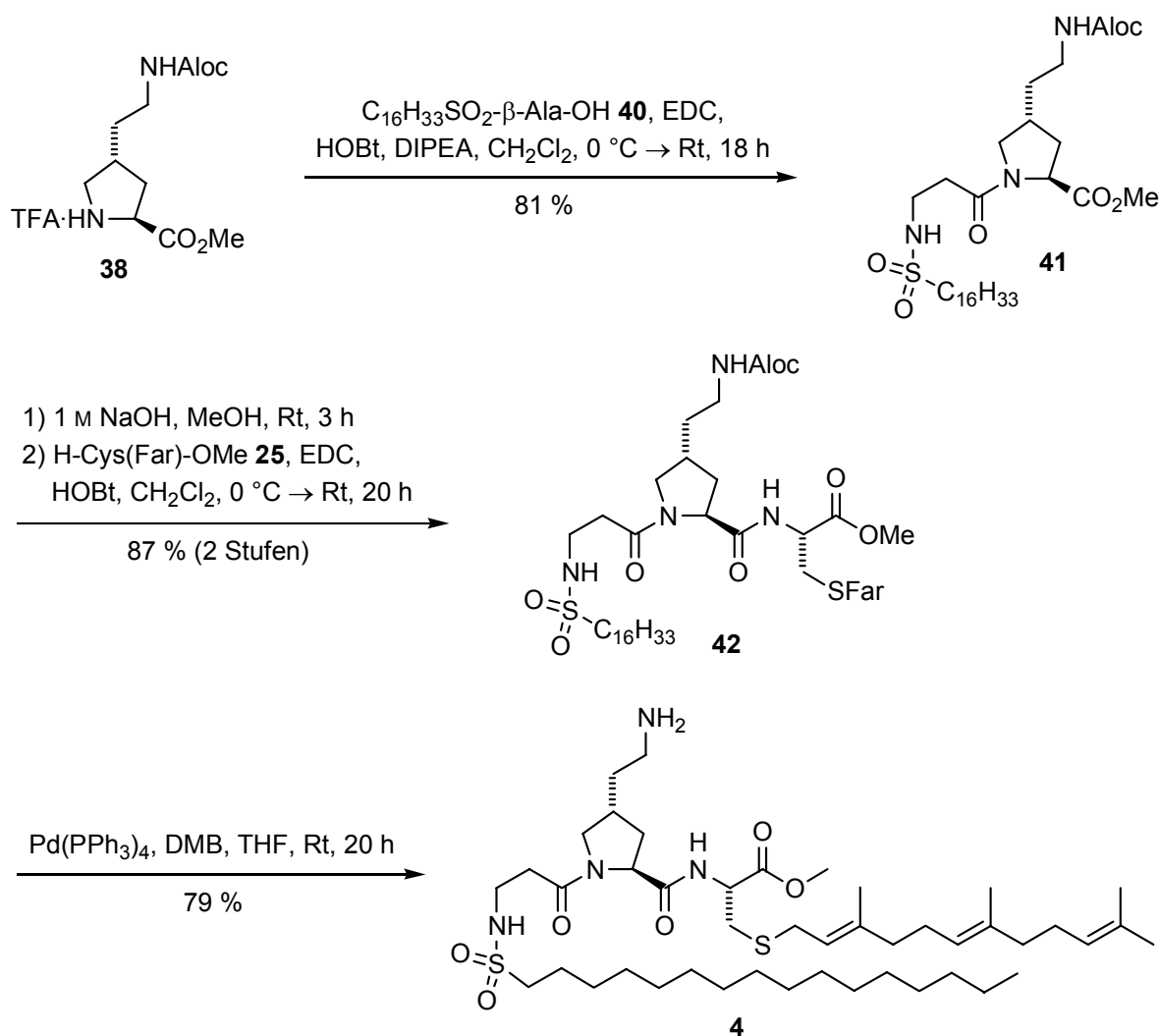
Das für die Kupplung mit dem Prolinderivat **38** benötigte  $\beta$ -Alanin-Sulfonamid wurde auf effiziente Weise dargestellt (Schema 12).<sup>[77]</sup> Zunächst wurde mit Chlortrimethylsilan die Carboxylfunktion im  $\beta$ -Alanin **39** temporär blockiert; danach wurde mit Hexadecansulfonsäurechlorid die Sulfonamidgruppierung erzeugt. Das  $\beta$ -Alaninderivat **40** konnte so in einer hervorragenden Ausbeute von 93 % erhalten werden.



**Schema 12:** Darstellung des  $\beta$ -Alaninderivats **40**.

### 4.3.3. Synthese des $\beta$ -Alanyl-Prolyl-Cystein-Mimetikums

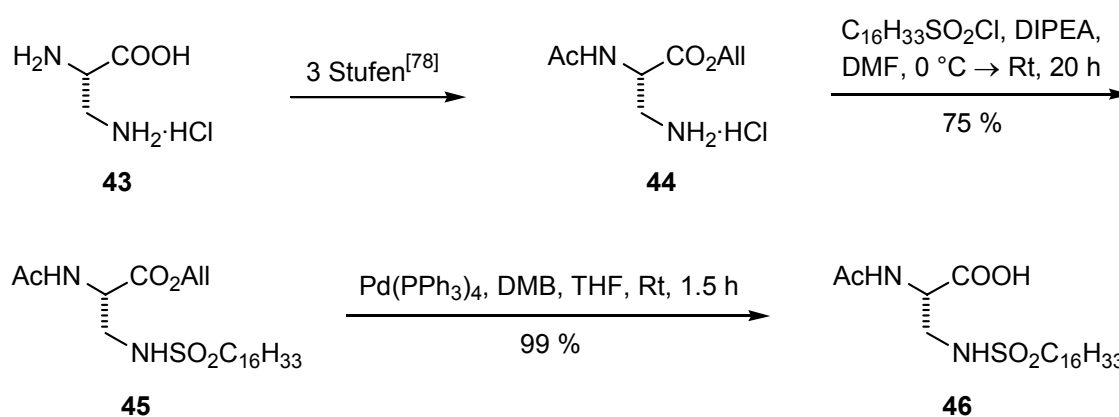
Um die Synthese des ersten Prolin-Mimetikums zu vervollständigen, lagen nun alle Bausteine vor. Zunächst wurde das Trifluoressigsäuresalz **38** mit dem  $\beta$ -Alanin-Sulfonamid **40** zum Dipeptid **41** verknüpft (Schema 13). Die Verwendung von EDC und HOBt als Kupplungsreagenzien lieferte hierbei gute Ergebnisse. Anschließend wurde der Methylester mit 1 M Natriumhydroxidlösung verseift. Ohne weitere Aufarbeitung konnte dieser mit farnesyliertem L-Cysteinmethylester **25** zum geschützten Tripeptid **42** gekuppelt werden. Die Ausbeute betrug hierbei 87 % über zwei Stufen. Die finale Deblockierung der Aminofunktion mittels palladiumkatalysierter Allylübertragung führte mit einem guten Ergebnis von 79 % zur Zielverbindung **4**. Somit stand der erste Vertreter einer weiteren Substanzklasse für die Inhibitionsstudien zur Verfügung.



**Schema 13:** Darstellung des ersten Prolin-Mimetikums **4**.

#### 4.3.4. Synthese des Diaminopropionsäurederivats

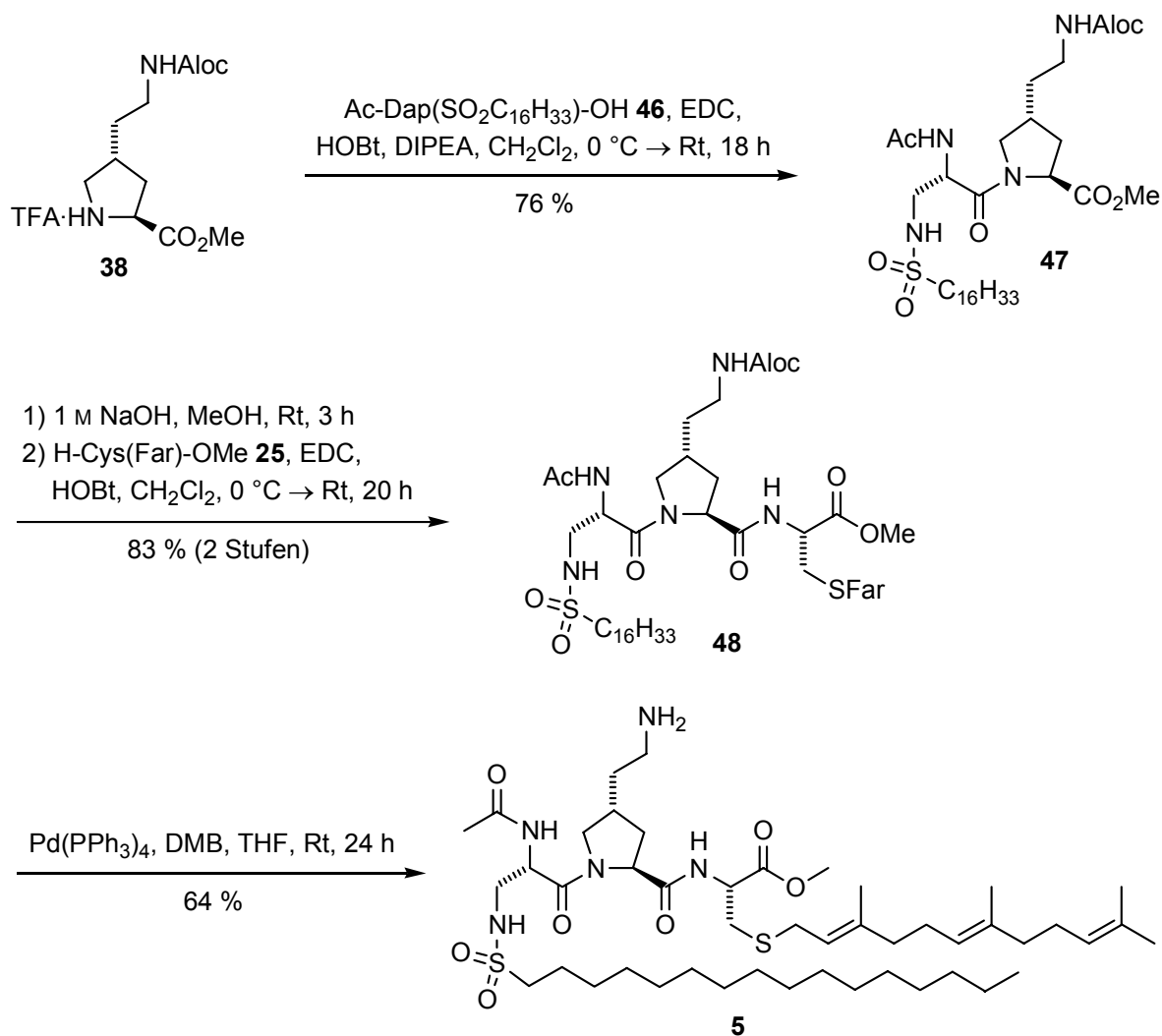
Für die Synthese des zweiten Prolin-Mimetikums war es notwendig ein entsprechend modifiziertes Diaminopropionsäurederivat herzustellen. Ausgehend von L-Diaminopropionsäurehydrochlorid **43** wurde zunächst in drei Stufen<sup>[78]</sup> der acetylierte Allylester **44** synthetisiert (Schema 14). Bei der anschließenden Umsetzung der Aminofunktion mit Hexadecansulfonsäurechlorid konnte das Sulfonamid **45** mit 75 % Ausbeute erhalten werden. Um die kupplungsfähige Komponente **46** zu erhalten, musste nun nur noch die Allylgruppe entfernt werden, was mit einer sehr hohen mit einer Ausbeute von 99 % gelang.



**Schema 14:** Darstellung des kupplungsfähigen Diaminopropionsäurederivats **46**.

#### 4.3.5. Synthese des Diaminopropionsäure-Prolin-Cystein-Mimetikums

Der weitere Verlauf der Synthese folgte der in Abschnitt 4.2.3. bereits beschriebenen Sequenz. Zunächst wurde die Diaminopropionsäure **46** mittels EDC und HOBt an das Prolin **38** angeknüpft (Schema 15). Anschließend konnte der Methyl ester in **47** auf die schon gezeigte Weise verseift werden. Ohne jede Aufarbeitung wurde nun das Cysteinderivat **25** aufgekuppelt. Auch hier konnte ein sehr gutes Ergebnis erzielt werden. Abschließend wurde vom Tripeptid **48** mit Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) und *N,N'*-Dimethylbarbitursäure die Aloc-Gruppe entfernt. Hierbei war eine etwas längere Reaktionszeit von 24 h vonnöten. Dennoch konnte die gewünschte Zielverbindung **5** in akzeptabler Ausbeute erhalten werden.



**Schema 15:** Darstellung des zweiten Prolin-Mimetikums **5**.

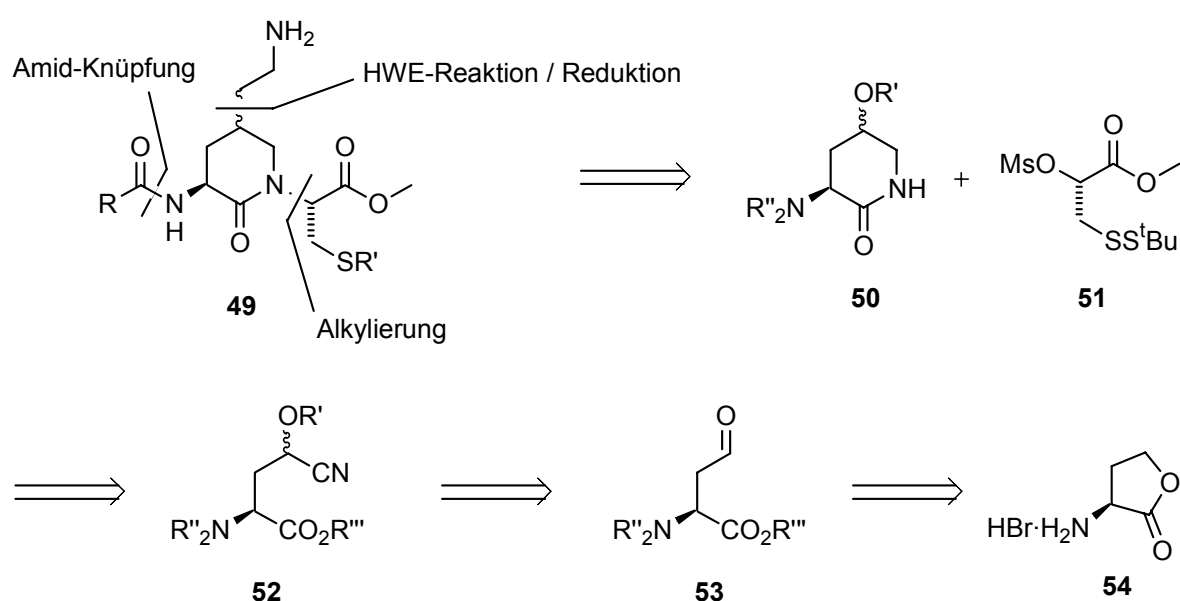
Die Untersuchung der synthetisierten Verbindungen in den Inhibitionstests und biologischen Studien ist in Kapitel 4.8. dargelegt.

## 4.4. Synthese der Lactam-Mimetika

### 4.4.1. Retrosynthetische Analyse

Bei einer retrosynthetischen Betrachtung der allgemeinen Zielstruktur **49** fällt, ähnlich wie bei den Benzodiazepin-Strukturen, ihr modularer Aufbau ins Auge (Schema 16). Die Aminoethylfunktion könnte hier, wie schon in Kapitel 4.3. gezeigt, nach einer HWE-Reaktion

zum Acrylnitrilderivat durch Reduktion erhalten werden. Das exocyclische Amid ließe sich durch eine konventionelle Synthese darstellen. Die Derivatisierung des Lactam-Stickstoffs könnte durch eine Alkylierung der Verbindung **50** mit dem Mesylat **51** geschehen. Der Aufbau der Lactamstruktur würde über ein Nitril nach dessen Reduktion zum Amin erfolgen. Das hierfür benötigte Cyanhydrinderivat **52** ließe sich aus dem Aldehyd **53** und dieser letztlich aus 2-(*S*)-Aminobutyrolactonhydrobromid **54** darstellen. Insgesamt bietet auch diese Synthesestrategie breite Variationsmöglichkeiten bei der Anknüpfung unterschiedlicher funktioneller Gruppen.

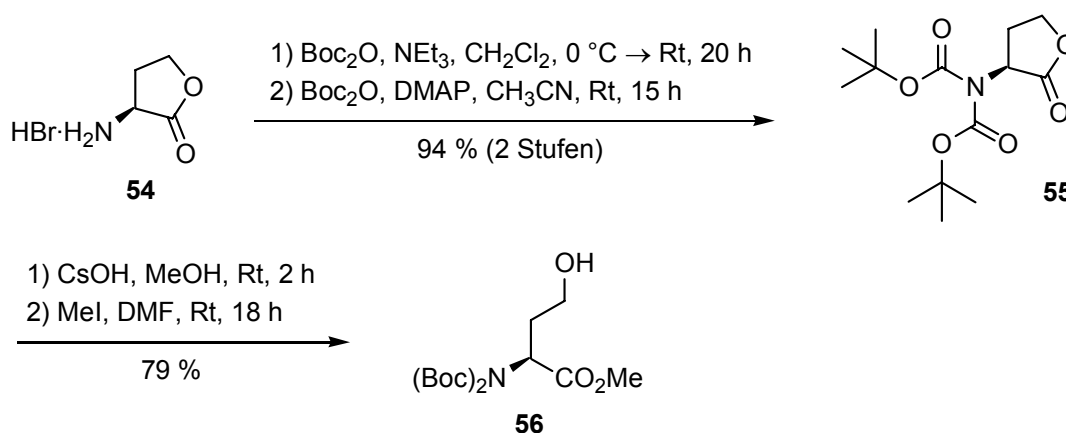


**Schema 16:** Retrosynthetische Analyse der Lactam-Strukturen.

#### 4.4.2. Synthese der Lactam-Grundstruktur

Zu Beginn der Synthese wurde zunächst 2-(*S*)-Aminobutyrolacton-hydrobromid **54** zweifach mit der *tert*-Butyloxycarbonylgruppe versehen, um bei der späteren Cyclisierung Nebenreaktionen zu minimieren (Schema 17). Dies war auf direktem Wege, d. h. unter Verwendung von doppelter Menge an Boc<sub>2</sub>O, nicht möglich. Es wurde daher zunächst auf herkömmliche Weise eine Monoschutzung durchgeführt. Um nun die zweite Boc-Gruppe auf den sterisch sehr abgeschirmten Stickstoff transformieren zu können, wurde

unter DMAP-Katalyse und Wechsel des Lösungsmittels ein weiteres Äquivalent  $\text{Boc}_2\text{O}$  zur Reaktion gebracht. Es ist bekannt, dass unter diesen Bedingungen auch sterisch sehr anspruchsvolle Zweifachschützungen gelingen<sup>[79]</sup>. In diesem Fall konnte das Bis-Boc-Derivat **55** in 94 %iger Ausbeute über zwei Stufen erhalten werden. Anschließend erfolgte eine Ringöffnung mit Cäsiumhydroxid unter gleichzeitiger Generierung des entsprechenden Cäsiumsalzes der entstehenden Carbonsäure. Dieses wurde dann mit Methyljodid als Elektrophil zum Methylester **56** abgefangen. Das Homoserinderivat war somit schnell und effizient zugänglich.

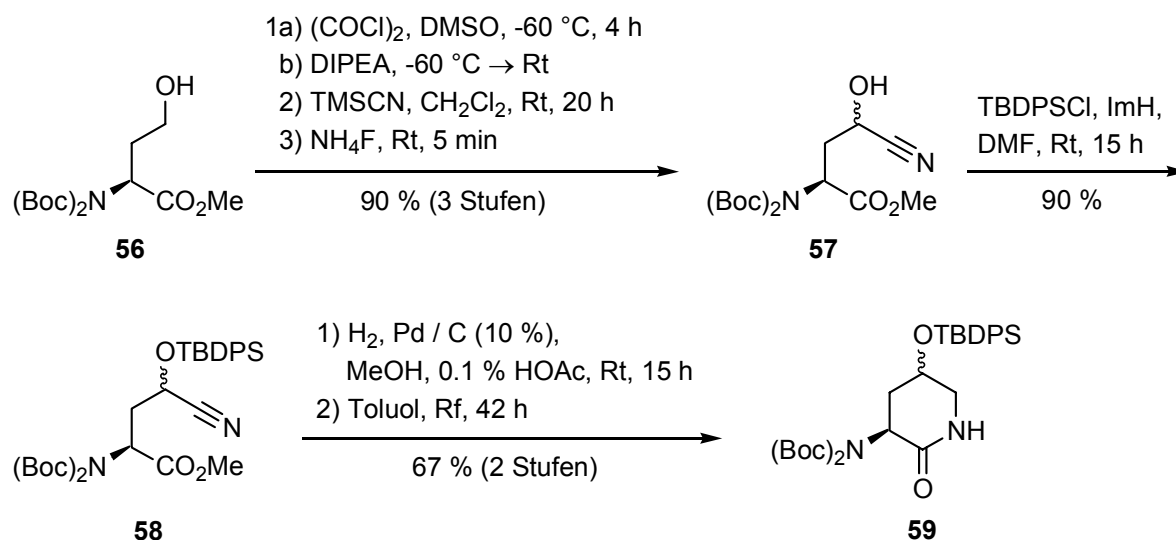


**Schema 17:** Synthese des Homoserins **56**.

Bei der Durchführung der Ringöffnung/Veresterungssequenz musste allerdings strikt darauf geachtet werden, dass keine überstöchiometrische Menge Base verwendet wurde. In Fällen, bei denen 1.1 bis 1.2 Äquivalente Cäsiumhydroxid zum Einsatz kamen, wurden erhebliche Mengen recyceltes Homoserinlacton **55** beobachtet. Man verliert auf diese Weise zwar kein Edukt, jedoch wird die Effizienz der Reaktionssequenz deutlich vermindert. Durch Einhalten einer unterstöchiometrischen Reaktionsführung mit 0.99 Äquivalenten Cäsiumhydroxid konnten jedoch hervorragende Ergebnisse erzielt werden.

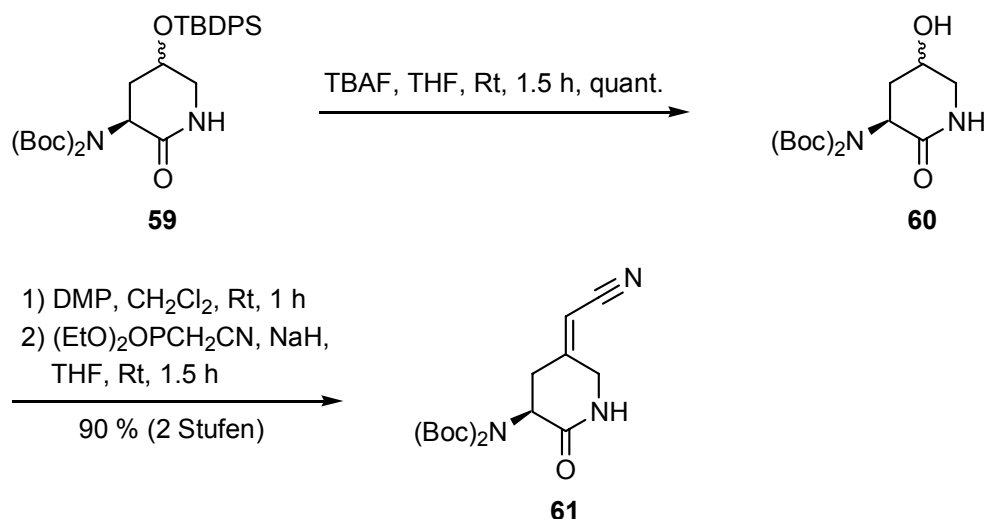
Im weiteren Verlauf der Synthese wurde das Homoserin **56** zunächst mittels Swern-Oxidation<sup>[80,81]</sup> in den entsprechenden Aldehyd überführt (Schema 18). Dieser erwies sich unter den Bedingungen der Flash-Chromatographie als stabil, wurde jedoch nicht gelagert, sondern direkt mit Cyanotrimethylsilan zum Cyanhydrin umgesetzt.<sup>[82]</sup> Die verbliebene Silylgruppe an der entstandenen Hydroxylfunktion wurde durch kurzes Behandeln mit Ammoniumfluorid entfernt, sodass das Cyanhydrin **57** mit 90 %iger Ausbeute über drei Stufen erhalten werden konnte. Die freie Alkoholfunktion musste nun mit einer stabileren

Silylgruppe blockiert werden, um Nebenreaktionen bei einem späteren Ringschluss zu vermeiden. Das Cyanhydrin **57** wurde daher mit *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid blockiert. Für den Ringschluss wurde anschließend die Cyanogruppe in **58** palladiumkatalysiert hydrogenolytisch zum Amin reduziert und dieses danach in Toluol unter Rückfluss zum Lactam **59** cyclisiert. Hierbei konnte die cyclische Verbindung mit 67 % über zwei Stufen dargestellt werden.



**Schema 18:** Darstellung der Lactam-Grundstruktur **59**.

Zur Einführung der Acrylnitril-Gruppierung wurde der Silylether **59** mit Tetrabutylammoniumfluorid zunächst quantitativ entschützt (Schema 19). Der Alkohol **60** wurde sodann mit Dess-Martin-Periodinan zum Keton oxidiert und dieses sofort in einer Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion zur Cyanomethylenverbindung **61** umgesetzt. Die Reaktionen erfolgten sehr glatt, sodass die zur Alkylierung benötigte Lactamkomponente mit einer hervorragenden Ausbeute von 90 % über zwei Stufen zugänglich gemacht werden konnte. Von den zwei möglichen Doppelbindungsisomeren wurde nur das Auftreten eines Isomeren beobachtet. Aufgrund der sterischen Situation bezüglich der beiden Boc-Gruppen und anhand von Spektrenvergleichen wurde dieses Isomer als *Z*-Isomer identifiziert.

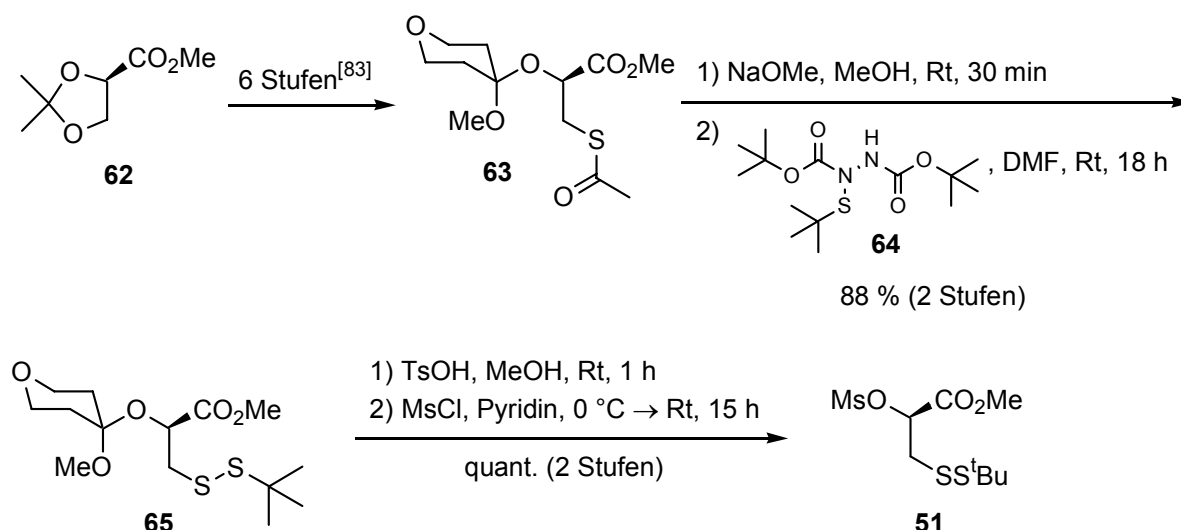


**Schema 19:** Darstellung der alkylierbaren Lactamkomponente **61**.

#### 4.4.3. Synthese des für die Alkylierung benötigten Mesylats

Für die Synthese des für die Alkylierung des Lactam-Stickstoffs benötigten Mesylats wurde auf eine bereits literaturbekannte Synthesesequenz zurückgegriffen, die an verschiedenen Punkten abgewandelt wurde.<sup>[83]</sup> Zunächst wurde in sechs Stufen ausgehend von  $\alpha,\beta$ -Isopropyliden-D-glycerinsäuremethylester **62** der Thioester **63** dargestellt (Schema 20). Dieser wurde sodann mit Natriummethanolat zum freien Thiol verseift. Die anschließende Einführung der *tert*-Butylsulfanylgruppe erfolgte mit dem käuflichen Hydrazindicarbonsäurederivat **64** nach einer Methode von E. Wunsch *et al.*<sup>[84]</sup>. Das Disulfid **65** konnte auf diese Weise mit einer Ausbeute von 88 % über zwei Stufen synthetisiert werden. Die Abspaltung der acetalischen Methoxytetrahydropyranylgruppe erfolgte unter saurer Katalyse mit *p*-Toluolsulfonsäure in Methanol. Ohne weitere Aufreinigung wurde danach der entstandene Alkohol ins Mesylat überführt. Das Elektrophil **51** für die Alkylierung des Lactams konnte auf diese Weise mit sehr guter Ausbeute zugänglich gemacht werden.



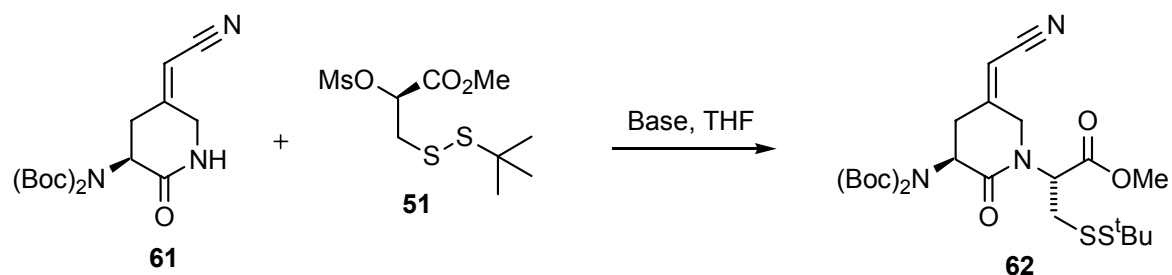


**Schema 20:** Darstellung des Mesylats **51**.

#### 4.4.4. Alkylierung des Lactams

Um die Alkylierung des Lactams zu optimieren, mussten zahlreiche Reaktionsbedingungen variiert werden (Schema 21). In einer ersten Versuchsequenz sollte das Lactam **61** zunächst bei  $-30 \text{ }^\circ\text{C}$  deprotoniert werden, um dann mit dem Mesylat **51** als Elektrophil abgefangen werden zu können. Bei der Verwendung von Natriumhexamethyldisilazid und Kalium-*tert*-butanolat als Basen konnten bei dieser Reaktionsführung lediglich Spuren an Produkt detektiert werden. Mit Natriumhydrid wurden etwa 2 % Produkt erhalten. In allen Fällen entstanden keine Nebenprodukte, sondern die Edukte wurden wiedergefunden, was auf eine zu geringe Temperatur für die Deprotonierung schließen lässt. Aus diesem Grund wurde eine zweite Versuchsreihe durchgeführt.

Hierbei wurde zunächst bei  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  deprotoniert, und dann die Reaktionlösung nach Addition des Mesylats auf Raumtemperatur erwärmt. Aber auch hier waren die Ergebnisse zunächst ernüchternd. Bei den Hexamethyldisilazid-Basen konnte eine klare Gemeinsamkeit erkannt werden. Alle drei Basen führten zu maximal 11 % Ausbeute. Bei Verwendung von Kalium-*tert*-butanolat konnte die Ausbeute auf immerhin 21 % gesteigert werden. In Falle von Natriumhydrid wurden 33 % an Produkt erhalten. Dieses Verhalten könnte auf eine eventuelle sterische Konfrontation der sperrigen Basen mit den beiden Boc-Gruppen im Lactam erklärt werden. Auch in dieser Sequenz wurden kaum Nebenprodukte gefunden, im Reaktionsgemisch befanden sich außer Produkt hauptsächlich die beiden Edukte.



Base (1 Äq)	Reaktionsführung	Ausbeute
NaHMDS KO <sup>t</sup> Bu NaH	Deprotonieren bei -30 °C, dann Addition des Mesylats, dann auf Rt erwärmen	Spuren Spuren ~ 2 %
NaHMDS KHMDS LiHMDS KO <sup>t</sup> Bu NaH	Deprotonieren bei 0 °C, dann Addition des Mesylats, dann auf Rt erwärmen	10 % 11 % 9 % 21 % 33 %
KO <sup>t</sup> Bu NaH	Deprotonieren bei Rt, dann Addition des Mesylats	19 % 30 %
<b>NaH</b>	<b>Addition des Mesylats, dann Deprotonieren bei 0 °C, dann auf Rt erwärmen</b>	<b>57 %</b>

**Schema 21:** Alkylierungsversuche des Lactams **62**.

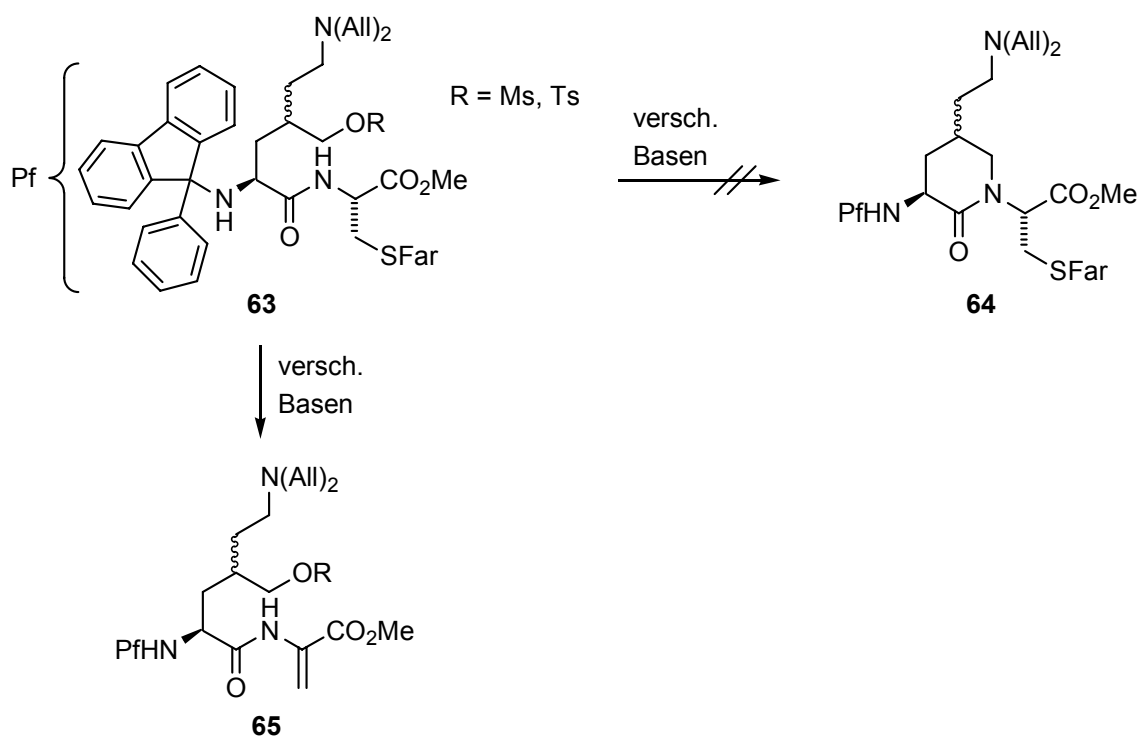
In einer dritten Reihe wurde nun gleich bei Raumtemperatur deprotoniert und anschließend mit dem Mesylat abgefangen. Wie die Tabelle zeigt, war hier überhaupt kein positiver Effekt im Vergleich zu den bereits beschriebenen Versuchen erkennbar. Im abschließenden Verfahren wurde dazu übergegangen, das Lactam in Gegenwart des Elektrophils mit Natriumhydrid bei 0 °C zu deprotonieren. Bei diesen Versuchen konnte die Ausbeute an Produkt erheblich gesteigert werden, wobei reproduzierbar 57 % an Verbindung **62** erhalten werden konnten. Somit war die gewünschte Lactamstruktur zugänglich gemacht worden, und es konnte mit der weiteren Synthese fortgefahren werden. Zuvor soll an dieser Stelle jedoch kurz darauf eingegangen werden, warum letzten Endes die eben vorgestellte Variante der Darstellung von Verbindung **62** gewählt wurde.

#### 4.4.5. Exkurs: Zuvor fehlgeschlagene Cyclisierungsvarianten

Auf den ersten Blick mag die Synthesesequenz, die verwendet wurde, um zum Lactam **62** zu gelangen, nicht diejenige sein, an die man zuerst während einer Syntheseplanung denkt. In der Tat wurden im Vorfeld schon verschiedene Cyclisierungsoptionen getestet.

##### Cyclisierungsversuch über die intramolekulare Alkylierung eines Amids

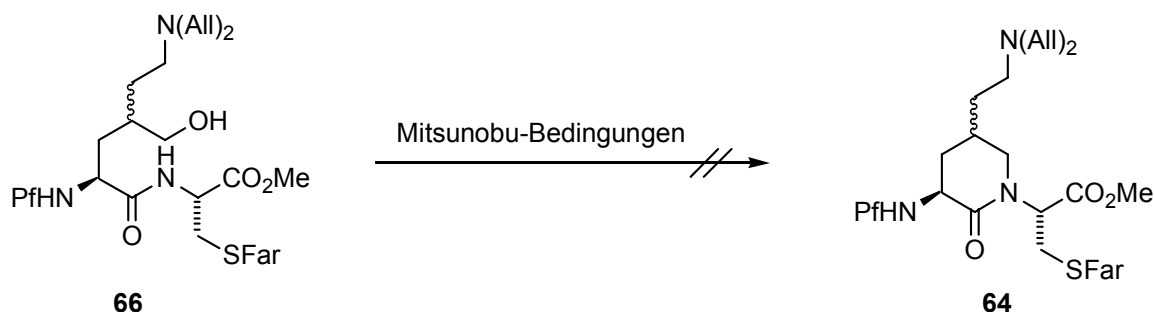
Ausgehend von Verbindung **63**, die zu Anfang dieser Dissertation synthetisiert wurde<sup>[85]</sup>, sollte durch basenvermittelte Alkylierung des amidischen Stickstoffs durch das intramolekular vorhandene Mesylat, respektive Tosylat, die Lactamstruktur **64** aufgebaut werden (Schema 22). Hierbei konnte jedoch in keinem Fall Produkt detektiert werden. Leider verlief die Reaktion unter Eliminierung des Farnesylthiolrestes und ergab lediglich das Dehydroalaninderivat **65**. Nach diesen negativen Ergebnissen wurde diese Option des Ringschlusses verworfen.



**Schema 22:** Cyclisierungsoption 1: Intramolekulare Alkylierung eines Amids.

### Cyclisierungsversuch über eine intramolekulare Mitsunobu-Reaktion

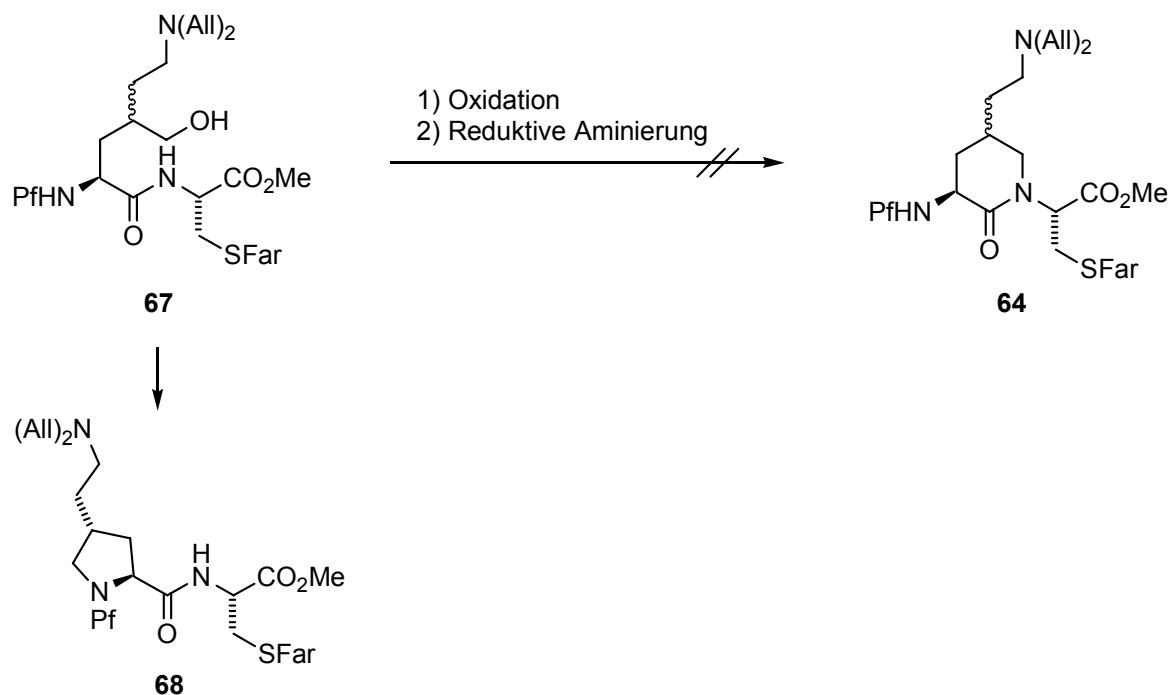
Die zweite untersuchte Cyclisierungsoption sah vor, über eine intramolekulare Mitsunobu-Reaktion des Amids mit dem Alkohol in **66** zum Lactam **64** zu gelangen (Schema 23). Hierbei wurden verschiedene Phosphine, wie Triphenylphosphin oder Tributylphosphin, sowie unterschiedliche Azodicarboxylate, wie etwa Diethyldiazodicarboxylat oder Diisopropyldiazodicarboxylat, eingesetzt. In keinem Fall gelang die Cyclisierung; es wurde nach der Reaktion jeweils nur Edukt zurückerhalten. Offensichtlich ist das amidische Proton für eine Mitsunobu-Reaktion nicht azide genug, was einen nukleophilen Angriff auf die Phosphonium-Zwischenstufe erschwert.<sup>[86,87]</sup>



**Schema 23:** Cyclisierungsoption 2: Intramolekulare Mitsunobu-Reaktion.

### Cyclisierungsversuch über eine intramolekulare reduktive Aminierung

Die dritte Option eines Ringschlusses sollte über eine reduktive Aminierung zwischen dem Amid in **67** und dem aus der Hydroxylgruppe zugänglichen Aldehyd bewerkstelligt werden (Schema 24). Hierzu wurde mit Dess-Martin-Periodinan, beziehungsweise über eine Swern-Reaktion der Aldehyd generiert. Nach Zugabe des Reduktionsmittels, in allen Fällen Natriumcyanoborhydrid, konnte jedoch kein Lactam **64** detektiert werden. Als Produkt der Reaktion entstand hauptsächlich das Prolinderivat **68**. Dieser Befund ist durch die erhöhte Nucleophilie des Aminstickstoffs im Vergleich zum Amidstickstoff zu erklären. Ein Angriff der Aminofunktion sollte jedoch eigentlich durch die Verwendung der sterisch äußerst anspruchsvollen Phenylfluorenyl-Schutzgruppe<sup>[88]</sup> verhindert werden. Eventuell liegt aber eine Vorzugs-Konformation des Moleküls derart vor, dass die Bildung des Fünfrings favorisiert ist.

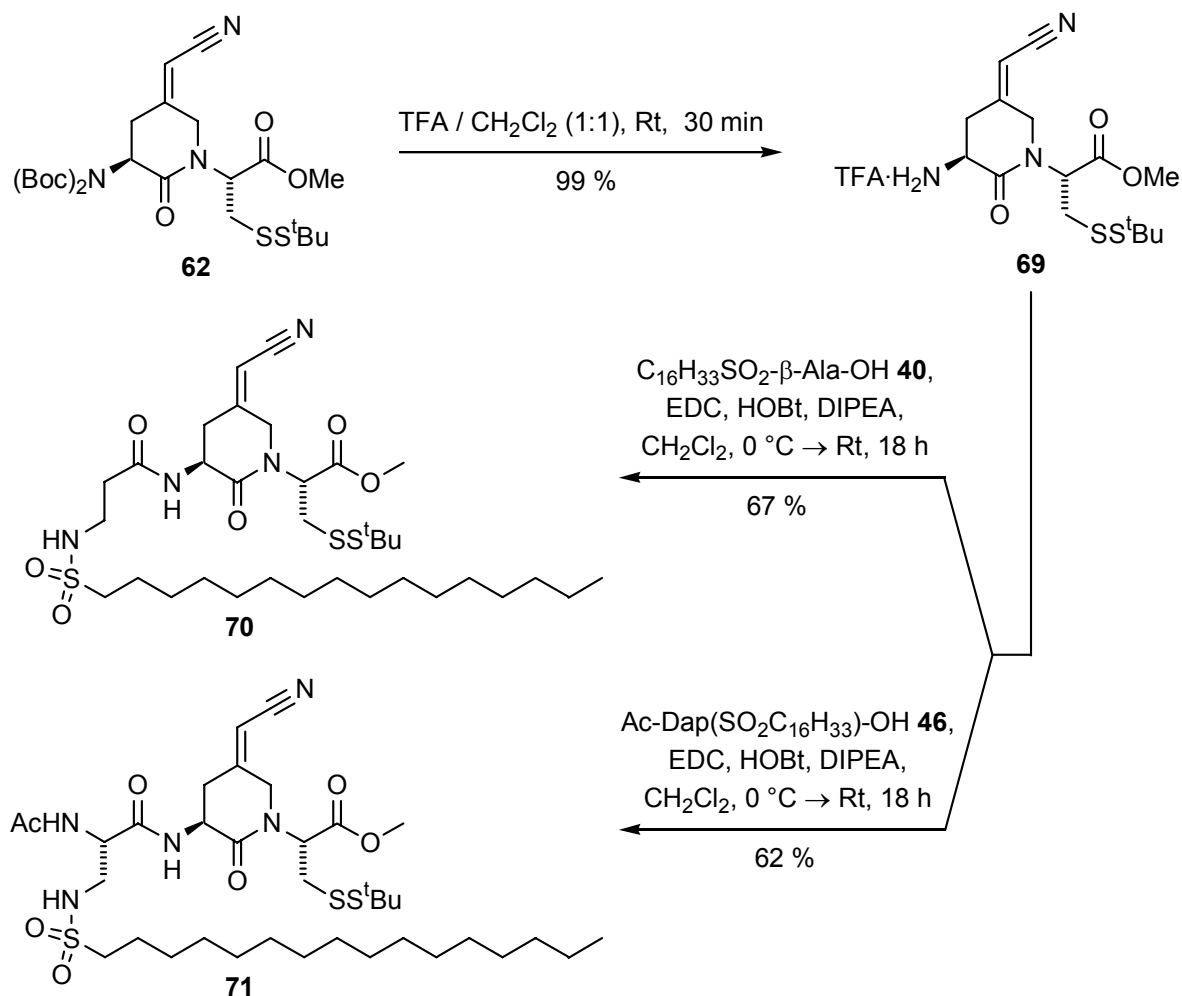


**Schema 24:** Cyclisierungsoption 3: Intramolekulare reduktive Aminierung.

Aufgrund dieser Fakten wurde die in den Abschnitten 4.4.2. bis 4.4.4. beschriebene Darstellungsweise für das Lactam **62** gewählt. Sie bietet im Vergleich zu den vorstehend beschriebenen Cyclisierungsvarianten den Vorteil, dass sie eine höhere Flexibilität in der Wahl der anzubringenden funktionellen Gruppen besitzt. Während diese in den intramolekularen Verfahren bereits im Molekül vorhanden sein müssten, könnten sie bei der intermolekularen Synthese auch nach der Darstellung des Lactam-Grundkörpers noch modifiziert werden. Für eine eventuelle kombinatorische Synthese wäre die hier gewählte Methode in jedem Fall besser geeignet.

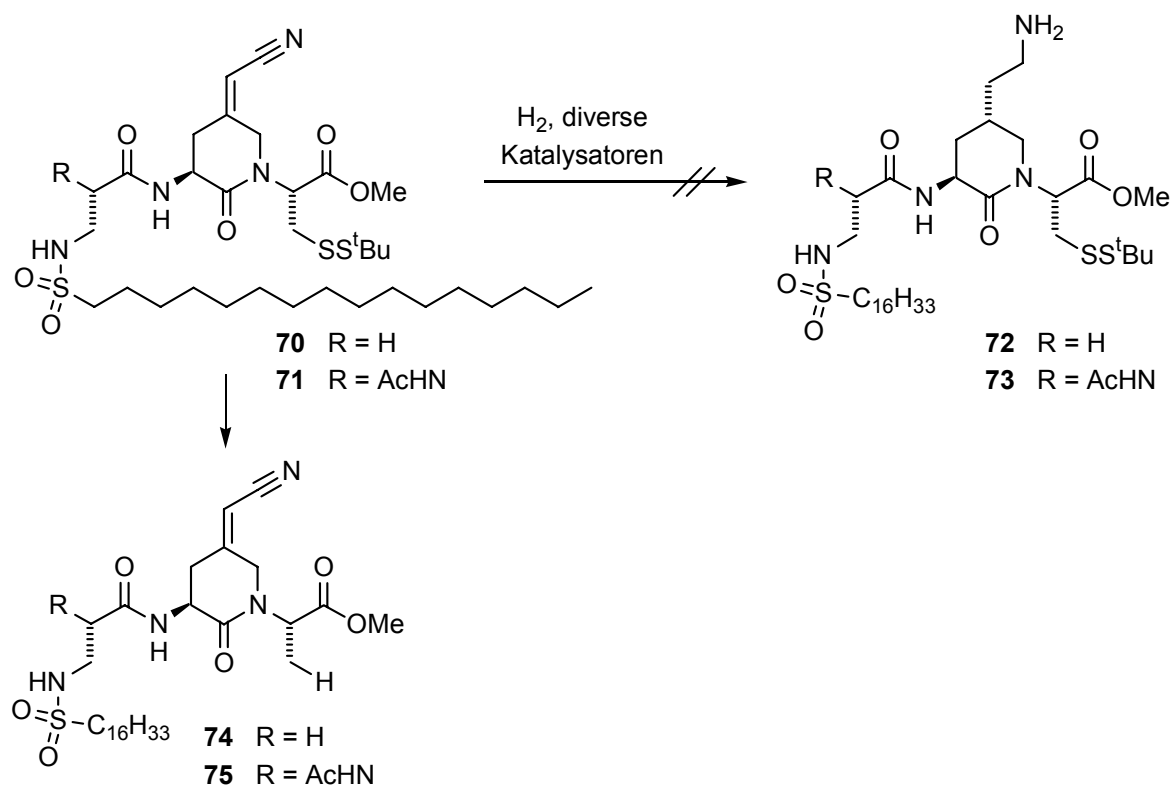
#### 4.4.6. Fortführung der Synthese der Lactam-Mimetika

Für die Anknüpfung der verschiedenen Aminosäuren an das Lactam **62** mussten dort zunächst die beiden Boc-Schutzgruppen entfernt werden (Schema 25). Dies konnte mit Trifluoressigsäure in nahezu quantitativer Ausbeute erreicht werden. Der zentrale Baustein **69** wurde anschließend mit dem  $\beta$ -Alaninderivat **40** unter Standardbedingungen zur Verbindung **70** verknüpft. Mit dem Diaminopropionsäurederivat **46** konnte das Lactam-Dipeptid **71** zugänglich gemacht werden, wobei die Ausbeute mit 62 % akzeptabel erschien.



**Schema 25:** Darstellung der Lactam-Dipeptide **70** und **71**.

Für die weitere Synthese war es nun notwendig, die Acrylnitril-Struktur in **70** bzw. **71** zu reduzieren. Dies sollte hydrogenolytisch unter Edelmetallkatalyse erfolgen (Schema 26). In der Literatur ist kein Fall beschrieben, bei dem durch Hydrogenolyse mit Palladium- oder Platinkatalysatoren Disulfidgruppen in Mitleidenschaft gezogen wurden. Lediglich die Aktivität der eingesetzten Katalysatoren wird herabgesetzt. Von Raney-Nickel hingegen ist bekannt, dass er entschwefelnd wirkt,<sup>[89]</sup> weshalb auf dessen Einsatz verzichtet wurde. Trotzdem konnte nach Ablauf der Reaktion lediglich die vollständig entschwefelten Alaninderivate **74** und **75** erhalten werden. Auch Zugabe von Säure oder Variation der Lösungsmittel hatten hierauf keinen Einfluss.



**Schema 26:** Versuch der Reduktion der Acrylnitrilfunktion.

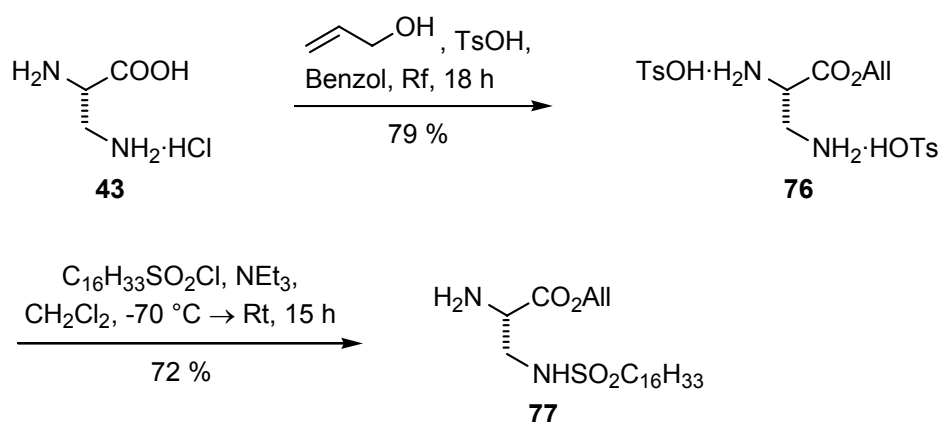
Da die Reduktion der Nitrilfunktion und Doppelbindung jedoch für ein Fortkommen nötig gewesen wäre, wurde an dieser Stelle die weitere Synthese abgebrochen. Dies war für die Inhibitionsstudien jedoch ohne Belang, da mit dem Disulfid und dem Fehlen einer Aminofunktion ein interessantes Muster in den Substanzen **70** und **71** vorhanden war, das eine nähere Betrachtung auf alle Fälle lohnenswert erscheinen ließ.

## 4.5. Synthese der unterschiedlich modifizierten Pentapeptide

### 4.5.1. Synthese des zentralen Diaminopropionsäurederivats

Das zentrale Diaminopropionsäurederivat **77** konnte ausgehend von L-Diaminopropionsäurehydrochlorid **43** in zwei Stufen synthetisiert werden (Schema 27). Zunächst wurde die Aminosäure **43** durch azeotrope Veresterung in den entsprechenden Allylester **76** überführt. Anschließend konnte bei  $-70\text{ }^\circ\text{C}$  selektiv die  $\beta$ -Aminofunktion mit einer Ausbeute von 72 %

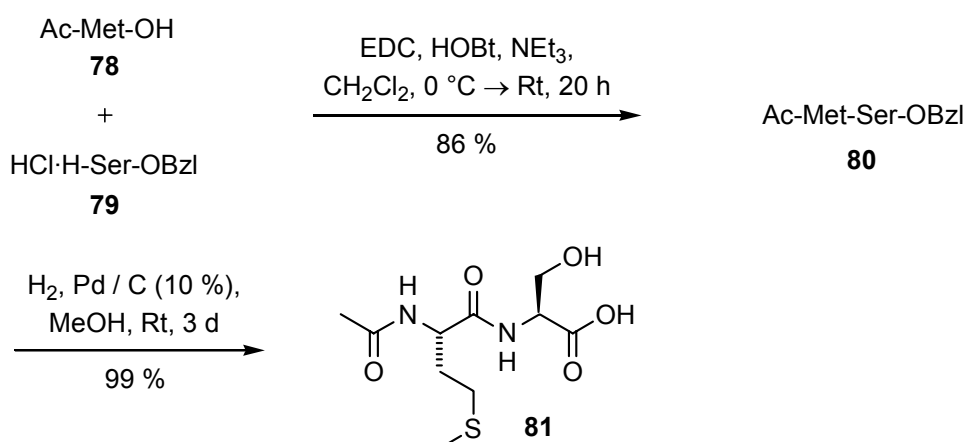
zum Sulfonamid umgesetzt werden. Das kupplungsfähige Diaminopropionsäurederivat **77** stand somit für die weitere Synthese zur Verfügung.



**Schema 27:** Darstellung des zentralen Diaminopropionsäurederivats **77**.

#### 4.5.2. Synthese des ersten Pentapeptids

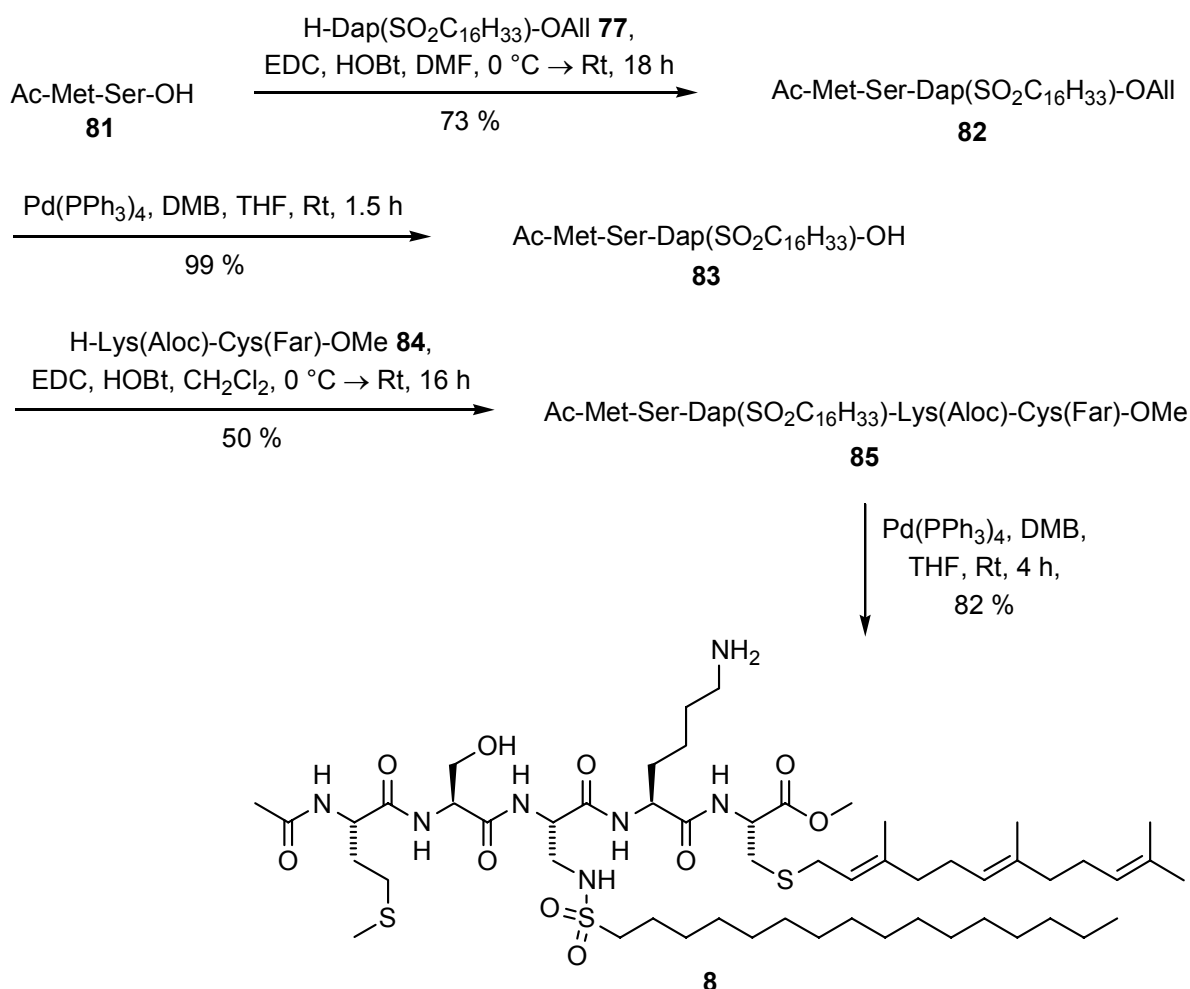
Für die Synthese des ersten Pentapeptids wurde zunächst *N*-Acetyl-L-Methionin **78** mit L-Serinbenzylester-hydrochlorid **79** zum geschützten Dipeptid **80** gekuppelt (Schema 28). Eine eventuell mögliche Racimisierung wurde nicht beobachtet. Die Entfernung des Benzylesters durch palladiumkatalysierte Hydrogenolyse lieferte in nahezu quantitativer Ausbeute das kupplungsfähige Dipeptid **81**.



**Schema 28:** Darstellung des kupplungsfähigen Dipeptids **81**.



Das Dipeptid **81** wurde im weiteren Verlauf der Synthese nun mit der Diaminopropionsäure **77** zum geschützten Tripeptid **82** gekuppelt (Schema 29). Unter Verwendung von Standardbedingungen konnte eine gute Ausbeute von 73 % erzielt werden. Die palladiumkatalysierte Allylabspaltung lieferte das C-terminal freie Tripeptid **83** in nahezu quantitativer Ausbeute. Dieses wurde nachfolgend mit dem N-terminal freien Dipeptid H-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe **84** zum vollständig geschützten Pentapeptid **85** umgesetzt.<sup>[90]</sup> Das verwendete Dipeptid **84** wurde frisch hergestellt, um eine Diketopiperazinbildung weitgehend zu unterdrücken. Die etwas niedrige Ausbeute von 50 % rührt jedoch eben von dieser Diketopiperazinbildung her. Dies wurde allerdings billigend in Kauf genommen, da auf diese Weise zwei Schritte in der Reaktionsequenz gespart werden konnten.

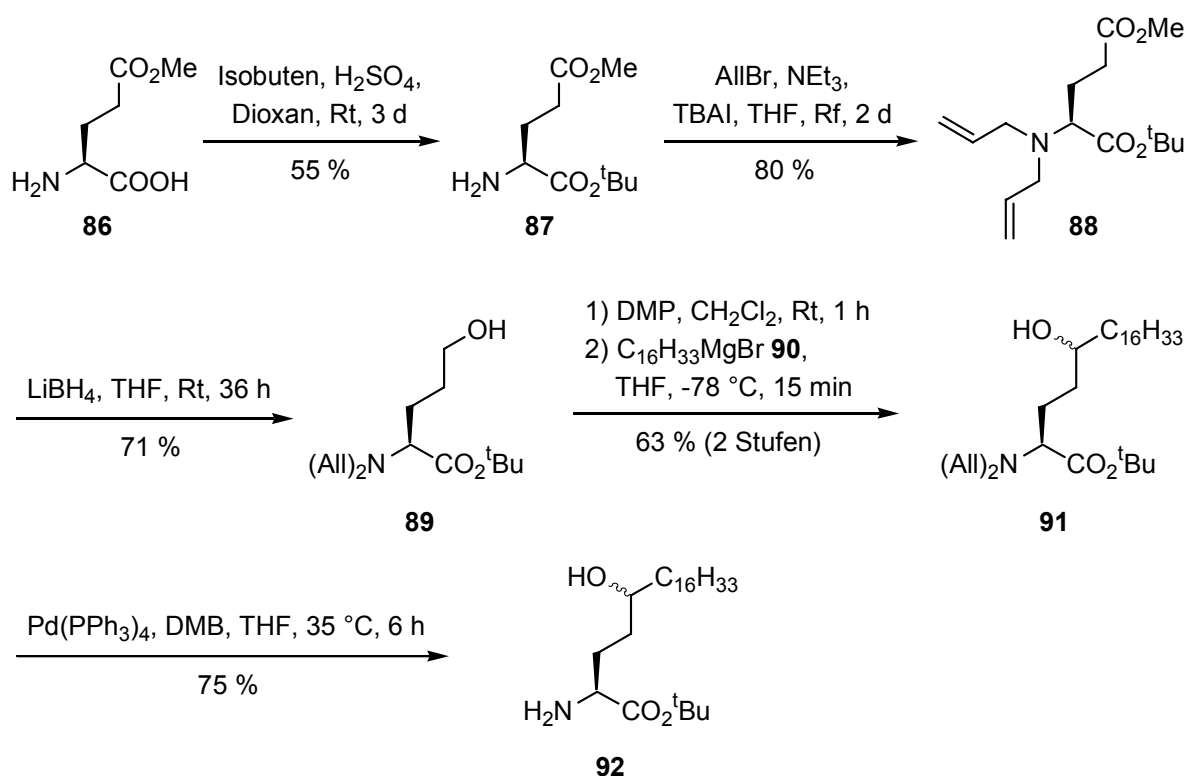


**Schema 29:** Darstellung des ersten Pentapeptids **8**.

Abschließend wurde die Allyloxycarbonylgruppe des Lysins palladiumvermittelt abgespalten. Hierbei konnte das Pentapeptid **8** in 82 %iger Ausbeute isoliert werden. Somit stand der erste Vertreter einer weiteren Substanzklasse für die Inhibitionstests zur Verfügung.

#### 4.5.3. Synthese der zentralen C<sub>21</sub>-Aminosäure

Für die Synthese des zweiten Pentapeptides war es notwendig, die zentrale C<sub>21</sub>-Aminosäure **92** aufzubauen. Hierzu wurde zunächst ausgehend von L-Glutaminsäure-5-methylester **86** die Carboxylfunktion als *tert*-Butylester geschützt (Schema 30). Anschließend erfolgte eine zweifache Blockierung der Aminofunktion in **87** zum Diallylamin.<sup>[91]</sup> Dies konnte mit katalytischen Mengen Tetrabutylammoniumiodid erreicht werden. Die Allylgruppe wurde gewählt, um in einer späteren Grignard-Reaktion unerwünschte Deprotonierungen an eventuell verwendeten Urethanschutzgruppen und damit potentielle Nebenreaktionen zu unterbinden.

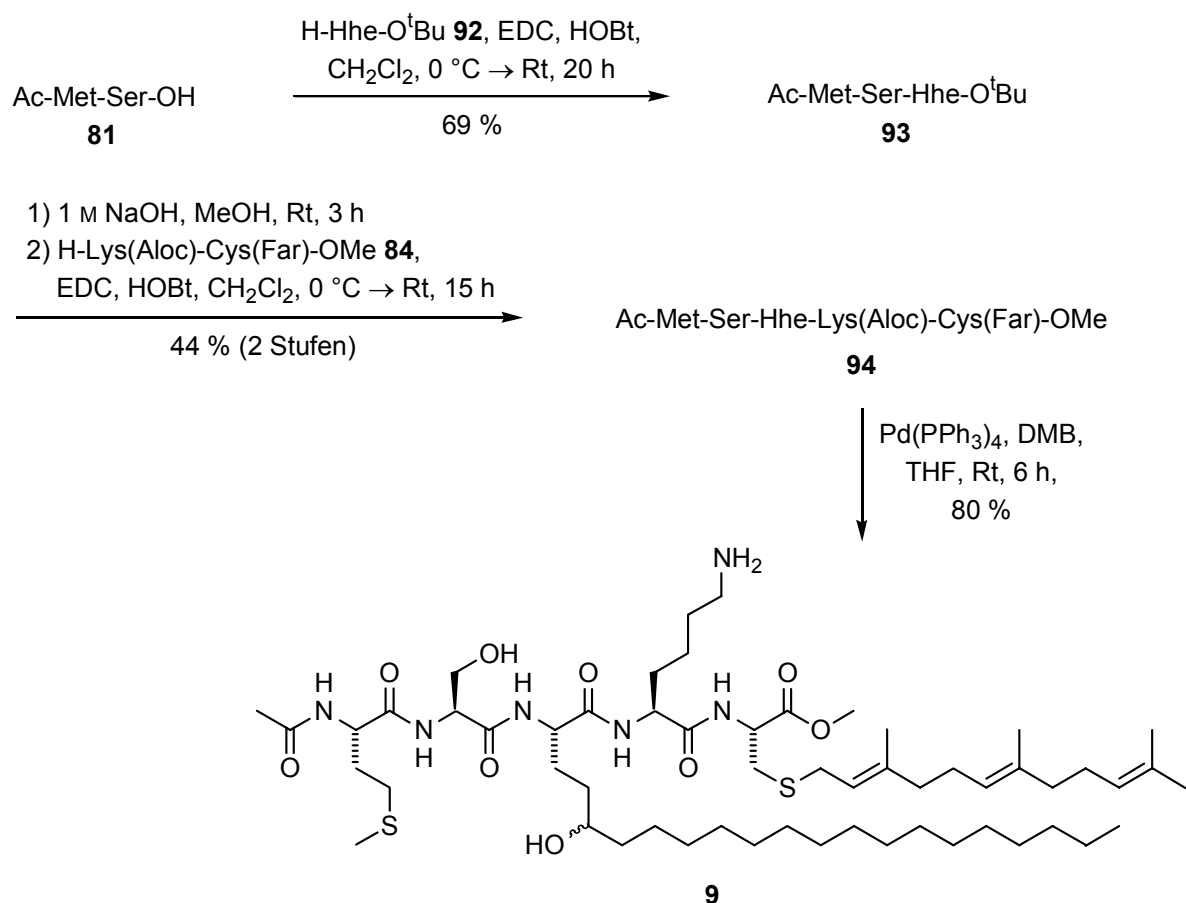


**Schema 30:** Darstellung der zentralen C<sub>21</sub>-Aminosäure **92**.

Die selektive Reduktion des Methylesters **88** zum Alkohol mit Lithiumborhydrid als Reduktionsmittel lieferte mit 71 % Ausbeute die Verbindung **89**. Die Differenzierung der beiden Esterfunktionen wird durch deren unterschiedlichen Raumbedarf bewirkt. Die Reaktion des Reduktionsmittels mit dem Methylester ist hier deutlich schneller als die mit dem *tert*-Butylester. Auch nach der recht langen Reaktionszeit von 36 h wurde kaum Reduktion des *tert*-Butylesters beobachtet. Der Alkohol **89** wurde sodann mit Dess-Martin-Periodinan zum Aldehyd oxidiert und unverzüglich mit frisch vorbereitetem Hexadecylmagnesiumbromid **90** zur C<sub>21</sub>-Verbindung **91** umgesetzt. Die Reaktionszeit war hierbei kurz zu halten, da bei längerer Exposition in der basischen Reaktionslösung eine Cyclisierung zum entsprechenden Lacton beobachtet wurde. Abschließend mussten die Allylgruppen abgespalten werden, um zur kupplungsfähigen Aminosäure **92** zu gelangen. Dies konnte palladiumkatalysiert mit *N,N'*-Dimethylbarbitursäure bei leicht erhöhter Temperatur erreicht werden.<sup>[92]</sup> Die zentrale C<sub>21</sub>-Aminosäure **92** stand somit für die weitere Synthese zur Verfügung.

#### 4.5.4. Synthese des zweiten Pentapeptids

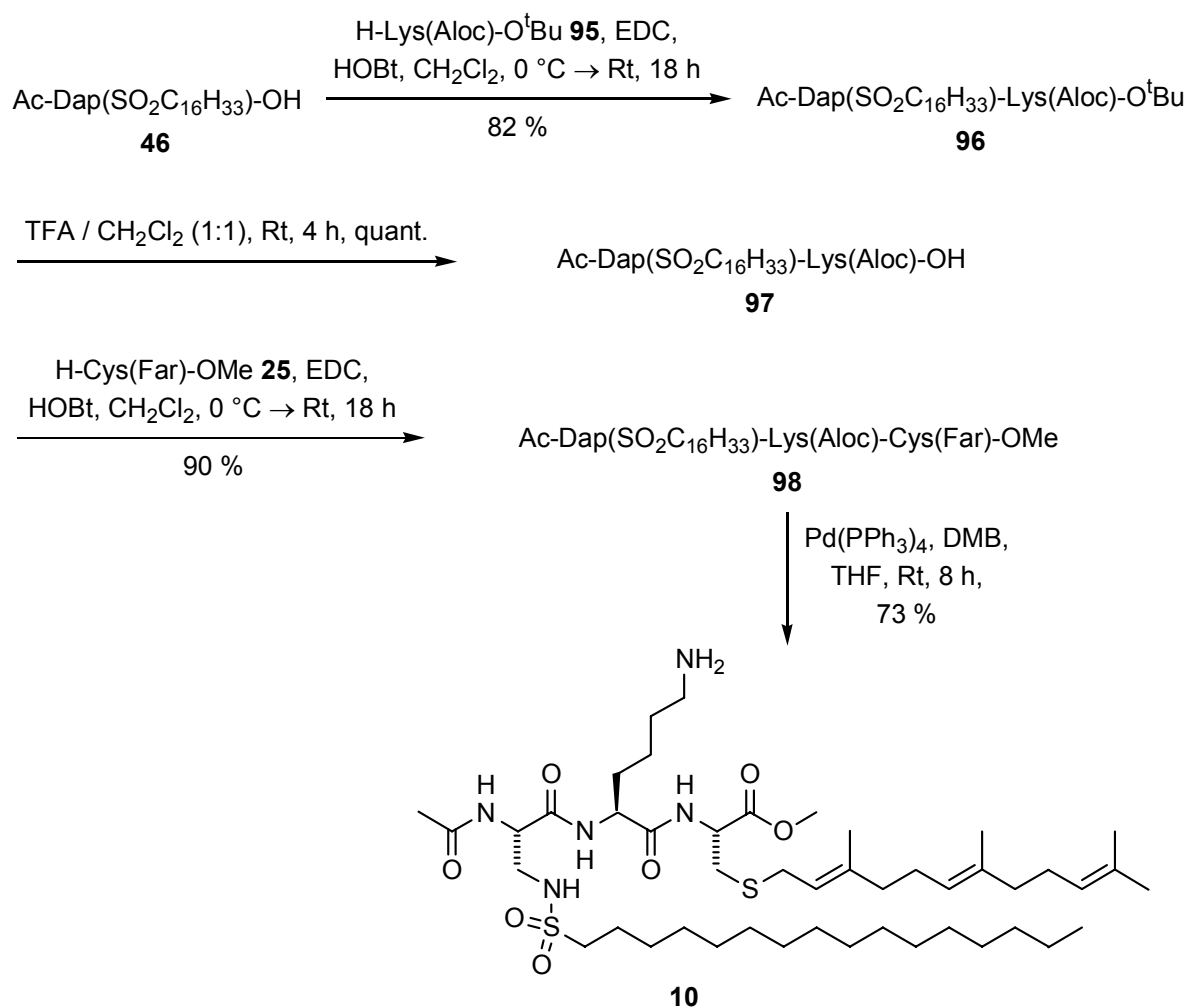
Für die Synthese des zweiten Pentapeptids wurde zunächst Ac-Met-Ser-OH **81** mit der C<sub>21</sub>-Aminosäure **92** zum geschützten Tripeptid **93** gekuppelt (Schema 31). Anschließend sollte der *tert*-Butylester sauer entfernt werden. Bei der Reaktion mit Trifluoressigsäure musste jedoch festgestellt werden, dass in erheblichem Maß eine sauer katalysierte Cyclisierung der  $\gamma$ -Hydroxyfunktion der C<sub>21</sub>-Aminosäure mit dem *tert*-Butylester zum entsprechenden Sechsringlacton stattfindet. Es wurde daher eine basische Verseifung des Esters mit Natriumhydroxid versucht, welche auf Anhieb ohne nachweisbare Racemisierung gelang. Auf diese Weise ließ sich das kupplungsfähige, C-terminal freie Tripeptid generieren. Ohne weitere Aufarbeitung wurde anschließend das frisch hergestellte Dipeptid **84** aufgekuppelt, wodurch das vollgeschützte Pentapeptid **94** dargestellt werden konnte. Die eher mäßige Ausbeute von 44 % kann durch den erheblichen sterischen Anspruch der C<sub>16</sub>-Kette erklärt werden, die offenbar eine gute Kupplung erschwert. Im abschließenden Reaktionsschritt wurde wiederum palladiumkatalysiert die Aloc-Schutzgruppe entfernt. Dies konnte mit einer guten Ausbeute von 80 % erreicht werden. Somit stand auch das zweite Pentapeptid **9** für nachfolgende Inhibitionsstudien zur Verfügung.



**Schema 31:** Darstellung des zweiten Pentapeptids **9**.

#### 4.6. Synthese des tripeptidischen Inhibitors

Zu Beginn der Tripeptid-Synthese wurde die Diaminopropionsäure **46** mit H-Lys(Aloc)-O<sup>t</sup>Bu **95** zum geschützten Dipeptid **96** in hoher Ausbeute gekuppelt (Schema 32). Anschließend konnte mit Trifluoressigsäure der *tert*-Butylester mit quantitativer Ausbeute gespalten werden. Das C-terminal freie Dipeptid **97** wurde nun mit farnesyliertem L-Cysteinmethylester **25** unter Standardbedingungen zum vollgeschützten Tripeptid **98** verknüpft. Abschließend musste lediglich noch die Aloc-Schutzgruppe entfernt werden. Hierzu wurde palladiumkatalysiert mit *N,N'*-Dimethylbarbitursäure als Fänger gearbeitet. Auf diese Weise war das Tripeptid **10** mit 73 % Ausbeute zugänglich und konnte in den nachfolgenden Inhibitionsstudien Verwendung finden.



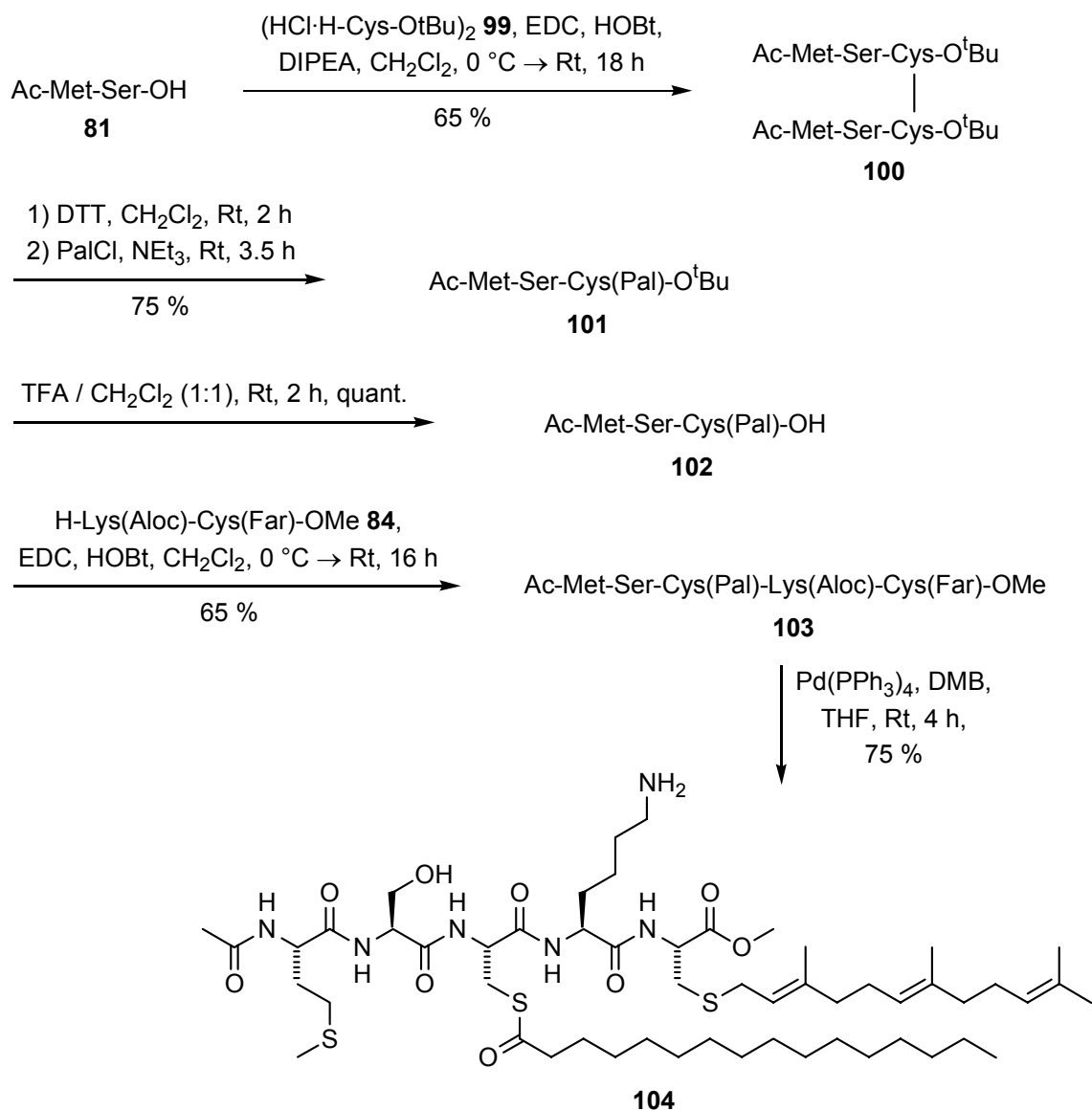
**Schema 32:** Darstellung des tripeptidischen Inhibitors **10**.

#### 4.7. Synthese des Substrats für die APT1-Inhibitionstests

Als Substrat für die Inhibitionstests mit dem Enzym Acyl-Protein-Thioesterase 1 wurde ein pentamerer, C-terminales Fragment des menschlichen H-Ras-Proteins gewählt. Da APT1 das H-Ras-Protein als Substrat akzeptiert<sup>[14]</sup>, erschien diese Vorgehensweise sinnvoll.

Für die Synthese wurde vom C-terminal freien Dipeptid Ac-Met-Ser-OH **81** ausgegangen, welches mit Cystin-bis(*tert*-butylester)dihydrochlorid **99** zum dimeren Tripeptid **100** gekuppelt wurde (Schema 33). Das Disulfid wurde im nächsten Schritt mit 1,4-Dithiothreitol (DTT) gespalten und die freie Thiolfunktion *in situ* palmitoyliert. Über zwei Stufen konnte so das palmitoylierte Tripeptid **101** mit einer guten Ausbeute von 75 % dargestellt werden. Die

Spaltung des *tert*-Butylesters mit Trifluoressigsäure verlief glatt und generierte den kupplungsfähigen Baustein **102**.



**Schema 33:** Darstellung des Substrats **104** für die APT1-Inhibitionstests.

Die Synthese zum Pentapeptid **103** gelang durch Anknüpfen des frisch bereiteten Dipeptids **84**. Die Ausbeute von 65 % ist unter Berücksichtigung der Bildung geringer Mengen an Diketopiperazin akzeptabel. Im abschließenden Schritt wurde die Allyloxycarbonylgruppe palladiumvermittelt in 75 %iger Ausbeute entfernt und das pentapeptidische Substrat **104** somit für die biologischen Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

## 4.8. Biologische Evaluierung der synthetisierten Verbindungen

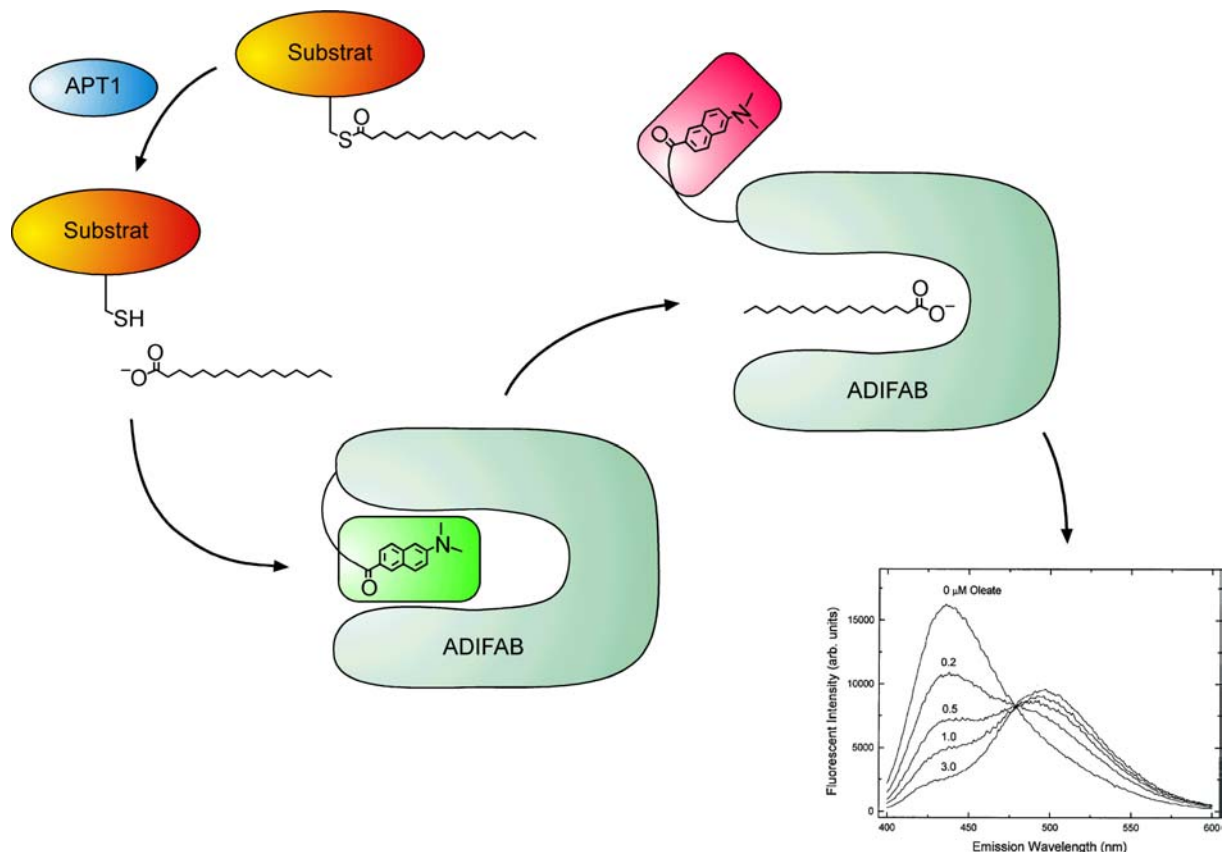
### 4.8.1. Der fluoreszenzbasierte APT1-Inhibitionsassay

Von dem Enzym Acyl-Protein-Thioesterase 1 ist bislang bekannt, dass es präferenziell palmitoylierte Proteine depalmitoyliert. Um solche Enzymreaktionen verfolgen zu können, wurden bislang hauptsächlich auf Radioaktivität basierende Assaysysteme entwickelt.<sup>[14,93,94]</sup> Derartige Systeme besitzen allerdings erhebliche Nachteile. Als Erstes ist hier der Aufwand für die Sicherheit im Umgang mit radioaktiv markierten Substanzen zu nennen. Diese Auflagen schränken die Flexibilität radioaktiver Assaysysteme deutlich ein. Zweitens sind solche Testverfahren sehr zeitaufwendig. In der Regel muss in der Reaktion gebildetes Palmitat zunächst ausgefällt und dann szintillationstechnisch untersucht werden. Aus diesem Grund lassen sich Depalmitoylierungen nicht auf einfache Weise zeitabhängig untersuchen. Das heißt, die direkte Messung einer Kinetik ist nicht möglich. Das Problem des Ausfällens von Palmitat führt unmittelbar zu einem dritten Nachteil, nämlich der relativen Ungenauigkeit dieser Verfahren. Es muss strikt darauf geachtet werden, dass sämtliches Palmitat ausgefällt und der Szintillationszählung zugeführt wird, da sich sonst erhebliche Fehler in die Messung einschleichen können. Aus diesen genannten Gründen wurde von Herrn M. Biel aus der Arbeitsgruppe A. Giannis in Leipzig und mir ein neues, fluoreszenzbasiertes Assaysystem entwickelt, welches die genannten Nachteile nicht mehr besitzt.

Zuvor musste jedoch das Enzym Acyl-Protein-Thioesterase 1 präpariert werden. Dies erfolgte durch Isolierung aus Rattenleber nach einem Verfahren von Duncan *et al.*<sup>[14]</sup> Aus 40 g Rattenleber konnten auf diese Weise nach Durchführung von sechs chromatographischen Reinigungsschritten 30 µg APT1 isoliert werden.

Das Prinzip des Assays ist in Abbildung 13 dargestellt. Zunächst wird das in Abschnitt 4.7. vorgestellte Substrat mit Hilfe des Enzyms APT1 bei pH 7.4 depalmitoyliert. Die Menge an freier Fettsäure wird daraufhin indirekt bestimmt. Die Detektion des in der Enzymreaktion freigesetzten Palmitats basiert auf dem Fettsäurerezeptor ADIFAB (acrylodated intestinal fatty acid binding protein).<sup>[95]</sup> Dieses System wurde von Alan Kleinfeld und seinen Mitarbeitern am Medical Biology Institute in Californien (USA) entwickelt und kann von Molecular Probes (Eugene/Oregon (USA)) bezogen werden. ADIFAB ist ein Protein, welches ausschließlich freie Fettsäuren mit hoher Affinität bindet.<sup>[96]</sup> Im ungebundenen Zustand besetzt eine an den Rezeptor gebundene Acrylodaneinheit die Bindungstasche für die Fettsäure. Durch eine Anregung bei 386 nm resultiert dann eine Fluoreszenzemission des

Acrylodans bei 432 nm. Befindet sich freie Fettsäure in der Untersuchungslösung wird diese innerhalb von wenigen Sekunden vollständig an ADIFAB gebunden, wodurch der Acrylodanrest aus der Bindungstasche verdrängt und die Fluoreszenzantwort bathochrom auf 505 nm verschoben wird. Kovalent gebundene Fettsäurereste beeinträchtigen die Fluoreszenz bei der Messung nicht.



**Abbildung 13:** Fluoreszenzbasierter APT1-Inhibitionsassay.

Aus dem Verhältnis der beiden Fluoreszenzmaxima lässt sich nach dem folgenden Verfahren die Menge an freier Fettsäure im Untersuchungsmedium bestimmen.<sup>[95]</sup>

Zunächst werden die Fluoreszenzemissionen bei 505 nm und 432 nm (Anregungswellenlänge 386 nm) im Probenpuffer mit Substrat (Meßkonzentration 1 µM) und potenziellem Inhibitor (Meßkonzentration variabel) gemessen. Dies liefert die Werte  $I_{505}^{blank}$  und  $I_{432}^{blank}$ . Danach wird ADIFAB zu einer Meßkonzentration von 100 nM zupipettiert. Es werden wiederum die Emissionen bei 505 nm und 432 nm gemessen ( $I_{505}^0$ ,  $I_{432}^0$ ). Hieraus wird der sogenannte  $R_0$ -Wert berechnet:



$$R_0 = \frac{I_{505}^0 - I_{505}^{blank}}{I_{432}^0 - I_{432}^{blank}} \quad (\text{Gleichung 1}).$$

Nach Zugabe des Enzyms (Meßkonzentration 1.6 pM; absolute Enzymmenge 30 ng) und 20 minütiger Inkubation bei 25 °C werden wiederum die Fluoreszenzemissionen gemessen ( $I_{505}$ ,  $I_{432}$ ). Hiermit lässt sich der  $R$ -Wert berechnen:

$$R = \frac{I_{505} - I_{505}^{blank}}{I_{432} - I_{432}^{blank}} \quad (\text{Gleichung 2}).$$

Die Berechnung der Konzentration an freiem Palmitat erfolgt dann nach folgender Formel:

$$[\text{Pal}] = K_d * 19.5 * \frac{R - R_0}{11.5 - R} + \frac{[\text{ADIFAB}]_{total} * 19.5 * (R - R_0)}{11.5 - R + 19.5 * (R - R_0)} \quad (\text{Gleichung 3}).$$

Darin ist  $K_d$  die temperaturabhängige Bindungskonstante für Palmitat an ADIFAB<sup>[95]</sup> und  $[\text{ADIFAB}]_{total}$  die eingesetzte Menge an ADIFAB.

Die Empfindlichkeit dieses Meßverfahrens ist im Vergleich zu radioaktivitätsbasierten Assays konkurrenzfähig. Es lassen sich auf die gezeigte Weise Konzentrationen an freier Fettsäure von 1 nM bis etwa 20 µM bestimmen.<sup>[97]</sup>

Die Untersuchungen wurden im Rahmen dieser Dissertation in herkömmlichen Quarz-Küvetten vorgenommen. Wenn man die Methodik jedoch auf Mikrotiterplatten überträgt, könnte die Geschwindigkeit der Analyse und die Anzahl der Messpunkte pro Zeit noch deutlich gesteigert werden. Dies wäre mit einem radioaktiven Assaysystem keineswegs denkbar, da die Ausfällung und Abtrennung des freien Palmitats in Mikrotiterplatten nicht möglich ist. Weiterhin wäre nur noch ein Bruchteil der eingesetzten Substanzmengen (Enzym, Substrat, Inhibitor, ADIFAB) vonnöten. Mit dem vorgestellten Assaysystem steht also ein leistungsfähiges Werkzeug für das Studium von Depalmitoylierungsreaktionen zur Verfügung.

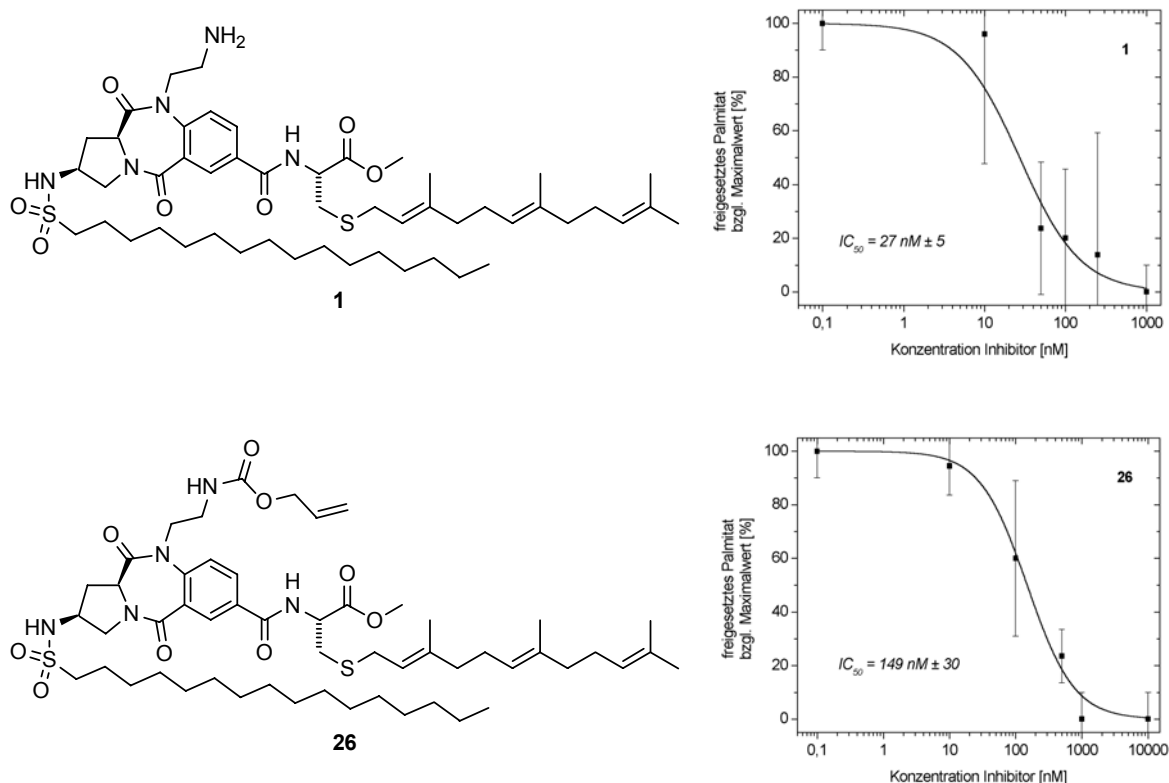
#### 4.8.2. Ergebnisse der Inhibitionstests

Die Inhibitionskurven der untersuchten Verbindungen sind im Folgenden dargestellt. Dabei ist auf der Ordinate das prozentuale Verhältnis der Freisetzung von Palmitat mit Inhibitor zu der ohne Inhibitor aufgetragen. Auf der Abszisse befinden sich die jeweilig eingesetzten

Konzentrationen der Inhibitoren. Die Messpunkte wurden nach der Auftragung mit dem Programm Origin<sup>®</sup> gefittet und ausgewertet. Die Fehlerbalken beruhen auf den Standardabweichungen der Mittelwerte der einzelnen Messungen.

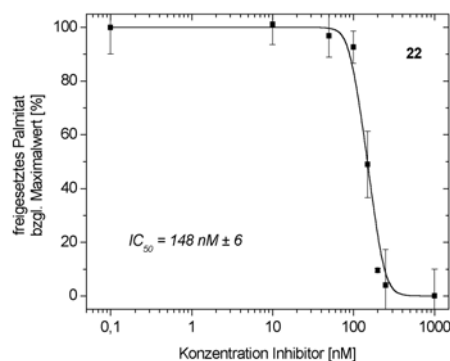
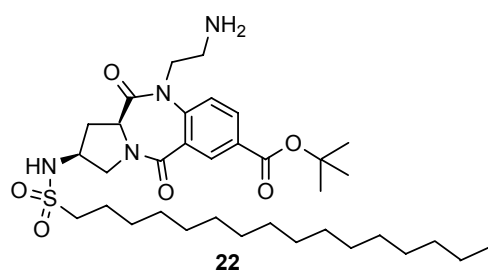
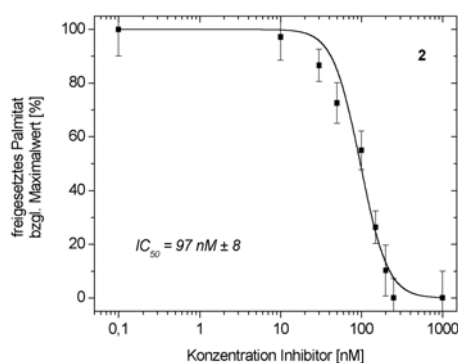
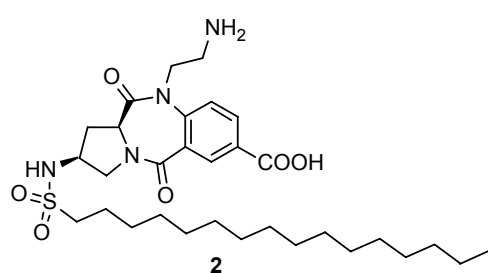
### Ergebnisse der getesteten Benzodiazepine

In Abbildung 14 sind die beiden doppelt lipidmodifizierten Benzodiazepine dargestellt. Das freie Amin **1** lieferte bei den Untersuchungen einen  $IC_{50}$ -Wert von  $27 \text{ nM} \pm 5$ . Bei dem geschützten Derivat **26** war die Inhibition etwa um eine Größenordnung schlechter. Hier wurden immerhin noch  $149 \text{ nM} \pm 30$  erreicht. Dies scheint nicht ungewöhnlich zu sein, da im Falle von **26** die freie Aminogruppe fehlt, und so eine eventuelle Wechselwirkung im aktiven Zentrum geschwächt oder verhindert wird. Bei beiden Molekülen stellt die schlechte Löslichkeit im Probenpuffer jedoch ein erhebliches Problem dar. Diese Tatsache führte auch zu den recht großen Fehlerbalken in den Diagrammen.



**Abbildung 14:** Ergebnisse der doppelt lipidmodifizierten Benzodiazepine **1** und **26**.

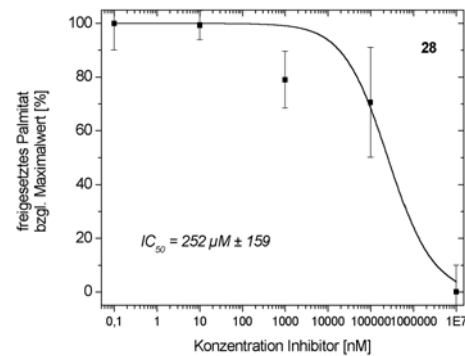
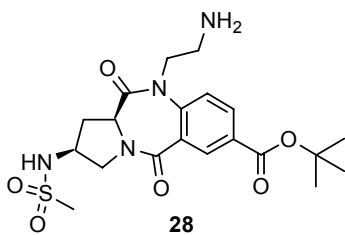
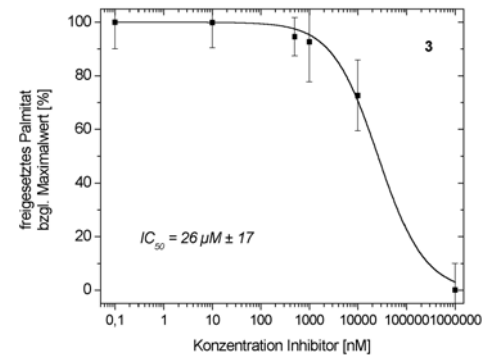
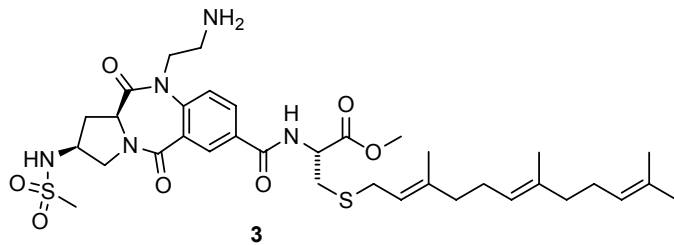
Um eine Aussage darüber machen zu können, ob der Farnesylrest in **1** und **26** eine Rolle für die inhibitorische Potenz spielt, wurden die beiden ausschließlich hexadecylierten Verbindungen **2** und **22** getestet (Abbildung 15). Die freie Säure **2** zeigte sich hierbei mit  $97 \text{ nM} \pm 8$  im Vergleich zum Ester **22** mit  $148 \text{ nM} \pm 6$  als leicht überlegen. Dies könnte möglicherweise an der deutlich besseren Löslichkeit der Säure liegen. Im Vergleich zu den doppelt lipidmodifizierten Benzodiazepinen liegen sie um etwa eine Größenordnung unter deren Inhibitions Potenzial. Ein gewisser positiver Effekt des Farnesylrests scheint also vorzuliegen.



**Abbildung 15:** Ergebnisse der monolipidierten Verbindungen **2** und **22**.

Bei den in Abbildung 16 dargestellten Verbindungen **3** und **28** wurde die Sulfonamideinheit beibehalten, jedoch fehlt die lange Hexadecylkette. Diese wurde durch eine einfache Methylgruppe substituiert. Hierbei ist ein dramatischer Abfall in der Inhibitionswirkung auf APT1 zu erkennen. Während das Benzodiazepin **3** noch einen Farnesylrest besitzt und es immerhin noch auf einen  $\text{IC}_{50}$ -Wert von  $26 \mu\text{M} \pm 17$  erreicht, liefert die vollständig unlipidierte Substanz **28** einen um etwa eine Größenordnung schlechteren Wert von  $252 \mu\text{M} \pm 159$ . Am Sulfonamid muss sich also offensichtlich eine längere Alkylkette befinden, um

eine gute inhibitorische Wirkung zu liefern. Der Farnesylrest in **3** kompensiert ein wenig das Fehlen einer langen Kette in **28**. Jedoch scheint seine Position für das aktive Zentrum nicht optimal zu sein.



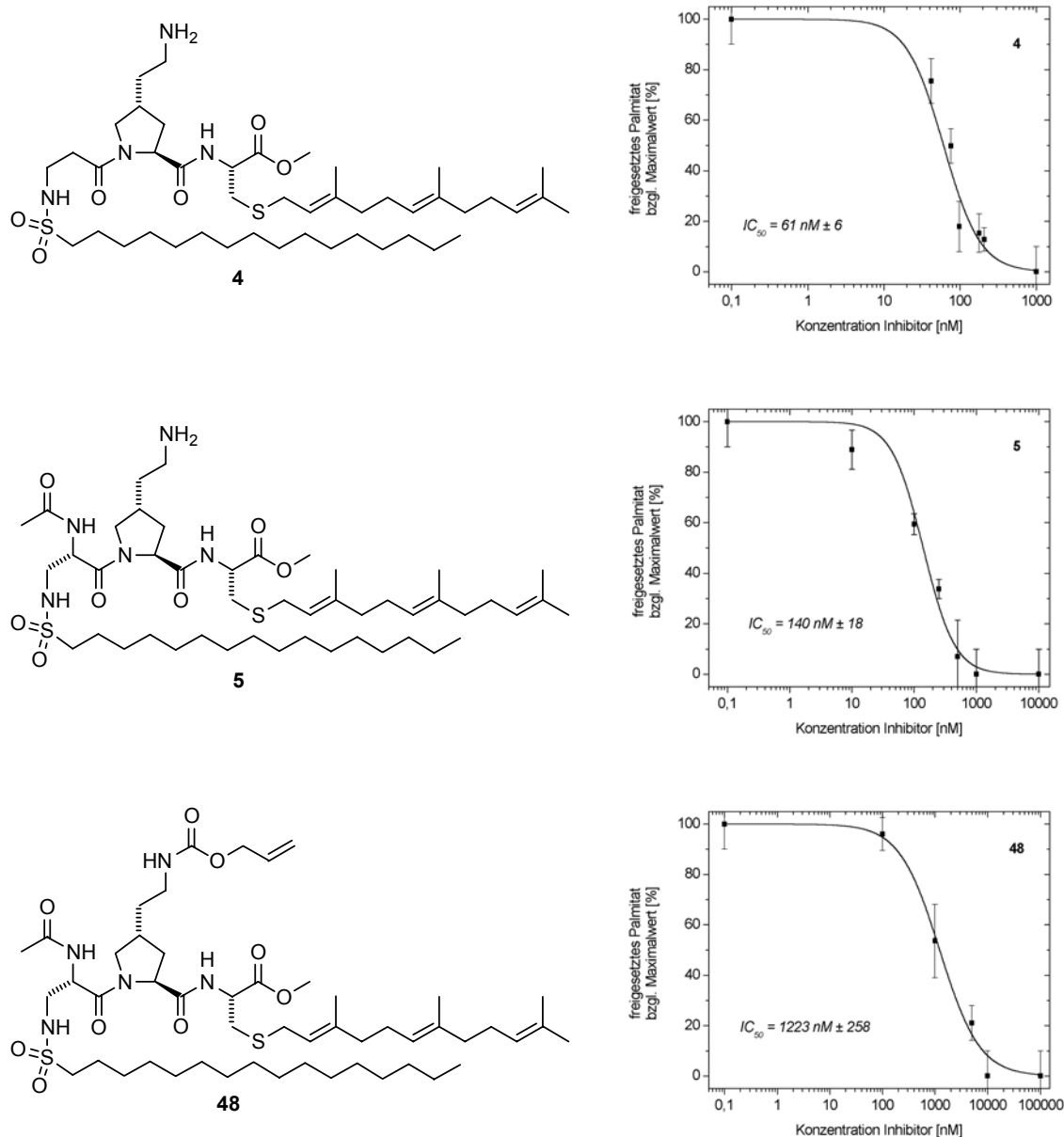
**Abbildung 16:** Ergebnisse der Methansulfonsäureamide **3** und **28**.

Insgesamt kann festgestellt werden, dass das inhibitorische Potential der Benzodiazepine außerordentlich hoch zu sein scheint, wenn eine Hexadecansulfonsäureamidgruppe im Molekül vorhanden ist.

### Ergebnisse der getesteten Prolinderivate

Die folgende Abbildung 17 enthält die Ergebnisse für die drei Prolinderivate, die im APT1-Inhibitionsassay untersucht wurden. Das  $\beta$ -Alaninderivat **4** zeigte hier die stärkste Inhibition mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $61 \text{ nM} \pm 6$ . Das mit Diaminopropionsäure versehene Prolin **5** lieferte einen Wert von  $140 \text{ nM} \pm 18$ , wohingegen die an der Aminofunktion geschützte Variante **48** mit  $1223 \text{ nM} \pm 258$  wiederum um eine Größenordnung schwächer abschnitt. Dies ist offensichtlich auf die blockierte Aminogruppe zurückzuführen. Alles in allem zeigen aber

auch die Prolin-Mimetika eine sehr gute inhibitorische Wirkung, wie aus den Ergebnissen zu entnehmen ist.

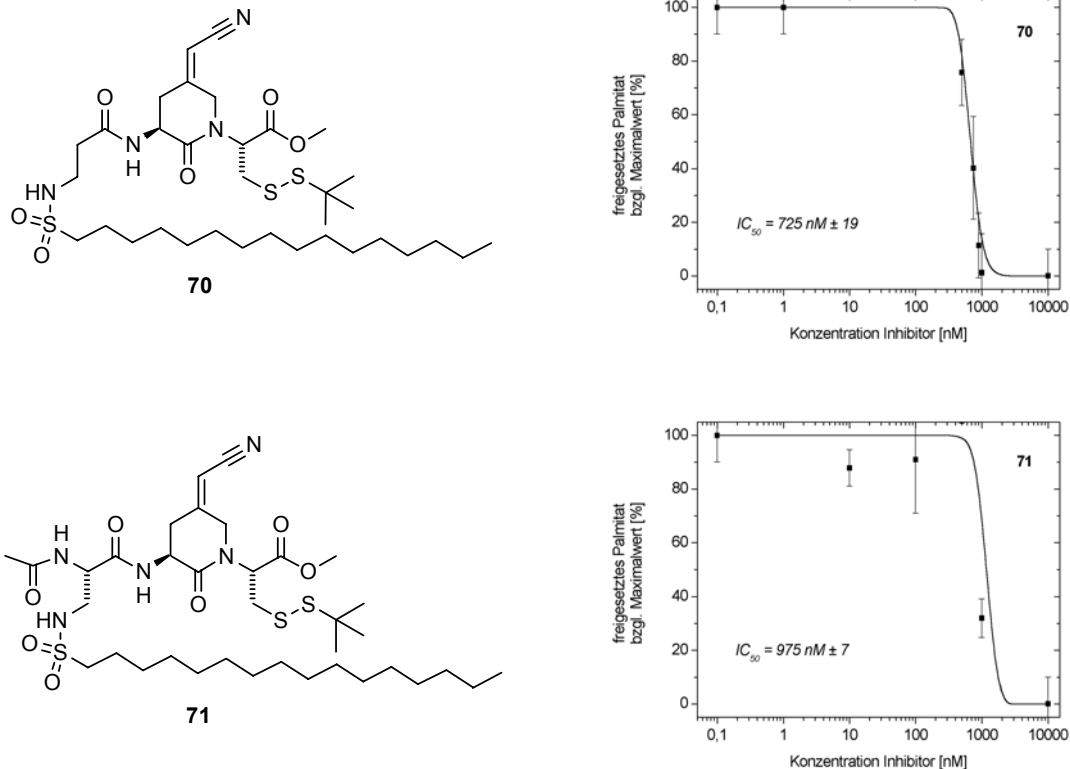


**Abbildung 17:** Ergebnisse der drei getesteten Prolin-Mimetika **4**, **5**, und **48**.

### Ergebnisse der getesteten Lactam-Verbindungen

Die Lactam-Mimetika **70** und **71** sind äußerst interessante Verbindungen. Sie besitzen zwar beide die Hexadecylsulfonamideinheit, jedoch fehlt ihnen die wichtige Aminogruppe. Diese Tatsache wirkt sich auch auf die  $IC_{50}$ -Werte aus. Beide sind im Vergleich zu den ebenfalls nur monolipidierten Benzodiazepinen **2** und **22** (Abbildung 15) um etwa eine Größenordnung

schlechter. Hierbei besitzt das Molekül **70** einen  $IC_{50}$ -Wert von  $725 \text{ nM} \pm 19$ , wohingegen bei dem Lactam **71** ein Wert von  $975 \text{ nM} \pm 7$  resultierte (Abbildung 18).

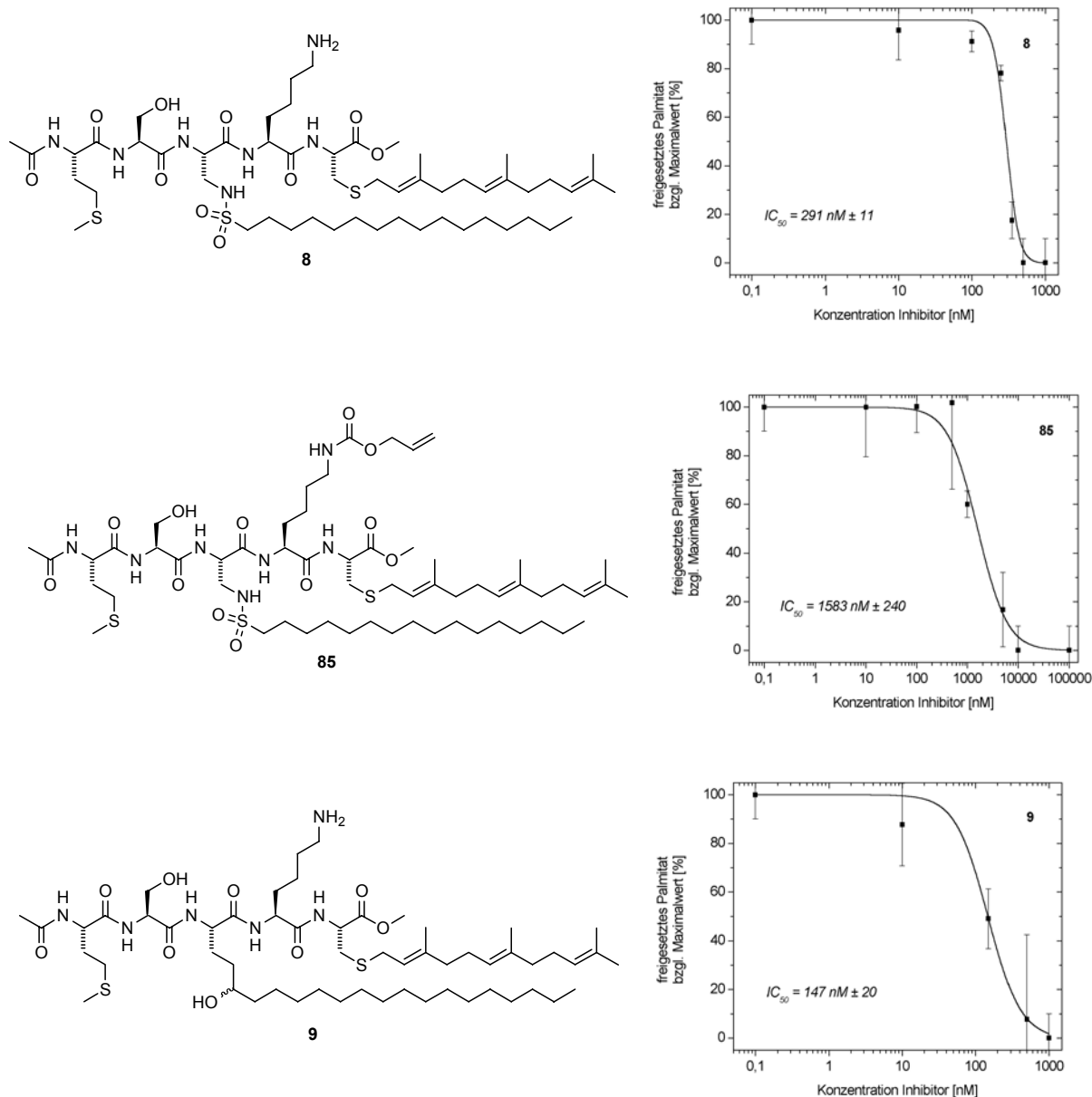


**Abbildung 18:** Ergebnisse der Lactam-Mimetika **70** und **71**.

### Ergebnisse der getesteten Pentapeptide

Die im Folgenden (Abbildung 19) gezeigten Pentapeptide sind exakt an den C-Terminus des H-Ras-Proteins angelehnt. Lediglich die zentrale Aminosäure unterscheidet sich von der natürlichen Sequenz. Nach Untersuchung im Assay folgt für das Pentapeptid **8**, welches eine Diaminopropionsäure an der zentralen Stelle trägt, ein  $IC_{50}$ -Wert von  $291 \text{ nM} \pm 11$ . Lässt man die Aminofunktion geschützt (**85**) fällt die inhibitorische Wirkung, wie in allen anderen Fällen, um etwa eine Größenordnung auf  $1583 \text{ nM} \pm 240$ . Die relativ großen Fehlerbalken sind auch hier wieder auf Löslichkeitsprobleme zurückzuführen. Beim Pentapeptid **9**, welches die  $C_{21}$ -Säure in zentraler Position trägt, konnte in dieser Reihe das beste Ergebnis erzielt werden. Mit  $147 \text{ nM} \pm 20$  liegt der Wert nur wenig über denen, die mit einigen Benzodiazepinen erzielt werden konnten. Die Tatsache, dass sie doch etwas schlechter sind, kann zwei Gründe haben. Einerseits könnte die schon angesprochene schlechte Löslichkeit

die Werte verfälschen. Andererseits könnte auch die größere Flexibilität der Verbindungen im Vergleich zu den rigiden Benzodiazepinen diesen Effekt hervorrufen. Zusammenfassend lässt sich jedoch auch hier feststellen, dass ein großes Potenzial in diesen Verbindungen steckt.

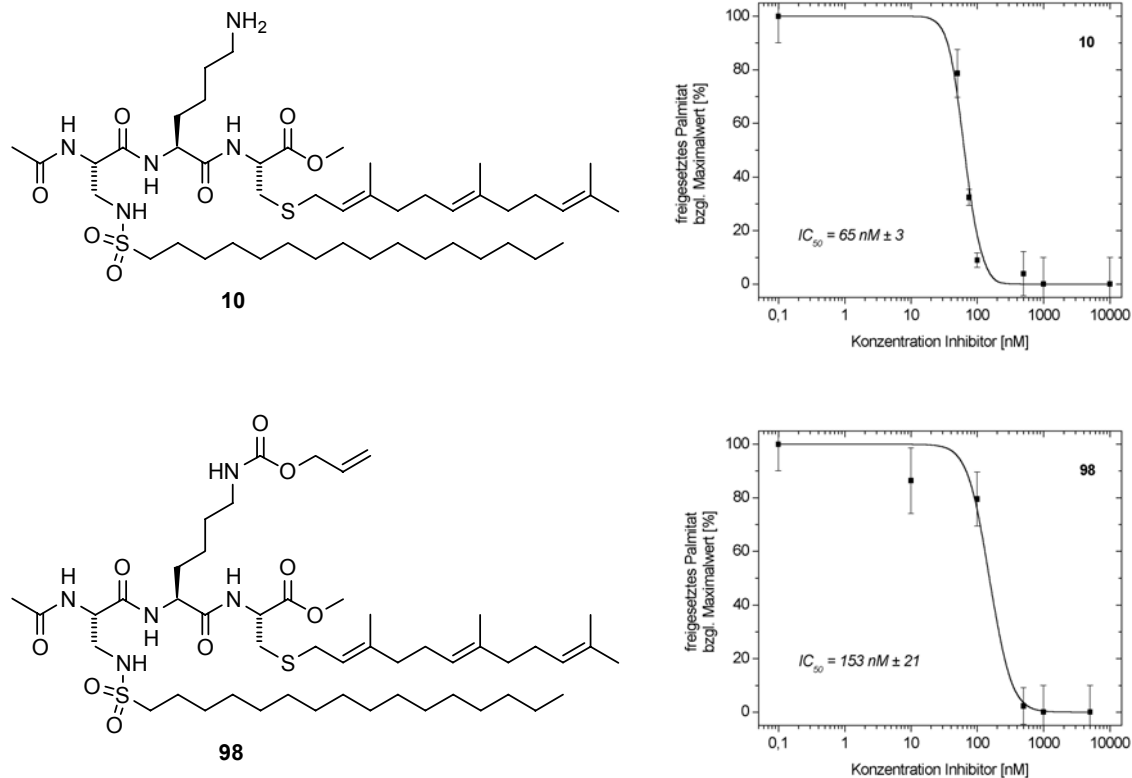


**Abbildung 19:** Ergebnisse der getesteten Pentapeptide **8**, **85** und **9**.

### Ergebnisse der getesteten Tripeptide

Die Ergebnisse für die beiden Tripeptide, die untersucht wurden, finden sich in Abbildung 20. Dabei resultierte mit Verbindung **10** ein guter Inhibitor für das Enzym APT1. Der  $IC_{50}$ -Wert beträgt bei diesem Molekül  $65 \text{ nM} \pm 3$ . Beim geschützten Vertreter **98** war wiederum eine

Verschlechterung der Inhibition zu beobachten. Mit  $153 \text{ nM} \pm 21$  liegt die Substanz aber immer noch in einem hervorragenden Bereich. Die Tatsache, dass das Tripeptid eine bessere Wirksamkeit gegen die APT1 zeigt, als die Pentapeptide, kann durch deren größere Flexibilität in der Peptidkette erklärt werden. Beim Tripeptid **10** scheinen die einnehmbaren Konformationen weniger variabel zu sein als bei den Verbindungen **8** und **9**.



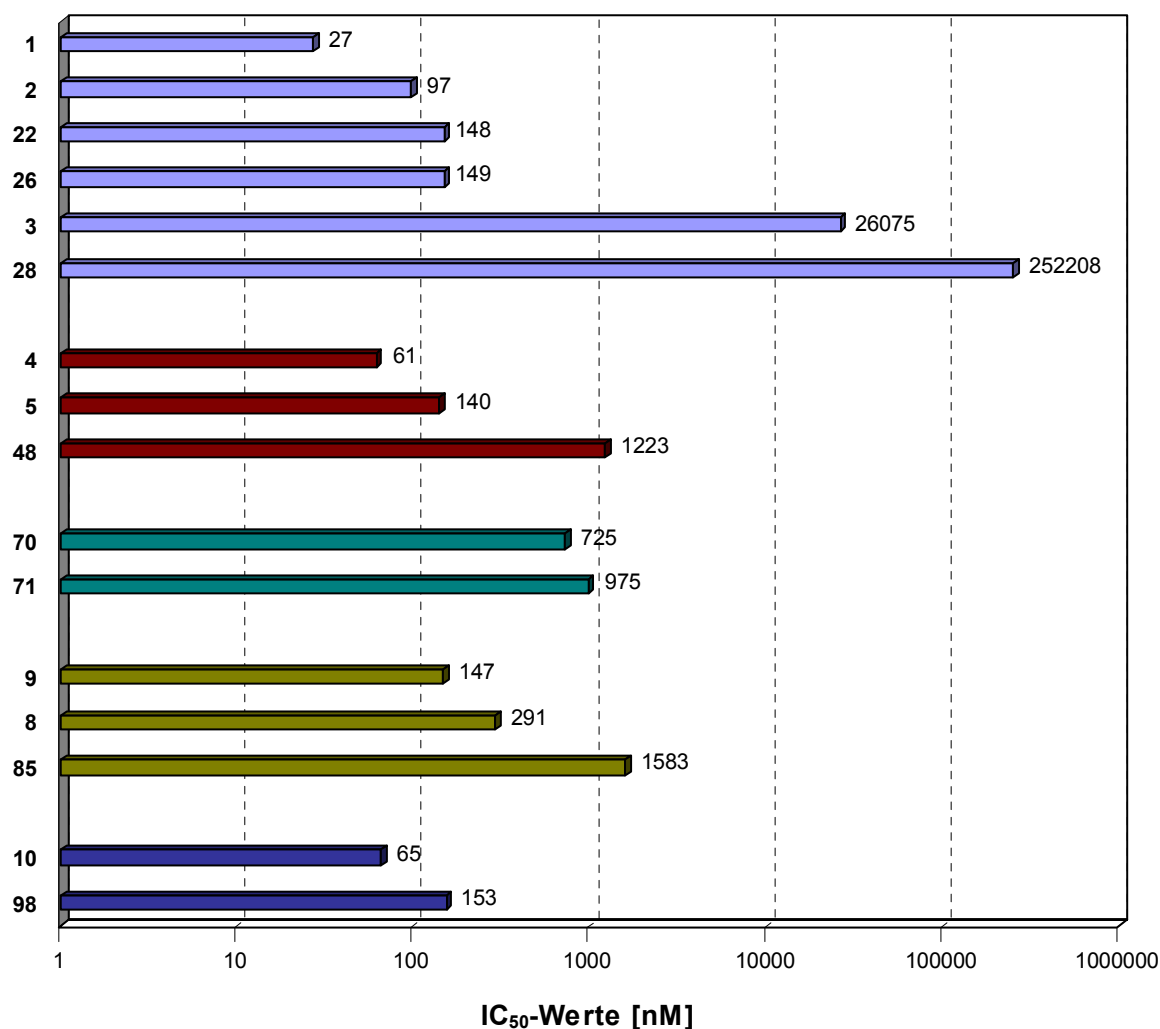
**Abbildung 20:** Ergebnisse der untersuchten Tripeptide **10** und **98**.

### Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Inhibitionstests

Die folgende Abbildung 21 zeigt die berechneten  $IC_{50}$ -Werte aller untersuchten Verbindungen noch einmal im Überblick. Dabei wird deutlich, dass nahezu alle Mimetika, die eine Hexadecansulfonsäureamidgruppe tragen, das Enzym APT1 im nanomolaren Bereich inhibieren. Bei den Benzodiazepinen **3** und **28** fehlt diese lange Alkylkette, was sich drastisch in den  $IC_{50}$ -Werten widerspiegelt. Weiterhin fällt auf, dass in den Fällen, bei denen die zentrale Aminogruppe mit der Allyloxycarbonylgruppe blockiert war, das inhibitorische Potenzial dieser Verbindungen im Vergleich um etwa eine Größenordnung niedriger war. In dieses Bild passen auch die zwei getesteten Lactame **70** und **71**, bei denen statt einer



Aminogruppe lediglich eine Cyanofunktion im Molekül enthalten war. Ein weiterer Schluss, den man aus den Untersuchungen ziehen kann, ist, dass die tripeptidischen Strukturen eine ähnliche, wenn nicht sogar bessere Inhibition zeigen als die gezeigten Pentapeptide. Problematisch bei einigen der untersuchten Substanzen war deren geringe Löslichkeit im Probenpuffer. Aus diesem Grund ist gerade das Benzodiazepin **2** für Mikroinjektionsstudien an Zellen ein äußerst interessantes Molekül. Es besitzt eine hervorragende Löslichkeit und mit 97 nM ein außerordentlich starkes Inhibitionsverhalten. In den im nächsten Kapitel beschriebenen Mikroinjektionsstudien fanden daher neben Verbindung **1** auch die Benzodiazepine **2** und **22** Verwendung.



**Abbildung 21:** Zusammenfassung der berechneten IC<sub>50</sub>-Werte.

Zusammenfassend betrachtet kann festgestellt werden, dass es gelungen ist, eine große Zahl außerordentlich leistungsfähiger Inhibitoren für das Enzym Acyl-Protein-Thioesterase 1 zu

finden. Die synthetisierten Strukturen würden sich in weiterführenden Arbeiten hervorragend für einen kombinatorischen Ansatz eignen, um verbesserte Strukturen zu finden, die neben einer starken inhibitorischen Wirkung auch gute physikalische Eigenschaften im Hinblick auf biologische Untersuchungen besitzen.

#### **4.8.3. Ergebnisse der Mikroinjektionsstudien an PC12-Zellen**

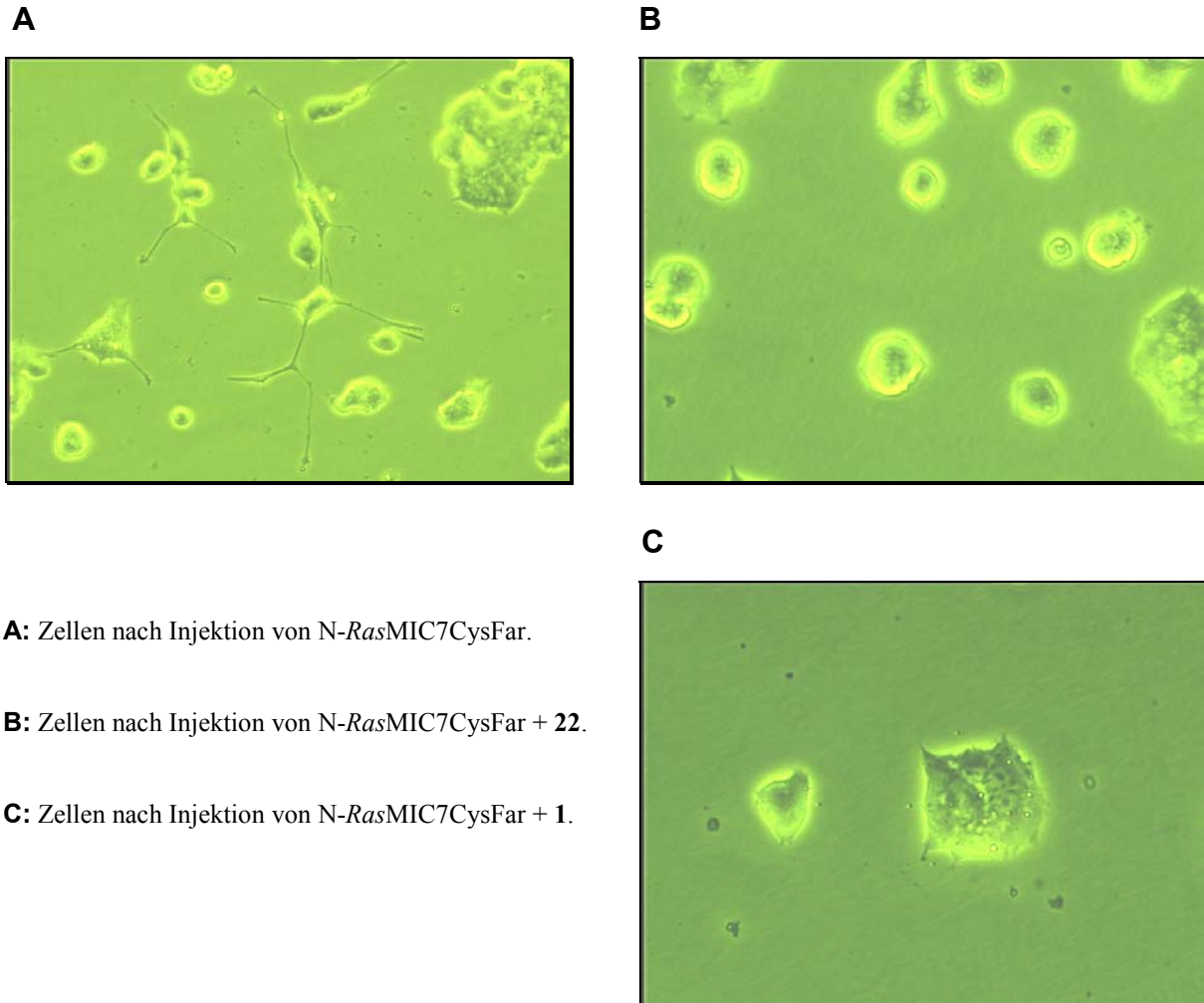
Über Mikroinjektionsstudien kann die biologische Aktivität von onkogenen *Ras*-Proteinen und künstlichen Protein-Konstrukten getestet werden.<sup>[98-100]</sup> Wird ein intaktes onkogenes *Ras*-Protein in Pheochromocytoma-Zellen (PC12-Zellen) injiziert, so bilden sich ausgehend von den Zellen Ausläufer, sogenannte Dendriten oder Neuriten. Einem solchen Test wurde das Konstrukt aus verkürztem N-*Ras* und dem Heptapeptid MIC-Gly-Cys-Met-Gly-Leu-Pro-Cys(Far)-OMe unterworfen.<sup>[100]</sup> Dieses Konstrukt ist nicht palmitoyliert und wird daher erst nach Prozessierung in der Zelle in seine onkogene und damit Neuriten verursachende Form überführt.

Bei den durchgeführten Untersuchungen wurde zunächst das Proteinkonstrukt allein und danach zusammen mit dem jeweiligen Inhibitor koinjiziert (Abbildung 22). In Bild A ist die Neuritenbildung nach Zugabe des Proteins deutlich zu erkennen. Die Rate des Wachstums betrug hierbei 47.7 %.<sup>[101]</sup> In Bild B sind die Zellen nach Koinjektion mit dem Inhibitor **22** dargestellt und es zeigt sich, dass die PC12-Zellen völlig frei von Neuriten sind. Das statistische Ausmass des Neuritenwachstums betrug hier nur noch 14.2 %. Bild C schliesslich zeigt das Ergebnis, das mit Inhibitor **1** erhalten wurde. Auch hier sind die Zellen nahezu dendritenfrei. Der hier erhaltene Prozentsatz der neuritenbildenden Zellen betrug 16.3 %. Allerdings streuten die Werte in diesem Fall sehr, was auf die relativ schlechte Löslichkeit der Verbindung **1** im verwendeten Medium zurückzuführen ist. Ergebnisse zu den Untersuchungen mit dem Benzodiazepin **2** liegen derzeit noch nicht vor.

Das gleiche Experiment wurde auch mit einem entsprechenden K-*Ras*-Protein durchgeführt. Dieses besitzt keine Palmitoylierungsstelle, weshalb in beiden Fällen, mit und ohne Inhibitor, Neuritenwachstum zu erwarten wäre. Es zeigte sich jedoch auch hier, dass nach Koinjektion des Inhibitors **22** die Neuritenbildung deutlich reduziert wurde.

Eine eindeutige regulative Rolle des Enzyms APT1 bei der Palmitoylierung und Depalmitoylierung von *Ras*-Proteinen kann aus diesen Untersuchungen noch nicht gefolgert werden. Jedoch wirkt sich die Koinjektion des Inhibitors **22** deutlich auf die Differenzierung

der PC12-Zellen aus. Ob dies eventuell durch das Eingreifen in andere zelluläre Mechanismen als dem Ras-Signalweg geschieht, muss in weiteren Untersuchungen geklärt werden.



**A:** Zellen nach Injektion von N-RasMIC7CysFar.

**B:** Zellen nach Injektion von N-RasMIC7CysFar + **22**.

**C:** Zellen nach Injektion von N-RasMIC7CysFar + **1**.

**Abbildung 22:** Ergebnisse der Mikroinjektionsstudien.

In einem zweiten Experiment wurde fluoreszenzmarkiertes H-Ras-Protein hinsichtlich seiner Plasmamembranlokalisation untersucht.<sup>[102]</sup> Es zeigte sich, dass bis vier Stunden nach Koinjektion des Inhibitors **22** mit dem modifizierten H-Ras-Protein keine Plasmamembranlokalisation erfolgte. Erst acht Stunden nach Injektion konnte eine signifikante Anreicherung des Proteins an der Plasmamembran beobachtet werden.<sup>[101]</sup> Um diese ersten Untersuchungen zu quantifizieren, bedarf es allerdings noch einer weitergehenden Betrachtung.

#### **4.8.4. Abschließende Bewertung der gezeigten Ergebnisse**

Die präsentierten Ergebnisse der zellbiologischen Untersuchungen lassen bislang noch keine fundierte Aussage über die physiologische Bedeutung der Acyl-Protein-Thioesterase 1 zu. Es ist gelungen, im Fall von *N-Ras*-Konstrukten eine reduzierte Differenzierungsquote durch Koinjektion verschiedener Inhibitoren nachzuweisen. Wäre die APT1 ein Regulativ bei der Depalmitoylierung von *Ras*-Proteinen, hätte die Differenzierungsquote jedoch zunehmen müssen. Die Ergebnisse deuten also auf eine Beteiligung der APT1 bei der Palmitoylierungsreaktion hin. Die Tatsache jedoch, dass auch bei *K-Ras*, bei dem die Palmitoylierung für die biologische Aktivität keine Rolle spielt, die Ausbildung von Neuriten unterbunden wird, spricht wiederum eher dafür, dass die synthetisierten Inhibitoren in andere, vom *Ras*-Signaltransduktionsweg verschiedene, zelluläre Mechanismen eingreifen. Dies muss in weitergehenden Studien evaluiert werden.

Die scheinbare Verzögerung der Plasmamembranlokalisierung von fluoreszenzmarkiertem *H-Ras* könnte ebenfalls auf eine regulierende Rolle der APT1 hindeuten. Die Inhibition eines in die Palmitoylierung von *Ras*-Proteinen involvierten Enzyms, würde exakt diesen Effekt hervorrufen. Zu klären bleibt allerdings, ob es sich bei diesem Enzym tatsächlich um die Acyl-Protein-Thioesterase 1 handelt, oder ob eventuell eine bislang nicht charakterisierte Palmitoyltransferase durch die verwendeten Inhibitoren blockiert wird.

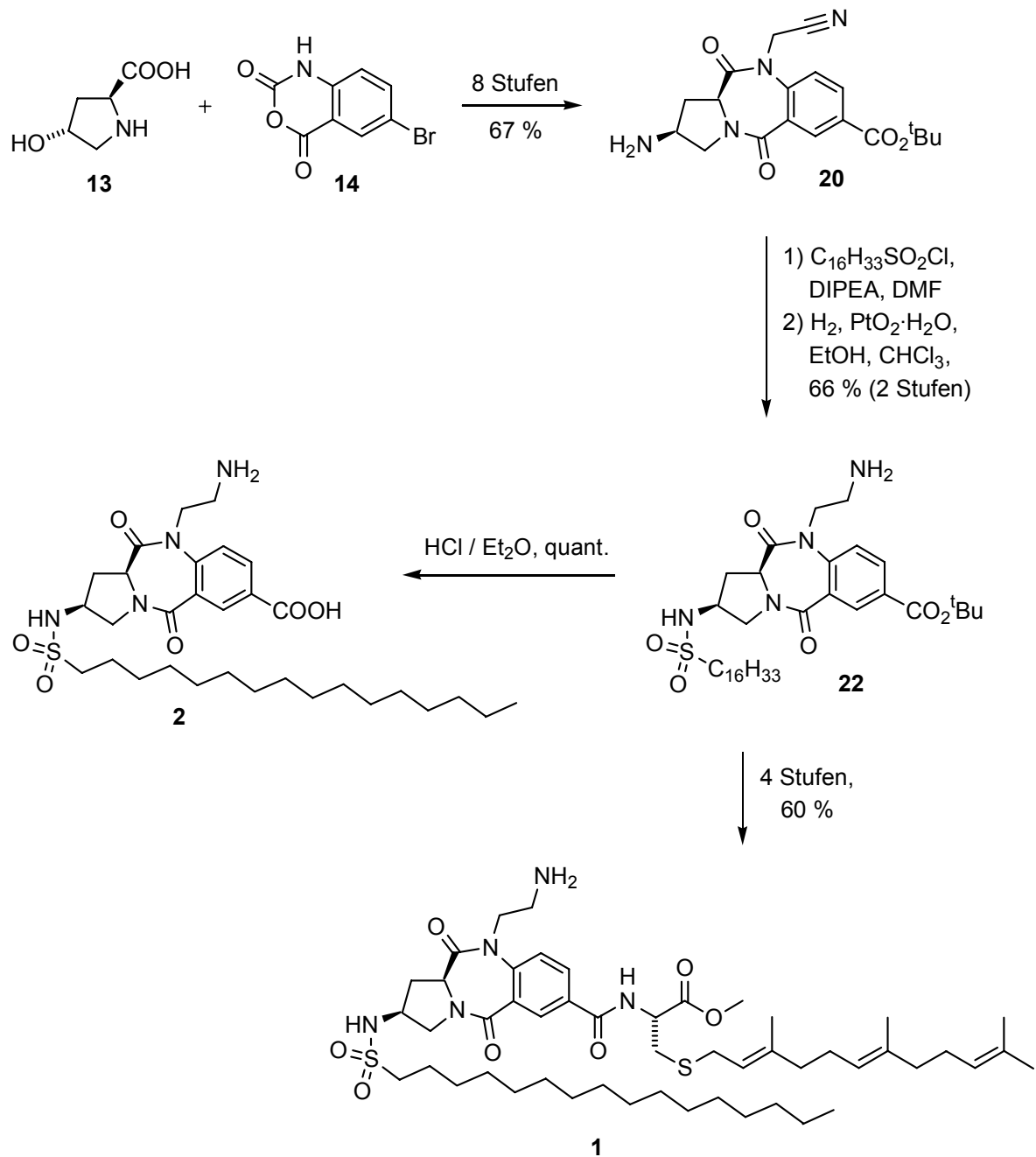
In jedem Fall sprechen die erzielten Ergebnisse dafür, dass es mit den entwickelten Verbindungen in naher Zukunft möglich sein wird, zur Aufklärung der physiologischen Bedeutung der Palmitoylierung von Signalproteinen beizutragen.

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

Die Bedeutung der Chemie für ihre Nachbardisziplinen ist immens. So führte nicht zuletzt der Einsatz kleiner, wohldefinierter Verbindungen in der Erforschung biologischer Phänomene bis hinunter auf die molekulare Ebene zu einer äußerst positiven Entwicklung der Medizin und Biologie. Einen wesentlichen Untersuchungsgegenstand dieser „Chemischen Biologie“ stellt die Signaltransduktion dar, deren Protagonisten oftmals lipidmodifizierte Proteine sind. Prominente Vertreter dieser Klasse sind die sogenannten *Ras*-Proteine, bei denen als Lipidmodifizierungen die *N*-Myristoylierung, die *S*-Prenylierung sowie die *S*-Palmitoylierung vorkommen. Während die Myristoylierung und die Prenylierung weitgehend verstanden sind, herrscht im Hinblick auf die Mechanismen der Palmitoylierung nach wie vor akuter Forschungsbedarf. Angetrieben durch die kürzlich erfolgte Isolierung des Enzyms Acyl-Protein-Thioesterase 1 (APT1), welches H-*Ras* depalmitoylieren kann, sollten im Rahmen dieser Arbeit Inhibitoren für die APT1 synthetisiert und in biologischen Untersuchungen evaluiert werden, um so tiefere Einblicke in die physiologische Bedeutung der Palmitoylierung von Signalproteinen zu erlangen.

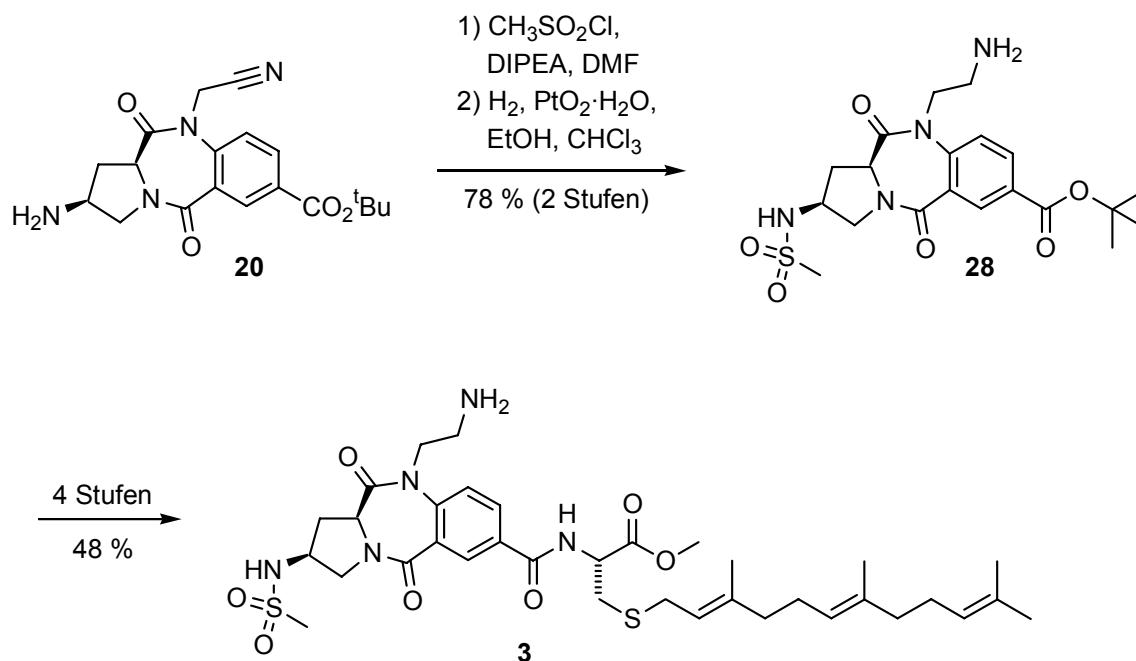
Die Hauptaufgabe während dieser Dissertation bestand in der Synthese einer Reihe potenzieller Inhibitoren aus unterschiedlichen Substanzklassen. Diese Übergangszustandsanaloga leiteten sich vom C-Terminus des H-*Ras*-Proteins ab, wobei zunächst eine konformative Fixierung des Peptidrückgrats durch Benzodiazepin-, Prolin- oder Lactamstrukturen erreicht werden sollte. Weiterhin sollten durch den Einbau modifizierter Aminosäuren verschiedene Peptidanaloga dargestellt werden.

Die Synthese der Benzodiazepinstrukturen begann mit der Kondensation von 4-(*R*)-Hydroxy-L-prolin **13** mit 5-Bromisatosäureanhydrid **14**, wonach im Anschluss daran die zentrale Grundstruktur **20** in acht Stufen dargestellt werden konnte (Schema 34). Die nachfolgende Derivatisierung der Aminofunktion sowie die Reduktion der Nitrilgruppe lieferten die Verbindung **22** als ersten Vertreter für spätere biologische Untersuchungen. Ausgehend von diesem war es dann auch möglich, sowohl das Benzodiazepin **2** als auch die Verbindung **1** als weitere potenzielle Inhibitoren zu synthetisieren.



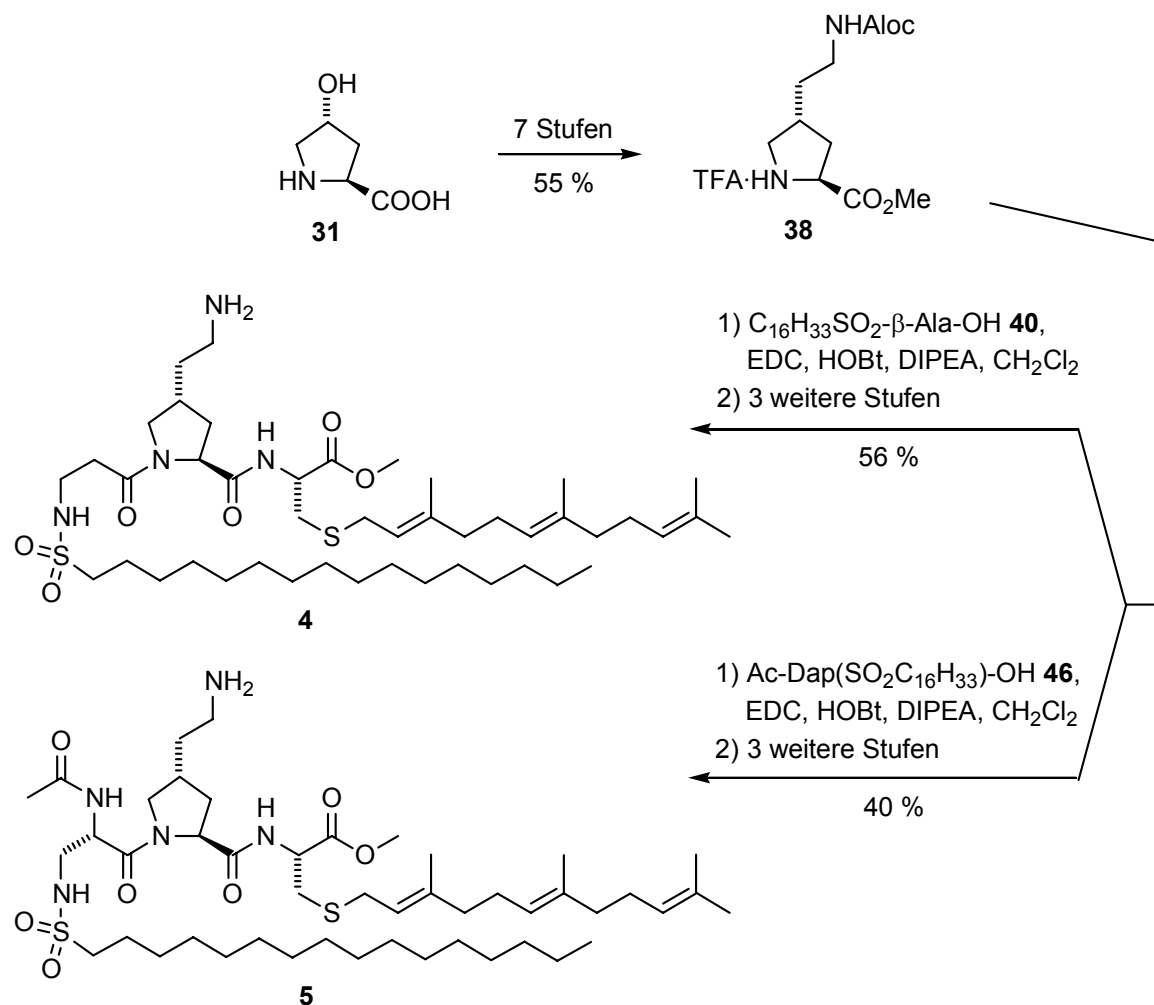
**Schema 34:** Synthese der Benzodiazepinderivate **1** und **2**.

Weiterhin gelang es mit der zentralen Struktur **20** als Startpunkt, zwei weitere Benzodiazepine darzustellen (Schema 35). Die vollständig unlipidierte Verbindung **28** war hierbei in zwei Stufen zugänglich, und ausgehend von diesem gelang die Synthese des Inhibitors **3** in weiteren vier Stufen. Somit standen für für biologische Tests insgesamt sechs unterschiedlich substituierte Benzodiazepine zur Verfügung.



**Schema 35:** Synthese des Benzodiazepinderivats **3**.

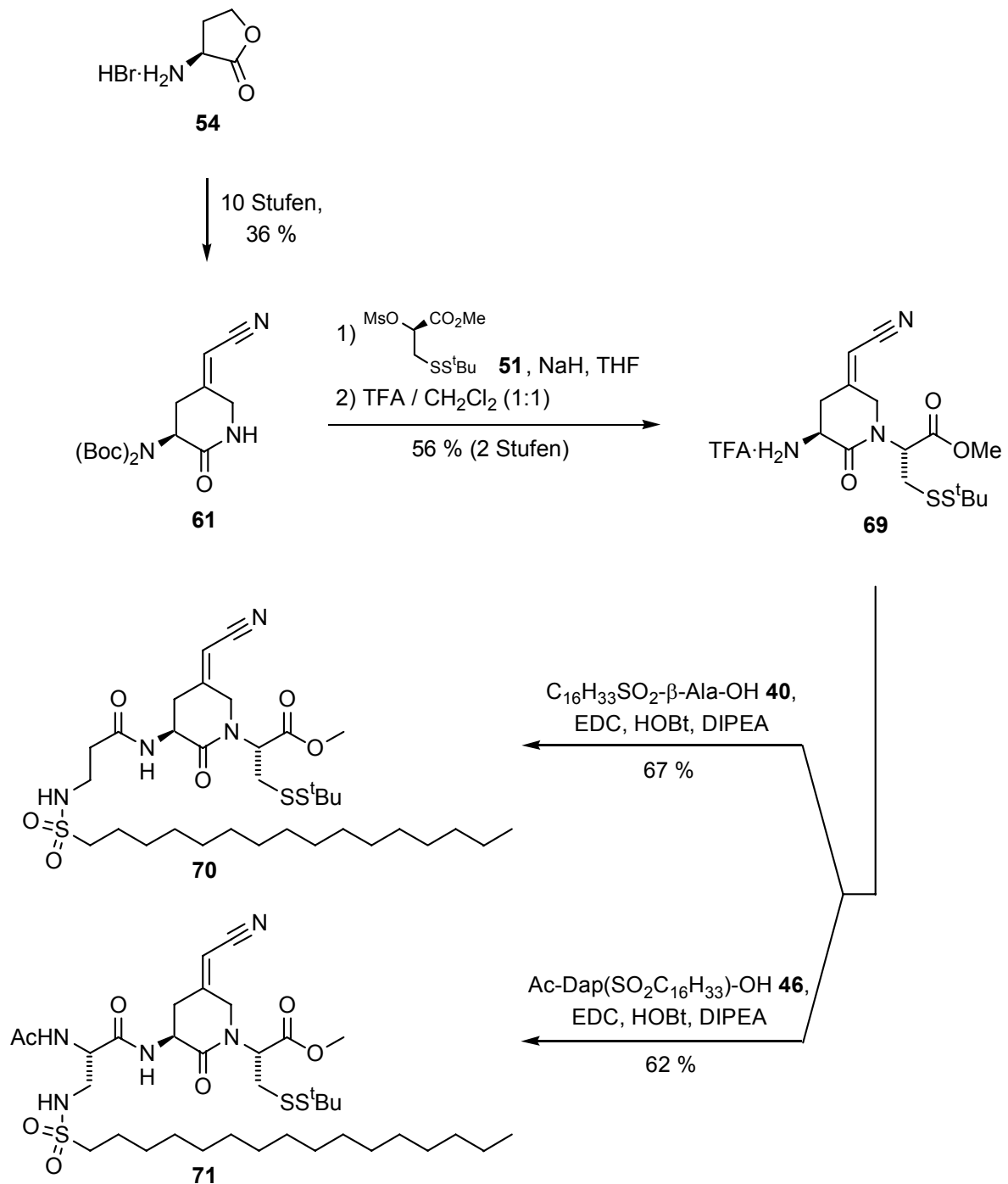
Die Synthese der gewünschten Prolinderivate startete mit 4-(*R*)-Hydroxy-L-prolin **13**. Ausgehend hiervon war es möglich, das wichtige, zentrale Trifluoressigsäuresalz **38** in nur sieben Stufen darzustellen (Schema 36). Für die weitere Synthese war nun eine Kupplung mit den unterschiedlichen Aminosäuren **40** und **46** nötig. Das  $\beta$ -Alaninderivat **40** wurde hierzu zunächst effizient in einer Eintopfreaktion dargestellt, auf das Prolin **38** gekuppelt und dieses sodann in drei Stufen in das gewünschte Mimetikum **4** überführt. Der Aufbau der Diaminopropionsäure **46** erfolgte in fünf Stufen, wonach in analoger Weise die Verbindung **5** dargestellt werden konnte. Für die Evaluierung wirksamer Inhibitoren der APT1 konnten somit zwei Vertreter einer weiteren Substanzklasse zugänglich gemacht werden.



**Schema 36:** Synthese der Proline **4** und **5**.

Für die Synthese der  $\delta$ -Lactamverbindungen wurde von 2-(*S*)-Aminobutyrolactonhydrobromid **54** ausgegangen, welches in zehn Stufen in die Lactamzwischenstufe **61** überführt werden konnte (Schema 37). Durch eine Alkylierung mit dem in zehn Stufen zugänglichen Mesylat **51** und nach Abspaltung der Schutzgruppen war es möglich den zentralen Lactambaustein **69** darzustellen. Im weiteren Verlauf erfolgte nun die Kupplung einerseits mit dem schon beschriebenen Alaninderivat **40**, andererseits mit der ebenfalls bekannten Diaminopropionsäure **46**. Auf diese Weise konnten die Verbindungen **70** und **71** synthetisiert werden. Leider gelang es im Folgenden nicht, die Nitrilfunktion in beiden Molekülen ohne Verlust der kompletten Disulfidgruppe zu reduzieren. Da die gezeigten Verbindungen jedoch ein äußerst interessantes Substitutionsmuster besaßen, erschien eine Evaluierung in den biologischen Testsystemen in jedem Fall lohnenswert.

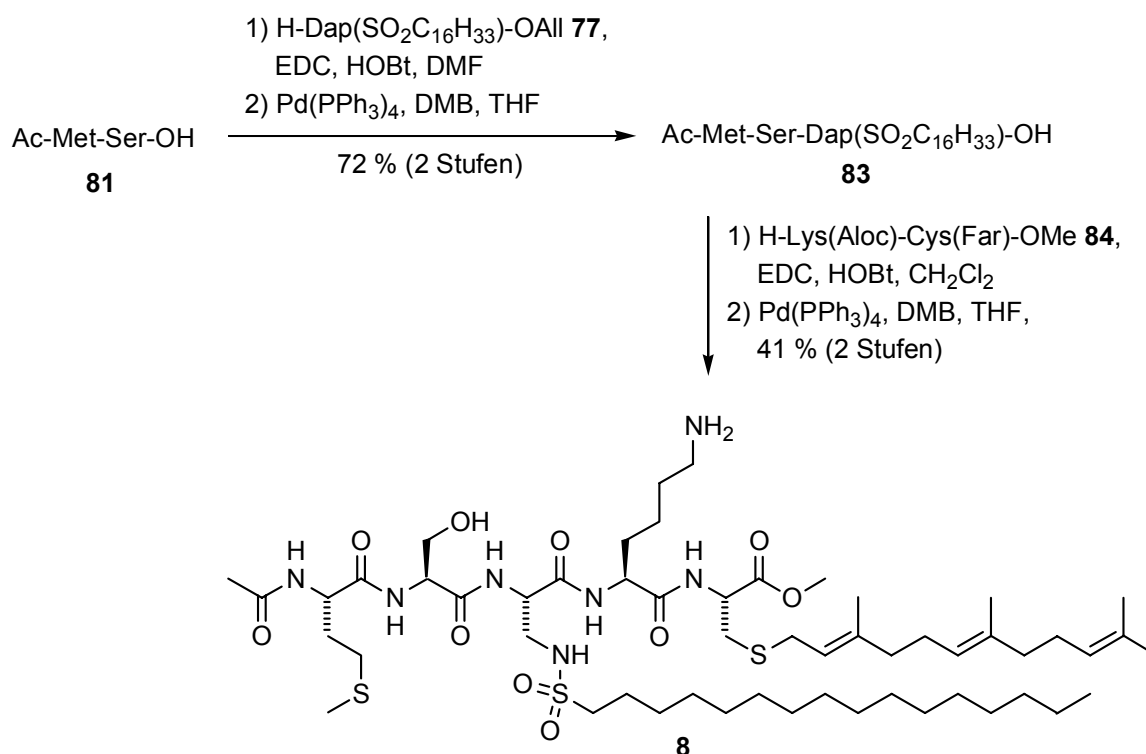




**Schema 37:** Synthese der Lactam-Mimetika **70** und **71**.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde die Synthese unterschiedlicher Penta- und Tripeptide in Angriff genommen. Zunächst wurde durch Kupplung von *N*-Acetyl-L-methionin **78** und L-Serinbenzylesterhydrochlorid **79** mit anschließender hydrogenolytischer Abspaltung des Benzylesters das Dipeptid **81** generiert. Die Kupplung mit der Diaminopropionsäure **77** und eine nachfolgende Abspaltung der Allylschutzgruppe lieferten das kupplungsfähige Tripeptid

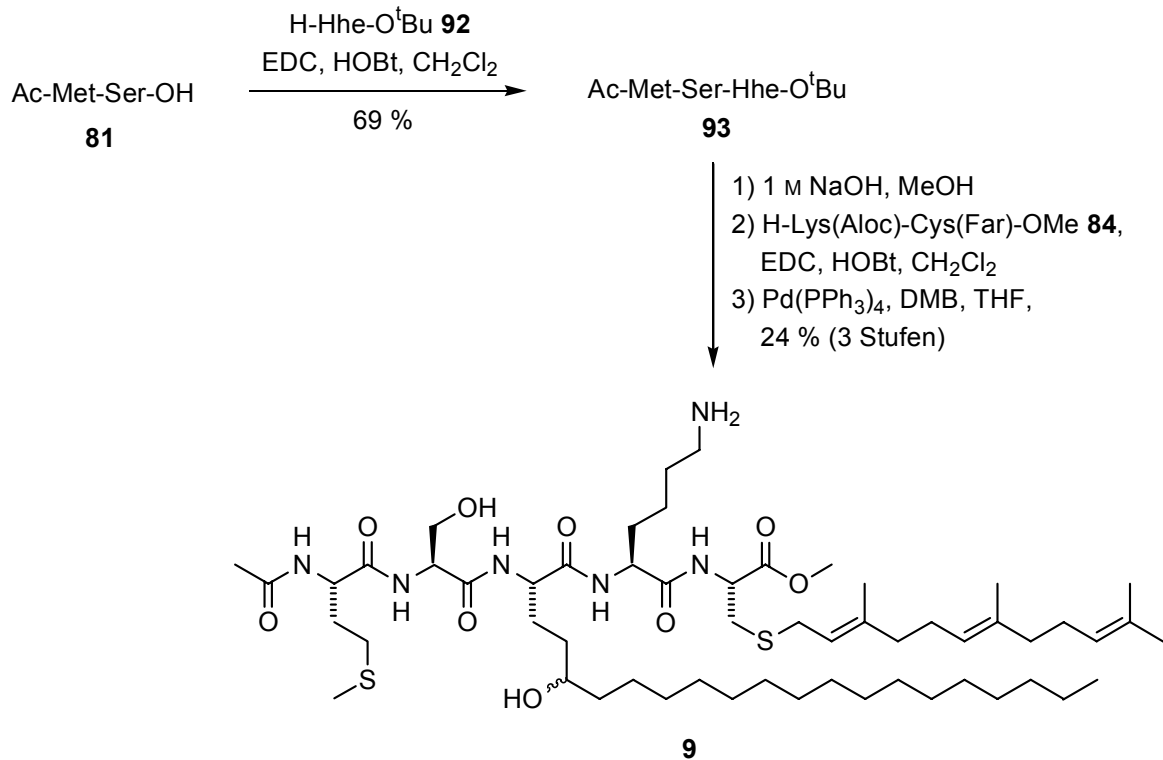
**83** (Schema 38). Durch Verknüpfung mit dem frisch bereiteten Dipeptid **84** und finaler Deblockierung konnte das Pentapeptid **8** zugänglich gemacht werden.



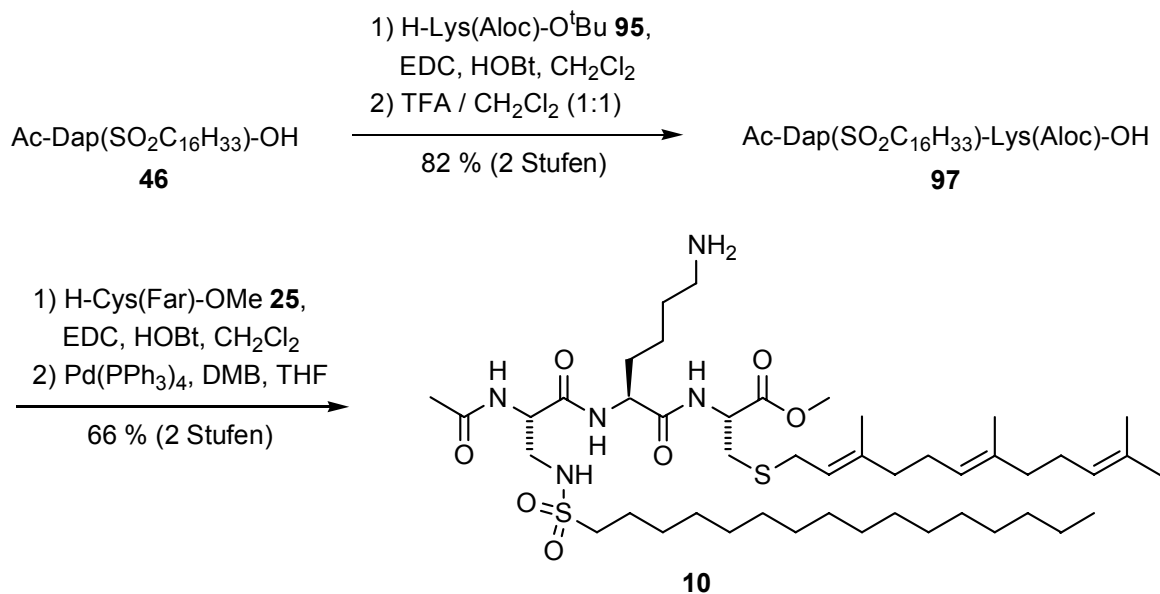
**Schema 38:** Synthese des Pentapeptids **8**.

Die Synthese eines zweiten Pentapeptids erforderte zunächst die Kupplung des Dipeptids **81** mit der C<sub>21</sub>-Aminosäure **92**, die in sechs Stufen zugänglich ist, zum Tripeptid **93** (Schema 39). Eine saure Spaltung des *tert*-Butylesters gelang hier allerdings nicht, weshalb der Ester basisch verseift wurde. Die anschließende Kupplung des frisch hergestellten Dipeptids **84** und die finale Deblockierung der Aminofunktion des Lysins lieferte das zweite Pentapeptid **9**, welches nun auch für biologische Untersuchungen bereitgestellt war.

Für die Synthese des gewünschten Tripeptids wurde die C-terminal freie Diaminopropionsäure **46** zunächst mit dem Lysin **95** gekuppelt und das entstandene Dipeptid anschließend C-terminal geschützt (Schema 40). Das kupplungsfähige Dipeptid **97** wurde dann mit farnesyliertem L-Cysteinmethylester **25** umgesetzt und das generierte Tripeptid final palladiumkatalysiert geschützt. Auf diese Weise war es möglich, das Tripeptid **10** als weiteren peptidischen Vertreter für die Inhibitionstests zu generieren.



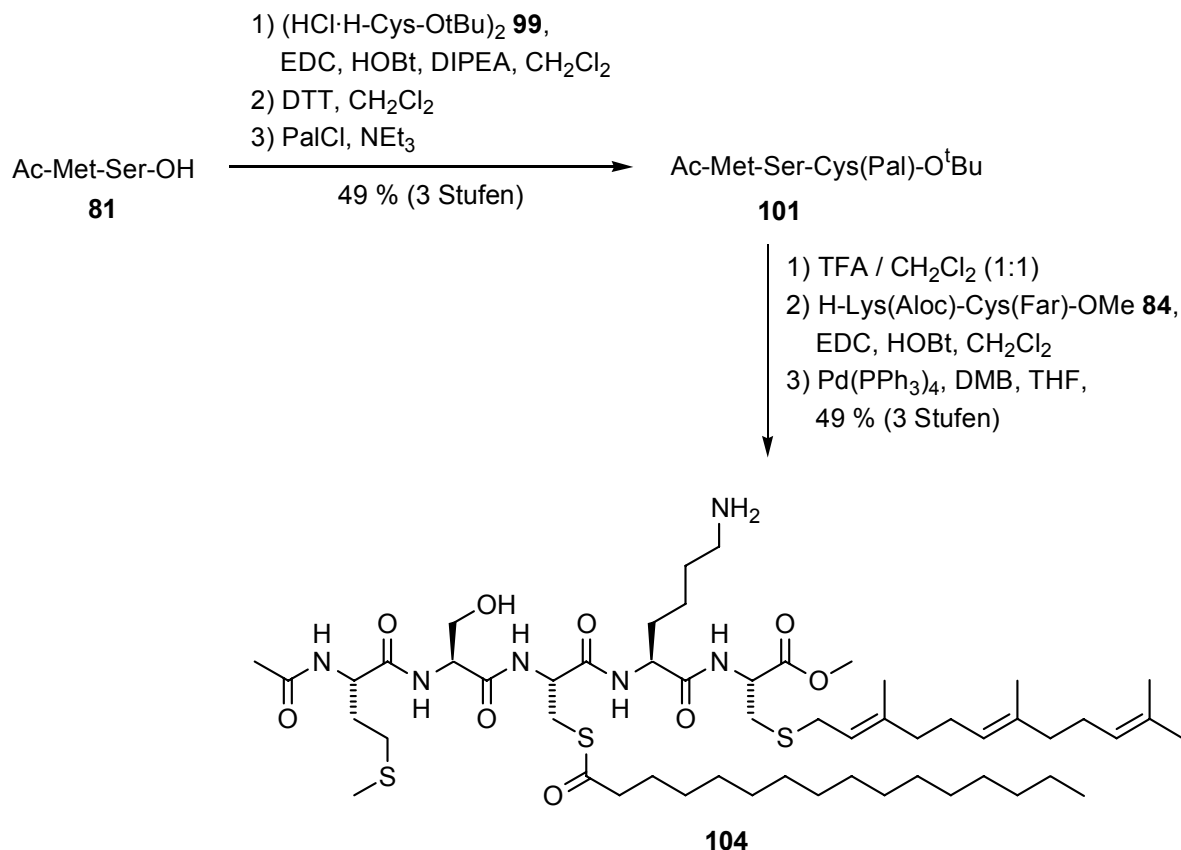
**Schema 39:** Synthese des Pentapeptids **9**.



**Schema 40:** Synthese des Tripeptids **10**.

Um die enzymatischen Tests durchführen zu können, war es notwendig, ein peptidisches Substrat für das Enzym zu synthetisieren. Dazu wurde das Dipetid Ac-Met-Ser-OH **81**

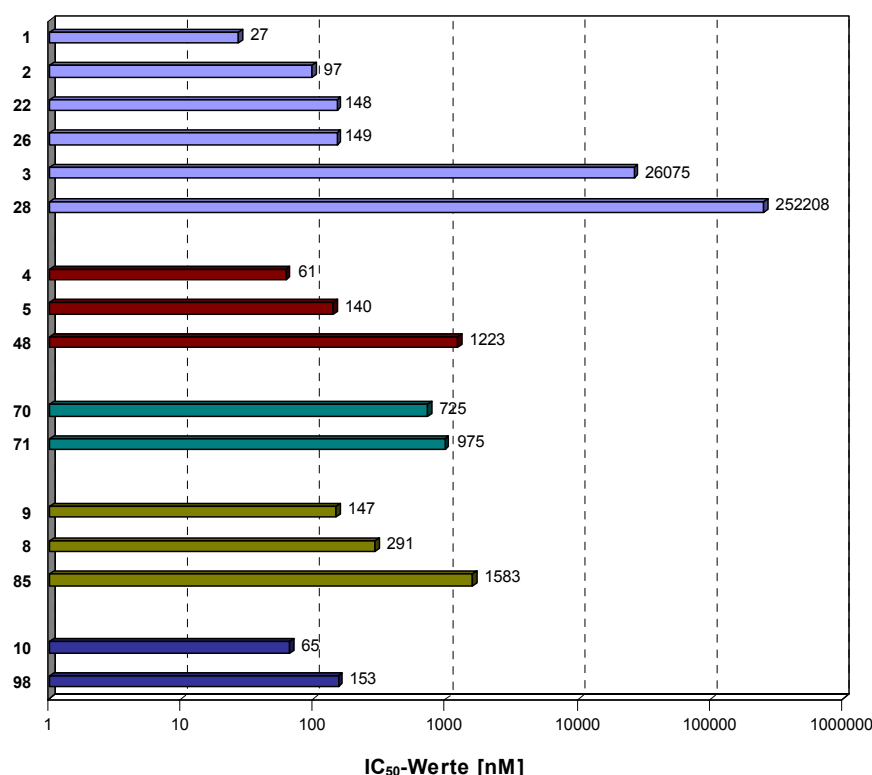
zunächst mit Bis(L-cystin-*tert*-butylesterhydrochlorid) **99** gekuppelt, das Disulfid gespalten und anschließend *in situ* palmitoyliert (Schema 41). Das so erhaltene Tripeptid **101** wurde C-terminal deblockiert und mit dem frisch bereitetem Dipeptid **84** gekuppelt. Durch die finale Abspaltung der Aloc-Schutzgruppe konnte das Substrat für die Acyl-Protein-Thioesterase 1 **104** dargestellt werden.



**Schema 41:** Synthese des Substrats für die Inhibitionstests **104**.

Im Ganzen standen also 16 potenzielle Inhibitoren zur Verfügung, die auf ihre antagonistische Wirkung gegen die APT1 getestet werden sollten. Nach der Isolierung des Enzyms aus Rattenleber nach einem Protokoll von Duncan *et al.*<sup>[14]</sup> wurde im weiteren Verlauf der Arbeit ein fluoreszenzbasiertes Assaysystem für die Depalmitoylierung von Peptiden und Proteinen entwickelt. Basis hierfür war der von Alan Kleinfeld entwickelte und von Molecular Probes vertriebene, fluoreszenzmarkierte Fettsäurerezeptor ADIFAB.<sup>[95,96]</sup> Mit Hilfe dieses Assaysystems war es dann möglich, die synthetisierten Verbindungen auf ihre inhibitorische Potenz gegen die APT1 zu testen. In Abbildung 23 sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen grafisch zusammengefasst. Folgende Trends lassen sich hierbei formulieren:

- Alle Substanzen, die eine Hexadecansulfonamidgruppe tragen, inhibieren im nanomolaren Bereich. Fehlt diese lange Alkylkette, verschlechtern sich die IC<sub>50</sub>-Werte deutlich.
- Verbindungen mit deblockierter Aminogruppe sind aktiver als solche mit geschützter oder nicht vorhandener Aminofunktion.
- Tripeptide sind in etwa genauso wirksam wie Pentapeptide, d. h. ihre strukturelle Information reicht für ein gutes Inhibitionsverhalten bereits aus.
- Ein Farnesylrest scheint nicht essenziell zu sein.

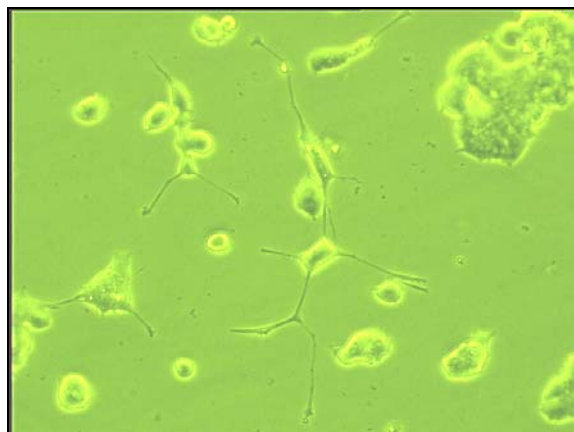


**Abbildung 23:** Ergebnisse der Inhibitionstests.

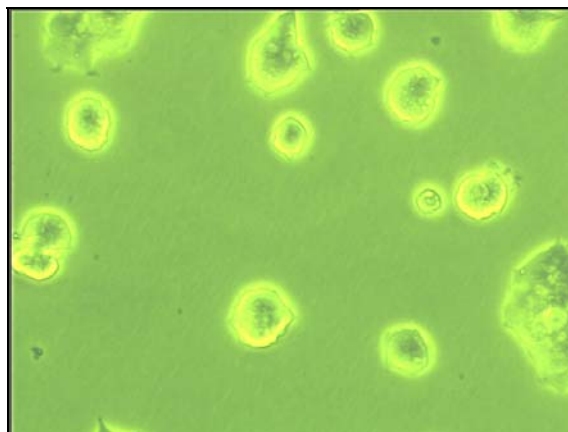
Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es gelungen ist, verschiedene Klassen außerordentlich leistungsfähiger Inhibitoren für das Enzym Acyl-Protein-Thioesterase 1 zu synthetisieren. Die Verbindungen **1** und **22** fanden im Folgenden in Mikroinjektionsstudien an PC12-Zellen Verwendung. Hierbei sollte ihre Wirkung auf die Transformation lebender Zellen im Hinblick auf eine eventuelle Beteiligung der APT1 bei diesem Prozeß untersucht werden.

Die Benzodiazepine **1** und **22** zeigten eine deutliche Wirkung gegen die Ausbildung von Neuriten an den behandelten Zellen (Abbildung 24). Weiterhin wurde durch Koinjektion des Inhibitors **22** auch die Plasmamembranlokalisation von fluoreszenzmarkiertem H-Ras-Protein

verzögert. Ob es sich in beiden Fällen um einen durch APT1 regulierten Prozess handelt, kann jedoch noch nicht abschliessend beurteilt werden. Allerdings stehen mit den synthetisierten Verbindungen wertvolle Werkzeuge für weitere zellbiologische Untersuchungen zur Verfügung.



Zellen nach Injektion von N-RasMICCysFar.

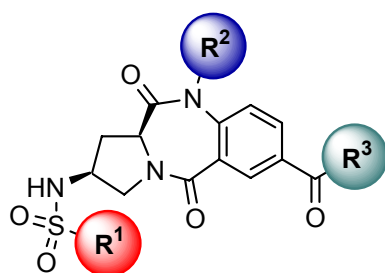


Zellen nach Injektion von N-RasMICCysFar + 22.

**Abbildung 24:** Ergebnisse der Mikroinjektionsstudien.

### Ausblick

Aufgrund dieser äußerst ermutigenden Ergebnisse ist für die Zukunft geplant, durch einen kombinatorischen Ansatz eine Bibliothek von Benzodiazepinderivaten zu synthetisieren, die nach der Evaluierung ihrer inhibitorischen Wirkung in weiteren biophysikalischen Experimenten zum Einsatz kommen sollen.<sup>[103-105]</sup> Die Benzodiazepine könnten hierbei an den Resten  $R^1$ – $R^3$  durch die Variation der Alkylkettenlänge oder den Einbau verschiedener modifizierter Aminosäuren derart derivatisiert werden, dass eine konkretere Aussage über die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen dieser Substanzen möglich ist (Abbildung 25).



- R<sup>1</sup> = verschiedene Alkylketten
- R<sup>2</sup> = verschiedene Aminoalkylketten
- R<sup>3</sup> = verschiedene Alkylketten oder modifizierte Aminosäuren

**Abbildung 25:** Kombinatorischer Ansatz für die Entwicklung einer Benzodiazepin-Bibliothek.

Weiterhin könnten mit Benzophenonen modifizierte Inhibitoren ein nützliches Werkzeug für die Affinitätsmarkierung eines eventuell in die Palmitoylierung involvierten Enzyms sein, um zu versuchen, dieses über eine Anknüpfung an die photoaktive Gruppe zu isolieren.

Dadurch und mit den etablierten biologischen Untersuchungen an lebenden Zellen sollte es möglich sein, weitere Erkenntnisse über die molekulare Maschinerie und die physiologische Bedeutung der Acyl-Protein-Thioesterase 1 bezüglich ihrer Rolle in der Palmitoylierung von Signalproteinen zu erlangen.

## 6. Experimenteller Teil

### 6.1. Messgeräte und Hilfsmittel

Die  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden auf folgenden Geräten aufgenommen:

Bruker AC 250	250 MHz $^1\text{H}$ -NMR
Bruker AM 400	400 MHz $^1\text{H}$ -NMR, 100.6 MHz $^{13}\text{C}$ -NMR
Varian Mercury 400	400 MHz $^1\text{H}$ -NMR, 100.6 MHz $^{13}\text{C}$ -NMR
Bruker DRX 500	500 MHz $^1\text{H}$ -NMR, 125.8 MHz $^{13}\text{C}$ -NMR.

Die chemischen Verschiebungen sind in ppm angegeben und beziehen sich auf Tetramethylsilan (TMS,  $\delta = 0$  ppm) als internen Standard. Die Kopplungskonstanten  $J$  sind in Hertz (Hz) angegeben und die Signalmultiplizitäten werden wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett von Dubletts, t = Triplett, m = Multipllett, br = breites Signal.

Die 70 eV EI- und die FAB-Massenspektren wurden mit einem Finnigan MAT MS 70 Spektrometer gemessen. Angegeben sind die  $m/z$ -Werte. Die FAB-Spektren wurden in einer 3-Nitrobenzylalkohol (3-NBA)-Matrix gemessen.

Die Elementaranalysen wurden mit einem Verbrennungsautomaten CHN-Rapid der Firma Heraeus durchgeführt.

Die spezifischen Drehwerte  $[\alpha]_D^{20}$  wurden mit einem Perkin-Elmer Polarimeter 341 oder 241 bestimmt und beziehen sich auf die Na-D-Linie. Die Lösungsmittel und Konzentrationen (in g/100 ml) sind bei den jeweiligen Substanzen angegeben.

Die Schmelzpunkte wurden mit einer Schmelzpunktmessapparatur 530 oder 540 der Firma Büchi ermittelt und sind unkorrigiert.

Zur Dünnschichtchromatographie wurden Aluminiumplatten beschichtet mit Kieselgel 60<sub>F254</sub> der Firma Merck verwendet. Laufmittel und  $R_f$ -Werte sind bei den Substanzen angegeben.



Zur Detektion wurden folgende Anfärbereagenzien verwendet:

- Reagenz A 2.5 g Molybdato-phosphorsäure, 1 g Cer(IV)-sulfat, 6 ml konz. Schwefelsäure und 94 ml Wasser
- Reagenz B 300 mg Ninhydrin, 3 ml Essigsäure und 997 ml abs. Ethanol
- Reagenz C 0.5 %ige Lösung von Kaliumpermanganat in Wasser
- Reagenz D Iod-Dampf
- UV-Licht 254 nm.

Die präparative Säulenchromatographie<sup>[106]</sup> erfolgte mit Flash-Kieselgel (Korngröße 40-64  $\mu\text{m}$ ) der Firma Merck in geschlossenen Säulen bei einem Überdruck von 0.3-1.0 bar. Laufmittel und  $R_f$ -Werte sind bei den jeweiligen Substanzen angegeben.

Für die gaschromatographischen Untersuchungen wurde ein HP 5890-Series II Gaschromatograph mit einem HP 5972-Series Mass Selective Detector der Firma Hewlett-Packard und einer Kapillarsäule Optima-1 (0.2 mm  $\times$  25 m) der Fa. Macherey-Nagel mit Helium als Trägergas eingesetzt.

Fluoreszenzmessungen wurden an einem Perkin Elmer 50 S bei einer Anregungswellenlänge von 386 nm in Quarzküvetten durchgeführt.

Alle Chemikalien wurden bei den Firmen Fluka, Aldrich oder Acros erworben mit Ausnahme der Palladium/Aktivkohle-Hydrierkatalysatoren (5 % und 10 %, wassernass), die aus Schenkungen der Degussa AG stammen. Alle Lösungsmittel wurden vor Gebrauch nach Standardvorschriften destilliert und bei Bedarf absolutiert.<sup>[107]</sup> Alle Reaktionen wurden unter Argonathmosphäre durchgeführt. ADIFAB wurde als 200  $\mu\text{g}$  lyophilisiertes Pulver von der Firma Molecular Probes (Eugene, OR) bezogen.

## 6.2. Versuche zu Kapitel 4.2.

### 6.2.1. Versuche zu Kapitel 4.2.2.

#### 7-Brom-2-(*R*)-hydroxy-1,2,3,11a-tetrahydro-10*H*-benzo[e]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-5,11-dion (15)

HO-5-7-6-Br

Eine Lösung von 5.219 g (20.90 mmol) 5-Bromisatosäureanhydrid **14** und 3.525 g (26.80 mmol) 4-(*R*)-Hydroxy-L-prolin **13** in 30 ml DMSO wird 5 h bei 140 °C gerührt. Die erkaltete Mischung wird auf 30 ml Eiswasser gegossen und viermal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden danach dreimal mit je 30 ml Eiswasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:10 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 6.043 g (93 %) eines blassgelben Feststoffs.

Schmp.: 128 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 415.0° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.22 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:10 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 2.00 (m, 1 H, -CH<sub>2a</sub>-), 2.83 (m, 1 H, -CH<sub>2b</sub>-), 3.61 (dd, *J* = 4.9, 12.5 Hz, 1 H, -CH<sub>2a</sub>N-), 3.76 (ddd, *J* = 1.4, 3.7, 12.3 Hz, 1 H, -CH<sub>2b</sub>N-), 4.31 (dd, *J* = 5.9, 8.2 Hz, 1 H, -CHOH), 4.50 (m, 1 H, -CHC(O)-), 7.05 (d, *J* = 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 7.67 (dd, *J* = 2.3, 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 7.99 (d, *J* = 2.3 Hz, 1 H, arom. CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz): δ = 34.2 (CH<sub>2</sub>), 54.0 (CH<sub>2</sub>N), 55.8 (CHC(O)), 68.2 (CHOH), 117.1 (arom. C), 123.3 (arom. CH), 127.8 (arom. C), 132.9 (arom. CH), 135.4 (arom. CH), 135.7 (arom. C), 165.6 (C=O), 170.5 (C=O).

C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (311.13).

HRMS (EI, 70 eV) für C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [M]<sup>+</sup>:

ber.: 309.9953

gef.: 309.9943.

Elementaranalyse (%):	ber.:	C: 46.32	H: 3.56	N: 9.00
	gef.:	C: 46.11	H: 3.54	N: 8.93.

**3-(2-(*R*)-Hydroxy-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1*H*-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-yl)-acrylsäure-*tert*-butylester (17)**

HO-5-7-6-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu

Zu einer entgasten, mit Argon gesättigten Lösung von 4.000 g (12.86 mmol) HO-5-7-6-Br **15**, 0.404 g (1.29 mmol) Tri-*o*-tolylphosphin, 5.375 ml (38.57 mmol) Triethylamin und 5.655 ml (38.57 mmol) *tert*-Butylacrylat in 16 ml Acetonitril in einem Druckglas werden 0.145 g (0.64 mmol) Palladium(II)acetat gegeben. Das Druckglas wird verschlossen und die Lösung 20 h bei 100 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 20:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 5.588 g (97 %) eines gelblichen Feststoffs.

Schmp.: 88 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 238.8° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.11 (Dichlormethan/Ethanol 20:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.52 (s, 9 H, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.20 (m, 1 H, -CH<sub>2a</sub>-), 2.92 (m, 1 H, -CH<sub>2b</sub>-), 3.50 (s<sub>br</sub>, 1 H, OH), 3.63 (dd, *J* = 4.5, 12.7 Hz, 1 H, -CH<sub>2a</sub>N-), 4.02 (d, *J* = 12.7 Hz, 1 H, -CH<sub>2b</sub>N-), 4.32 (m, 1 H, -CHOH-), 4.61 (m, 1 H, -CHC(O)-), 6.35 (d, *J* = 16.0 Hz, 1 H, -CH=CHC(O)-), 7.12 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H, arom. CH), 7.48 (d, *J* = 16.0 Hz, 1 H, -CH=CHC(O)-), 7.58 (dd, *J* = 2.2, 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.00 (d, *J* = 2.0 Hz, 1 H, arom. CH), 9.27 (s, 1 H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 28.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 34.8 (CH<sub>2</sub>), 46.3 (CH<sub>2</sub>N), 55.9 (CH<sub>2</sub>C(O)), 68.9 (CH<sub>2</sub>OH), 81.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 121.2 (CH=CHC(O)), 122.0 (arom. CH), 126.6 (arom. C), 131.3 (arom. CH), 131.6 (arom. C), 131.7 (arom. CH), 136.5 (arom. C), 141.6 (CH=CHC(O)), 165.9 (C=O Ester), 166.2 (C=O Amid), 169.2 (C=O Amid).

$C_{19}H_{22}N_2O_5$  (358.39).

HRMS (EI, 70 eV) für  $C_{19}H_{22}N_2O_5$   $[M]^+$ :  
 ber.: 358.1529  
 gef.: 358.1547.

**3-(2-(S)-Azido-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-yl)-acrylsäure-*tert*-butylester (12)**

$N_3$ -5-7-6- $C_2H_2CO_2^tBu$

Zu einer Lösung von 2.200 g (6.14 mmol) HO-5-7-6- $C_2H_2CO_2^tBu$  **17** in 20 ml Pyridin werden bei 0 °C 0.570 ml (7.37 mmol) Methansulfonsäurechlorid gespritzt. Nach 18 h wird die Reaktionslösung mit 100 ml Dichlormethan verdünnt und dreimal mit je 30 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $Na_2SO_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält 2.494 g (93 %) eines bräunlichen Feststoffs als Zwischenprodukt.

Das Zwischenprodukt wird in 40 ml Dimethylformamid gelöst, mit 8.900 g (137.46 mmol) Natriumazid versetzt und 4 d bei 45 °C gerührt. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 50 ml Wasser aufgenommen und mit je 50 ml Chloroform dreimal extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über  $Na_2SO_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v), dann Chloroform als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 1.950 g (89 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 211 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 305.0° (c = 1.0,  $CHCl_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.53 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 1.53 (s, 9 H,  $-C(CH_3)_3$ ), 2.38 (m, 1 H,  $-CH_{2a-}$ ), 3.12 (m, 1 H,  $-CH_{2b-}$ ), 3.72 (d,  $J$  = 12.9 Hz, 1 H,  $-CH_{2aN-}$ ), 3.82 (dd,  $J$  = 5.3, 12.9 Hz, 1 H,  $-CH_{2bN-}$ ), 4.23 (dd,  $J$  = 2.0, 9.0 Hz, 1 H,  $-CHN_3$ ), 4.39 (m, 1 H,  $-CHC(O)-$ ), 6.40 (d,  $J$  = 15.8 Hz, 1 H,  $-CH=CHC(O)-$ ), 7.16 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1 H, arom. CH), 7.56 (d,  $J$  = 15.8 Hz, 1 H,  $-CH=CHC(O)-$ ), 7.62 (dd,  $J$  = 2.2, 8.4 Hz, 1 H, arom CH), 8.15 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1 H, arom. CH), 9.63 (s, 1 H, NH).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 28.3$  ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 31.0 ( $\text{CH}_2$ ), 53.1 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 56.2 ( $\text{CHN}_3$ ), 58.0 ( $\text{CHC}(\text{O})$ ), 80.9 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 121.3 ( $\text{CH}=\text{CHC}(\text{O})$ ), 122.0 (arom. CH), 125.8 (arom. C), 131.5 (arom. CH), 131.8 (arom. C), 131.9 (arom. CH), 136.7 (arom. C), 141.5 ( $\text{CH}=\text{CHC}(\text{O})$ ), 165.5 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester), 166.1 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 171.0 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid).

$\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_4$  (383.40).

HRMS (EI, 70 eV) für  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_4$   $[\text{M}]^+$ :  
ber.: 383.1594  
gef.: 383.1603.

### **3-(2-(S)-Azido-10-cyanomethyl-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-yl)-acrylsäure-*tert*-butylester (18)**

$\text{N}_3$ -5-7( $\text{CH}_2\text{CN}$ )-6- $\text{C}_2\text{H}_2\text{CO}_2^t\text{Bu}$

Zu einer Suspension von 0.315 g (12.49 mmol) Natriumhydrid in 20 ml Tetrahydrofuran werden bei  $-40$  °C 3.990 g (10.41 mmol)  $\text{N}_3$ -5-7-6- $\text{C}_2\text{H}_2\text{CO}_2^t\text{Bu}$  **12** in 20 ml Tetrahydrofuran gespritzt. Nach 30 min bei  $-40$  °C werden 0.897 ml (12.49 mmol) Bromacetonitril zugespritzt und die Reaktionslösung 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 200 ml Chloroform aufgenommen und mit 50 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 50:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 4.176 g (95 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 173 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : +468.0° ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.18 (Dichlormethan/Ethanol 40:1 (v/v)).

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.54$  (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.42 (m, 1 H,  $-\text{CH}_{2a-}$ ), 3.08 (m, 1 H,  $-\text{CH}_{2b-}$ ), 3.70 (d,  $J = 12.9$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}\text{N-}$ ), 3.83 (dd,  $J = 5.3, 12.9$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2b}\text{N-}$ ), 4.25 (m, 1 H,  $-\text{CHN}_3$ ), 4.30 (d,  $J = 17.2$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}\text{CN}$ ), 4.39 (m, 1 H,  $-\text{CHC}(\text{O})-$ ), 4.96 (d,  $J = 17.2$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2b}\text{CN}$ ), 6.44 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{O})-$ ), 7.45 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1 H, arom. CH), 7.56 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}=\text{CHC}(\text{O})-$ ), 7.75 (dd,  $J = 2.2, 8.4$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.19 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1 H, arom. CH).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta$  = 28.2 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 31.4 ( $\text{CH}_2$ ), 37.3 ( $\text{CH}_2\text{CN}$ ), 52.6 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 56.5 ( $\text{CHN}_3$ ), 58.2 ( $\text{CHC}(\text{O})$ ), 81.2 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 115.4 (CN), 121.3 ( $\text{CH}=\text{CHC}(\text{O})$ ), 122.9 (arom. CH), 129.6 (arom. C), 130.8 (arom. CH), 132.0 (arom. CH), 133.7 (arom. CH), 139.0 (arom. C), 140.6 ( $\text{CH}=\text{CHC}(\text{O})$ ), 164.7 (C=O Ester), 165.7 (C=O Amid), 169.7 (C=O Amid).

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_4$  (422.44).

HRMS (EI, 70 eV) für  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_4$   $[\text{M}]^+$ :  
ber.: 422.1703  
gef.: 422.1707.

**2-(S)-Azido-10-cyanomethyl-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo  
[1,2-a][1,4]diazepin-7-carbonsäure-tert-butylester (19)**

$\text{N}_3$ -5-7( $\text{CH}_2\text{CN}$ )-6- $\text{CO}_2^t\text{Bu}$

Zu einer Lösung von 10.229 g (47.34 mmol) Natriumiodat in 150 ml Wasser/Acetonitril/Tetrachlormethan 2:1:1 (v/v/v) werden 73.56 ml einer Lösung von Ruthenium(III)chlorid in 1 mM Salzsäure (2 mg  $\text{RuCl}_3$ /ml 1 mM Salzsäure) gegeben. Nach 5 min wird eine Lösung von 2.000 g (4.73 mmol)  $\text{N}_3$ -5-7( $\text{CH}_2\text{CN}$ )-6- $\text{C}_2\text{H}_5\text{CO}_2^t\text{Bu}$  **18** in 150 ml Acetonitril/Tetrachlormethan 1:1 (v/v) zugetropft und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 18 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand mit 50 ml 1 N Salzsäure aufgenommen und dreimal mit je 50 ml Chloroform extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält 1.604 g (100 %) eines farblosen Feststoffs als Rohprodukt.

Das Rohprodukt wird zusammen mit 1.090 g (4.70 mmol) Benzyltriethylammoniumchlorid in 45 ml Dimethylacetamid gelöst. Es werden 17.100 g (122.29 mmol) Kaliumcarbonat und 26.20 ml (225.69 mmol) Bromtrimethylmethan zugegeben und danach die Reaktionsmischung 16 h bei 55 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 50 ml Wasser aufgenommen und mit 100 ml Chloroform extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v), dann Ethylacetat als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 1.758 g (90 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 140 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 287.7° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.28 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.59 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.40 (m, 1 H, -CH<sub>2a</sub>-), 3.14 (d, J = 12.9 Hz, 1 H, -CH<sub>2b</sub>-), 3.68 (d, J = 12.9 Hz, 1 H, -CH<sub>2a</sub>N-), 3.77 (dd, J = 5.5, 12.9 Hz, 1 H, -CH<sub>2b</sub>N-), 4.20 (dd, J = 2.3, 9.0 Hz, 1 H, -CHN<sub>3</sub>), 4.28 (d, J = 17.4 Hz, 1 H, -CH<sub>2a</sub>CN), 4.36 (m, 1 H, -CHC(O)-), 4.95 (d, J = 17.4 Hz, 1 H, -CH<sub>2b</sub>CN), 7.48 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, arom.CH), 8.18 (dd, J = 2.2, 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.49 (d, J = 2.2 Hz, 1 H, arom. CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 28.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 31.5 (CH<sub>2</sub>), 37.3 (CH<sub>2</sub>CN), 52.6 (CH<sub>2</sub>N), 56.5 (CHN<sub>3</sub>), 58.2 (CHC(O)), 82.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 115.3 (CN), 120.7 (arom. CH), 128.7 (arom. C), 130.8 (arom. CH), 132.6 (arom. CH), 134.0 (arom. C), 141.2 (arom. C), 163.8 (C=O Ester), 164.6 (C=O Amid), 169.3 (C=O Amid).

C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> (396.40).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 397.1625  
gef.: 397.1622.

Elementaranalyse (%): ber.: C: 57.57 H: 5.09 N: 21.20  
gef.: C: 57.33 H: 5.00 N: 20.97.

**2-(S)-Amino-10-cyanomethyl-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo  
[1,2-a][1,4]diazepin-7-carbonsäure-tert-butylester (20)**

H<sub>2</sub>N-5-7(CH<sub>2</sub>CN)-6-CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu

Eine entgaste Lösung von 0.660 g (1.67 mmol) N<sub>3</sub>-5-7(CH<sub>2</sub>CN)-6-CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu **19** in 132 ml Methanol und 4.4 ml Chloroform wird mit 0.354 g (0.17 mmol) Palladium auf Bariumsulfat versetzt und unter Wasserstoff-Überdruck 4 h hydriert. Das Reaktionsgemisch wird sodann über Celite® filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 0.615 g (100 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 148 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 216.2° (c = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.38 (Dichlormethan/Ethanol 1:1 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta = 1.63$  (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.67 (m, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}-$ ), 2.93 ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 14.7$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2b}-$ ), 3.86 (dd,  $J = 6.3, 13.5$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}\text{N}-$ ), 4.02 (dd,  $J = 6.3, 13.5$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2b}\text{N}-$ ), 4.13 (m, 1 H,  $-\text{CHC}(\text{O})-$ ), 4.53 ( $d_{\text{br}}$ ,  $J = 6.3$  Hz, 1 H,  $-\text{CHNH}_2$ ), 4.94 (d,  $J = 17.6$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}\text{CN}$ ), 5.13 (d,  $J = 17.6$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2b}\text{CN}$ ), 7.62 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.21 (dd,  $J = 2.2, 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.43 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1 H, arom. CH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100.6 MHz):  $\delta = 27.1$  ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 30.4 ( $\text{CH}_2$ ), 36.1 ( $\text{CH}_2\text{CN}$ ), 49.4 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 56.8 ( $\text{CHNH}_2$ ), 60.0 ( $\text{CHC}(\text{O})$ ), 82.3 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 115.5 (CN), 122.3 (arom. CH), 128.5 (arom. C), 130.3 (arom. CH), 131.6 (arom. CH), 133.5 (arom. C), 141.6 (arom. C), 164.0 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester), 165.2 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 169.8 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid).

$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4$  (370.40).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 371.1720  
gef.: 371.1702.

**10-Cyanomethyl-2-(S)-(hexadecan-1-sulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-carbonsäure-tert-butylester (21)**

$\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{SO}_2\text{HN}-5-7(\text{CH}_2\text{CN})-6-\text{CO}_2^t\text{Bu}$

Zu einer Lösung von 0.615 g (1.66 mmol)  $\text{H}_2\text{N}-5-7(\text{CH}_2\text{CN})-6-\text{CO}_2^t\text{Bu}$  **20** in 20 ml Dimethylformamid und 0.568 ml (3.32 mmol) Ethyldiisopropylamin werden bei 0 °C 0.674 g (1.99 mmol) Hexadecansulfonsäurechlorid gegeben. Nach 22 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml Ethylacetat aufgenommen und mit 30 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 2:1 (v/v) gereinigt.

Ausbeute: 0.887 g (82 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 96 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 298.1° ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.32 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.88$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3 H,  $\omega\text{-CH}_3$  Hexadecyl), 1.22-1.37 (m, 24 H,  $12 \cdot \text{CH}_2$  Hexadecyl), 1.43 (m, 2 H,  $\gamma\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 1.60 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.84



(m, 2 H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 2.50 (m, 1 H, -CH<sub>2a</sub>-), 2.76 (d,  $J = 14.5$  Hz, 1 H, -CH<sub>2b</sub>-), 3.07 (m, 2 H,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 3.86 (dd,  $J = 5.5, 13.1$  Hz, 1 H, -CH<sub>2aN</sub>-), 3.97 (d,  $J = 13.1$  Hz, 1 H, -CH<sub>2bN</sub>-), 4.27 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1 H -CHNH-), 4.29 (m, 1 H, -CHC(O)-), 4.31 (d,  $J = 17.2$ , 1 H, -CH<sub>2a</sub>CN), 5.05 (d,  $J = 17.2$ , 1 H, -CH<sub>2b</sub>CN), 5.40 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1 H, NH), 7.51 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.23 (dd,  $J = 2.1, 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.53 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1 H, arom. CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz):  $\delta = 14.3$  ( $\omega$ -CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 22.9 (CH<sub>2</sub>), 23.8 (CH<sub>2</sub>), 28.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 33.0 (CH<sub>2</sub>), 37.4 (CH<sub>2</sub>CN), 51.9 (CH<sub>2</sub>N), 54.2 ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 55.4 (CHNH), 57.0 (CHC(O)), 82.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 114.9 (CN), 121.1 (arom. CH), 129.4 (arom. C), 131.4 (arom. CH), 132.7 (arom. CH), 134.1 (arom. C), 141.0 (arom. C), 163.7 (C=O Ester), 164.1 (C=O Amid), 170.3 (C=O Amid).

C<sub>35</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S (658.89).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>35</sub>H<sub>55</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 659.3843  
gef.: 659.3863.

**10-(2-Aminoethyl)-2-(S)-(hexadecan-1-sulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-carbonsäure-tert-butylester (22)**

C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>SO<sub>2</sub>HN-5-7(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)-6-CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu

Eine entgaste Lösung von 0.670 g (1.02 mmol) C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>SO<sub>2</sub>HN-5-7(CH<sub>2</sub>CN)-6-CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu **21** in 45 ml Ethanol und 0.9 ml Chloroform wird mit 0.025 g (0.10 mmol) Platin(IV)oxid-Hydrat versetzt und unter Wasserstoff-Überdruck 4.5 h hydriert. Das Reaktionsgemisch wird sodann über Celite® filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v), dann 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.543 g (81 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 109 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 287.4° (c = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.51 (Dichlormethan/Ethanol 1:1 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.88$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3 H,  $\omega\text{-CH}_3$  Hexadecyl), 1.22-1.37 (m, 24 H,  $12^*\text{CH}_2$  Hexadecyl), 1.42 (m, 2 H,  $\gamma\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 1.58 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.83 (m, 2 H,  $\beta\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 2.41 (m, 1 H,  $-\text{CH}_{2a-}$ ), 2.74 (d<sub>br</sub>,  $J = 14.5$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2b-}$ ), 2.92-3.13 (m, 4 H,  $\alpha\text{-CH}_2$  Hexadecyl,  $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 3.84 (dd,  $J = 5.5, 13.0$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2aN-}$ ), 3.91 (m, 2 H,  $-\text{CH}_{2bN-}$ ,  $\text{NCH}_{2a}\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 4.17 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1 H,  $-\text{CHNH-}$ ), 4.24 (m, 2 H,  $-\text{CHC}(\text{O})-$ ,  $\text{NCH}_{2b}\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 7.48 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.14 (dd,  $J = 2.1, 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.49 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1 H, arom. CH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 14.3$  ( $\omega\text{-CH}_3$  Hexadecyl), 22.9 ( $\text{CH}_2$ ), 23.7 ( $\text{CH}_2$ ), 28.3 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 28.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.3 ( $\text{CH}_2$ ), 29.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.6 ( $\text{CH}_2$ ), 29.7 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 30.0 ( $\text{CH}_2$ ), 30.0 ( $\text{CH}_2$ ), 32.1 ( $\text{CH}_2$ ), 33.0 ( $\text{CH}_2$ ), 51.8 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 54.1 ( $\alpha\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 55.2 ( $\text{CHNH}$ ), 57.2 ( $\text{CHC}(\text{O})$ ), 58.1 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 60.5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 82.4 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 121.0 (arom. CH), 129.3 (arom. C), 131.6 (arom. CH), 132.5 (arom. CH), 134.2 (arom. C), 141.2 (arom. C), 163.5 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester), 164.4 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 170.6 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid).

$\text{C}_{35}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$  (662.92).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{35}\text{H}_{59}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 663.4156  
gef.: 663.4177.

**10-(2-Allyloxycarbonylaminoethyl)-2-(S)-(hexadecan-1-sulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-carbonsäure-tert-butylester (23)**

$\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{SO}_2\text{HN-5-7}(\text{C}_2\text{H}_4\text{NHAloc})\text{-6-CO}_2^t\text{Bu}$

Zu einer Lösung von 0.510 g (0.77 mmol)  $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{SO}_2\text{HN-5-7}(\text{C}_2\text{H}_4\text{NH}_2)\text{-6-CO}_2^t\text{Bu}$  **22** in 20 ml Dichlormethan und 0.214 ml (1.54 mmol) Triethylamin werden 0.127 ml (1.15 mmol) Chlorameisensäureallylester gespritzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 18 h wird die Reaktionslösung mit 100 ml Ethylacetat verdünnt und mit 30 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.483 g (84 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 90 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 269.3° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.31 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 0.88 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H, ω-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.22-1.37 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.42 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.58 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.83 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 2.41 (m, 1 H, -CH<sub>2a</sub>-), 2.74 (d<sub>br</sub>, *J* = 14.5 Hz, 1 H, -CH<sub>2b</sub>-), 3.04 (m, 2 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 3.37 (m, 1 H, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2a</sub>NH-), 3.63 (m, 1 H, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2b</sub>NH-), 3.82 (dd, *J* = 5.8, 13.0 Hz, 1 H, -CH<sub>2a</sub>N-), 3.93 (m, 2 H, -CH<sub>2b</sub>N-, -NCH<sub>2a</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 4.14 (m, 2 H, -CHNH-, -NCH<sub>2b</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 4.27 (m, 1 H, -CHC(O)-), 4.50 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.00 (m, 1 H, NH Urethan), 5.14-5.28 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.86 (m, 1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.93 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 7.44 (d, *J* = 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.15 (dd, *J* = 2.0, 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.48 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H, arom. CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 14.2 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 22.9 (CH<sub>2</sub>), 23.7 (CH<sub>2</sub>), 28.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.1 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 33.1 (CH<sub>2</sub>), 51.8 (CH<sub>2</sub>N), 54.0 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 55.1 (CHNH), 57.2 (CHC(O)), 58.1 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 60.4 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 66.1 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 82.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 118.0 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 121.2 (arom. CH), 129.3 (arom. C), 131.5 (arom. CH), 132.4 (arom. CH), 132.6 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 134.2 (arom. C), 141.2 (arom. C), 156.7 (C=O Urethan), 163.4 (C=O Ester), 164.4 (C=O Amid), 170.4 (C=O Amid).

C<sub>39</sub>H<sub>62</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S (747.00).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>39</sub>H<sub>63</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 747.4367  
gef.: 747.4379.

**10-(2-Allyloxycarbonylaminoethyl)-2-(S)-(hexadecan-1-sulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-carbonsäure (24)**

C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>SO<sub>2</sub>HN-5-7(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHAloc)-6-COOH

Zu einer Lösung von 0.405 g (0.54 mmol) C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>SO<sub>2</sub>HN-5-7(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHAloc)-6-CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu **23** in 8 ml Dichlormethan werden langsam 8 ml Trifluoressigsäure gespritzt und es wird bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4 h wird das Reaktionsgemisch dreimal mit Toluol und einmal mit Chloroform koevaporiert.

Ausbeute: 0.374 g (100 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 165 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 229.8° (c = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.64 (Dichlormethan/Ethanol 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 0.87 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H, ω-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.22-1.36 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.44 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.56 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.84 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 2.42 (m, 1 H, -CH<sub>2a</sub>-), 2.73 (d<sub>br</sub>, *J* = 14.5 Hz, 1 H, -CH<sub>2b</sub>-), 3.03 (m, 2 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 3.35 (m, 1 H, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2a</sub>NH-), 3.64 (m, 1 H, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2b</sub>NH-), 3.82 (dd, *J* = 5.8, 13.0 Hz, 1 H, -CH<sub>2a</sub>N-), 3.93 (m, 2 H, -CH<sub>2b</sub>N-, -NCH<sub>2a</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 4.13 (m, 2 H, -CHNH-, -NCH<sub>2b</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 4.26 (m, 1 H, -CHC(O)-), 4.50 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.28 (m, 1 H, NH Urethan), 5.14-5.26 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.86 (m, 1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.95 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 7.45 (d, *J* = 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.14 (dd, *J* = 2.0, 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.46 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H, arom. CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 14.2 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 22.8 (CH<sub>2</sub>), 23.6 (CH<sub>2</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 30.1 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 33.3 (CH<sub>2</sub>), 51.8 (CH<sub>2</sub>N), 54.2 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 55.4 (CHNH), 57.5 (CHC(O)), 58.1 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 60.3 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 66.1 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 118.2 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 121.4 (arom. CH), 129.4 (arom. C), 131.6 (arom. CH), 132.5 (arom. CH), 132.6 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 134.0 (arom. C), 141.0 (arom. C), 156.5 (C=O Urethan), 164.3 (C=O Amid), 170.3 (C=O Amid), 175.1 (C=O Säure).

C<sub>35</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S (690.89).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>35</sub>H<sub>55</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 691.3741  
gef.: 691.3755.

**10-(2-Allyloxycarbonylaminoethyl)-2-(S)-(hexadecan-1-sulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-yl-S-farnesyl-L-cysteinmethylester (26)** $C_{16}H_{33}SO_2HN-5-7(C_2H_4NHAloc)-6-Cys(Far)-OMe$ 

Zu einer Lösung von 0.367 g (0.53 mmol)  $C_{16}H_{33}SO_2HN-5-7(C_2H_4NHAloc)-6-COOH$  **24**, 0.216 g (0.63 mmol) H-Cys(Far)-OMe **25** und 0.166 g (1.06 mmol) HOBt in 20 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.125 g (0.64 mmol) EDC gegeben. Nach 18 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 30 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $Na_2SO_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.423 g (89 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 77 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 194.1° (c = 0.5,  $CHCl_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.13 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 0.88 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 3 H,  $\omega$ - $CH_3$  Hexadecyl), 1.20-1.35 (m, 24 H, 12\* $CH_2$  Hexadecyl), 1.43 (m, 2 H,  $\gamma$ - $CH_2$  Hexadecyl), 1.50 (s, 6 H, 2\* $CH_3$  Far), 1.55 (s, 3 H,  $CH_3$  Far), 1.57 (s, 3 H,  $CH_3$  Far), 1.73 (m, 2 H,  $\beta$ - $CH_2$  Hexadecyl), 1.82-2.08 (m, 8 H, 4\* $CH_2$  Far), 2.33 (m, 1 H,  $-CH_{2a}$ -), 2.62 (m, 1 H,  $-CH_{2b}$ -), 2.90-3.24 (m, 6 H,  $\alpha$ - $CH_2$  Hexadecyl,  $\beta$ - $CH_2$  Cys,  $-SCH_2$ -), 3.38 (m, 1 H,  $-NCH_2CH_{2a}NH$ -), 3.62 (m, 1 H,  $-NCH_2CH_{2b}NH$ -), 3.76 (s, 3 H,  $OCH_3$ ), 3.83-3.99 (m, 3 H,  $-CH_2N$ -,  $-NCH_{2a}CH_2NH$ -), 4.12-4.30 (m, 3 H,  $-CHNH$ -,  $-CHC(O)$ -,  $-NCH_{2b}CH_2NH$ -), 4.50 (m, 2 H,  $-OCH_2CH=CH_2$ ), 4.96 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH Cys), 5.04-5.29 (m, 6 H, 3\*CH Far,  $-OCH_2CH=CH_2$ , NH Urethan), 5.84 (m, 1 H,  $OCH_2CH=CH_2$ ), 5.96 (m, 1 H, NH Sulfonylamid), 7.23 (m, 1 H, NH Amid), 7.49 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.08 (dd,  $J$  = 2.1, 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.30 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1 H, arom. CH).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100.6 MHz):  $\delta$  = 14.3 ( $\omega$ - $CH_3$  Hexadecyl), 16.2 ( $CH_3$  Far), 16.4 ( $CH_3$  Far), 16.5 ( $CH_3$  Far), 17.9 ( $CH_3$  Far), 22.9 ( $CH_2$ ), 23.8 ( $CH_2$ ), 25.9 ( $CH_2$ ), 26.6 ( $CH_2$ ), 26.9 ( $CH_2$ ), 27.0 ( $CH_2$ ), 27.3 ( $CH_2$ ), 27.5 ( $CH_2$ ), 27.7 ( $CH_2$ ), 27.9 ( $CH_2$ ), 28.1 ( $CH_2$ ), 28.2 ( $CH_2$ ), 28.4 ( $CH_2$ ), 28.7 ( $CH_2$ ), 29.0 ( $CH_2$ ), 29.4 ( $CH_2$ ), 29.9 ( $CH_2$ ), 32.1 ( $CH_2$ ), 33.3

(CH<sub>2</sub>), 39.2 (CH<sub>2</sub> Far), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 39.9 (CHNH), 43.3 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 49.8 (CH<sub>2</sub>N), 51.9 (OCH<sub>3</sub>), 52.5 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 52.9 (CHC(O), 54.3 ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 57.4 ( $\alpha$ -CH Cys), 66.0 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 118.08 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 119.6 (CH Far), 123.4 (arom. CH), 123.9 (CH Far), 124.5 (CH Far), 129.2 (arom. C), 129.8 (arom. CH), 131.5 (arom. CH), 131.7 (arom. C), 132.4 (C Far), 132.9 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 135.5 (C Far), 140.3 (C Far), 142.5 (arom. C), 156.7 (C=O Urethan), 164.5 (C=O Amid), 165.1 (C=O Amid), 170.2 (C=O Amid), 171.6 (C=O Amid).

C<sub>54</sub>H<sub>85</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub> (1012.41).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>54</sub>H<sub>85</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 1034.5689  
gef.: 1034.5699.

**10-(2-Aminoethyl)-2-(S)-(hexadecan-1-sulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-yl-S-farnesyl-L-cysteinmethylester (1)**

C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>SO<sub>2</sub>HN-5-7(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)-6-Cys(Far)-OMe

Eine Lösung von 0.200 g (0.20 mmol) C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>SO<sub>2</sub>HN-5-7(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHAloc)-6-Cys(Far)-OMe **26**, 0.031 g (0.20 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure in 20 ml Tetrahydrofuran wird sorgfältig entgast. Dann werden 0.023 g (0.02 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 30:1 (v/v), dann 15:1 (v/v), dann 5:1 (v/v) + 1 % Triethylamin als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.147 g (80 %) eines leicht gelblichen Schaums.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 165.2° (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.16 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz):  $\delta$  = 0.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 3 H,  $\omega$ -CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.20-1.35 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.43 (m, 2 H,  $\gamma$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.50 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.55 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.57 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.73 (m, 2 H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.82-2.08 (m, 8 H, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.33 (m, 1 H, -CH<sub>2a</sub>-), 2.62 (m, 1 H, -CH<sub>2b</sub>-), 2.90-3.20 (m, 8 H,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl,  $\beta$ -CH<sub>2</sub> Cys, -SCH<sub>2</sub>-, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 3.70 (m, 1 H, -NCH<sub>2a</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 3.74 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.99 (m, 1 H, -NCH<sub>2b</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 4.12-4.30 (m, 2 H, -CHC(O)-, -CHNH-), 4.80 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH Cys), 5.01 (m, 2 H, 2\*CH Far), 5.15 (m, 1 H, CH Far),

7.49 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.08 (dd,  $J = 2.1, 8.5$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.30 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1 H, arom. CH).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100.6 MHz):  $\delta = 14.3$  ( $\omega\text{-CH}_3$  Hexadecyl), 16.2 ( $\text{CH}_3$  Far), 16.5 ( $\text{CH}_3$  Far), 16.5 ( $\text{CH}_3$  Far), 17.9 ( $\text{CH}_3$  Far), 22.7 ( $\text{CH}_2$ ), 23.7 ( $\text{CH}_2$ ), 25.9 ( $\text{CH}_2$ ), 26.5 ( $\text{CH}_2$ ), 26.8 ( $\text{CH}_2$ ), 27.1 ( $\text{CH}_2$ ), 27.3 ( $\text{CH}_2$ ), 27.4 ( $\text{CH}_2$ ), 27.7 ( $\text{CH}_2$ ), 27.7 ( $\text{CH}_2$ ), 28.2 ( $\text{CH}_2$ ), 28.2 ( $\text{CH}_2$ ), 28.3 ( $\text{CH}_2$ ), 28.6 ( $\text{CH}_2$ ), 29.0 ( $\text{CH}_2$ ), 29.3 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 32.1 ( $\text{CH}_2$ ), 33.2 ( $\text{CH}_2$ ), 39.1 ( $\text{CH}_2$  Far), 39.8 ( $\text{CH}_2$  Far), 39.9 ( $\text{CHNH}$ ), 43.5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 49.7 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 51.9 ( $\text{OCH}_3$ ), 52.7 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 52.7 ( $\text{CHC(O)}$ ), 54.3 ( $\alpha\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 57.4 ( $\alpha\text{-CH}$  Cys), 119.5 ( $\text{CH}$  Far), 123.5 (arom. CH), 123.9 ( $\text{CH}$  Far), 124.5 ( $\text{CH}$  Far), 129.4 (arom. C), 129.7 (arom. CH), 131.5 (arom. CH), 131.6 (arom. C), 132.4 (C Far), 135.5 (C Far), 140.3 (C Far), 142.5 (arom. C), 164.4 (C=O Amid), 165.4 (C=O Amid), 170.4 (C=O Amid), 171.6 (C=O Amid).

$\text{C}_{50}\text{H}_{81}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_2$  (928.34).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{50}\text{H}_{82}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :      ber.: 928.5656  
gef.: 928.5638.

### 6.2.2. Versuche zu Kapitel 4.2.3.

#### 10-(2-Aminoethyl)-2-(S)-(hexadecan-1-sulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-carbonsäure (2)

$\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{SO}_2\text{HN-5-7}(\text{C}_2\text{H}_4\text{NH}_2)\text{-6-COOH}$

Zu einer Lösung von 0.178 g (0.27 mmol)  $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{SO}_2\text{HN-5-7}(\text{C}_2\text{H}_4\text{NH}_2)\text{-6-CO}_2^t\text{Bu}$  **22** in 1 ml Dichlormethan werden 20 ml einer gesättigten Lösung von Chlorwasserstoff in Diethylether gespritzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4 h wird das Reaktionsgemisch dreimal mit Toluol und einmal mit Chloroform koevaporiert.

Ausbeute: 0.164 g (100 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 166 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 260.2° (c = 0.5,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta = 0.88$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3 H,  $\omega\text{-CH}_3$  Hexadecyl), 1.22-1.37 (m, 24 H,  $12\cdot\text{CH}_2$  Hexadecyl), 1.42 (m, 2 H,  $\gamma\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 1.83 (m, 2 H,  $\beta\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 2.41 (m, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}$ -), 2.74 (m, 1 H,  $-\text{CH}_{2b}$ -), 3.13 (m, 2 H,  $\alpha\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 3.35 (m, 1 H,  $-\text{CH}_{2b}\text{N}$ -), 3.54 (dd,  $J = 5.5, 13.0$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}\text{N}$ -), 4.04-4.44 (m, 6 H,  $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CHNH}$ -,  $-\text{CHC}(\text{O})$ -), 7.60 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.21 (dd,  $J = 2.1, 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.49 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1 H, arom. CH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100.6 MHz):  $\delta = 14.3$  ( $\omega\text{-CH}_3$  Hexadecyl), 22.9 ( $\text{CH}_2$ ), 23.7 ( $\text{CH}_2$ ), 28.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.3 ( $\text{CH}_2$ ), 29.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.6 ( $\text{CH}_2$ ), 29.7 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 30.0 ( $\text{CH}_2$ ), 30.0 ( $\text{CH}_2$ ), 32.1 ( $\text{CH}_2$ ), 33.0 ( $\text{CH}_2$ ), 51.8 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 54.1 ( $\alpha\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 55.2 ( $\text{CHNH}$ ), 57.2 ( $\text{CHC}(\text{O})$ ), 58.1 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 60.5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 121.0 (arom. CH), 129.3 (arom. C), 131.6 (arom. CH), 132.5 (arom. CH), 134.2 (arom. C), 141.2 (arom. C), 164.4 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 170.6 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 173.5 ( $\text{C}=\text{O}$  Säure).

$\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$  (606.81).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{31}\text{H}_{51}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 607.3530  
gef.: 607.3553.

### 6.2.3. Versuche zu Kapitel 4.2.4.

#### 10-Cyanomethyl-2-(S)-(methansulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-carbonsäure-tert-butylester (27)

$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{HN-5-7}(\text{CH}_2\text{CN})\text{-6-CO}_2^t\text{Bu}$

Zu einer Lösung von 0.118 g (0.32 mmol)  $\text{H}_2\text{N-5-7}(\text{CH}_2\text{CN})\text{-6-CO}_2^t\text{Bu}$  **20** in 15 ml Dimethylformamid und 0.161 ml (0.64 mmol) Ethyldiisopropylamin werden bei 0 °C 0.037 ml (0.48 mmol) Methansulfonsäurechlorid gegeben. Nach 22 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml Ethylacetat aufgenommen und mit 30 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v) gereinigt.

Ausbeute: 0.132 g (92 %) eines farblosen Feststoffs.



Schmp.: 114 °C.  
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: + 378.4° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).  
R<sub>F</sub>-Wert: 0.34 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 1.52 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.42 (m, 1 H, -CH<sub>2a</sub>-), 2.61 (m, 1 H, -CH<sub>2b</sub>-), 2.95 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>-), 3.70 (dd,  $J$  = 2.5, 12.9 Hz, 1 H, -CH<sub>2a</sub>N-), 3.90 (dd, (5.9, 12.9 Hz, 1 H, -CH<sub>2b</sub>N-), 4.18 (m, 2 H, -CHNH-, -CHC(O)-), 4.34 (d,  $J$  = 17.4, 1 H, -CH<sub>2a</sub>CN), 4.93 (d,  $J$  = 17.4, 1 H, -CH<sub>2b</sub>CN), 7.42 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.16 (dd,  $J$  = 2.1, 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.42 (d, 2.1 Hz, 1 H, arom. CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz):  $\delta$  = 28.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 32.6 (CH<sub>2</sub>), 37.2 (CH<sub>2</sub>CN), 41.5 (CH<sub>2</sub>N), 51.4 (CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>), 54.0 (CHNH), 56.7 (CHC(O)), 82.7 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 115.1 (CN), 121.2 (arom. CH), 129.0 (arom. C), 132.0 (arom. CH), 132.4 (arom. CH), 134.0 (arom. C), 141.1 (arom. C), 163.9 (C=O Ester), 164.6 (C=O Amid), 169.8 (C=O Amid).

C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S (448.49).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 449.1496  
gef.: 449.1486.

**10-(2-Aminoethyl)-2-(S)-(methansulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-carbonsäure-*tert*-butylester (28)**

CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>HN-5-7(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)-6-CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu

Eine entgaste Lösung von 0.123 g (0.27 mmol) CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>HN-5-7(CH<sub>2</sub>CN)-6-CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu **29** in 9 ml Ethanol und 0.18 ml Chloroform wird mit 0.008 g (0.03 mmol) Platin(IV)oxid-Hydrat versetzt und unter Wasserstoff-Überdruck 4.5 h hydriert. Das Reaktionsgemisch wird sodann über Celite® filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v), dann Dichlormethan/Methanol 1:1 (v/v) + 1 % Triethylamin als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.105 g (85 %) eines farblosen Feststoffs.  
Schmp.: 123 °C.  
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: + 310.1° (c = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).  
R<sub>F</sub>-Wert: 0.39 (Dichlormethan/Ethanol 1:1 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.58$  (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.41 (m, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}-$ ), 2.74 ( $\text{d}_{\text{br}}$ ,  $J = 14.5$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2b}-$ ), 2.95 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{SO}_2-$ ), 3.03 (m, 2 H,  $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 3.84 (dd,  $J = 5.5, 13.0$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}\text{N}-$ ), 3.91 (m, 2 H,  $-\text{CH}_{2b}\text{N}-$ ,  $\text{NCH}_{2a}\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 4.17 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1 H,  $-\text{CHNH}-$ ), 4.24 (m, 2 H,  $-\text{CHC}(\text{O})-$ ,  $\text{NCH}_{2b}\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 7.48 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.14 (dd,  $J = 2.1, 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.49 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1 H, arom. CH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 28.3$  ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 33.0 ( $\text{CH}_2$ ), 41.8 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 51.4 ( $\text{CH}_3\text{SO}_2$ ), 55.2 ( $\text{CHNH}$ ), 57.2 ( $\text{CHC}(\text{O})$ ), 58.1 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 60.5 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 82.4 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 121.0 (arom. CH), 129.3 (arom. C), 131.6 (arom. CH), 132.5 (arom. CH), 134.2 (arom. C), 141.2 (arom. C), 163.5 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester), 164.4 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 170.6 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid).

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$  (452.53).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 453.1809  
gef.: 453.1793.

**10-(2-Allyloxycarbonylaminoethyl)-2-(S)-(methansulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-carbonsäure-tert-butylester (29)**

$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{HN}-5-7(\text{C}_2\text{H}_4\text{NHAloc})-6-\text{CO}_2^t\text{Bu}$

Zu einer Lösung von 0.107 g (0.24 mmol)  $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{HN}-5-7(\text{C}_2\text{H}_4\text{NH}_2)-6-\text{CO}_2^t\text{Bu}$  **28** in 4 ml Dichlormethan und 0.066 ml (0.47 mmol) Triethylamin werden 0.040 ml (0.36 mmol) Chlorameisensäureallylester gespritzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 18 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit 10 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.105 g (83 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 111 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : +288.3° ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.28 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.58$  (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.41 (m, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}-$ ), 2.74 ( $\text{d}_{\text{br}}$ ,  $J = 14.5$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2b}-$ ), 2.95 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{SO}_2-$ ), 3.37 (m, 1 H,  $-\text{NCH}_2\text{CH}_{2a}\text{NH}-$ ), 3.63 (m, 1 H,  $-\text{NCH}_2\text{CH}_{2b}\text{NH}-$ ), 3.82 (dd,  $J = 5.8, 13.0$  Hz, 1 H,  $-\text{CH}_{2a}\text{N}-$ ), 3.93 (m, 2 H,  $-\text{CH}_{2b}\text{N}-$ ,  $-\text{NCH}_{2a}\text{CH}_2\text{NH}-$ ), 4.14 (m, 2 H,  $-\text{CHNH}-$ ,  $-\text{NCH}_{2b}\text{CH}_2\text{NH}-$ ), 4.27 (m, 1 H,  $-\text{CHC}(\text{O})-$ ), 4.50 (m, 2 H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.00 (m, 1 H, NH Urethan), 5.14-5.28 (m, 2 H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.86 (m, 1 H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.93 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 7.44 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.15 (dd,  $J = 2.0, 8.6$  Hz, 1 H, arom. CH), 8.48 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1 H, arom. CH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 28.3$  ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 33.1 ( $\text{CH}_2$ ), 41.8 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 51.4 ( $\text{CH}_3\text{SO}_2$ ), 55.1 ( $\text{CHNH}$ ), 57.2 ( $\text{CHC}(\text{O})$ ), 58.1 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 60.4 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 66.1 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 82.3 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 118.0 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 121.2 (arom. CH), 129.3 (arom. C), 131.5 (arom. CH), 132.4 (arom. CH), 132.6 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 134.2 (arom. C), 141.2 (arom. C), 156.7 ( $\text{C}=\text{O}$  Urethan), 163.4 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester), 164.4 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 170.4 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid).

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$  (536.60).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 537.2020  
gef.: 537.2007.

**10-(2-Allyloxycarbonylaminoethyl)-2-(S)-(methansulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-yl-S-farnesyl-L-cysteinmethylester (30)**

$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{HN}-5-7(\text{C}_2\text{H}_4\text{NHAloc})-6\text{-Cys}(\text{Far})-\text{OMe}$

Zu einer Lösung von 0.050 g (0.09 mmol)  $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{HN}-5-7(\text{C}_2\text{H}_4\text{NHAloc})-6\text{-CO}_2^t\text{Bu}$  **29** in 5 ml Dichlormethan werden langsam 5 ml Trifluoressigsäure gespritzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4 h wird das Reaktionsgemisch dreimal mit Toluol und einmal mit Chloroform koevaporiert. Man erhält 0.045 g (100 %) an Zwischenprodukt.

Zu einer Lösung dieses Zwischenprodukts, 0.032 g (0.09 mmol) H-Cys(Far)-OMe **25** und 0.029 g (0.19 mmol) HOBt in 10 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.022 g (0.11 mmol) EDC gegeben. Nach 18 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 30 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.056 g (75 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 92 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 196.6° (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.13 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.50 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.55 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.57 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.82-2.08 (m, 8 H, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.33 (m, 1 H, -CH<sub>2a</sub>-), 2.62 (m, 1 H, -CH<sub>2b</sub>-), 2.95 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>-), 2.90-3.24 (m, 4 H, β-CH<sub>2</sub> Cys, -SCH<sub>2</sub>-), 3.38 (m, 1 H, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2a</sub>NH-), 3.62 (m, 1 H, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2b</sub>NH-), 3.76 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.83-3.99 (m, 3 H, -CH<sub>2</sub>N-, -NCH<sub>2a</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 4.12-4.30 (m, 3 H, -CHNH-, -CHC(O)-, -NCH<sub>2b</sub>CH<sub>2</sub>NH-, 4.50 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.96 (m, 1 H, α-CH Cys), 5.04-5.29 (m, 6 H, 3\*CH Far, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, NH Urethan), 5.84 (m, 1 H, OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.96 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 7.23 (m, 1 H, NH Amid), 7.49 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.08 (dd, J = 2.1, 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.30 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, arom. CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 16.2 (CH<sub>3</sub> Far), 16.4 (CH<sub>3</sub> Far), 16.5 (CH<sub>3</sub> Far), 17.9 (CH<sub>3</sub> Far), 22.9 (CH<sub>2</sub> Far), 23.3 (CH<sub>2</sub> Far), 32.1 (CH<sub>2</sub>S), 33.3 (CH<sub>2</sub>), 39.2 (CH<sub>2</sub> Far), 39.4 (CH<sub>2</sub>), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 39.9 (CHNH), 43.3 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 49.8 (CH<sub>2</sub>N), 51.4 (CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>), 51.9 (OCH<sub>3</sub>), 52.5 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 52.9 (CHC(O)), 57.4 (α-CH Cys), 66.0 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 118.0 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 119.6 (CH Far), 123.4 (arom. CH), 123.9 (CH Far), 124.5 (CH Far), 129.2 (arom. C), 129.8 (arom. CH), 131.5 (arom. CH), 131.7 (arom. C), 132.4 (C Far), 132.9 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 135.5 (C Far), 140.3 (C Far), 142.5 (arom. C), 156.7 (C=O Urethan), 164.5 (C=O Amid), 165.1 (C=O Amid), 170.2 (C=O Amid), 171.6 (C=O Amid).

C<sub>39</sub>H<sub>55</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub> (802.01).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>39</sub>H<sub>56</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 802.3520  
gef.: 802.3527.

**10-(2-Aminoethyl)-2-(S)-(methansulfonylamino)-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-yl-S-farnesyl-L-cysteinmethylester (3)**CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>HN-5-7(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)-6-Cys(Far)-OMe

Eine Lösung von 0.037 g (0.05 mmol) CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>HN-5-7(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHAloc)-6-Cys(Far)-OMe **30**, 0.007 g (0.05 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure in 5 ml Tetrahydrofuran wird sorgfältig entgast. Dann werden 0.011 g (0.01 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 20:1 (v/v), dann 15:1 (v/v), dann 5:1 (v/v) + 1 % Triethylamin als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.021 g (65 %) eines leicht gelblichen Schaums.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 180.5° (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.16 (Dichlormethan/Ethanol 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 1.50 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.55 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.57 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.82-2.08 (m, 8 H, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.33 (m, 1 H, -CH<sub>2a</sub>-), 2.62 (m, 1 H, -CH<sub>2b</sub>-), 2.95 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>), 2.90-3.20 (m, 6 H, β-CH<sub>2</sub> Cys, -SCH<sub>2</sub>-, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 3.70 (m, 1 H, -NCH<sub>2a</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 3.74 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.99 (m, 1 H, -NCH<sub>2b</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 4.12-4.30 (m, 2 H, -CHC(O)-, -CHNH-), 4.80 (m, 1 H, α-CH Cys), 5.01 (m, 2 H, 2\*CH Far), 5.15 (m, 1 H, CH Far), 7.49 (d, *J* = 8.6 Hz, 1 H, arom. CH), 8.08 (dd, *J* = 2.1, 8.5 Hz, 1 H, arom. CH), 8.30 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H, arom. CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz): δ = 16.2 (CH<sub>3</sub> Far), 16.5 (CH<sub>3</sub> Far), 16.5 (CH<sub>3</sub> Far), 17.9 (CH<sub>3</sub> Far), 22.9 (CH<sub>2</sub> Far), 23.9 (CH<sub>2</sub> Far), 33.2 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>S), 39.1 (CH<sub>2</sub> Far), 39.4 (CH<sub>2</sub>), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 39.9 (CHNH), 43.5 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 49.7 (CH<sub>2</sub>N), 51.4 (CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>), 51.9 (OCH<sub>3</sub>), 52.7 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 52.7 (CHC(O)), 57.4 (α-CH Cys), 119.5 (CH Far), 123.5 (arom. CH), 123.9 (CH Far), 124.5 (CH Far), 129.4 (arom. C), 129.7 (arom. CH), 131.5 (arom. CH), 131.6 (arom. C), 132.4 (C Far), 135.5 (C Far), 140.3 (C Far), 142.5 (arom. C), 164.4 (C=O Amid), 165.4 (C=O Amid), 170.4 (C=O Amid), 171.6 (C=O Amid).

C<sub>35</sub>H<sub>51</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> (717.94).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>35</sub>H<sub>51</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 740.3130  
gef.: 740.3144.

### 6.3. Versuche zu Kapitel 4.3.

#### 6.3.1. Versuche zu Kapitel 4.3.1.

##### *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-(*R*)-hydroxy-L-prolin (**32**)

Boc-Pro(OH)-OH

Zu einer Lösung von 2.000 g (15.25 mmol) 4-(*R*)-Hydroxy-L-prolin **31** in 54 ml 1,4-Dioxan/Wasser 2:1 (v/v) werden bei 0 °C nacheinander 24 ml 1 M Natriumhydroxidlösung und 4.118 g (18.30 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat in 6 ml 1,4-Dioxan gegeben. Nach 7 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck weitgehend entfernt. Die zurückbleibende wässrige Phase wird mit 200 ml Ethylacetat versetzt und mit 1 N Salzsäure auf pH 3 angesäuert. Die wässrige Phase wird dann zweimal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 3.360 g (95 %) eines farblosen Schaums.

Schmp.: 96 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : - 54.1° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.56 (Chloroform/Methanol 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.35, 1.40 (2\*s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.06-2.35 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Pro), 3.36-3.58 (m, 2 H, δ-CH<sub>2</sub> Pro), 4.30-4.43 (m, 2 H, α-CH Pro, γ-CH Pro).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 20.9 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 28.5 (β-CH<sub>2</sub> Pro), 54.7 (δ-CH<sub>2</sub> Pro), 54.8 (α-CH Pro), 69.2 (γ-CH Pro), 81.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 154.2 (C=O Urethan), 178.4 (C=O Säure).

C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub> (231.25).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 232.1186  
gef.: 232.1175.

Elementaranalyse (%): ber.: C: 51.94 H: 7.41 N: 6.06  
gef.: C: 51.77 H: 7.35 N: 6.00.

***N-tert-Butyloxycarbonyl-4-(R)-hydroxy-L-prolinmethylester (33)***

Boc-Pro(OH)-OMe

Zu einer Lösung von 3.350 g (14.49 mmol) Boc-Pro(OH)-OH **32** in 80 ml Methanol werden 2.560 g (7.24 mmol) Cäsiumcarbonat gegeben. Nach 5 min wird die Reaktionslösung zweimal mit Toluol koevaporiert.

Das resultierende Cäsiumsalz wird in 100 ml Dimethylformamid gelöst. Zu dieser Lösung werden 1.350 ml (21.73 mmol) Methyljodid gespritzt. Nach 20 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 200 ml Ethylacetat aufgenommen und mit 50 ml 10 %iger Natriumcarbonatlösung, sowie 30 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 3.138 g (88 %) eines gelblichen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : - 50.6° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.22 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.41 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.03 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Pro), 2.25 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Pro), 2.93 (s<sub>br</sub>, 1 H, OH), 3.41-3.62 (m, 2 H, δ-CH<sub>2</sub> Pro), 3.71 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.30-4.48 (m, 2 H, α-CH Pro, γ-CH Pro).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 28.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 39.2 (β-CH<sub>2</sub> Pro), 52.2 (δ-CH<sub>2</sub> Pro), 54.9 (OCH<sub>3</sub>), 58.1 (α-CH Pro), 69.4 (γ-CH Pro), 80.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 154.2 (C=O Urethan), 173.8 (C=O Ester).

C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub> (245.27).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 246.1342  
gef.: 246.1338.

***N-tert-Butyloxycarbonyl-4-oxo-L-prolinmethylester (34)***

Boc-Pro(O)-OMe

Zu einer Lösung von 2.600 g (10.60 mmol) Boc-Pro(OH)-OMe **33** in 104 ml Dichlormethan werden 27.20 ml (12.79 mmol) 15 %ige Dess-Martin-Periodinan-Lösung in Dichlormethan gespritzt. Nach 1 h wird die Reaktionslösung mit 200 ml Ethylacetat verdünnt und mit 30 ml einer Mischung aus gesättigter Natriumthiosulfatlösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung 1:3 (v/v) versetzt. Nach Klärung der Phasen wird die organische Phase abgetrennt und nochmals mit 30 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 2.100 g (81 %) eines farblosen Öls.

 $[\alpha]_D^{20}$ : -36.7° (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).R<sub>f</sub>-Wert: 0.42 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.45 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.56 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Pro), 2.90 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Pro), 3.73 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.87 (m, 2 H, δ-CH<sub>2</sub> Pro), 4.75 (m, 1 H, α-CH Pro).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 28.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 40.9 (β-CH<sub>2</sub> Pro), 52.8 (OCH<sub>3</sub>), 53.0 (α-CH Pro), 56.5 (δ-CH<sub>2</sub> Pro), 81.5 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 154.22 (C=O Urethan), 173.8 (C=O Ester), 206.9 (C=O Keton).

C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub> (243.26).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 244.1186  
gef.: 244.1191.

***N-tert-Butyloxycarbonyl-4-(cyanomethylen)-L-prolinmethylester (36)***

Boc-Pro(CHCN)-OMe

Zu einer Suspension von 0.708 g (28.01 mmol) Natriumhydrid in 80 ml Tetrahydrofuran werden 4.400 ml (28.01 mmol) Cyanomethyldiethylphosphonat gespritzt. Nach 10 min wird



eine Lösung von 1.947 g (8.00 mmol) Boc-Pro(O)-OMe **34** in 80 ml Tetrahydrofuran zugespritzt. Nach 1.5 h wird die Reaktionslösung mit 20 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung versetzt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 200 ml Ethylacetat aufgenommen und mit je 50 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 6:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 1.812 g (85 %) eines gelblichen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : -23.3° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.40 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.45 (2\*s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.10-3.22 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Pro), 3.72 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.12-4.40 (m, 2 H, δ-CH<sub>2</sub> Pro), 4.97 (m, 1 H, α-CH Pro), 5.81 (m, 1 H, -CHCN).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 28.5 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 36.2 (β-CH<sub>2</sub> Pro), 52.5 (OCH<sub>3</sub>), 54.8 (δ-CH<sub>2</sub> Pro), 60.5 (α-CH Pro), 80.9 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 93.4 (C=CHCN), 115.7 (CN), 153.2 (C=O Urethan), 170.5 (C=CHCN), 171.2 (C=O Ester).

C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (266.29).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> [M]<sup>+</sup>:  
ber.: 266.1267  
gef.: 266.1265.

#### ***N-tert-Butyloxycarbonyl-4-(S)-(N'-allyloxycarbonylaminoethyl)-L-prolinmethylester (37)*** Boc-Pro(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHAlc)-OMe

Eine entgaste Lösung von 0.670 g (2.52 mmol) Boc-Pro(CHCN)-OMe **36** in 114 ml Ethanol und 2.2 ml Chloroform wird mit 0.063 g (0.25 mmol) Platin(IV)oxid-Hydrat versetzt und unter Wasserstoff-Überdruck 2.5 h hydriert. Das Reaktionsgemisch wird sodann über Celite® filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält 0.685 g (100 %) Zwischenprodukt.

Zu einer Lösung von diesem in 27 ml Dichlormethan und 0.861 ml (5.03 mmol) Ethyldiisoprylamin werden 0.413 ml (3.77 mmol) Chlorameisensäureallylester gespritzt.

Nach 18 h wird die Reaktionslösung mit 100 ml Ethylacetat verdünnt und mit 30 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.852 g (95 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-17.6^\circ$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.31 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.38$  (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.53 (m, 3 H,  $\gamma$ -CH Pro,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ), 2.10 (m, 1 H,  $\beta$ - $\text{CH}_{2a}$  Pro), 2.41 (m, 1 H,  $\beta$ - $\text{CH}_{2b}$  Pro), 2.98 (m, 1 H,  $\delta$ - $\text{CH}_{2a}$  Pro), 3.14 (m, 2 H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ), 3.62 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.62-3.74 (m, 1 H,  $\delta$ - $\text{CH}_{2b}$  Pro), 4.08-4.20 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH Pro), 4.48 (m, 2 H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.63 (m, 1 H, NH Urethan), 5.11-5.24 (m, 2 H,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.84 (m, 1 H,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 27.1$  ( $\beta$ - $\text{CH}_2$  Pro), 27.5 ( $\gamma$ -CH Pro), 28.7 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 33.1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 42.2 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 48.5 ( $\delta$ - $\text{CH}_2$  Pro), 50.4 ( $\text{OCH}_3$ ), 57.5 ( $\alpha$ -CH Pro), 66.1 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 80.9 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 118.06 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 132.8 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 156.6 ( $\text{C}=\text{O}$  Urethan), 159.4 ( $\text{C}=\text{O}$  Urethan), 172.0 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester).

$\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6$  (356.41).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_6$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 357.2026  
gef.: 357.2022.

#### 4-(S)-(N-Allyloxycarbonylaminoethyl)-L-prolinmethylesterhydrotrifluoroacetat (38)

TFA\*H-Pro( $\text{C}_2\text{H}_4\text{NHAloc}$ )-OMe

Zu einer Lösung von 0.698 g (1.96 mmol) Boc-Pro( $\text{C}_2\text{H}_4\text{NHAloc}$ )-OMe **37** in 60 ml Dichlormethan werden 15 ml Trifluoressigsäure langsam zugespritzt. Nach 30 min wird die Reaktionslösung dreimal mit Toluol koevaporiert.

Ausbeute: 0.725 g (100 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-39.8^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.38 (Dichlormethan/Ethanol 5:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.56-1.74 (m, 3 H, γ-CH Pro, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 2.46 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Pro), 2.59 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Pro), 2.96 (m, 1 H, δ-CH<sub>2a</sub> Pro), 3.14 (m, 2 H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 3.62 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.54 (m, 1 H, δ-CH<sub>2b</sub> Pro), 4.36 (α-CH Pro), 4.48 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.02 (m<sub>br</sub>, 1 H, NH Urethan), 5.11-5.23 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.83 (m, 1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 32.7 (β-CH<sub>2</sub> Pro), 34.9 (γ-CH Pro), 36.2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 39.4 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 50.7 (δ-CH<sub>2</sub> Pro), 53.7 (OCH<sub>3</sub>), 59.1 (α-CH Pro), 65.8 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.8 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 128.4 (CF<sub>3</sub>COOH), 132.9 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 161.8 (C=O Urethan), 169.5 (C=O Ester), 176.0 (CF<sub>3</sub>COOH).

C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (370.32).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 257.1502  
gef.: 257.1512.

### 6.3.2. Versuche zu Kapitel 4.3.2.

#### 3-(Hexadecan-1-sulfonylamino)propionsäure (40)

C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>SO<sub>2</sub>-β-Ala-OH

Zu einer Suspension von 0.229 g (2.56 mmol) β-Alanin **39** in 10 ml Acetonitril werden 0.651 ml (5.13 mmol) Trimethylsilylchlorid gespritzt und die Mischung 1 h unter Rückfluss gerührt. Nach Erkalten werden 1.43 ml (10.26 mmol) Triethylamin, sowie eine Lösung von 1.000 g (3.08 mmol) Hexadecansulfonsäurechlorid in 10 ml Acetonitril zugespritzt. Nach 16 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit 20 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird aus Aceton umkristallisiert.

Ausbeute: 0.900 g (93 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 124 °C.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.72$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3 H,  $\omega\text{-CH}_3$  Hexadecyl), 1.18 (m, 24 H,  $12^*\text{CH}_2$  Hexadecyl), 1.24 (m, 2 H,  $\gamma\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 1.60 (m, 2 H,  $\beta\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 2.40 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2 H,  $\alpha\text{-CH}_2$   $\beta\text{-Ala}$ ), 2.82 (m, 2 H,  $\alpha\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 3.12 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2 H,  $\beta\text{-CH}_2$   $\beta\text{-Ala}$ ), 4.20 (s<sub>br</sub>, 1 H, NH Sulfonamid).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 17.9$  ( $\omega\text{-CH}_3$  Hexadecyl), 26.7 ( $\text{CH}_2$ ), 27.5 ( $\text{CH}_2$ ), 32.3 ( $\text{CH}_2$ ), 32.4 ( $\text{CH}_2$ ), 32.6 ( $\text{CH}_2$ ), 32.7 ( $\text{CH}_2$ ), 33.0 ( $\text{CH}_2$ ), 33.2 ( $\text{CH}_2$ ), 33.7 ( $\text{CH}_2$ ), 33.8 ( $\text{CH}_2$ ), 34.6 ( $\text{CH}_2$ ), 34.8 ( $\text{CH}_2$ ), 35.2 ( $\text{CH}_2$ ), 35.9 ( $\text{CH}_2$ ), 38.8 ( $\beta\text{-CH}_2$   $\beta\text{-Ala}$ ), 42.7 ( $\alpha\text{-CH}_2$   $\beta\text{-Ala}$ ), 56.5 ( $\alpha\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 178.0 (C=O Säure).

$\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{NO}_4\text{S}$  (377.58).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{NO}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  
ber.: 378.2679  
gef.: 378.2677.

### 6.3.3. Versuche zu Kapitel 4.3.3.

#### *N*-[3-(Hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-4-(*S*)-(N'-allyloxycarbonylaminoethyl)-L-prolinmethylester (41)

$\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{SO}_2\text{-}\beta\text{-Ala-Pro-(C}_2\text{H}_4\text{NHAloc)-OMe}$

Zu einer Lösung von 0.440 g (1.19 mmol)  $\text{TFA}\cdot\text{H-Pro(C}_2\text{H}_4\text{NHAloc)-OMe}$  **38**, 0.538 g (1.43 mmol)  $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{SO}_2\text{-}\beta\text{-Ala-OH}$  **40**, 0.371 g (2.38 mmol) HOBt und 0.244 ml (1.43 mmol) Ethyldiisopropylamin in 45 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.279 g (1.43 mmol) EDC gegeben. Nach 18 h wird die Reaktionslösung mit 100 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 30 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:2 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.593 g (81 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-13.2^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.30 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:3 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.86$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3 H,  $\omega\text{-CH}_3$  Hexadecyl), 1.23 (m, 24 H,  $12^*\text{CH}_2$  Hexadecyl), 1.37 (m, 2 H,  $\gamma\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 1.60 (m, 3 H,  $\gamma\text{-CH}$  Pro,  $\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$ ), 1.76 (m, 2 H,  $\beta\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 2.29 (m, 1 H,  $\beta\text{-CH}_{2a}$  Pro), 2.45 (m, 1 H,  $\beta\text{-CH}_{2b}$  Pro), 2.58 (m, 2 H,  $\alpha\text{-CH}_2$   $\beta\text{-Ala}$ ), 2.97 (m, 2 H,  $\alpha\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 3.19 (m, 3 H,  $\beta\text{-CH}_2$   $\beta\text{-Ala}$ ,  $\delta\text{-CH}_{2a}$  Pro), 3.36 (m, 3 H,  $\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$ ,  $\delta\text{-CH}_{2b}$  Pro), 3.71 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.34 (m, 1 H, NH Urethan), 4.53 (m, 2 H,  $\text{-OCH}_2\text{CH=CH}_2$ ), 4.92 (m, 1 H,  $\alpha\text{-CH}$  Pro), 5.16-5.34 (m, 3 H, NH Sulfonamid,  $\text{-OCH}_2\text{CH=CH}_2$ ), 5.88 (m, 1 H,  $\text{-OCH}_2\text{CH=CH}_2$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 14.3$  ( $\omega\text{-CH}_3$  Hexadecyl), 22.8 ( $\text{CH}_2$ ), 24.7 ( $\text{CH}_2$ ), 28.5 ( $\text{CH}_2$ ), 28.6 ( $\text{CH}_2$ ), 28.9 ( $\text{CH}_2$ ), 29.1 ( $\text{CH}_2$ ), 29.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.6 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 30.3 ( $\text{CH}_2$ ), 30.5 ( $\text{CH}_2$ ), 30.7 ( $\text{CH}_2$ ), 31.5 ( $\text{CH}_2$ ), 32.3 ( $\text{CH}_2$ ), 33.3 ( $\text{CH}_2$ ), 35.2 ( $\gamma\text{-CH}$  Pro), 35.5 ( $\text{CH}_2$ ), 36.7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 38.8 ( $\beta\text{-CH}_2$   $\beta\text{-Ala}$ ), 39.4 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 42.7 ( $\alpha\text{-CH}_2$   $\beta\text{-Ala}$ ), 52.5 ( $\delta\text{-CH}_2$  Pro), 52.8 ( $\text{OCH}_3$ ), 59.1 ( $\alpha\text{-CH}_2$  Hexadecyl), 59.2 ( $\alpha\text{-CH}$  Pro), 65.8 ( $\text{OCH}_2\text{CH=CH}_2$ ), 117.9 ( $\text{OCH}_2\text{CH=CH}_2$ ), 133.0 ( $\text{OCH}_2\text{CH=CH}_2$ ), 156.4 ( $\text{C=O}$  Urethan), 170.2 ( $\text{C=O}$  Amid), 172.8 ( $\text{C=O}$  Ester).

$\text{C}_{31}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}$  (615.87).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{31}\text{H}_{58}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  
ber.: 616.3996  
gef.: 616.3976.

***N*-[3-(Hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-4-(*S*)-(N'-allyloxycarbonylaminoethyl)-L-prolyl-*S*-farnesyl-L-cysteinmethylester (42)**

$\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{SO}_2\text{-}\beta\text{-Ala-Pro-(C}_2\text{H}_4\text{NHAloc)-Cys(Far)-OMe}$

Zu einer Lösung von 0.539 g (0.88 mmol)  $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{SO}_2\text{-}\beta\text{-Ala-Pro-(C}_2\text{H}_4\text{NHAloc)-OMe}$  **41** in 3.500 ml Methanol werden 1.750 ml 1 M Natriumhydroxidlösung gegeben. Nach 3 h Rühren bei Raumtemperatur wird die Reaktionslösung mit 50 ml Chloroform verdünnt und mit 1 N Salzsäure auf pH 3 angesäuert. Die wässrige Phase wird danach zweimal mit je 30 ml Chloroform extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält 0.526 g (100 %) eines farblosen Feststoffs.

Zu einer Lösung von 0.562 g (0.87 mmol) von obiger Carbonsäure, 0.356 g (1.05 mmol) H-Cys(Far)-OMe **25**, 0.273 g (1.75 mmol) HOBt in 50 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.205 g (1.05 mmol) EDC gegeben. Nach 20 h wird die Reaktionslösung mit 100 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 30 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung

gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v), dann 1:5 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.701 g (87 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-8.4^\circ$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.29 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.86$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3 H,  $\omega$ - $\text{CH}_3$  Hexadecyl), 1.23 (m, 24 H,  $12 \cdot \text{CH}_2$  Hexadecyl), 1.37 (m, 2 H,  $\gamma$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl), 1.50 (s, 6 H,  $2 \cdot \text{CH}_3$  Far), 1.55 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$  Far), 1.57 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$  Far), 1.60 (m, 3 H,  $\gamma$ -CH Pro,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ), 1.76 (m, 2 H,  $\beta$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl), 1.82-2.08 (m, 8 H,  $4 \cdot \text{CH}_2$  Far), 2.29 (m, 1 H,  $\beta$ - $\text{CH}_{2a}$  Pro), 2.45 (m, 1 H,  $\beta$ - $\text{CH}_{2b}$  Pro), 2.58 (m, 2 H,  $\alpha$ - $\text{CH}_2$   $\beta$ -Ala), 2.72 (m, 2 H,  $-\text{SCH}_2-$ ), 2.96 (m, 3 H,  $\alpha$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl,  $\delta$ - $\text{CH}_{2a}$  Pro), 3.20 (m, 4 H,  $\beta$ - $\text{CH}_2$   $\beta$ -Ala,  $\beta$ - $\text{CH}_2$  Cys), 3.41 (m, 3 H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $\delta$ - $\text{CH}_{2b}$  Pro), 3.68 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.53 (m, 2 H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.76 ( $\alpha$ -CH Cys), 4.92 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH Pro), 5.04-5.29 (m, 6 H,  $3 \cdot \text{CH}$  Far, NH Urethan,  $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.54 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 5.90 (m, 1 H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 7.11 (m, 1 H, NH Amid).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 14.3$  ( $\omega$ - $\text{CH}_3$  Hexadecyl), 16.2 ( $\text{CH}_3$  Far), 16.4 ( $\text{CH}_3$  Far), 16.5 ( $\text{CH}_3$  Far), 17.9 ( $\text{CH}_3$  Far), 22.8 ( $\text{CH}_2$ ), 22.9 ( $\text{CH}_2$ ), 23.8 ( $\text{CH}_2$ ), 24.7 ( $\text{CH}_2$ ), 28.5 ( $\text{CH}_2$ ), 28.6 ( $\text{CH}_2$ ), 28.9 ( $\text{CH}_2$ ), 29.1 ( $\text{CH}_2$ ), 29.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.6 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 30.3 ( $\text{CH}_2$ ), 30.5 ( $\text{CH}_2$ ), 30.7 ( $\text{CH}_2$ ), 31.5 ( $\text{CH}_2$ ), 32.1 ( $\text{CH}_2$ ), 32.3 ( $\text{CH}_2$ ), 33.3 ( $\text{CH}_2$ ), 33.4 ( $\text{CH}_2$ ), 35.2 ( $\gamma$ -CH Pro), 35.5 ( $\text{CH}_2$ ), 36.7 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 38.8 ( $\beta$ - $\text{CH}_2$   $\beta$ -Ala), 39.2 ( $\text{CH}_2$  Far), 39.4 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 39.8 ( $\text{CH}_2$  Far), 42.7 ( $\alpha$ - $\text{CH}_2$   $\beta$ -Ala), 52.5 ( $\delta$ - $\text{CH}_2$  Pro), 52.9 ( $\text{OCH}_3$ ), 57.4 ( $\alpha$ -CH Cys), 59.1 ( $\alpha$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl), 59.2 ( $\alpha$ -CH Pro), 65.8 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 117.9 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 119.7 (CH Far), 123.9 (CH Far), 124.5 (CH Far), 132.3 (C Far), 133.0 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 135.5 (C Far), 140.8 (C Far), 156.4 (C=O Urethan), 170.2 (C=O Amid), 171.0 (C=O Amid), 172.8 (C=O Ester).

$\text{C}_{49}\text{H}_{86}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}_2$  (923.36).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{49}\text{H}_{87}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  
ber.: 923.5966  
gef.: 923.5955.

***N*-[3-(Hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-4-(*S*)-(aminoethyl)-*L*-prolyl-*S*-farnesyl-*L*-cysteinmethylester (4)** $C_{16}H_{33}SO_2$ - $\beta$ -Ala-Pro-( $C_2H_4NH_2$ )-Cys(Far)-OMe

Eine Lösung von 0.300 g (0.33 mmol)  $C_{16}H_{33}SO_2$ - $\beta$ -Ala-Pro-( $C_2H_4NHAloc$ )-Cys(Far)-OMe **42**, 0.051 g (0.33 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure in 30 ml Tetrahydrofuran wird sorgfältig entgast. Dann werden 0.038 g (0.03 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 20:1 (v/v), dann 10:1 (v/v), dann 5:1 (v/v) + 1 % Triethylamin, dann 1:1 (v/v) + 1 % Triethylamin als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.216 g (79 %) eines leicht gelblichen Schaums.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-14.5^\circ$  ( $c = 0.5$ , CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.07 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz):  $\delta = 0.86$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3 H,  $\omega$ -CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.23 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.37 (m, 2 H,  $\gamma$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.50 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.55 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.57 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.60 (m, 3 H,  $\gamma$ -CH Pro, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 1.76 (m, 2 H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.82-2.08 (m, 8 H, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.29 (m, 1 H,  $\beta$ -CH<sub>2a</sub> Pro), 2.45 (m, 1 H,  $\beta$ -CH<sub>2b</sub> Pro), 2.58 (m, 2 H,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub>  $\beta$ -Ala), 2.72 (m, 2 H, -SCH<sub>2</sub>-), 2.96 (m, 3 H,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl,  $\delta$ -CH<sub>2a</sub> Pro), 3.20 (m, 4 H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>  $\beta$ -Ala,  $\beta$ -CH<sub>2</sub> Cys), 3.41 (m, 3 H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>,  $\delta$ -CH<sub>2b</sub> Pro), 3.68 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.76 ( $\alpha$ -CH Cys), 4.92 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH Pro), 5.04-5.29 (m, 3H, 3\*CH Far).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz):  $\delta = 14.3$  ( $\omega$ -CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 16.2 (CH<sub>3</sub> Far), 16.4 (CH<sub>3</sub> Far), 16.5 (CH<sub>3</sub> Far), 17.9 (CH<sub>3</sub> Far), 22.8 (CH<sub>2</sub>), 22.9 (CH<sub>2</sub>), 23.8 (CH<sub>2</sub>), 24.7 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 28.9 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.5 (CH<sub>2</sub>), 30.7 (CH<sub>2</sub>), 31.5 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 32.3 (CH<sub>2</sub>), 33.3 (CH<sub>2</sub>), 33.4 (CH<sub>2</sub>), 35.2 ( $\gamma$ -CH Pro), 35.5 (CH<sub>2</sub>), 36.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 38.8 ( $\beta$ -CH<sub>2</sub>  $\beta$ -Ala), 39.2 (CH<sub>2</sub> Far), 39.4 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 42.7 ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub>  $\beta$ -Ala), 52.5 ( $\delta$ -CH<sub>2</sub> Pro), 52.9 (OCH<sub>3</sub>), 57.4 ( $\alpha$ -CH Cys), 59.1 ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 59.2 ( $\alpha$ -CH Pro), 119.7 (CH Far), 123.9 (CH Far), 124.5 (CH Far), 132.3 (C Far), 135.5 (C Far), 140.8 (C Far), 170.2 (C=O Amid), 171.0 (C=O Amid), 172.8 (C=O Ester).

$C_{45}H_{82}N_4O_6S_2$  (839.29).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $C_{45}H_{82}N_4O_6S_2Na$   $[M+Na]^+$ : ber.: 861.5576  
gef.: 861.5562.

### 6.3.4. Versuche zu Kapitel 4.3.4.

#### 2-(S)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionsäureallylester (45)

Ac-Dap( $SO_2C_{16}H_{33}$ )-OAll

Zu einer Lösung von 0.540 g (2.43 mmol) 2-(S)-Acetylamino-3-aminopropionsäureallylesterhydrochlorid **44** in 5 ml Dimethylformamid werden bei 0 °C nacheinander 1.04 ml (6.06 mmol) Ethyldiisopropylamin sowie eine Lösung von 0.965 g (2.91 mmol) Hexadecansulfonsäurechlorid in 10 ml Dimethylformamid zugespritzt. Nach 20 h wird die Reaktionslösung mit 150 ml Ethylacetat verdünnt und dreimal mit je 30 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $Na_2SO_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit n-Hexan/Ethylacetat 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.865 (75 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 70 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 17.5° (c = 1.0,  $CHCl_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.20 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 0.84 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 3 H,  $\omega$ - $CH_3$  Hexadecyl), 1.24 (m, 24 H,  $12 \cdot CH_2$  Hexadecyl), 1.38 (m, 2 H,  $\gamma$ - $CH_2$  Hexadecyl), 1.72 (m, 2 H,  $\beta$ - $CH_2$  Hexadecyl), 2.08 (s, 3 H,  $CH_3$  Acetyl), 2.95 ( $\alpha$ - $CH_2$  Hexadecyl), 3.54 (m, 2 H,  $\beta$ - $CH_2$  Dap), 4.62 (m, 1 H,  $-OCH_{2a}CH=CH_2$ ), 4.73 (m, 2 H,  $\alpha$ -CH Dap,  $-OCH_{2b}CH=CH_2$ ), 5.23-5.36 (m, 2 H,  $-OCH_2CH=CH_2$ ), 5.66 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, NH Sulfonamid), 5.91 (m, 1 H,  $-OCH_2CH=CH_2$ ), 7.11 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1 H, NH Amid).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100.6 MHz):  $\delta$  = 14.3 ( $\omega$ - $CH_3$  Hexadecyl), 22.8 ( $CH_3$  Acetyl), 23.1 ( $CH_2$ ), 23.8 ( $CH_2$ ), 28.4 ( $CH_2$ ), 29.5 ( $CH_2$ ), 29.6 ( $CH_2$ ), 29.7 ( $CH_2$ ), 29.8 ( $CH_2$ ), 29.8 ( $CH_2$ ), 29.8 ( $CH_2$ ), 29.8 ( $CH_2$ ), 29.9 ( $CH_2$ ), 30.0 ( $CH_2$ ), 30.2 ( $CH_2$ ), 32.1 ( $CH_2$ ), 44.6 ( $\beta$ - $CH_2$  Dap),



53.2 ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 66.9 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 119.5 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 131.5 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 170.2 (C=O Amid), 171.0 (C=O Ester).

C<sub>24</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S (474.70).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>24</sub>H<sub>47</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 475.3206  
gef.: 475.3230.

### 2-(S)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionsäure (46)

Ac-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-OH

Eine Lösung von 0.530 g (1.12 mmol) Ac-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-OAll **45**, 0.104 g (0.67 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure in 40 ml Tetrahydrofuran wird sorgfältig entgast. Dann werden 0.077 g (0.07 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v) + 1 % Essigsäure als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.480 g (99 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 91 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 15.7° (c = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.22 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v) + 1 % Essigsäure).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz):  $\delta$  = 0.87 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H,  $\omega$ -CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.30 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.41 (m, 2 H,  $\gamma$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.79 (m, 2 H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 2.03 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 3.04 (m, 2 H,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 3.52 (m, 2 H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub> Dap), 4.51 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH Dap).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz):  $\delta$  = 13.2 ( $\omega$ -CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 21.6 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 23.1 (CH<sub>2</sub>), 23.8 (CH<sub>2</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.2 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 43.3 ( $\beta$ -CH<sub>2</sub> Dap), 52.0 ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 53.3 ( $\alpha$ -CH Dap), 170.2 (C=O Amid), 171.3 (C=O Säure).

$C_{21}H_{42}N_2O_5S$  (434.63).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $C_{21}H_{42}N_2O_5SNa$   $[M+Na]^+$ : ber.: 457.2714  
gef.: 457.2682.

### 6.3.5. Versuche zu Kapitel 4.3.5.

#### *N*-[2-(*S*)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-4-(*S*)-(N'-allyloxy-carbonylaminoethyl)-L-prolinmethylester (47)

Ac-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-Pro-(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHAlOc)-OMe

Zu einer Lösung von 0.150 g (0.35 mmol) TFA\*H-Pro(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHAlOc)-OMe **38**, 0.128 g (0.35 mmol) Ac-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-OH **46**, 0.108 g (0.69 mmol) HOBt und 0.071 ml (0.41 mmol) Ethyldiisoprylamin in 15 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.081 g (0.41 mmol) EDC gegeben. Nach 18 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 15 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v), dann Ethylacetat als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.176 g (76 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 78 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : -9.2° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.09 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 0.81 (t, *J* = 6.5 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.18 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.33 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.55 (m, 3 H, γ-CH Pro, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 1.72 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.94 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.25 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Pro), 2.45 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Pro), 2.93 (m, 2 H, (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 3.14 (m, 3 H, δ-CH<sub>2a</sub> Pro, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 3.30 (m, 3 H, δ-CH<sub>2b</sub> Pro, β-CH<sub>2</sub> Dap), 3.68 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.99 (m, 1 H, NH Urethan), 4.40 (m, 1 H, α-CH Dap), 4.48 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.86 (m, 1 H, α-CH Pro), 5.12-5.25 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.64 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 5.85 (m, 1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 6.70 (m, 1 H, NH Amid).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 14.3$  ( $\omega$ - $\text{CH}_3$  Hexadecyl), 22.8 ( $\text{CH}_3$  Acetyl), 22.9 ( $\text{CH}_2$ ), 24.5 ( $\text{CH}_2$ ), 28.6 ( $\text{CH}_2$ ), 28.8 ( $\text{CH}_2$ ), 29.2 ( $\text{CH}_2$ ), 29.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.6 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 30.2 ( $\text{CH}_2$ ), 30.5 ( $\text{CH}_2$ ), 30.6 ( $\text{CH}_2$ ), 31.3 ( $\text{CH}_2$ ), 32.0 ( $\text{CH}_2$ ), 33.1 ( $\text{CH}_2$ ), 35.1 ( $\gamma$ -CH Pro), 36.7 ( $\text{CH}_2$ ), 36.9 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 39.6 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ ), 45.0 ( $\beta$ - $\text{CH}_2$  Dap), 51.1 ( $\delta$ - $\text{CH}_2$  Pro), 52.8 ( $\alpha$ -CH Dap), 52.9 ( $\text{OCH}_3$ ), 59.3 ( $\alpha$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl), 59.4 ( $\alpha$ -CH Pro), 65.7 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 117.8 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{H}_2$ ), 133.0 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 156.5 ( $\text{C}=\text{O}$  Urethan), 168.5 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 169.2 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 172.8 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester).

$\text{C}_{33}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$  (672.92).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{33}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_8\text{SNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber.: 695.4032  
gef.: 695.4054.

***N*-[2-(*S*)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-4-(*S*)-(N'-allyloxy-carbonylaminoethyl)-L-prolyl-*S*-farnesyl-L-cysteinmethylester (48)**

Ac-Dap( $\text{SO}_2\text{C}_{16}\text{H}_{33}$ )-Pro-( $\text{C}_2\text{H}_4\text{NHAloc}$ )-Cys(Far)-OMe

Zu einer Lösung von 0.140 g (0.21 mmol) Ac-Dap( $\text{SO}_2\text{C}_{16}\text{H}_{33}$ )-Pro-( $\text{C}_2\text{H}_4\text{NHAloc}$ )-OMe **47** in 0.832 ml Methanol werden 0.416 ml 1 M Natriumhydroxidlösung gegeben. Nach 3 h Rühren bei Raumtemperatur wird die Reaktionslösung mit 30 ml Chloroform verdünnt und mit 1 N Salzsäure auf pH 3 angesäuert. Die wässrige Phase wird danach zweimal mit je 20 ml Chloroform extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält 0.137 g (100 %) eines farblosen Feststoffs.

Zu einer Lösung von 0.137 g (0.21 mmol) von obiger Carbonsäure, 0.085 g (0.25 mmol) H-Cys(Far)-OMe **25**, 0.065 g (0.42 mmol) HOBT in 25 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.049 g (0.25 mmol) EDC gegeben. Nach 20 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 15 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:8 (v/v), dann Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.169 g (83 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-9.0^\circ$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.13 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:8 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 0.81 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.18 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.34 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.50 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.55 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.57 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.59 (m, 3 H, γ-CH Pro, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-), 1.72 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.94 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 1.82-2.08 (m, 8 H, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.25 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Pro), 2.45 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Pro), 2.72 (m, 2 H, -SCH<sub>2</sub>-), 2.96 (m, 3 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl, δ-CH<sub>2a</sub> Pro), 3.20 (m, 4 H, β-CH<sub>2</sub> Dap, β-CH<sub>2</sub> Cys), 3.41 (m, 3 H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, δ-CH<sub>2b</sub> Pro), 3.71 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.53 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.76 (α-CH Cys), 4.92 (m, 1 H, α-CH Pro), 5.04-5.29 (m, 6 H, 3\*CH Far, NH Urethan, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.54 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 5.90 (m, 1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 7.11 (m, 1 H, NH Amid).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 14.3 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 16.2 (CH<sub>3</sub> Far), 16.4 (CH<sub>3</sub> Far), 16.5 (CH<sub>3</sub> Far), 17.9 (CH<sub>3</sub> Far), 22.8 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 22.8 (CH<sub>2</sub>), 22.9 (CH<sub>2</sub>), 23.8 (CH<sub>2</sub>), 24.7 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 28.9 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.5 (CH<sub>2</sub>), 30.7 (CH<sub>2</sub>), 31.5 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 32.3 (CH<sub>2</sub>), 33.3 (CH<sub>2</sub>), 33.4 (CH<sub>2</sub>), 35.2 (γ-CH Pro), 35.5 (CH<sub>2</sub>), 36.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 39.2 (CH<sub>2</sub> Far), 39.4 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 45.7 (β-CH<sub>2</sub> Dap), 52.5 (δ-CH<sub>2</sub> Pro), 52.8 (α-CH Dap), 53.0 (OCH<sub>3</sub>), 57.4 (α-CH Cys), 59.1 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 59.2 (α-CH Pro), 65.8 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.9 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 119.7 (CH Far), 123.9 (CH Far), 124.5 (CH Far), 132.3 (C Far), 133.0 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 135.5 (C Far), 140.8 (C Far), 156.4 (C=O Urethan), 170.2 (C=O Amid), 171.0 (C=O Amid), 171.2 (C=O Amid), 172.8 (C=O Ester).

C<sub>51</sub>H<sub>89</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub> (980.41).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>51</sub>H<sub>90</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 980.6181  
gef.: 980.6188.

***N*-[2-(*S*)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-4-(*S*)-(aminoethyl)-L-prolyl-*S*-farnesyl-L-cysteinmethylester (5)**

Ac-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-Pro-(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)-Cys(Far)-OMe

Eine Lösung von 0.149 g (0.15 mmol) Ac-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-Pro-(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NHAlOc)-Cys(Far)-OMe **48**, 0.024 g (0.15 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure in 15 ml Tetrahydrofuran wird

sorgfältig entgast. Dann werden 0.018 g (0.02 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v), dann 5:1 (v/v), dann 1:1 (v/v), dann 1:1 (v/v) + 1 % Triethylamin als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.087 g (64 %) eines leicht gelblichen Schaums.

$[\alpha]_D^{20}$ : -4.9° (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.04 (Dichlormethan/Ethanol 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 0.81 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.18 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.34 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.50 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.55 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.57 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Far), 1.59 (m, 3 H, γ-CH Pro, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 1.72 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.94 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 1.82-2.08 (m, 8 H, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.25 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Pro), 2.45 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Pro), 2.72 (m, 2 H, -SCH<sub>2</sub>-), 2.96 (m, 3 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl, δ-CH<sub>2a</sub> Pro), 3.20 (m, 4 H, β-CH<sub>2</sub> Dap, β-CH<sub>2</sub> Cys), 3.41 (m, 3 H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, δ-CH<sub>2b</sub> Pro), 3.71 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.76 (α-CH Cys), 4.92 (m, 1 H, α-CH Pro), 5.04-5.29 (m, 3 H, 3\*CH Far).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz): δ = 14.3 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 16.2 (CH<sub>3</sub> Far), 16.4 (CH<sub>3</sub> Far), 16.5 (CH<sub>3</sub> Far), 17.9 (CH<sub>3</sub> Far), 22.8 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 22.8 (CH<sub>2</sub>), 22.9 (CH<sub>2</sub>), 23.8 (CH<sub>2</sub>), 24.7 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 28.9 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.5 (CH<sub>2</sub>), 30.7 (CH<sub>2</sub>), 31.5 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 32.3 (CH<sub>2</sub>), 33.3 (CH<sub>2</sub>), 33.4 (CH<sub>2</sub>), 35.2 (γ-CH Pro), 35.5 (CH<sub>2</sub>), 36.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 39.2 (CH<sub>2</sub> Far), 39.4 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 45.7 (β-CH<sub>2</sub> Dap), 52.5 (δ-CH<sub>2</sub> Pro), 52.8 (α-CH Dap), 53.0 (OCH<sub>3</sub>), 57.4 (α-CH Cys), 59.1 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 59.2 (α-CH Pro), 119.7 (CH Far), 123.9 (CH Far), 124.5 (CH Far), 132.3 (C Far), 135.5 (C Far), 140.8 (C Far), 170.2 (C=O Amid), 171.0 (C=O Amid), 171.2 (C=O Amid), 172.8 (C=O Ester).

C<sub>47</sub>H<sub>85</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> (896.34).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>47</sub>H<sub>86</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 897.5969  
gef.: 897.5938.

## 6.4. Versuche zu Kapitel 4.4.

### 6.4.1. Versuche zu Kapitel 4.4.2.

#### 2-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]butyrolacton (55)

Zu einer Lösung von 20.000 g (109.88 mmol) 2-(S)-Aminobutyrolactonhydrobromid **54** und 56.43 ml (329.63 mmol) Ethyl-diisopropylamin in 500 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 29.666 g (131.85 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat in 50 ml Dichlormethan getropft. Nach 20 h wird die organische Phase mit 100 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält 22.100 g (100 %) Zwischenprodukt als farblosen Feststoff.

Zu 22.100 g (109.88 mmol) des monogeschützten Lactons und 2.740 g (21.98 mmol) *N,N*-Dimethylaminopyridin in 380 ml Acetonitril werden portionsweise 27.200 g (120.86 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat gegeben. Nach 15 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 31.030 g (94 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 75 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : -42.5° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.51 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.52 (s, 18 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.53 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub>), 4.26 (dt, J = 8.4, 9.1 Hz, 1 H, γ-CH<sub>2a</sub>), 4.48 (dt, J = 5.7, 6.3 Hz, 1 H, γ-CH<sub>2b</sub>), 5.12 (t, J = 9.9 Hz, 1 H, α-CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 26.8 (β-CH<sub>2</sub>), 28.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 54.0 (α-CH), 65.4 (γ-CH<sub>2</sub>), 84.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 151.7 (C=O Urethan), 173.9 (C=O Lacton).

C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub> (301.34).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  
ber.: 302.1604  
gef.: 302.1615.

**2-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-4-hydroxybuttersäuremethylester (56)**

Zu einer Lösung von 30.915 g (102.59 mmol) 2-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-butyrolacton **55** in 220 ml Methanol werden 102.59 ml (102.59 mmol) 1 M Cäsiumhydroxidlösung getropft. Nach 2 h wird die Reaktionslösung dreimal mit Toluol koevaporiert.

Das so erhaltene Cäsiumsalz wird in 834 ml Dimethylformamid gelöst und mit 7.67 ml (123.11 mmol) Methyljodid versetzt. Nach 18 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 500 ml Ethylacetat aufgenommen und mit je 100 ml Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung, gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 4:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 27.019 g (79 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 89 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : -37.8° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.36 (Cyclohexan/Ethylacetat (1:1 (v/v))).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.51 (s, 18 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.03 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub>), 2.42 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub>), 2.48 (s<sub>br</sub>, 1 H, OH), 3.59 (m, 1 H, γ-CH<sub>2a</sub>), 3.73 (m, s, 4 H, γ-CH<sub>2b</sub>, OCH<sub>3</sub>), 5.01 (dd, J = 4.7, 9.8 Hz, 1 H, α-CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 28.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 33.2 (β-CH<sub>2</sub>), 52.5 (OCH<sub>3</sub>), 55.6 (α-CH), 59.2 (γ-CH), 83.8 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 152.6 (C=O Urethan), 171.5 (C=O Ester).

C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>7</sub> (333.38).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>15</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>7</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  
ber.: 334.1867  
gef.: 334.1886.

**2-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-4-cyano-4-hydroxybuttersäuremethylester (57)**

Zu einer Lösung von 8.285 ml (94.48 mmol) Oxalylchlorid in 189 ml Dichlormethan werden bei -60 °C 9.352 ml (131.78 mmol) Dimethylsulfoxid in 28 ml Dichlormethan gespritzt. Nach 30 min werden 13.500 g (40.49 mmol) 2-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-4-

hydroxybuttersäuremethylester **56** in 57 ml Dichlormethan bei  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  zugespritzt. Nach 4 h werden 39.293 ml (281.91 mmol) Ethyldiisopropylamin zugegeben und die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt. Die Mischung wird auf 100 ml 1 M Kaliumdihydrogenphosphatlösung gegeben und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dann mit je 50 ml Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält 12.314 g (92 %) eines farblosen Öls als Zwischenprodukt.

Dieses wird in 200 ml Dichlormethan gelöst und mit 9.3 ml (72.43 mmol) Trimethylsilylcyanid versetzt. Nach 20 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 100 ml Methanol aufgenommen und mit 2.700 g (72.43 mmol) Ammoniumfluorid versetzt. Nach 5 min wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 500 ml Ethylacetat aufgenommen und mit je 100 ml Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 6:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 11.680 g (90 %) eines farblosen Öls.

$R_f$ -Wert: 0.40 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz, Gemisch von Diastereomeren):  $\delta = 1.53$  (s, 18 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.36 (m, 1 H,  $\beta\text{-CH}_{2a}$ ), 2.73 (m, 1 H,  $\beta\text{-CH}_{2b}$ ), 3.76 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.51 (m, 2 H,  $\gamma\text{-CH}$ ), 4.74 ( $s_{br}$ , 1 H, OH), 5.10 (m, 1 H,  $\alpha\text{-CH}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz, Gemisch von Diastereomeren):  $\delta = 28.2$  ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 35.3, 36.5 ( $\beta\text{-CH}_2$ ), 52.9, 55.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 54.5, 58.7 ( $\alpha\text{-CH}$ ), 58.4, 60.6 ( $\gamma\text{-CH}$ ), 84.7, 84.9 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 119.3, 119.4 (CN), 152.5, 152.4 ( $\text{C}=\text{O}$  Urethan), 170.4, 170.8 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester).

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_7$  (358.39).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_7$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  
ber.: 359.1819  
gef.: 359.1846.



**2-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-4-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)-4-cyano-buttersäuremethylester (58)**

Zu einer Lösung von 10.500 g (29.30 mmol) 2-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-4-cyano-4-hydroxybuttersäuremethylester **57** und 6.000 g (87.89 mmol) Imidazol in 30 ml Dimethylformamid werden 11.661 ml (43.95 mmol) *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid gespritzt. Nach 15 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 500 ml Ethylacetat aufgenommen und mit je 100 ml 1 N Salzsäure und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 10:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 15.517 g (90 %) eines farblosen Öls.

R<sub>f</sub>-Wert: 0.13 (Cyclohexan/Ethylacetat 7:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, Gemisch von Diastereomeren): δ = 1.09, 1.10 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Silyl), 1.45, 1.47 (s, 18 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Boc), 2.36 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub>), 2.75 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub>), 3.66, 3.67 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.53, 4.64 (dd, *J* = 5.3, 7.4 Hz, 1 H, γ-CH), 5.05, 5.19 (dd, *J* = 4.9, 8.4 Hz, 1 H, α-CH), 7.37-7.49 (m, 6 H, arom. CH), 7.63-7.73 (m, 4 H, arom. CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz, Gemisch von Diastereomeren): δ = 19.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Silyl), 26.9, 27.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Silyl), 28.1, 28.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Boc), 37.3, 37.6 (β-CH<sub>2</sub>), 52.6, 54.8 (OCH<sub>3</sub>), 53.8, 60.4 (α-CH), 60.5, 61.5 (γ-CH<sub>2</sub>), 83.7, 83.9 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Boc), 119.0, 119.2 (CN), 128.0, 128.1 (arom. CH), 128.2, 128.2 (arom. CH), 128.2, 128.3 (arom. CH), 130.5, 130.6 (arom. C), 131.6, 131.7 (arom. C), 135.9, 136.0 (arom. CH), 136.1, 136.1 (arom. CH), 151.7, 151.9 (C=O Urethan), 170.4, 170.5 (C=O Ester).

C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>Si (596.79).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 619.2818  
gef.: 619.2830.

### 3-(*S*)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)piperidin-2-on (59)

Eine Lösung von 6.300 g (19.56 mmol) 2-(*S*)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-4-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)-4-cyanobuttersäuremethylester **58** in 630 ml Methanol und 3.5 ml Essigsäure wird sorgfältig entgast und mit 1.176 g 10 %igem Palladium auf Aktivkohle versetzt. Die Reaktionslösung wird 15 h unter Wasserstoff-Überdruck hydriert. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 250 ml Chloroform aufgenommen und mit 50 ml 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Das erhaltene Rohprodukt wird in 500 ml Toluol aufgenommen und zusammen mit 0.270 g (2.21 mmol) *N,N*-Dimethylaminopyridin unter Rückfluss 42 h gerührt. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 2:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 4.022 g (67 %) eines farblosen Schaums.

R<sub>F</sub>-Wert: 0.27 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, Gemisch von Diastereomeren): δ = 1.05, 1.08 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Silyl), 1.48, 1.49 (s, 18 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Boc), 2.16-2.30 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub>), 3.11-3.30 (m, 2 H, δ-CH<sub>2</sub>), 3.99, 4.19 (m, 1 H, γ-CH), 4.57, 5.32 (m, 1 H, α-CH), 6.59, 6.77 (m, 1 H, NH), 7.36-7.46 (m, 6 H, arom. CH), 7.62-7.71 (m, 4 H, arom. CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz, Gemisch von Diastereomeren): δ = 19.3, 19.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Silyl), 27.0, 27.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Silyl), 28.2, 28.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Boc), 34.0, 36.2 (β-CH<sub>2</sub>), 52.7 (α-CH), 54.2 (δ-CH<sub>2</sub>), 65.7, 66.0 (γ-CH<sub>2</sub>), 82.9, 83.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Boc), 128.0 (arom. CH), 130.1 (arom. CH), 130.2 (arom. CH), 133.3, 133.4 (arom. C), 133.5, 133.6 (arom. C), 135.7, 135.8 (arom. CH), 135.8, 135.9 (arom. CH), 151.9, 152.1 (C=O Urethan), 169.5, 170.0 (C=O Amid).

C<sub>31</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Si (568.78).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>31</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SiNa [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 591.2869  
gef.: 591.2888.

**3-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-5-hydroxypiperidin-2-on (60)**

Zu einer Lösung von 1.100 g (1.93 mmol) 3-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)piperidin-2-on **59** in 30 ml Tetrahydrofuran werden 9.7 ml (9.70 mmol) 1 M Tetrabutylammoniumfluoridlösung in Tetrahydrofuran gespritzt. Nach 1.5 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v), dann Ethylacetat als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.638 g (100 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 81 °C.

R<sub>f</sub>-Wert: 0.19 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:10 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, Gemisch von Diastereomeren): δ = 1.47, 1.48 (s, 18 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.12-2.38 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub>), 3.18-3.41 (m, 2 H, δ-CH<sub>2</sub>), 3.44-3.61 (s<sub>br</sub>, 1 H, OH), 4.05, 4.23 (m, 1 H, γ-CH), 4.81, 5.09 (m, 1 H, α-CH), 6.51 (m, 1 H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz, Gemisch von Diastereomeren): δ = 27.9 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 33.0, 35.8 (β-CH<sub>2</sub>), 52.3 (α-CH), 53.3 (δ-CH<sub>2</sub>), 63.5, 63.7 (γ-CH), 82.9, 83.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 152.1 (C=O Urethan), 169.4, 169.9 (C=O Amid).

C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (330.38).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  
ber.: 331.1870  
gef.: 331.1856.

**3-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-5-(cyanomethylen)piperidin-2-on (61)**

Zu einer Lösung von 0.638 g (1.93 mmol) 3-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-5-hydroxypiperidin-2-on **60** in 20 ml Dichlormethan werden 8.2 ml (3.86 mmol) 15 %ige Dess-Martin-Periodinan-Lösung in Dichlormethan gespritzt. Nach 1 h wird die Reaktionslösung mit 100 ml Ethylacetat verdünnt und mit 30 ml einer Mischung aus gesättigter Natriumthiosulfatlösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung 1:3 (v/v) versetzt. Nach Klärung der Phasen wird die organische Phase abgetrennt und nochmals mit 30 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene

Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt. Man erhält 0.445 g (70 %) Keton.

Zu einer Suspension von 0.120 g (4.73 mmol) Natriumhydrid in 15 ml Tetrahydrofuran werden 0.746 ml (4.73 mmol) Cyanomethyldiethylphosphonat gespritzt. Nach 1 h wird das oben dargestellte Keton in 15 ml Tetrahydrofuran zugespritzt. Nach 1.5 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml Ethylacetat aufgenommen und mit je 10 ml Wasser, 1 N Salzsäure und gesättigter Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 2:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.428 g (90 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 128 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 27.4° (c = 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.18 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 1.45 (s, 18 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.40 (dd,  $J$  = 9.6, 16.8, 1 H,  $\beta\text{-CH}_{2a}$ ), 2.99 (m, 1 H,  $\beta\text{-CH}_{2b}$ ), 3.02 (m, 2 H,  $\delta\text{-CH}_2$ ), 5.13 (m, 1 H,  $\alpha\text{-CH}$ ), 6.05 (m, 1 H,  $\text{-CHCN}$ ), 7.10 (m, 1 H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta$  = 22.1 ( $\beta\text{-CH}_2$ ), 28.2 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 30.2 ( $\delta\text{-CH}_2$ ), 54.2 ( $\alpha\text{-CH}$ ), 83.7 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 105.4 ( $\text{CHCN}$ ), 116.5 (CN), 122.6 ( $\text{C}=\text{CHCN}$ ), 152.1 (C=O Urethan), 167.2 (C=O Amid).

$\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5$  (351.40).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_5$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  
ber.: 352.1873  
gef.: 352.1852.

**6.4.2. Versuche zu Kapitel 4.4.3.****3-*tert*-Butyldisulfanyl-2-(*R*)-(4-methoxytetrahydropyran-4-yloxy)propionsäuremethylester (65)**

Zu einer Lösung von 0.670 g (2.29 mmol) 3-Acetylsulfanyl-2-(*R*)-(4-methoxytetrahydropyran-4-yloxy)propionsäuremethylester **63** in 27 ml Methanol werden 11.375 ml (2.28 mmol) 0.2 M Natriummethanolatlösung in Methanol getropft. Nach 30 min wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml Ethylacetat aufgenommen und mit je 10 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Zu einer Lösung von 2.200 g (6.87 mmol) *N-tert*-Butylsulfanyl-hydrazinodicarbonsäuredi-*tert*-butylester **64** in 43 ml Dimethylformamid wird das oben dargestellte Thiol in 86 ml Dimethylformamid zugetropft. Nach 18 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 100 ml Ethylacetat aufgenommen und mit 20 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 8:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.682 g (88 %) eines leicht gelblichen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 23.8° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.27 (Cyclohexan/Ethylacetat 3:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.33 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>). 1.78-1.88 (m, 4 H, -CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-), 3.00 (d, *J* = 6.6 Hz, 2 H, β-CH<sub>2</sub>), 3.23 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>O- Acetal), 3.61, 3.78 (m, 4 H, -CH<sub>2</sub>C(O)CH<sub>2</sub>-), 3.76 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub> Ester), 4.53 (t, *J* = 6.6 Hz, 1 H, α-CH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 30.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 34.2 (CH<sub>2</sub>C(O)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 34.7 (β-CH<sub>2</sub>), 43.7 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 48.3 (OCH<sub>3</sub> Acetal), 49.0 (OCH<sub>3</sub> Ester), 65.0 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 69.1 (α-CH), 100.0 (C Acetal), 172.5 (C=O Ester).

$C_{14}H_{26}O_5S_2$  (338.49).

GCMS (100 °C, 3 min, dann 20 °C/min bis 300 °C):  $R_t = 9.8$  min, MS: 338  $[M]^+$ , 250  $[M+H-(CH_3)_3CS]^+$ .

### 3-*tert*-Butyldisulfanyl-2-(*R*)-(methansulfonyloxy)propionsäuremethylester (51)

Zu einer Lösung von 0.435 g (1.29 mmol) 3-*tert*-Butyldisulfanyl-2-(*R*)-(4-methoxytetrahydropyran-4-yloxy)propionsäuremethylester **65** in 35 ml Methanol werden 0.251 g (1.29 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat gegeben. Nach 1 h wird die Reaktionslösung mit 5 ml 10 %iger Natriumcarbonatlösung versetzt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 100 ml Ethylacetat aufgenommen und mit 10 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $Na_2SO_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält 0.288 g (100 %) Zwischenprodukt.

Dieses wird in 9 ml Pyridin gelöst und mit 0.120 ml (1.54 mmol) Methansulfonsäurechlorid versetzt. Nach 15 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 10 ml 1 N Salzsäure dreimal gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $Na_2SO_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 3:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.388 g (100 %) eines leicht gelblichen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 12.9° (c = 0.5,  $CHCl_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.27 (Cyclohexan/Ethylacetat 3:1 (v/v)).

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.33$  (s, 9 H,  $C(CH_3)_3$ ), 3.00 (dd,  $J = 8.4, 13.4$  Hz, 1 H,  $\beta$ - $CH_{2a}$ ), 3.15 (s, 3 H,  $CH_3SO_2$ -), 3.19 (dd,  $J = 4.1, 13.9$  Hz, 1 H,  $\beta$ - $CH_{2b}$ ), 3.81 (s, 3 H,  $OCH_3$ ), 5.24 (dd,  $J = 4.1, 8.4$  Hz, 1 H,  $\alpha$ -CH).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 30.0$  ( $C(CH_3)_3$ ), 39.2 ( $\beta$ - $CH_2$ ), 41.8 ( $CH_3SO_2$ ), 45.2 ( $C(CH_3)_3$ ), 48.6 ( $OCH_3$ ), 69.7 ( $\alpha$ -CH), 172.4 (C=O Ester).

$C_9H_{18}O_5S_3$  (302.43).

GCMS (100 °C, 3 min, dann 20 °C/min bis 300 °C):  $R_t = 8.6$  min, MS: 302  $[M]^+$ , 246  $[M+H-(CH_3)_3C]^+$ .

**6.4.3. Versuche zu Kapitel 4.4.4.****2-(S)-{3-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-5-cyanomethylen-2-oxopiperidin-1-yl}-3-*tert*-butyldisulfanylpropionsäuremethylester (62)**

Zu einer Suspension von 0.021 g (0.84 mmol) Natriumhydrid in 6 ml Tetrahydrofuran wird bei 0 °C eine Lösung von 0.235 g (0.67 mmol) 3-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-5-(cyanomethylen)piperidin-2-on **61** und 0.326 g (1.08 mmol) 3-*tert*-Butyldisulfanyl-2-(R)-(methansulfonyloxy)propionsäuremethylester **51** in 2 ml Tetrahydrofuran gespritzt. Nach 5 min bei 0 °C wird 20 h bei Raumtemperatur weitergerührt. Danach wird mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit 10 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 4:1 (v/v), dann 1:2 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.213 g (57 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 46.8° (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.22 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.32 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> S<sup>t</sup>Bu), 1.49 (s, 18 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Boc), 2.38 (dd, *J* = 9.6, 16.8 Hz, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Lactam), 2.99-3.27 (m, 5 H, β-CH<sub>2b</sub> Lactam, β-CH<sub>2</sub> Cys, δ-CH<sub>2</sub> Lactam), 3.72 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 5.17 (dd, *J* = 8.4, 15.6 Hz, 1 H, α-CH Lactam), 5.25 (dd, *J* = 4.1, 8.4 Hz, 1 H, α-CH Cys), 6.20 (m, 1 H, -C=CHCN).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 22.3 (β-CH<sub>2</sub> Lactam), 28.5 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Boc), 29.9 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> S<sup>t</sup>Bu), 30.0 (δ-CH<sub>2</sub> Lactam), 39.2 (β-CH<sub>2</sub> Cys), 48.8 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> S<sup>t</sup>Bu), 49.7 (OCH<sub>3</sub>), 52.7 (α-CH Lactam), 69.7 (α-CH Cys), 83.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> Boc), 105.3 (CHCN), 116.5 (CN), 128.9 (C=CHCN), 152.2 (C=O Urethan), 166.4 (C=O Amid), 171.3 (C=O Ester).

C<sub>25</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> (557.73).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>25</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 580.2129  
gef.: 580.2104.

#### 6.4.4. Versuche zu Kapitel 4.4.6.

##### 2-(S)-[3-(S)-Amino-5-cyanomethylen-2-oxopiperidin-1-yl]-3-*tert*-butyldisulfanylpropionsäuremethylesterhydrotrifluoroacetat (69)

Zu einer Lösung von 0.109 g (0.20 mmol) 2-(S)-{3-(S)-[Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino]-5-cyanomethylen-2-oxopiperidin-1-yl}-3-*tert*-butyldisulfanylpropionsäuremethylester **62** in 6 ml Dichlormethan werden 1.5 ml (19.54 mmol) Trifluoressigsäure gespritzt. Nach 30 min wird das Lösungsmittel mit Toluol koevaporiert.

Ausbeute: 0.090 g (99 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 24.2° (c = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.01 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.31 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.62-2.85 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Lactam), 3.16-3.28 (m, 4 H, β-CH<sub>2</sub> Cys, δ-CH<sub>2</sub> Lactam), 3.73 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.19 (m, 1 H, α-CH Lactam), 5.23 (m, 1 H, α-CH Cys), 6.20 (m, 1 H, -CHCN).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 30.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 30.2 (δ-CH<sub>2</sub> Lactam), 39.2 (β-CH<sub>2</sub> Cys), 40.4 (β-CH<sub>2</sub> Lactam), 48.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 49.4 (OCH<sub>3</sub>), 52.6 (α-CH Lactam), 69.7 (α-CH Cys), 105.4 (CHCN), 116.6 (CN), 126.8 (CF<sub>3</sub>COOH), 128.7 (C=CHCN), 166.5 (C=O Amid), 171.11 (C=O Ester), 176.0 (CF<sub>3</sub>COOH).

C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> (471.52).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> [M-C<sub>2</sub>F<sub>3</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>: ber.: 358.1260

gef.: 358.1245.

##### 3-*tert*-Butyldisulfanyl-2-(S)-{5-cyanomethylen-3-(S)-[3-(hexadecan-1-sulfonylamino)-propionylamino]-2-oxopiperidin-1-yl}-propionsäuremethylester (70)

Zu einer Lösung von 0.039 g (0.08 mmol) 2-(S)-[3-(S)-Amino-5-cyanomethylen-2-oxopiperidin-1-yl]-3-*tert*-butyldisulfanylpropionsäuremethylesterhydrotrifluoroacetat **69**, 0.038 g (0.10 mmol) 3-(Hexadecan-1-sulfonylamino)propionsäure **40**, 0.026 g (0.16 mmol) HOBt und 0.017 ml (0.10 mmol) Ethyldiisopropylamin in 6 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.020 g (0.10 mmol) EDC gegeben. Nach 18 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml



Ethylacetat verdünnt und mit je 10 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:2 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.040 g (67 %) eines farblosen Schaums.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 4.1° (c = 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.16 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:2 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 0.86 (t,  $J$  = 6.5 Hz, 3 H,  $\omega$ - $\text{CH}_3$  Hexadecyl), 1.23 (m, 24 H,  $12 \cdot \text{CH}_2$  Hexadecyl), 1.33 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.38 (m, 2 H,  $\gamma$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl), 1.76 (m, 2 H,  $\beta$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl), 2.55 (m, 3 H,  $\beta$ - $\text{CH}_{2a}$  Lactam,  $\alpha$ - $\text{CH}_2$   $\beta$ -Ala), 2.71 (m, 1 H,  $\beta$ - $\text{CH}_{2b}$  Lactam), 2.98 (m, 2 H,  $\alpha$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl), 3.16 (m, 2 H,  $\beta$ - $\text{CH}_2$   $\beta$ -Ala), 3.36 (m, 2 H,  $\delta$ - $\text{CH}_2$  Lactam), 3.73 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.58 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH Lactam), 5.38 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 5.48 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH Cys), 6.18 (m, 1 H, - $\text{CHCN}$ ), 6.66 (m, 1 H, NH Amid).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta$  = 14.3 ( $\omega$ - $\text{CH}_3$  Hexadecyl), 22.1 ( $\text{CH}_2$ ), 22.8 ( $\text{CH}_2$ ), 23.8 ( $\text{CH}_2$ ), 28.5 ( $\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $\text{CH}_2$ ), 28.9 ( $\text{CH}_2$ ), 29.1 ( $\text{CH}_2$ ), 29.3 ( $\text{CH}_2$ ), 29.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.7 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 30.0 ( $\text{CH}_2$ ), 30.1 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 31.2 ( $\delta$ - $\text{CH}_2$  Lactam), 32.1 ( $\beta$ - $\text{CH}_2$  Cys), 36.7 ( $\beta$ - $\text{CH}_2$   $\beta$ -Ala), 39.6 ( $\alpha$ - $\text{CH}_2$   $\beta$ -Ala), 48.8 ( $\beta$ - $\text{CH}_2$  Lactam), 49.1 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 49.4 ( $\text{OCH}_3$ ), 52.3 ( $\alpha$ -CH Lactam), 52.8 ( $\alpha$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl), 52.8 ( $\alpha$ -CH Cys), 108.1 ( $\text{CHCN}$ ), 116.3 (CN), 128.5 ( $\text{C}=\text{CHCN}$ ), 167.5 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 170.3 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 171.7 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester).

$\text{C}_{34}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_3$  (717.06).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{34}\text{H}_{61}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 718.3754  
gef.: 718.3727.

**2-(S)-{3-(S)-[2-(S)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionylamino]-5-cyanomethylen-2-oxopiperidin-1-yl}-3-(tert-butylidisulfanyl)propionsäuremethylester (71)**

Zu einer Lösung von 0.039 g (0.08 mmol) 2-(S)-[3-(S)-Amino-5-cyanomethylen-2-oxopiperidin-1-yl]-3-*tert*-butylidisulfanylpropionsäuremethylesterhydrotrifluoroacetat **69**,

0.043 g (0.10 mmol) 2-(S)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionsäure **46**, 0.026 g (0.16 mmol) HOBt und 0.017 ml (0.10 mmol) Ethyldiisopropylamin in 3 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.020 g (0.10 mmol) EDC gegeben. Nach 18 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 10 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:10 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.038 g (62 %) eines farblosen Schaums.

$[\alpha]_D^{20}$ : +17.2° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.07 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:3 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 0.81 (t, *J* = 6.5 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.18 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.33 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.36 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.71 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 2.01 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.40 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Lactam), 2.60 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Lactam), 2.94 (m, 2 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 3.11 (m, 1 H, δ-CH<sub>2a</sub> Lactam), 3.33 (m, 1 H, δ-CH<sub>2b</sub> Lactam), 3.52 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Dap), 3.67 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.55 (m, 2 H, α-CH Lactam, α-CH Dap), 5.24 (m, 1 H, α-CH Cys), 5.97 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 6.13 (m, 1 H, -CHCN), 6.86 (m, 1 H, NH Amid), 6.97 (m, 1 H, NH Amid).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 14.3 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 22.1 (CH<sub>2</sub>), 22.8 (CH<sub>2</sub>), 22.9 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 23.8 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 28.7 (CH<sub>2</sub>), 28.9 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 31.2 (δ-CH<sub>2</sub> Lactam), 32.1 (β-CH<sub>2</sub> Cys), 44.7 (β-CH<sub>2</sub> Dap), 48.8 (β-CH<sub>2</sub> Lactam), 49.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 49.4 (OCH<sub>3</sub>), 52.3 (α-CH Lactam), 52.8 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 52.8 (α-CH Cys), 53.3 (α-CH Dap), 107.1 (CHCN), 116.3 (CN), 128.5 (C=CHCN), 167.5 (C=O Amid), 170.3 (C=O Amid), 170.6 (C=O Amid), 171.7 (C=O Ester).

C<sub>36</sub>H<sub>63</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S<sub>3</sub> (774.11).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>36</sub>H<sub>64</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  
ber.: 774.3969  
gef.: 774.3989.

## 6.5. Versuche zu Kapitel 4.5.

### 6.5.1. Versuche zu Kapitel 4.5.1.

#### 2-(*S*)-Amino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionsäureallylester (77)

H-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-OAlI

Zu einer Lösung von 0.200 g (0.41 mmol) 2-(*S*)-Amino-3-aminopropionsäureallylester-bis-hydrotosylat **76** in 2 ml Dichlormethan und 0.174 ml (2.37 mmol) Triethylamin wird bei -70 °C eine Lösung von 0.136 g (0.41 mmol) Hexadecansulfonsäurechlorid in 2 ml Dichlormethan gespritzt. Man lässt die Reaktionslösung über 15 h auf Raumtemperatur kommen, verdünnt mit 20 ml Dichlormethan und wäscht dann mit 10 ml 10 %iger Natriumcarbonatlösung. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform/Methanol 5:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.129 g (72 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 73 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 29.5° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.58 (Chloroform/Methanol 5:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 0.84 (t, *J* = 6.5 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.22 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.36 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.76 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 2.98 (m, 2 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 3.20 (dd, *J* = 6.8, 13.1 Hz, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Dap), 3.40 (dd, *J* = 4.5, 13.1 Hz, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Dap), 3.63 (dd, *J* = 4.5, 6.8 Hz, 1 H, α-CH Dap), 4.61 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.21-5.36 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.91 (m, 1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 14.3 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 22.8 (CH<sub>2</sub>), 23.7 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 28.7 (CH<sub>2</sub>), 28.9 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 46.2 (β-CH<sub>2</sub> Dap), 53.0 (α-CH Dap), 54.5 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 66.3 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 119.2 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 131.7 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 173.1 (C=O Ester).

$C_{22}H_{44}N_2O_4S$  (432.66).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $C_{22}H_{45}N_2O_4S$   $[M+H]^+$ :  
 ber.: 433.3101  
 gef.: 433.3120.

### 6.5.2. Versuche zu Kapitel 4.5.2.

#### *N*-Acetyl-L-methionyl-L-serinbenzylester (80)

Ac-Met-Ser-OBzl

Zu einer Lösung von 3.288 g (17.19 mmol) Ac-Met-OH **78**, 3.983 g (17.19 mmol) HCl·H-Ser-OBzl **79**, 5.372 g (34.38 mmol) HOBt in 100 ml Dichlormethan werden bei 0 °C nacheinander 3.6 ml (25.79 mmol) Triethylamin, sowie 4.036 g (20.63 mmol) EDC gegeben. Nach 20 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml 1 N Salzsäure, sowie 50 ml 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $Na_2SO_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform/Methanol 50:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 5.447 g (86 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 57 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : -21.4° (c = 1.0,  $CH_3OH$ ).

$R_f$ -Wert: 0.17 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:3 (v/v)).

$^1H$ -NMR ( $CD_3OD$ , 400 MHz):  $\delta$  = 1.92 (m, 1 H,  $\beta$ - $CH_{2a}$  Met), 2.01 (s, 3 H,  $CH_3$  Acetyl), 2.06 (m, 1 H,  $\beta$ - $CH_{2b}$  Met), 2.08 (s, 3 H,  $CH_3$  Met), 2.55 (m, 2 H,  $\gamma$ - $CH_2$  Met), 3.85 (dd,  $J$  = 3.7, 11.3 Hz, 1 H,  $\beta$ - $CH_{2a}$  Ser), 3.99 (dd,  $J$  = 3.7, 11.3 Hz, 1 H,  $\beta$ - $CH_{2b}$  Ser), 4.54 (dd,  $J$  = 6.1, 8.0 Hz, 1 H,  $\alpha$ -CH Met), 4.61 (t,  $J$  = 3.9 Hz, 1 H,  $\alpha$ -CH Ser), 5.21 (s, 2 H, - $OCH_2$ -), 7.31-7.38 (m, 5 H, arom. CH).

$^{13}C$ -NMR ( $CD_3OD$ , 100.6 MHz):  $\delta$  = 18.7 ( $CH_3$  Acetyl), 25.9 ( $CH_3$  Met), 33.9 ( $\gamma$ - $CH_2$  Met), 35.5 ( $\beta$ - $CH_2$  Met), 56.5 ( $\alpha$ -CH Met), 59.0 ( $\alpha$ -CH Ser), 65.7 ( $\beta$ - $CH_2$  Ser), 71.2 ( $OCH_2$ ), 132.15 (arom. CH), 132.3 (arom. CH), 132.5 (arom. CH), 139.4 (arom. C), 174.1 (C=O Amid), 176.0 (C=O Amid), 176.3 (C=O Ester).

$C_{17}H_{24}N_2O_5S$  (368.45).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $C_{17}H_{25}N_2O_5S$   $[M+H]^+$ :      ber.: 369.1485  
gef.: 369.1493.

### ***N*-Acetyl-L-methionyl-L-serin (81)**

Ac-Met-Ser-OH

Eine entgaste Lösung von 2.000 g (5.43 mmol) Ac-Met-Ser-OBzl **80** in 125 ml Methanol und 12.5 ml Essigsäure wird mit 0.354 g 10 %igem Palladium auf Aktivkohle versetzt und unter Wasserstoff-Überdruck 3 d hydriert. Das Reaktionsgemisch wird sodann über Celite® filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform/Methanol 10:1 (v/v), dann Methanol als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 1.496 g (99 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 93 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : -17.0° (c = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.19 (Chloroform/Methanol 5:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 1.98 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Met), 2.05 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.13 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Met), 2.14 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 2.60 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Met), 3.85 (dd, *J* = 3.7, 11.3 Hz, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Ser), 3.99 (dd, *J* = 3.7, 11.3 Hz, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Ser), 4.39 (dd, *J* = 6.1, 8.0 Hz, 1 H, α-CH Met), 4.54 (t, *J* = 3.9 Hz, 1 H, α-CH Ser).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz): δ = 18.7 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 25.9 (CH<sub>3</sub> Met), 33.9 (γ-CH<sub>2</sub> Met), 35.5 (β-CH<sub>2</sub> Met), 56.5 (α-CH Met), 60.9 (α-CH Ser), 64.7 (β-CH<sub>2</sub> Ser), 174.1 (C=O Amid), 176.0 (C=O Amid), 176.3 (C=O Säure).

$C_{10}H_{18}N_2O_5S$  (278.33).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $C_{10}H_{19}N_2O_5S$   $[M+H]^+$ :      ber.: 279.1015  
gef.: 279.1028.

***N*-Acetyl-L-methionyl-L-seryl-[2-(*S*)-amino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)]-propion-  
säureallylester (82)**

Ac-Met-Ser-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-OAll

Zu einer Lösung von 0.080 g (0.19 mmol) H-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-OAll **77**, 0.062 g (0.22 mmol) Ac-Met-Ser-OH **81** und 0.058 g (0.37 mmol) HOBt in 5 ml Dimethylformamid werden bei 0 °C 0.043 g (0.22 mmol) EDC gegeben. Nach 18 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml Ethylacetat aufgenommen und mit je 15 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 15:1 (v/v), dann 10:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.093 g (73 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 78 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : -9.4° (c = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.28 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 0.87 (t, *J* = 6.5 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.25 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.40 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.75 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.95 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Met), 2.02 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.11 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 2.12 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Met), 2.56 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Met), 2.98 (m, 2 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 3.53 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Dap), 3.78 (dd, *J* = 3.7, 11.3 Hz, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Ser), 3.92 (dd, *J* = 3.8, 11.3 Hz, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Ser), 4.40 (t, *J* = 4.3 Hz, 1 H, α-CH Ser), 4.45 (dd, *J* = 6.0, 8.1 Hz, 1 H, α-CH Met), 4.59 (t, *J* = 5.4 Hz, 1 H, α-CH Dap), 4.66 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.24-5.36 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.93 (m, 1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz): δ = 14.2 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 22.6 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 22.9 (CH<sub>3</sub> Met), 23.4 (CH<sub>2</sub>), 23.7 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 28.7 (CH<sub>2</sub>), 28.9 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 31.2 (γ-CH<sub>2</sub> Met), 32.1 (β-CH<sub>2</sub> Met), 43.5 (β-CH<sub>2</sub> Dap), 53.2 (α-CH Dap), 53.3 (α-CH Met), 55.6 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 60.9 (α-CH Ser), 61.9 (β-CH<sub>2</sub> Ser), 66.8 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 119.2 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 131.6 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 169.5 (C=O Amid), 170.8 (C=O Amid), 172.6 (C=O Amid), 172.8 (C=O Ester).

$C_{32}H_{60}N_4O_8S_2$  (692.97).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $C_{32}H_{61}N_4O_8S_2$   $[M+H]^+$ :      ber.: 693.3932  
   gef.: 693.3944.

***N*-Acetyl-*L*-methionyl-*L*-seryl-[2-(*S*)-amino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)]propion-  
säure (**83**)**

Ac-Met-Ser-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-OH

Eine Lösung von 0.090 g (0.13 mmol) Ac-Met-Ser-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-OAll **82**, 0.012 g (0.08 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure in 5 ml Tetrahydrofuran wird sorgfältig entgast. Dann werden 0.015 g (0.01 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 5:1 (v/v) + 1 % Essigsäure als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.085 g (99 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 82 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : - 8.6° (c = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.09 (Chloroform/Methanol 5:1 (v/v) + 1 % Essigsäure).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 0.86 (t, *J* = 6.5 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.27 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.43 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.77 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.98 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Met), 2.09 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.12 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 2.13 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Met), 2.60 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Met), 3.01 (m, 2 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 3.51 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Dap), 3.80 (dd, *J* = 3.7, 11.3 Hz, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Ser), 3.96 (dd, *J* = 3.8, 11.3 Hz, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Ser), 4.27 (m, 1 H, α-CH Dap), 4.43 (t, *J* = 4.3 Hz, 1 H, α-CH Ser), 4.48 (dd, *J* = 6.0, 8.1 Hz, 1 H, α-CH Met).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz): δ = 14.2 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 22.6 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 22.9 (CH<sub>3</sub> Met), 23.4 (CH<sub>2</sub>), 23.7 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 28.7 (CH<sub>2</sub>), 28.9 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 31.2 (γ-CH<sub>2</sub> Met), 32.1 (β-CH<sub>2</sub> Met), 43.5 (β-CH<sub>2</sub> Dap), 53.2 (α-CH Dap), 53.3 (α-CH Met), 55.6 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 60.9 (α-CH Ser), 61.9 (β-CH<sub>2</sub> Ser), 169.5 (C=O Amid), 170.8 (C=O Amid), 172.6 (C=O Amid), 175.8 (C=O Säure).

$C_{29}H_{56}N_4O_8S_2$  (652.91).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $C_{29}H_{56}N_4O_8S_2Na$   $[M+Na]^+$ : ber.: 675.3440  
gef.: 675.3468.

***N*-Acetyl-L-methionyl-L-seryl-[2-(*S*)-amino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-*N*<sup>ε</sup>-(allyloxycarbonyl)-L-lysyl-*S*-farnesyl-L-cysteinmethylester (85)**

Ac-Met-Ser-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe

Zu einer Lösung von 0.052 g (0.08 mmol) Ac-Met-Ser-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-OH **83**, 0.044 g (0.08 mmol) frisch hergestelltem H-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe **84** und 0.025 g (0.16 mmol) HOBt in 6 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.019 g (0.10 mmol) EDC gegeben. Nach 16 h wird die Reaktionslösung mit 30 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 10 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 20:1 (v/v), dann 10:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.047 g (50 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 101 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 6.1° (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.30 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD (1:1, v/v), 400 MHz): δ = 0.78 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.15 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.49 (s, 6 H 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.57 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.26-1.68 (m, 8 H, 2\*CH<sub>2</sub> Lys, 2\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.93 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.00 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 1.76-2.05 (12 H, β-CH<sub>2</sub> Met, CH<sub>2</sub> Lys, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.46 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Met), 2.68-3.17 (m, 6 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl, β-CH<sub>2</sub> Cys, -SCH<sub>2</sub>-), 3.26-3.46 (m, 4 H, β-CH<sub>2</sub> Dap, ε-CH<sub>2</sub> Lys), 3.64 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.68 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Ser), 3.87 (m, β-CH<sub>2b</sub> Ser), 4.25-4.54 (m, 7 H, 5\*α-CH, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.00 (m, 2 H, 2\*CH Far), 5.08-5.22 (CH Far, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.74 (1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD (1:1, v/v), 100.6 MHz): δ = 14.0 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 16.5 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 16.8 (CH<sub>3</sub> Met), 17.0 (CH<sub>3</sub> Far), 17.2 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>2</sub>), 21.3 (CH<sub>2</sub>), 24.0 (CH<sub>2</sub>), 24.3 (CH<sub>2</sub>), 25.3 (CH<sub>3</sub> Far), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3



(CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.9 (CH<sub>2</sub>), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 32.5 (CH<sub>2</sub>), 33.8 (CH<sub>2</sub>), 34.4 (CH<sub>2</sub>), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 40.5 (CH<sub>2</sub> Far), 42.0 (β-CH<sub>2</sub> Dap), 44.6 (ε-CH<sub>2</sub> Lys), 50.4 (OCH<sub>3</sub>), 53.5 (α-CH), 54.2 (α-CH), 54.5 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 56.0 (α-CH), 56.1 (α-CH), 57.1 (α-CH), 64.8 (β-CH<sub>2</sub> Ser), 67.3 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 115.1 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.1 (CH Far), 121.7 (CH Far), 122.5 (CH Far), 133.9 (C Far), 137.5 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 138.8 (C Far), 139.3 (C Far), 157.5 (C=O Urethan), 170.9 (C=O Amid), 172.0 (C=O Ester), 174.7 (C=O Amid), 175.4 (C=O Amid).

C<sub>58</sub>H<sub>103</sub>N<sub>7</sub>O<sub>12</sub>S<sub>3</sub> (1186.68).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>58</sub>H<sub>103</sub>N<sub>7</sub>O<sub>12</sub>S<sub>3</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 1208.6727  
gef.: 1208.6708.

***N*-Acetyl-L-methionyl-L-seryl-[2-(*S*)-amino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-L-lysyl-*S*-farnesyl-L-cysteinmethylester (8)**

Ac-Met-Ser-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-Lys-Cys(Far)-OMe

Eine Lösung von 0.021 g (0.02 mmol) Ac-Met-Ser-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe **85**, 0.003 g (0.02 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure in 3 ml Tetrahydrofuran wird sorgfältig entgast. Dann werden 0.007 g (0.01 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v), dann Dichlormethan/Methanol 1:1 (v/v) + 1 % Triethylamin als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.016 g (82 %) eines leicht gelblichen Feststoffs.

Schmp.: 86 °C.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: + 10.3° (c = 0.5, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.01 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 0.78 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.15 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.49 (s, 6 H 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.57 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.26-1.68 (m, 8 H, 2\*CH<sub>2</sub> Lys, 2\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.93 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.00 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 1.76-2.05 (12 H, β-CH<sub>2</sub> Met, CH<sub>2</sub> Lys, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.46 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Met), 2.68-3.17 (m, 6 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl, β-CH<sub>2</sub> Cys, -SCH<sub>2</sub>-), 3.26-3.46 (m, 4 H, β-CH<sub>2</sub> Dap,

$\epsilon$ -CH<sub>2</sub> Lys), 3.64 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.68 (m, 1 H,  $\beta$ -CH<sub>2a</sub> Ser), 3.87 (m,  $\beta$ -CH<sub>2b</sub> Ser), 4.25-4.54 (m, 5 H, 5\* $\alpha$ -CH), 5.00 (m, 2 H, 2\*CH Far), 5.14 (m, 1 H, CH Far).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz):  $\delta$  = 14.0 ( $\omega$ -CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 16.5 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 16.8 (CH<sub>3</sub> Met), 17.0 (CH<sub>3</sub> Far), 17.2 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>2</sub>), 21.3 (CH<sub>2</sub>), 24.0 (CH<sub>2</sub>), 24.3 (CH<sub>2</sub>), 25.3 (CH<sub>3</sub> Far), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.9 (CH<sub>2</sub>), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 32.5 (CH<sub>2</sub>), 33.8 (CH<sub>2</sub>), 34.4 (CH<sub>2</sub>), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 40.5 (CH<sub>2</sub> Far), 42.0 ( $\beta$ -CH<sub>2</sub> Dap), 44.6 ( $\epsilon$ -CH<sub>2</sub> Lys), 50.4 (OCH<sub>3</sub>), 53.5 ( $\alpha$ -CH), 54.2 ( $\alpha$ -CH), 54.5 ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 56.0 ( $\alpha$ -CH), 56.1 ( $\alpha$ -CH), 57.1 ( $\alpha$ -CH), 64.8 ( $\beta$ -CH<sub>2</sub> Ser), 117.1 (CH Far), 121.7 (CH Far), 122.5 (CH Far), 133.9 (C Far), 138.8 (C Far), 139.3 (C Far), 170.9 (C=O Amid), 172.0 (C=O Ester), 174.7 (C=O Amid), 175.4 (C=O Amid).

C<sub>54</sub>H<sub>99</sub>N<sub>7</sub>O<sub>10</sub>S<sub>3</sub> (1102.60).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>54</sub>H<sub>100</sub>N<sub>7</sub>O<sub>10</sub>S<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>:      ber.: 1102.6695  
   gef.: 1102.6685.

Elementaranalyse (%):      ber.: C: 58.82      H: 9.05      N: 8.89  
   gef.: C: 58.65      H: 9.01      N: 8.65.

### 6.5.3. Versuche zu Kapitel 4.5.3.

#### L-Glutaminsäure-1-*tert*-butylester-5-methylester (87)

H-Glu(OMe)-O<sup>t</sup>Bu

Zu einer Lösung von 5.000 g (31.03 mmol) L-Glutaminsäure-5-methylester **86** in 45 ml Dioxan und 4.5 ml konz. Schwefelsäure werden 75 ml Isobuten gegeben. Nach 3 d wird die Reaktionslösung in 500 ml eines Gemisches aus Ethylacetat und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gegeben. Die organische Phase wird abgetrennt und nochmals mit 50 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 3.728 g (55 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 25.7° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.17 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.44 (s<sub>br</sub>, 2 H, NH<sub>2</sub>), 1.46 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.78 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Glu), 1.99 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Glu), 2.42 (t, J = 7.8 Hz, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Glu), 3.32 (dd, J = 5.3, 8.2 Hz, 1 H, α-CH Glu), 3.69 (d, 3 H, OCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 28.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 30.0 (β-CH<sub>2</sub> Glu), 30.7 (γ-CH<sub>2</sub> Glu), 51.8 (α-CH Glu), 54.5 (OCH<sub>3</sub>), 81.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 173.8 (C=O Ester), 175.0 (C=O Ester).

C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub> (217.13).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 218.1393  
gef.: 218.1372.

### ***N*-Diallyl-L-glutaminsäure-1-*tert*-butylester-5-methylester (88)**

(All)<sub>2</sub>-Glu(OMe)-O<sup>t</sup>Bu

Eine Lösung von 8.000 g (36.82 mmol) H-Glu(OMe)-O<sup>t</sup>Bu **87**, 1.360 g (3.68 mmol) Tetrabutylammoniumiodid, 12.8 ml (92.05 mmol) Triethylamin und 64.7 ml (736.39 mmol) Allylbromid in 184 ml Tetrahydrofuran wird 2 d unter Rückfluss gerührt. Nach Erkalten der Reaktionslösung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 500 ml Ethylacetat aufgenommen und zweimal mit je 50 ml 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 8:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 8.760 g (80 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 17.3° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.49 (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.42 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.84 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Glu), 2.32 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Glu), 2.97 (dd, J = 8.0, 14.4 Hz, 2 H, 2\*-NCH<sub>2a</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.28 (m, 3 H,

$\alpha$ -CH Glu, 2\*-NCH<sub>2b</sub>CH=CH<sub>2</sub>, 3.60 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.98-5.12 (m, 4 H, 2\*-NCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.64 (m, 2 H, 2\*-NCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz):  $\delta$  = 24.7 ( $\beta$ -CH<sub>2</sub> Glu), 28.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 30.8 ( $\gamma$ -CH<sub>2</sub> Glu), 51.5 ( $\alpha$ -CH Glu), 53.4 (OCH<sub>3</sub>), 61.3 (NCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 80.9 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 117.0 (NCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 136.8 (NCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 171.9 (C=O Ester), 173.8 (C=O Ester).

C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>4</sub> (297.39).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: ber.: 298.2019  
gef.: 298.2027.

## 2-(S)-Diallylamino-5-hydroxypentansäure-*tert*-butylester (89)

(All)<sub>2</sub>-Hpa-O<sup>t</sup>Bu

Zu einer Lösung von 5.600 g (18.83 mmol) (All)<sub>2</sub>-Glu(OMe)-O<sup>t</sup>Bu **88** in 90 ml THF werden 12.2 ml (24.48 mmol) 2 M Lithiumborhydrid-Lösung in THF gespritzt. Nach 36 h wird mit 50 ml gesättigter Natriumchloridlösung gequenchet und dreimal mit je 100 ml Ethylacetat extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 3:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 3.601 g (71 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 24.0° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.31 (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 1.48 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.52-1.73 (m, 4 H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub> Hpa,  $\gamma$ -CH<sub>2</sub> Hpa), 3.21 (dd, *J* = 8.0, 14.4 Hz, 2 H, 2\*-NCH<sub>2a</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.32 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH Hpa), 3.45 (m, 2 H, 2\*-NCH<sub>2b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.53 (m, 1 H,  $\delta$ -CH<sub>2a</sub> Hpa), 3.62 (m, 1 H,  $\delta$ -CH<sub>2b</sub> Hpa), 5.10-5.24 (m, 4 H, 2\*-NCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.80 (m, 2 H, 2\*-NCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz):  $\delta$  = 27.7 ( $\beta$ -CH<sub>2</sub> Hpa), 28.5 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 30.7 ( $\gamma$ -CH<sub>2</sub> Hpa), 53.7 ( $\alpha$ -CH Hpa), 62.8 (NCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 63.6 ( $\delta$ -CH<sub>2</sub> Hpa), 81.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 118.1 (NCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 136.0 (NCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 172.3 (C=O Ester).





**6.5.4. Versuche zu Kapitel 4.5.4.*****N*-Acetyl-L-methionyl-L-seryl-[2-(*S*)-amino-5-hydroxy]heneicosansäure-*tert*-butylester  
(93)**Ac-Met-Ser-Hhe-O<sup>t</sup>Bu

Zu einer Lösung von 0.480 g (1.16 mmol) H-Hhe-O<sup>t</sup>Bu **92**, 0.388 g (1.39 mmol) Ac-Met-Ser-OH **81** und 0.362 g (2.32 mmol) HOBt in 25 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.272 g (1.39 mmol) EDC gegeben. Nach 20 h wird die Reaktionslösung mit 100 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 50 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 15:1 (v/v), dann 10:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.536 g (69 %) eines farblosen Öls.

R<sub>f</sub>-Wert: 0.23 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 0.87 (ω-CH<sub>3</sub> Hhe), 1.24 (m, 28 H, 14\*CH<sub>2</sub> Hhe), 1.40 (m, 4 H, δ-CH<sub>2</sub> Hhe, β-CH<sub>2</sub> Hhe), 1.48 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.70-2.14 (m, 4 H, γ-CH<sub>2</sub> Hhe, β-CH<sub>2</sub> Met), 2.01 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.10 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 2.53 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Met), 3.54 (m, 1 H, -CH(OH)-), 3.72 (dd, *J* = 3.7, 11.3 Hz, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Ser), 3.95 (dd, *J* = 3.8, 11.3 Hz, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Ser), 4.44 (m, 1 H, α-CH Hhe), 4.60 (m, 1 H, α-CH Ser), 4.71 (dd, *J* = 6.1, 8.0 Hz, 1 H, α-CH Met), 7.02 (m, 1 H, NH Amid), 7.62 (m, 2 H, 2\*NH Amid).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 14.3, 15.5 (ω-CH<sub>3</sub> Hhe), 22.9 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 23.2 (CH<sub>3</sub> Met), 25.6-30.3 (17\*CH<sub>2</sub> Hhe), 30.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 37.6, 37.7 (β-CH<sub>2</sub> Met), 53.0 (α-CH Hhe), 53.4 (α-CH Met), 54.9 (α-CH Ser), 62.9, 63.1 (β-CH<sub>2</sub> Ser), 71.4 (CHOH), 82.5 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 170.3, 170.4 (C=O Amid), 171.0, 171.1 (C=O Amid), 171.5, 171.7 (C=O Amid), 172.1, 172.2 (C=O Ester).

C<sub>35</sub>H<sub>67</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S (673.99).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>35</sub>H<sub>67</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>SNa [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 696.4600  
gef.: 696.4612.

***N*-Acetyl-L-methionyl-L-seryl-[2-(*S*)-amino-5-hydroxy]heneicosanoyl-*N*<sup>ε</sup>-(allyloxy-carbonyl)-L-lysyl-*S*-farnesyl-L-cysteinmethylester (94)**

Ac-Met-Ser-Hhe-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe

Zu einer Lösung von 0.530 g (0.79 mmol) Ac-Met-Ser-Hhe-O<sup>t</sup>Bu **93** in 16 ml Methanol werden 16 ml 1 M Natriumhydroxydlösung gespritzt. Nach 3 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 100 ml Chloroform aufgenommen und mit 50 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält 0.485 g (100 %) eines farblosen Feststoffs.

Zu 0.067 g (0.11 mmol) der so erhaltenen Carbonsäure in 5 ml Dichlormethan und 3 ml Dimethylformamid werden 0.059 g (0.11 mmol) frisch hergestelltes H-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe **84** und 0.034 g (0.22 mmol) HOBt gegeben. Bei 0 °C werden 0.032 g (0.16 mmol) EDC zugegeben. Nach 15 h wird die Reaktionslösung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 15 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 (v/v), dann Dichlormethan/Ethanol 20:1 (v/v), dann 10:1 (v/v), dann Ethanol als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.055 g (44 %) eines farblosen Öls.

R<sub>F</sub>-Wert: 0.11 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OD (1:1, v/v), 400 MHz): δ = 0.80 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hhe), 1.52 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.61 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.13-1.70 (m, 36 H, 15\*CH<sub>2</sub> Hhe, β-CH<sub>2</sub> Hhe, 2\*CH<sub>2</sub> Lys), 1.93 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.00 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 1.72-2.05 (m, 14 H, γ-CH<sub>2</sub> Hhe, β-CH<sub>2</sub> Met, CH<sub>2</sub> Lys, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.49 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Met), 2.72 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Cys), 2.86 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Cys), 3.00-3.18 (m, 4 H, -SCH<sub>2</sub>-, ε-CH<sub>2</sub> Lys), 3.50 (m, -CH(OH)-), 3.67 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.72 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Ser), 3.95 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Ser), 4.25-4.60 (m, 7 H, 5\*α-CH, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.01 (m, 2 H, 2\*CH Far), 5.08-5.22 (m, 3 H, CH Far, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.80 (m, 1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD (1:1, v/v), 100.6 MHz): δ = 14.3 (ω-CH<sub>3</sub> Hhe), 17.0 (CH<sub>3</sub> Far), 17.2 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>3</sub> Far), 22.9 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 23.2 (CH<sub>3</sub> Met), 25.3 (CH<sub>3</sub> Far), 23.6-34.2 (25\*CH<sub>2</sub>), 37.9 (β-CH<sub>2</sub> Met), 39.9 (CH<sub>2</sub> Far), 40.5 (CH<sub>2</sub> Far), 44.6 (ε-CH<sub>2</sub> Lys), 50.4



(OCH<sub>3</sub>), 54.2 ( $\alpha$ -CH), 55.9 ( $\alpha$ -CH), 56.0 ( $\alpha$ -CH), 57.1 ( $\alpha$ -CH), 59.6 ( $\alpha$ -CH), 64.9 ( $\beta$ -CH<sub>2</sub> Ser), 67.3 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 82.2 (CHOH), 115.1 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.1 (CH Far), 121.7 (CH Far), 122.5 (CH Far), 133.9 (C Far), 137.5 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 139.3 (C Far), 142.4 (C Far), 157.5 (C=O Urethan), 170.9 (C=O Amid), 172.1 (C=O Amid), 174.7 (C=O Amid), 175.1 (C=O Ester).

C<sub>60</sub>H<sub>106</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub> (1151.65).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>60</sub>H<sub>106</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 1173.7261  
gef.: 1173.7325.

***N*-Acetyl-L-methionyl-L-seryl-[2-(*S*)-amino-5-hydroxy]heneicosanoyl-L-lysyl-*S*-farnesyl-L-cysteinmethylester (9)**

Ac-Met-Ser-Hhe-Lys-Cys(Far)-OMe

Eine Lösung von 0.007 g (0.01 mmol) Ac-Met-Ser-Hhe-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe **94**, 0.001 g (0.01 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure in 2 ml Tetrahydrofuran wird sorgfältig entgast. Dann werden 0.001 g (0.001 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v), dann Dichlormethan/Methanol 1:1 (v/v) + 1 % Triethylamin als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.005 g (80 %) eines leicht gelblichen Feststoffs.

Schmp.: 71 °C.

R<sub>F</sub>-Wert: 0.01 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OD (1:1, v/v), 400 MHz):  $\delta$  = 0.80 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H,  $\omega$ -CH<sub>3</sub> Hhe), 1.52 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.61 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.13-1.70 (m, 36 H, 15\*CH<sub>2</sub> Hhe,  $\beta$ -CH<sub>2</sub> Hhe, 2\*CH<sub>2</sub> Lys), 1.93 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.00 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 1.72-2.05 (m, 14 H,  $\gamma$ -CH<sub>2</sub> Hhe,  $\beta$ -CH<sub>2</sub> Met, CH<sub>2</sub> Lys, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.49 (m, 2 H,  $\gamma$ -CH<sub>2</sub> Met), 2.72 (m, 1 H,  $\beta$ -CH<sub>2a</sub> Cys), 2.86 (m, 1 H,  $\beta$ -CH<sub>2b</sub> Cys), 3.00-3.18 (m, 4 H, -SCH<sub>2</sub>-,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub> Lys), 3.50 (m, -CH(OH)-), 3.67 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.72 (m, 1 H,  $\beta$ -CH<sub>2a</sub> Ser), 3.95 (m, 1 H,  $\beta$ -CH<sub>2b</sub> Ser), 4.25-4.60 (m, 5 H, 5\* $\alpha$ -CH), 5.01 (m, 2 H, 2\*CH Far), 5.14 (m, 1 H, CH Far).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$  (1:1, v/v), 100.6 MHz):  $\delta$  = 14.2 ( $\omega$ - $\text{CH}_3$  Hhe), 17.0 ( $\text{CH}_3$  Far), 17.2 ( $\text{CH}_3$  Far), 19.1 ( $\text{CH}_3$  Far), 22.7 ( $\text{CH}_3$  Acetyl), 23.0 ( $\text{CH}_3$  Met), 25.3 ( $\text{CH}_3$  Far), 23.2-34.7 ( $25^*\text{CH}_2$ ), 37.9 ( $\beta$ - $\text{CH}_2$  Met), 39.9 ( $\text{CH}_2$  Far), 40.5 ( $\text{CH}_2$  Far), 44.6 ( $\epsilon$ - $\text{CH}_2$  Lys), 50.4 ( $\text{OCH}_3$ ), 54.2 ( $\alpha$ -CH), 55.9 ( $\alpha$ -CH), 56.2 ( $\alpha$ -CH), 57.1 ( $\alpha$ -CH), 59.6 ( $\alpha$ -CH), 64.7 ( $\beta$ - $\text{CH}_2$  Ser), 82.0 ( $\text{CHOH}$ ), 117.3 ( $\text{CH}$  Far), 121.7 ( $\text{CH}$  Far), 122.5 ( $\text{CH}$  Far), 133.9 ( $\text{C}$  Far), 139.3 ( $\text{C}$  Far), 142.4 ( $\text{C}$  Far), 170.7 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 172.0 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 174.7 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 175.3 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester).

$\text{C}_{56}\text{H}_{102}\text{N}_6\text{O}_9\text{S}_2$  (1067.58).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{56}\text{H}_{103}\text{N}_6\text{O}_9\text{S}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : ber.: 1067.7229  
gef.: 1067.7237.

Elementaranalyse (%): ber.: C: 63.00 H: 9.63 N: 7.87  
gef.: C: 62.65 H: 9.56 N: 7.66.

## 6.6. Versuche zu Kapitel 4.6.

### $N^\alpha$ -[2-(*S*)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino-propionyl)]- $N^\epsilon$ -(allyloxycarbonyl)-L-lysin-*tert*-butylester (**96**)

Ac-Dap( $\text{SO}_2\text{C}_{16}\text{H}_{33}$ )-Lys(Aloc)- $\text{O}^t\text{Bu}$

Zu einer Lösung von 0.100 g (0.23 mmol) Ac-Dap( $\text{SO}_2\text{C}_{16}\text{H}_{33}$ )-OH **46**, 0.066 g (0.23 mmol) H-Lys(Aloc)- $\text{O}^t\text{Bu}$  **95**, 0.072 g (0.46 mmol) HOBt in 8 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.054 g (0.28 mmol) EDC gegeben. Nach 18 h wird die Reaktionsmischung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 20 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:3 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.132 g (82 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 80 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-12.1^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

$R_f$ -Wert: 0.24 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:3 (v/v)).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.81$  (t,  $J = 6.5$  Hz, 3 H,  $\omega$ - $\text{CH}_3$  Hexadecyl), 1.48 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.12-1.52 (m, 30 H,  $13 \cdot \text{CH}_2$  Hexadecyl,  $2 \cdot \text{CH}_2$  Lys), 1.54-1.85 (m, 4 H,  $\gamma$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl,  $\text{CH}_2$  Lys), 2.02 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$  Acetyl), 2.96 (m, 2 H,  $\alpha$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl), 3.02-3.29 (m, 3 H,  $\beta$ - $\text{CH}_{2a}$  Dap,  $\epsilon$ - $\text{CH}_2$  Lys), 3.56 (m, 1 H,  $\beta$ - $\text{CH}_{2b}$  Dap), 4.30 (m, 1 H,  $\alpha$ -CH Lys), 4.52 (m, 3 H,  $\alpha$ -CH Dap,  $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.95 (m, 1 H, NH Urethan), 5.10-5.25 (m, 2 H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.76 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 5.88 (m, 1 H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 6.70 (m, 1 H, NH Amid), 7.19 (m, 1 H, NH Amid).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100.6 MHz):  $\delta = 14.3$  ( $\omega$ - $\text{CH}_3$  Hexadecyl), 22.9 ( $\text{CH}_3$  Acetyl), 23.1 ( $\text{CH}_2$ ), 23.8 ( $\text{CH}_2$ ), 28.3 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 28.4 ( $\text{CH}_2$ ), 28.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.2 ( $\text{CH}_2$ ), 29.3 ( $\text{CH}_2$ ), 29.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.6 ( $\text{CH}_2$ ), 29.7 ( $\text{CH}_2$ ), 29.7 ( $\text{CH}_2$ ), 29.7 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 30.0 ( $\text{CH}_2$ ), 30.2 ( $\text{CH}_2$ ), 32.1 ( $\text{CH}_2$ ), 43.3 ( $\beta$ - $\text{CH}_2$  Dap), 44.6 ( $\epsilon$ - $\text{CH}_2$  Lys), 53.5 ( $\alpha$ -CH), 54.2 ( $\alpha$ - $\text{CH}_2$  Hexadecyl), 56.0 ( $\alpha$ -CH), 67.3 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 82.4 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 115.1 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 137.4 ( $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 157.5 ( $\text{C}=\text{O}$  Urethan), 172.1 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 174.7 ( $\text{C}=\text{O}$  Amid), 174.8 ( $\text{C}=\text{O}$  Ester).

$\text{C}_{35}\text{H}_{66}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$  (702.99).

HRMS (FAB, 3-NBA) für  $\text{C}_{35}\text{H}_{66}\text{N}_4\text{O}_8\text{SNa}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : ber.: 725.4501  
gef.: 725.4512.

### ***N*<sup>α</sup>-[2-(*S*)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-*N*<sup>ε</sup>-(allyloxycarbonyl)-L-lysine (97)**

Ac-Dap( $\text{SO}_2\text{C}_{16}\text{H}_{33}$ )-Lys(Aloc)-OH

Zu einer Lösung von 0.117 g (0.17 mmol) Ac-Dap( $\text{SO}_2\text{C}_{16}\text{H}_{33}$ )-Lys(Aloc)-O<sup>t</sup>Bu **96** in 10 ml Dichlormethan werden langsam 10 ml Trifluoressigsäure gespritzt. Nach 4 h Rühren bei Raumtemperatur wird die Reaktionslösung dreimal mit Toluol koevaporiert.

Ausbeute: 0.107 g (100 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 83 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-14.0^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.01 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:3 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 0.85 (t, *J* = 6.5 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.12-1.52 (m, 30 H, 13\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl, 2\*CH<sub>2</sub> Lys), 1.54-1.85 (m, 4 H, γ-CH<sub>2</sub> Hexadecyl, CH<sub>2</sub> Lys), 2.02 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.96 (m, 2 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 3.02-3.29 (m, 3 H, β-CH<sub>2a</sub> Dap, ε-CH<sub>2</sub> Lys), 3.56 (m, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Dap), 4.30 (m, 1 H, α-CH Lys), 4.52 (m, 3 H, α-CH Dap, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.10-5.25 (m, 2 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.88 (m, 1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz): δ = 14.2 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 22.9 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 23.1 (CH<sub>2</sub>), 23.8 (CH<sub>2</sub>), 28.3 (CH<sub>2</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.2 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 43.3 (β-CH<sub>2</sub> Dap), 44.6 (ε-CH<sub>2</sub> Lys), 53.5 (α-CH), 54.2 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 56.0 (α-CH), 67.3 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 115.1 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 137.4 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 157.5 (C=O Urethan), 172.1 (C=O Amid), 174.7 (C=O Amid), 175.8 (C=O Säure).

C<sub>31</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S (646.88).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>31</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>SNa [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 669.3875  
gef.: 669.3887.

***N*<sup>α</sup>-[2-(*S*)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-*N*<sup>ε</sup>-(allyloxycarbonyl)-L-lysyl-*S*-farnesyl-L-cysteinmethylester (98)**

Ac-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe

Zu einer Lösung von 0.100 g (0.16 mmol) Ac-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-Lys(Aloc)-OH **97**, 0.053 g (0.16 mmol) H-Cys(Far)-OMe **25**, 0.048 g (0.31 mmol) HOBt in 10 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.036 g (0.19 mmol) EDC gegeben. Nach 18 h wird die Reaktionsmischung mit 50 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 20 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.135 g (90 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 5.8° (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.22 (Cyclohexan/Ethylacetat 1:5 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD (1:1, v/v), 400 MHz): δ = 0.81 (t, J = 6.5 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.24 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.58 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.67 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.35-1.84 (m, 8 H, 2\*CH<sub>2</sub> Lys, 2\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 2.04 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 1.85-2.14 (m, 10 H, CH<sub>2</sub> Lys, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.68-3.28 (m, 10 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl, β-CH<sub>2</sub> Cys, -S-CH<sub>2</sub>, β-CH<sub>2</sub> Dap, ε-CH<sub>2</sub> Lys), 3.71 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.40 (m, 1 H, α-CH Lys), 4.52 (m, 3 H, α-CH Dap, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.72 (m, 1 H, α-CH Cys), 5.12-5.30 (m, 5 H, 3\*CH Far, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.91 (m, 1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 6.10 (m, 1 H, NH Sulfonamid), 6.99 (m, 2 H, NH Amide), 7.21 (m, 1 H, NH Amid).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD (1:1, v/v), 100.6 MHz): δ = 14.3 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 16.5 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 17.0 (CH<sub>3</sub> Far), 17.2 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>3</sub> Far), 23.1 (CH<sub>2</sub>), 23.8 (CH<sub>2</sub>), 25.3 (CH<sub>3</sub> Far), 28.3 (CH<sub>2</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.2 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 33.0 (CH<sub>2</sub>), 33.3 (CH<sub>2</sub>), 34.4 (CH<sub>2</sub>), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 40.5 (CH<sub>2</sub> Far), 42.0 (β-CH<sub>2</sub> Dap), 44.6 (ε-CH<sub>2</sub> Lys), 50.4 (OCH<sub>3</sub>), 53.4 (α-CH), 54.2 (α-CH), 54.5 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 56.0 (α-CH), 67.3 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 115.1 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.1 (CH Far), 121.7 (CH Far), 122.5 (CH Far), 133.0 (C Far), 137.5 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 138.8 (C Far), 139.3 (C Far), 157.5 (C=O Urethan), 170.9 (C=O Amid), 172.0 (C=O Amid), 174.7 (C=O Amid), 174.8 (C=O Ester).

C<sub>50</sub>H<sub>89</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub> (968.40).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>50</sub>H<sub>89</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 990.6002  
gef.: 990.6030.

***N*<sup>α</sup>-[2-(*S*)-Acetylamino-3-(hexadecan-1-sulfonylamino)propionyl]-L-lysyl-*S*-farnesyl-L-cysteinmethylester (10)**

Ac-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-Lys-Cys(Far)-OMe

Eine Lösung von 0.061 g (0.06 mmol) Ac-Dap(SO<sub>2</sub>C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>)-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe **98**, 0.010 g (0.06 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure in 6 ml Tetrahydrofuran wird sorgfältig entgast. Dann werden 0.007 g (0.01 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und 8 h bei Raumtemperatur

gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 5:1 (v/v), dann Dichlormethan/Methanol 1:1 (v/v) + 1 % Triethylamin als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.041 g (73 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : + 8.1° (c = 0.5, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.04 (Dichlormethan/Ethanol 1:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 0.81 (t, *J* = 6.5 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 1.24 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 1.58 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.67 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.35-1.84 (m, 8 H, 2\*CH<sub>2</sub> Lys, 2\*CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 2.04 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 1.85-2.14 (m, 10 H, CH<sub>2</sub> Lys, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.68-3.28 (m, 10 H, α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl, β-CH<sub>2</sub> Cys, -S-CH<sub>2</sub>, β-CH<sub>2</sub> Dap, ε-CH<sub>2</sub> Lys), 3.71 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.20 (m, 1 H, α-CH Lys), 4.25 (m, 1 H, α-CH Dap), 4.45 (m, 1 H, α-CH Cys), 4.90 (m, 2 H, 2\*CH Far), 5.02 (m, 1 H, CH Far).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz): δ = 14.3 (ω-CH<sub>3</sub> Hexadecyl), 16.5 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 17.0 (CH<sub>3</sub> Far), 17.2 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>3</sub> Far), 23.1 (CH<sub>2</sub>), 23.8 (CH<sub>2</sub>), 25.3 (CH<sub>3</sub> Far), 28.3 (CH<sub>2</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.2 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 33.0 (CH<sub>2</sub>), 33.3 (CH<sub>2</sub>), 34.4 (CH<sub>2</sub>), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 40.5 (CH<sub>2</sub> Far), 42.0 (β-CH<sub>2</sub> Dap), 44.6 (ε-CH<sub>2</sub> Lys), 50.4 (OCH<sub>3</sub>), 53.4 (α-CH), 54.2 (α-CH), 54.5 (α-CH<sub>2</sub> Hexadecyl), 56.0 (α-CH), 117.1 (CH Far), 121.7 (CH Far), 122.5 (CH Far), 133.0 (C Far), 138.8 (C Far), 139.3 (C Far), 170.9 (C=O Amid), 172.0 (C=O Amid), 174.7 (C=O Amid), 174.8 (C=O Ester).

C<sub>46</sub>H<sub>85</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> (884.33).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>46</sub>H<sub>86</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  
ber.: 884.5969  
gef.: 884.5936.

## 6.7. Versuche zu Kapitel 4.7.

### Bis-[(*N*-Acetyl-L-methionyl)-L-seryl]-L-cystin-di-*tert*-butylester (100)

(Ac-Met-Ser-Cys-O<sup>t</sup>Bu)<sub>2</sub>

Zu einer Lösung von 0.300 g (1.08 mmol) Ac-Met-Ser-OH **81**, 0.252 g (0.59 mmol) (HCl\*H-Cys-O<sup>t</sup>Bu)<sub>2</sub> **99**, 0.337 g (2.16 mmol) HOBt und 0.221 ml (1.29 mmol) Ethyldiisopropylamin in 25 ml Dimethylformamid werden bei 0 °C 0.253 g (1.29 mmol) EDC zugegeben. Nach 18 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 100 ml Chloroform aufgenommen und mit je 20 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v), dann 5:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.336 g (65 %) eines farblosen Öls.

$[\alpha]_D^{20}$ : -16.4° (c = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>f</sub>-Wert: 0.10 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 1.48 (s, 18 H, 2\*C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.01 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.09 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Met), 1.91-2.14 (m, 4 H, 2\*β-CH<sub>2</sub> Met), 2.55 (m, 4 H, 2\*γ-CH<sub>2</sub> Met), 3.06 (dd, *J* = 7.8, 13.8 Hz, 2 H, 2\*β-CH<sub>2a</sub> Cys), 3.20 (dd, *J* = 5.3, 13.9 Hz, 2 H, 2\*β-CH<sub>2b</sub> Cys), 3.82 (m, 4 H, 2\*β-CH<sub>2</sub> Ser), 4.51 (m, 4 H, 4\*α-CH Ser, Cys), 4.68 (m, 2 H, 2\*α-CH Met).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz): δ = 14.2 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 21.4 (CH<sub>3</sub> Met), 27.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 29.9 (β-CH<sub>2</sub> Met), 31.6 (γ-CH<sub>2</sub> Met), 39.9 (β-CH<sub>2</sub> Cys), 53.0 (α-CH Cys), 53.6 (α-CH Met), 55.4 (α-CH Ser), 61.7 (β-CH<sub>2</sub> Ser), 82.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 169.5 (C=O Amid), 170.8 (C=O Amid), 172.4 (C=O Amid), 172.8 (C=O Ester).

C<sub>34</sub>H<sub>60</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>S<sub>4</sub> (873.14).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>34</sub>H<sub>61</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>S<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  
ber.: 873.3231  
gef.: 873.3268.

***N*-Acetyl-*L*-methionyl-*L*-seryl-*S*-palmitoyl-*L*-cystein-*tert*-butylester (101)**Ac-Met-Ser-Cys(Pal)-O<sup>t</sup>Bu

Zu einer entgasten Lösung von 0.236 g (0.27 mmol) (Ac-Met-Ser-Cys-O<sup>t</sup>Bu)<sub>2</sub> **100** in 10 ml Dichlormethan werden 0.208 g (1.35 mmol) 1,4-Dithiothreitol und 0.075 ml (0.54 mmol) Triethylamin gegeben. Nach 2 h wird die Reaktionslösung dreimal mit je 2 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> werden zu der so erhaltenen Lösung bei 0 °C 0.075 ml (0.54 mmol) Triethylamin und 0.418 ml (1.35 mmol) Palmitoylchlorid gespritzt. Nach 3.5 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 100 ml Ethylacetat aufgenommen und mit 20 ml 1 N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 30:1 (v/v), dann 20:1 (v/v), dann 10:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.273 g (75 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 53 °C.

 $[\alpha]_D^{20}$ : -15.0° (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).R<sub>f</sub>-Wert: 0.31 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 0.88 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Pal), 1.20-1.40 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Pal), 1.48 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.65 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Pal), 2.05 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.12 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 1.94-2.18 (m, 2 H, β-CH<sub>2</sub> Met), 2.59 (m, 4 H, α-CH<sub>2</sub> Pal, γ-CH<sub>2</sub> Met), 3.30 (dd, *J* = 7.8, 13.9 Hz, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Cys), 3.48 (dd, *J* = 5.3, 13.9 Hz, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Cys), 3.50 (dd, *J* = 5.4, 11.5 Hz, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Ser), 4.03 (dd, *J* = 3.9, 11.7 Hz, 1 H, β-CH<sub>2b</sub> Ser), 4.52 (m, 1 H, α-CH Ser), 4.68 (m, 2 H, α-CH Cys, α-CH Met), 6.62 (m, 1 H, NH), 7.21 (m, 1 H, NH), 7.25 (m, 1 H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.6 MHz): δ = 14.3 (ω-CH<sub>3</sub> Pal), 22.9 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 23.2 (CH<sub>3</sub> Met), 23.3 (CH<sub>2</sub>), 25.7 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 28.1 (CH<sub>2</sub>), 28.8 (CH<sub>2</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 28.9 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 30.1 (CH<sub>2</sub>), 30.2 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 44.3 (α-CH<sub>2</sub> Pal), 52.7 (α-CH Cys), 53.4 (α-CH Met), 54.8 (α-CH Ser), 63.0 (β-CH<sub>2</sub> Ser), 83.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 169.1 (C=O Amid), 170.3 (C=O Amid), 170.6 (C=O Amid), 171.9 (C=O Ester), 197.6 (C=O Thioester).





***N*-Acetyl-L-methionyl-L-seryl-S-palmitoyl-L-cysteyl-N<sup>ε</sup>-(allyloxycarbonyl)-L-lysyl-S-farnesyl-L-cysteinmethylester (103)**

Ac-Met-Ser-Cys(Pal)-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe

Zu einer Lösung von 0.060 g (0.10 mmol) Ac-Met-Ser-Cys(Pal)-OH **102**, 0.053 g (0.10 mmol) frisch hergestelltem H-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe **84** und 0.030 g (0.19 mmol) HOBt in 10 ml Dichlormethan werden bei 0 °C 0.023 g (0.12 mmol) EDC gegeben. Nach 16 h wird die Reaktionslösung mit 30 ml Ethylacetat verdünnt und mit je 10 ml 1 N Salzsäure und 10 %iger Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 20:1 (v/v), dann 10:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.055 g (65 %) eines farblosen Feststoffs.

Schmp.: 71 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : - 11.4° (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.31 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD (1:1, v/v), 400 MHz): δ = 0.78 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Pal), 1.15 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Pal), 1.49 (s, 6 H 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.57 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.26-1.68 (m, 8 H, 2\*CH<sub>2</sub> Lys, 2\*CH<sub>2</sub> Pal), 1.93 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.00 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 1.76-2.05 (12 H, β-CH<sub>2</sub> Met, CH<sub>2</sub> Lys, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.46 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Met), 2.68-3.17 (m, 8 H, α-CH<sub>2</sub> Pal, 2\*β-CH<sub>2</sub> Cys, -SCH<sub>2</sub>-), 3.26-3.46 (m, 2 H, ε-CH<sub>2</sub> Lys), 3.64 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.68 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Ser), 3.87 (m, β-CH<sub>2b</sub> Ser), 4.25-4.54 (m, 7 H, 5\*α-CH, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.00 (m, 2 H, 2\*CH Far), 5.08-5.22 (CH Far, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.74 (1 H, -OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD (1:1, v/v), 100.6 MHz): δ = 14.0 (ω-CH<sub>3</sub> Pal), 16.5 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 16.8 (CH<sub>3</sub> Met), 17.0 (CH<sub>3</sub> Far), 17.2 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>2</sub>), 21.3 (CH<sub>2</sub>), 24.0 (CH<sub>2</sub>), 24.3 (CH<sub>2</sub>), 25.3 (CH<sub>3</sub> Far), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.9 (CH<sub>2</sub>), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 32.5 (CH<sub>2</sub>), 33.8 (CH<sub>2</sub>), 34.4 (CH<sub>2</sub>), 34.5 (CH<sub>2</sub>), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 40.5 (CH<sub>2</sub> Far), 44.6 (ε-CH<sub>2</sub> Lys), 50.4 (OCH<sub>3</sub>), 53.5 (α-CH), 54.2 (α-CH), 54.5 (α-CH<sub>2</sub> Pal), 56.0 (α-CH), 56.1 (α-CH), 57.1 (α-CH), 64.8 (β-CH<sub>2</sub> Ser), 67.3 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 115.1 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.1 (CH Far), 121.7 (CH Far), 122.5

(CH Far), 133.9 (C Far), 137.5 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 138.8 (C Far), 139.3 (C Far), 157.5 (C=O Urethan), 170.9 (C=O Amid), 172.0 (C=O Ester), 174.7 (C=O Amid), 175.4 (C=O Amid), 197.6 (C=O Thioester).

C<sub>58</sub>H<sub>100</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>S<sub>3</sub> (1153.65).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>58</sub>H<sub>100</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>S<sub>3</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>: ber.: 1175.6512  
gef.: 1175.6524.

### ***N*-Acetyl-L-methionyl-L-seryl-S-palmitoyl-L-cysteyl-L-lysyl-S-farnesyl-L-cysteinmethyl-ester (104)**

Ac-Met-Ser-Cys(Pal)-Lys-Cys(Far)-OMe

Eine Lösung von 0.050 g (0.04 mmol) Ac-Met-Ser-Cys(Pal)-Lys(Aloc)-Cys(Far)-OMe **103**, 0.007 g (0.04 mmol) *N,N'*-Dimethylbarbitursäure in 6 ml Tetrahydrofuran wird sorgfältig entgast. Dann werden 0.007 g (0.01 mmol) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v), dann 5:1 (v/v), dann Dichlormethan/Methanol 1:1 (v/v) + 1 % Triethylamin als Eluens gereinigt.

Ausbeute: 0.034 g (75 %) eines leicht gelblichen Feststoffs.

Schmp.: 69 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ : -9.0° (c = 0.5, CH<sub>3</sub>OH).

R<sub>F</sub>-Wert: 0.01 (Dichlormethan/Ethanol 10:1 (v/v)).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 0.78 (t, *J* = 6.6 Hz, 3 H, ω-CH<sub>3</sub> Pal), 1.15 (m, 24 H, 12\*CH<sub>2</sub> Pal), 1.49 (s, 6 H 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.57 (s, 6 H, 2\*CH<sub>3</sub> Far), 1.26-1.68 (m, 8 H, 2\*CH<sub>2</sub> Lys, 2\*CH<sub>2</sub> Pal), 1.93 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Acetyl), 2.00 (s, 3 H, CH<sub>3</sub> Met), 1.76-2.05 (12 H, β-CH<sub>2</sub> Met, CH<sub>2</sub> Lys, 4\*CH<sub>2</sub> Far), 2.46 (m, 2 H, γ-CH<sub>2</sub> Met), 2.68-3.17 (m, 8 H, α-CH<sub>2</sub> Pal, 2\*β-CH<sub>2</sub> Cys, -SCH<sub>2</sub>-), 3.26-3.46 (m, 2 H, ε-CH<sub>2</sub> Lys), 3.64 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.68 (m, 1 H, β-CH<sub>2a</sub> Ser), 3.87 (m, β-CH<sub>2b</sub> Ser), 4.25-4.54 (m, 5 H, 5\*α-CH), 5.00 (m, 2 H, 2\*CH Far), 5.14 (CH Far).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100.6 MHz): δ = 14.0 (ω-CH<sub>3</sub> Pal), 16.5 (CH<sub>3</sub> Acetyl), 16.8 (CH<sub>3</sub> Met), 17.0 (CH<sub>3</sub> Far), 17.2 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>3</sub> Far), 19.3 (CH<sub>2</sub>), 21.3 (CH<sub>2</sub>), 24.0 (CH<sub>2</sub>), 24.3

(CH<sub>2</sub>), 25.3 (CH<sub>3</sub> Far), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.3 (CH<sub>2</sub>), 30.9 (CH<sub>2</sub>), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 32.5 (CH<sub>2</sub>), 33.8 (CH<sub>2</sub>), 34.4 (CH<sub>2</sub>), 34.5 (CH<sub>2</sub>), 39.8 (CH<sub>2</sub> Far), 40.5 (CH<sub>2</sub> Far), 44.6 (ε-CH<sub>2</sub> Lys), 50.4 (OCH<sub>3</sub>), 53.5 (α-CH), 54.2 (α-CH), 54.5 (α-CH<sub>2</sub> Pal), 56.0 (α-CH), 56.1 (α-CH), 57.1 (α-CH), 64.8 (β-CH<sub>2</sub> Ser), 117.1 (CH Far), 121.7 (CH Far), 122.5 (CH Far), 133.9 (C Far), 138.8 (C Far), 139.3 (C Far), 170.9 (C=O Amid), 172.0 (C=O Ester), 174.7 (C=O Amid), 175.4 (C=O Amid), 197.6 (C=O Thioester).

C<sub>54</sub>H<sub>96</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>S<sub>3</sub> (1069.57).

HRMS (FAB, 3-NBA) für C<sub>54</sub>H<sub>97</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>S<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>:      ber.: 1069.6480  
gef.: 1069.6503.

## 6.8. Versuche zu Kapitel 4.8.

### 6.8.1. Puffer- und Probenvorbereitung

#### Vorbereitung und Lagerung von ADIFAB

200 µg ADIFAB (MW = 15350 g/mol) werden in 1000 µl Lagerungspuffer gelöst und bei -80 °C aufbewahrt. Der Lagerungspuffer besteht aus 50 mM HEPES, 1 mM EDTA, 0.5 mM PMSF und 0.05 % NaN<sub>3</sub> (w/v) bei einem pH-Wert von 8.0. Hierbei resultiert eine finale Konzentration von ADIFAB von 13 µM.

#### Vorbereitung der Substratlösung

4 mg (3.74 µmol) Ac-Met-Ser-Cys(Pal)-Lys-Cys(Far)-OMe **104** werden in 500 µl Dimethylsulfoxid gelöst. Von dieser Lösung werden 5 µl ad 50 µl mit Probenpuffer (20 mM HEPES, 150 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.4) verdünnt.

### Vorbereitung der Inhibitorlösungen

Von sämtlichen untersuchten Inhibitoren wurden für die Einstellung der verschiedenen Messkonzentrationen jeweils drei Stammlösungen unterschiedlicher Konzentration angesetzt. Folgende Vorgehensweise wurde hierbei gewählt:

- Stammlösung 1: Je nach Molmasse des Inhibitors wurden 2.0 bis 8.5 mg desselben in 200 bis 500  $\mu\text{l}$  Dimethylsulfoxid gelöst, sodass Konzentrationen von 9.1 bis 25.6 mM resultierten.
- Stammlösung 2: Von obigen Lösungen wurden jeweils 5  $\mu\text{l}$  mit Probenpuffer auf 1000  $\mu\text{l}$  verdünnt. Hierbei resultierten Konzentrationen von 45.3 bis 128.2  $\mu\text{M}$ .
- Stammlösung 3: Von den Lösungen 2 wurden jeweils 10  $\mu\text{l}$  mit Probenpuffer auf 100  $\mu\text{l}$  verdünnt. Hierbei resultierten Konzentrationen von 4.5 bis 12.8  $\mu\text{M}$ .

### Verwendete APT1-Lösung

Die verwendete APT1-Lösung resultiert aus der Isolierung des Enzyms nach Duncan und Gilman<sup>[14]</sup> und setzt sich zusammen aus 30  $\mu\text{g}$  APT1 in 10 ml Puffer bestehend aus 50 mM HEPES, 2 mM  $\text{MgCl}_2$ , 1 mM EDTA und 7.5 mM CHAPS bei einem pH-Wert von 8.0.

### 6.8.2. Durchführung der Inhibitionstests

#### Bestimmung der maximalen Palmitatkonzentration

In eine Quarz-Küvette mit 1.5 ml Probenpuffer werden 2  $\mu\text{l}$  Substratlösung pipettiert (Messkonzentration: 1  $\mu\text{M}$ ). Nun werden bei einer Anregungswellenlänge von 386 nm die Fluoreszenzemissionen bei 432 nm und 505 nm gemessen ( $I_{505}^{blank}$ ,  $I_{432}^{blank}$ ). Anschliessend werden 10  $\mu\text{l}$  ADIFAB-Lösung hinzupipettiert (Messkonzentration: 100 nM). Nun werden wiederum die Fluoreszenzemissionen bei 432 nm und 505 nm gemessen ( $I_{505}^0$ ,  $I_{432}^0$ ). Hieraus wird der  $R_0$ -Wert folgendermaßen berechnet:

$$R_0 = \frac{I_{505}^0 - I_{505}^{blank}}{I_{432}^0 - I_{432}^{blank}}.$$

Nun werden 20  $\mu\text{l}$  APT1-Lösung zupipettiert (Messkonzentration: 1.6 pM) und nach 15-minütiger Inkubation bei 25 °C die Fluoreszenzemission bei 432 nm und 505 nm mindestens achtmal gemessen und hieraus ein Mittelwert gebildet ( $I_{505}$ ,  $I_{432}$ ).

Hieraus lässt sich der  $R$ -Wert folgendermaßen berechnen:

$$R = \frac{I_{505} - I_{505}^{blank}}{I_{432} - I_{432}^{blank}}.$$

Die Berechnung der Konzentration an freigesetztem Palmitat erfolgt nach folgender Formel:

$$[\text{Pal}] = K_d * 19.5 * \frac{R - R_0}{11.5 - R} + \frac{[\text{ADIFAB}]_{total} * 19.5 * (R - R_0)}{11.5 - R + 19.5 * (R - R_0)}.$$

Hierbei beträgt  $K_d = 0.28 \mu\text{M}$  und  $[\text{ADIFAB}]_{total} = 100 \text{ nM}$ .

### Bestimmung der $\text{IC}_{50}$ -Werte der Inhibitoren

Die Bestimmung des freigesetzten Palmitats in Anwesenheit des jeweiligen Inhibitors erfolgt auf gleichem Wege wie oben beschrieben. Die Bestimmung der Blank-Werte ( $I_{505}^{blank}$ ,  $I_{432}^{blank}$ ) erfolgt jedoch erst nach Zupipettieren der entsprechenden Inhibitormenge aus den drei vorbereiteten Stammlösungen, um die gewünschten Inhibitor-Konzentrationen zu erhalten. Die weitere Vorgehensweise ist gleich. Für die Berechnung der  $\text{IC}_{50}$ -Werte werden die gemessenen Palmitat-Konzentrationen prozentual auf die vorher bestimmte maximale Palmitat-Konzentration bezogen. Es erfolgt dann ein Kurven-Fitting unter Zuhilfenahme des Programms Origin®.

### Ergebnisse der Inhibitionstests

Die Ergebnisse der Inhibitionstests für die jeweiligen Inhibitoren sind in den folgenden Tabellen zusammengefaßt. Die obere Zeile gibt dabei die jeweilige Inhibitor-Konzentration an. In der zugehörigen unteren Zeile ist das prozentuale Verhältnis der Freisetzung von Palmitat bezüglich des Maximalwerts ohne Inhibitor eingetragen.

Benzodiazepine	Inhibitor-Konzentration [nM]						IC <sub>50</sub>			
	% Palmitat vom Maximalwert (±Standardabweichung)									
1	0	10	50	100	250	1000	27 nM ± 5			
	100.00 (±10.00)	95.99 (±48.37)	23.64 (±24.64)	20.12 (±25.60)	13.85 (±45.35)	0.00 (±10.00)				
2	0	10	30	50	100	150	200	250	1000	97 nM ± 8
	100.00 (±10.00)	97.13 (±8.65)	86.56 (±6.07)	72.52 (±7.61)	54.89 (±7.20)	26.31 (±6.12)	10.23 (±9.48)	0.00 (±7.17)	0.00 (±10.00)	
22	0	10	50	100	150	200	250	1000	148 nM ± 6	
	100.00 (±10.00)	101.14 (±7.58)	96.82 (±8.00)	92.59 (±6.03)	48.93 (±12.35)	9.46 (±0.68)	3.95 (±13.30)	0.00 (±10.00)		
26	0	10	100	500	1000	10000	149 nM ± 30			
	100.00 (±10.00)	94.50 (±10.93)	59.99 (±29.00)	23.53 (±10.00)	0.00 (±10.00)	0.00 (±10.00)				
3	0	10	500	1000	10000	10 <sup>6</sup>	26 μM ± 17			
	100.00 (±10.00)	99.87 (±9.41)	94.57 (±7.11)	92.62 (±14.97)	72.62 (±13.23)	0.00 (±10.00)				
28	0	10	1000	100000	10 <sup>7</sup>	252 μM ± 159				
	100.00 (±10.00)	99.30 (±5.40)	78.98 (±10.56)	70.57 (±20.48)	0.00 (±10.00)					

Tabelle 1: Ergebnisse der untersuchten Benzodiazepine.

Proline	Inhibitor-Konzentration [nM]						IC <sub>50</sub>	
	% Palmitat vom Maximalwert (±Standardabweichung)							
4	0	42	76	98	179	208	1000	61 nM ± 6
	100.00 (±10.00)	75.49 (±8.85)	49.77 (±6.78)	17.88 (±10.00)	15.31 (±7.60)	12.76 (±4.59)	0.00 (±10.00)	
5	0	10	100	250	500	1000	10000	140 nM ± 18
	100.00 (±10.00)	88.94 (±7.77)	59.35 (±4.19)	33.74 (±3.81)	7.01 (±14.47)	0.00 (±10.00)	0.00 (±10.00)	
48	0	100	1000	5000	10000	10 <sup>6</sup>	1223 nM ± 258	
	100.00 (±10.00)	95.97 (±6.52)	53.60 (±14.54)	21.07 (±6.94)	0.00 (±10.00)	0.00 (±10.00)		

Tabelle 2: Ergebnisse der untersuchten Proline.

Lactame	Inhibitor-Konzentration [nM]							IC <sub>50</sub>
	% Palmitat vom Maximalwert ( $\pm$ Standardabweichung)							
70	0	1	500	750	900	1000	10000	725 nM $\pm$ 19
	100.00 ( $\pm$ 10.00)	100.00 ( $\pm$ 8.85)	75.74 ( $\pm$ 12.32)	40.18 ( $\pm$ 19.11)	11.29 ( $\pm$ 12.03)	1.17 ( $\pm$ 14.50)	0.00 ( $\pm$ 10.00)	
71	0	10	100	500	1000	10000	975 nM $\pm$ 7	
	100.00 ( $\pm$ 10.00)	87.82 ( $\pm$ 6.81)	90.93 ( $\pm$ 19.95)	105.36 ( $\pm$ 6.01)	31.92 ( $\pm$ 7.21)	0.00 ( $\pm$ 10.00)		

**Tabelle 3:** Ergebnisse der untersuchten Lactame.

Pentapeptide	Inhibitor-Konzentration [nM]						IC <sub>50</sub>	
	% Palmitat vom Maximalwert ( $\pm$ Standardabweichung)							
9	0	10	150	500	1000		147 nM $\pm$ 20	
	100.00 ( $\pm$ 10.00)	87.73 ( $\pm$ 16.98)	48.97 ( $\pm$ 12.23)	7.66 ( $\pm$ 34.89)	0.00 ( $\pm$ 10.00)			
8	0	10	100	250	350	500	1000	291 nM $\pm$ 11
	100.00 ( $\pm$ 10.00)	95.81 ( $\pm$ 12.28)	91.23 ( $\pm$ 4.26)	78.09 ( $\pm$ 3.15)	17.50 ( $\pm$ 7.60)	0.00 ( $\pm$ 10.00)	0.00 ( $\pm$ 10.00)	
85	0	10	100	500	1000	5000	10000	1583 nM $\pm$ 240
	100.00 ( $\pm$ 10.00)	100.00 ( $\pm$ 20.50)	100.13 ( $\pm$ 10.70)	101.75 ( $\pm$ 35.57)	59.97 ( $\pm$ 5.45)	16.73 ( $\pm$ 15.35)	0.00 ( $\pm$ 10.00)	

**Tabelle 4:** Ergebnisse der untersuchten Pentapeptide.

Tripeptide	Inhibitor-Konzentration [nM]							IC <sub>50</sub>
	% Palmitat vom Maximalwert ( $\pm$ Standardabweichung)							
10	0	50	75	100	500	1000	10000	65 nM $\pm$ 3
	100.00 ( $\pm$ 10.00)	78.62 ( $\pm$ 8.94)	32.39 ( $\pm$ 2.99)	8.88 ( $\pm$ 2.74)	3.89 ( $\pm$ 8.20)	0.00 ( $\pm$ 10.00)	0.00 ( $\pm$ 10.00)	
98	0	10	100	500	1000	5000		153 nM $\pm$ 21
	100.00 ( $\pm$ 10.00)	86.38 ( $\pm$ 12.25)	79.47 ( $\pm$ 10.13)	2.24 ( $\pm$ 6.80)	0.00 ( $\pm$ 10.00)	0.00 ( $\pm$ 10.00)		

**Tabelle 5:** Ergebnisse der untersuchten Tripeptide.



## 7. Literaturverzeichnis

- [1] *Nature* **2001**, *411*, 399.
- [2] D. Adam, *Nature* **2001**, *411*, 408-409.
- [3] X. F. Zheng, T.-F. Chan, *Drug Discovery Today* **2002**, *7*, 197-205.
- [4] K. Hinterding, D. Alonso-Díaz, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 716-780;  
*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 688-749.
- [5] J. T. Dunphy, M. E. Linder, *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, *1436*, 245-261.
- [6] F. L. Zhang, P. J. Casey, *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, *65*, 241-269.
- [7] P. J. Casey, *Science* **1995**, *268*, 221-225.
- [8] P. J. Casey, *Biochem. Soc. Trans.* **1995**, *23*, 161-166.
- [9] A. Hall, *Science* **1994**, *264*, 1413-1415.
- [10] A. Valencia, P. Chardin, A. Wittinghofer, C. Sander, *Biochemistry* **1991**, *30*, 4637-4648.
- [11] A. Levitzky, *Eur. J. Biochem.* **1994**, *226*, 1-13.
- [12] M. D. Resh, *Cell. Signal.* **1996**, *8*, 403-412.
- [13] M. D. Resh, *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, *1451*, 1-16.
- [14] J. A. Duncan, A. G. Gilman, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 15830-15837.
- [15] J. Folch, M. Lees, *J. Biol. Chem.* **1951**, *191*, 807-817.
- [16] M. D. Resh, *Cell* **1994**, *76*, 411-413.
- [17] D. R. Johnson, R. S. Bhatnagar, L. J. Knoll, J. I. Gordon, *Annu. Rev. Biochem.* **1994**, *63*, 869-914.
- [18] S. Clarke, *Annu. Rev. Biochem.* **1992**, *61*, 355-386.
- [19] P. Novick, P. Brennwald, *Cell* **1993**, *75*, 597-601.
- [20] C. C. Farnsworth, M. C. Seabra, L. H. Ericsson, M. H. Gelb, J. A. Glomset, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 11963-11967.
- [21] J. A. Porter, K. E. Young, P. A. Beachy, *Science* **1996**, *274*, 255-259.
- [22] L. Guitierrez, A. I. Magee, *Biochim. Biophys. Acta* **1991**, *1078*, 147-154.
- [23] L. Liu, T. Dudler, M. H. Gelb, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 23269-23276.
- [24] L. Berthiaume, M. D. Resh, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 22399-22405.
- [25] M. Veit, K. Sachs, M. Heckelmann, D. Maretzki, K. P. Hofmann, M. F. G. Schmidt, *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, *1394*, 90-98.
- [26] J. T. Dunphy, W. K. Greentree, C. L. Manahan, M. E. Linder, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 7154-7159.

- [27] L. Liu, T. Dudler, M. H. Gelb, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 3252a.
- [28] J. A. Duncan, A. G. Gilman, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 23594-23600.
- [29] M. C. Baño, C. S. Jackson, A. I. Magee, *Biochem. J.* **1998**, *330*, 723-731.
- [30] J. H. Jackson, J. Li, J. E. Buss, C. J. Der, C. G. Cochrane, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **1994**, *91*, 12730-12734.
- [31] M. Bouvier, T. P. Loisel, T. Hebert, *Biochem. Soc. Trans.* **1995**, *23*, 577-581.
- [32] A. Appolloni, I. A. Prior, M. Lindsay, R. G. Parton, J. F. Hancock, *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 2475-2487.
- [33] J. Bigay, E. Faurobert, M. Franco, M. Chabre, *Biochemistry* **1994**, *33*, 14081-14090.
- [34] Y. Kuroda, N. Suzuki, T. Kataoka, *Science* **1993**, *259*, 683-686.
- [35] C. J. Marshall, *Science*, **1993**, *259*, 1865-1866.
- [36] B. F. O'Dowd, M. Hnatowich, M. G. Caron, R. J. Lefkowitz, M. Bouvier, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 7564-7569.
- [37] S. Moffet, B. Mouillac, H. Bonin, M. Bouvier, *EMBO J.* **1993**, *12*, 349-356.
- [38] K. Ueno, Y. Suzuki, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 13519-13526.
- [39] J. F. Hancock, J. I. Magee, J. E. Childs, C. J. Marshall, *Cell* **1989**, *57*, 1167-1177.
- [40] A. K. Das, B. Dasgupta, R. Bhattacharya, J. Basu, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 11021-11025.
- [41] L. A. Camp, L. A. Verkruyse, S. J. Afendis, C. A. Slaughter, S. L. Hofmann, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 23212-23219.
- [42] L. A. Verkruyse, S. L. Hofmann, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 15831-15836.
- [43] A. A. Soyombo, S. L. Hofmann, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 27456-27463.
- [44] H. Sugimoto, H. Hayashi, S. Yamashita, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 7705-7711.
- [45] P. J. O'Brien, R. S. St. Jules, T. S. Reddy, N. G. Bazan, M. Zatz, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 5210-5215.
- [46] O. A. Bizzozero, J. F. McGarry, M. B. Lees, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 13550-13557.
- [47] S. Quesnel, J. R. Silvius, *Biochemistry* **1994**, *33*, 13340-13348.
- [48] M. Veit, *Biochem. J.* **2000**, *345*, 145-151.
- [49] J. T. Dunphy, H. Schroeder, R. Leventis, W. K. Greentree, J. K. Knudsen, J. R. Silvius, M. E. Linder, *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1485*, 185-198.
- [50] J. T. Rasmussen, J. Rosendal, J. Knudsen, *Biochem. J.* **1993**, *292*, 907-913.
- [51] J. T. Rasmussen, N. J. Faergemen, K. Kristiansen, J. Knudsen, *Biochem. J.* **1994**, *299*, 165-170.

- [52] D. C. Yeh, J. A. Duncan, S. Yamashita, T. Michel, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 33148-33154.
- [53] M. Veit, M. F. G. Schmidt, *Virology* **2001**, *288*, 89-95.
- [54] Y. Devedjev, Z. Dauter, S. R. Kuznetsov, T. L. Z. Jones, Z. S. Derewenda, *Structure* **2000**, *8*, 1137-1146.
- [55] A. Wang, C. A. Johnson, Y. Jones, M. H. Ellisman, E. A. Dennis, *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1484*, 207-214.
- [56] K. K. Kim, S. W. Suh, *Structure* **1997**, *5*, 1571-1584.
- [57] A. Giannis, T. Kolter, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1303-1326; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1244-1267.
- [58] A. Giannis in *Organic Synthesis Highlights III* (H. Waldmann, J. H. Mulzer, Eds.), Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, 354-365.
- [59] J. Gante, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1780-1802; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1699-1720.
- [60] M. R. Peña, J. K. Stille, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5417-5424.
- [61] Y. Bi, P. G. Schultz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 2299-2300.
- [62] R. F. Heck, *Org. React.* **1982**, *27*, 345-390.
- [63] A. de Meijere, F. E. Meyer, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2473-2506; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *33*, 2379-2411.
- [64] R. P. Dickinson, K. N. Dack, C. J. Long, J. Steele, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3442-3452.
- [65] F. X. Webster, J. Rivas-Enterrios, R. M. Silverstein, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 689-691.
- [66] J. E. Baldwin, S. J. Bamford, A. M. Fryer, M. P. W. Rudolph, M. E. Wood, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5233-5254.
- [67] P. Strazzolini, M. Scuccato, A. G. Giumanini, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3625-3633.
- [68] D. L. J. Clive, S. Hisaindee, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 4923-4929.
- [69] C. M. Stevens, R. Watanabe, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 725-727.
- [70] C.-B. Xue, A. Ewenson, J. M. Becker, F. Naider, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1990**, *36*, 362-373.
- [71] H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 426-427; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 436-437.
- [72] H. Kunz, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 297-311; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 294-308.

- [73] S. Blechert, A. Kleine-Klausing, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 428-429; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 412-414.
- [74] E. Wünsch in *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl)*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1974**, *15/1*, 46-305.
- [75] D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277-7287.
- [76] W. S. Wadsworth, *Org. React.* **1977**, *25*, 73-253.
- [77] B. D. Christie, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 1239-1246.
- [78] H. M. M. Bastiaans, J. L. van der Baan, H. C. J. Ottenheijm, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3880-3889.
- [79] G. Kokotos, J. M. Padrón, T. Martín, W. A. Gibbons, V. S. Martín, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3741-3744.
- [80] A. J. Mancuso, S.-L. Huang, D. Swern, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2480-2482.
- [81] T. T. Tidwell, *Synthesis* **1990**, 857-870.
- [82] C. Bubert, O. Reiser, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4985-4988.
- [83] J. H. van Maarseveen, P. H. H. Hermkens, E. de Clercq, J. Balzarini, H. W. Scheeren, C. G. Kruse, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3223-3230.
- [84] E. Wünsch, L. Moroder, S. Romani, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1982**, *363*, 1461-1464.
- [85] P. Deck, H. Waldmann, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [86] O. Mitsunobu, *Synthesis* **1981**, 1-28.
- [87] D. L. Hughes, R. A. Reamer, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2967-2971.
- [88] W. D. Lubell, H. Rapoport, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 236-239.
- [89] L. I. Belen'kii, *Chemistry of Organosulfur Compounds*, Ellis Horwood, Chichester, **1990**, 193-228.
- [90] D. Kadereit, Dissertation, Karlsruhe 2000.
- [91] H. Choi, T. F. Murray, C. E. DeLander, W. K. Schmidt, J. V. Aldrich, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2733-2739.
- [92] F. Garro-Helion, A. Marzouk, F. Guibé, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6109-6113.
- [93] S. P. Creaser, B. R. Peterson, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2444-2445.
- [94] A. S. Varner, M. L. De Vos, S. P. Creaser, B. R. Peterson, C. D. Smith, *Analytical Biochem.* **2002**, im Druck.
- [95] G. V. Richieri, R. T. Ogata, A. M. Kleinfeld, *Mol. Cell. Biochem.* **1999**, *192*, 87-94.
- [96] G. V. Richieri, R. T. Ogata, A. M. Kleinfeld, *Mol. Cell. Biochem.* **1999**, *192*, 77-85.
- [97] Molecular Probes Inc., Product Information, Cat. # A-3880.

- [98] D. Bar-Sagi, J. R. Feramisco, *Cell* **1985**, *42*, 841-848.
- [99] G. Schmidt, C. Lenzen, I. Simon, R. Deuter, R. H. Cool, R. S. Goody, A. Wittinghofer, *Oncogene* **1996**, *12*, 87-96.
- [100] B. Bader, K. Kuhn, D. J. Owen, H. Waldmann, A. Wittinghofer, J. Kuhlmann, *Nature* **2000**, *403*, 223-226.
- [101] M. Wagner, J. Kuhlmann, persönliche Mitteilung.
- [102] M. Wagner, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [103] F. Balkenhohl, C. von dem Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2437-2488; *Angew. Chem Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2288-2337.
- [104] L. A. Thompson, J. A. Ellman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 555-600.
- [105] T. F. Herpin, K. G. van Kirk, J. M. Salvino, S. T. Yu, R. F. Labaudiniere, *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 513-521.
- [106] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.
- [107] D. D. Perrin, W. L. F. Amarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, 3<sup>rd</sup> Ed., Pergamon, Oxford, **1988**.

## 8. Anhang

### Abkürzungsverzeichnis

abs.	absolut
Ac	Acetyl
ACBP	Acyl-CoA binding protein
ADIFAB	acylodated intestinal fatty acid binding protein
All	Allyl
Aloc	Allyloxycarbonyl
APT1	Acyl-Protein-Thioesterase 1
arom.	aromatisch
ber.	berechnet
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Bu	Butyl
Bzl	Benzyl
CaM	Ca <sup>2+</sup> -Modulin
CoA	Coenzym A
Cpf	Carboxylesterase aus <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Dap	Diaminopropionsäure
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMA	<i>N, N</i> -Dimethylacetamid
DMAP	<i>N, N</i> -Dimethylaminopyridin
DMB	<i>N, N'</i> -Dimethylbarbitursäure
DMF	<i>N, N</i> -Dimethylformamid
DMP	Dess-Martin-Periodinan
DMSO	Dimethylsulfoxid
DTT	1,4-Dithiothreitol
EDC	<i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethylcarbodiimidhydrochlorid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EI	electron impact
eNOS	Endothel-Stickstoffmonoxid-Synthase
ER	Endoplasmatisches Retikulum

---

Et	Ethyl
FAB	fast atom bombardment
Far	Farnesyl
FPP	Farnesylpyrophosphat
FPT	Farnesyl-Protein-Transferase
Ftase	Farnesyltransferase
GCMS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
gef.	gefunden
GGPT I, II	Geranylgeranyl-Protein-Transferase I, II
GPCR	G-protein coupled receptor
G-Protein	Guaninnukleotid-bindendes Protein
GTPase	Guanosintriphosphatase
HEPES	<i>N</i> -(2-Hydroxyethyl)piperazin- <i>N'</i> -2-ethansulfonsäure
Hhe	2-( <i>S</i> )-Amino-5-hydroxyheneicosansäure
HMDS	Hexamethyldisilazid
HOBT	1-Hydroxybenzotriazol
HRMS	high resolution mass spectrometry
HWE	Horner-Wadsworth-Emmons
Hz	Hertz
IC <sub>50</sub>	Inhibitorkonzentration, bei der 50 % der Enzymaktivität blockiert sind
ImH	Imidazol
Me	Methyl
MIC	Maleinimidocaproyl
min	Minuten
Ms	Methansulfonyl
3-NBA	3-Nitrobenzylalkohol
NMR	nuclear magnetic resonance
NMT	<i>N</i> -Myristoyltransferase
NSF	<i>N</i> -Ethylmaleimid-sensitiver Faktor
Pal	Palmitoyl
PalTase	Palmitoyltransferase
PAT	Palmitoyl-Acyl-Transferase
pcCMT	Prenylcysteincarboxymethyltransferase
Pf	Phenylfluorenyl

---

Ph	Phenyl
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
PPT1, 2	Palmitoyl-Protein-Thioesterase 1, 2
quant.	quantitativ
<i>Rab</i>	von <i>Ras</i> -like in rat brain
<i>Ras</i>	von rat sarcoma
R <sub>f</sub>	Retentionsfaktor
Schmp.	Schmelzpunkt
SFV	Semikli-Forest-Virus
SNAP	soluble NSF attachment protein
SNARE	SNAP receptor
<i>Src</i>	von sarcoma
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
<i>tert</i>	tertiär
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
<i>o</i> -Tol	<i>ortho</i> -Tolyl
TsOH	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure

Aminosäuren werden in der üblichen Weise durch den Dreibuchstaben-Code abgekürzt (vgl. IUPAC-IUB Commission of Biochemical Nomenclature, *Pure Appl. Chem.* **1982**, *54*, 1517 und 1525).



## Danksagung

Herrn Prof. Dr. Herbert Waldmann sowie Herrn Prof. Dr. Athanassios Giannis danke ich für die anspruchsvolle und interessante Themenstellung sowie die stete Unterstützung meiner Arbeit.

Meinen langjährigen Laborgenossinnen und -genossen Jantje Mareike Gerdes, Ines Heinemann, Stefanie Schlummer, Elke Simon und Norman Kuder danke ich für die hervorragende Stimmung und den hohen Unterhaltungswert am Arbeitsplatz. Bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe möchte ich mich für die gute Atmosphäre und die zahlreichen Anlässe gemütlichen Beisammenseins bedanken.

Bei Markus Biel möchte ich mich für eine beispiellose Zusammenarbeit bedanken, die man in dieser Art sicher nur selten findet. Melanie Wagner und Boriana Popkirova sei für die Durchführung der zellbiologischen Experimente gedankt.

Jantje Mareike Gerdes, Olaf Köhler und Stefanie Schlummer danke ich für die kritische und zügige Durchsicht des Manuskripts.

Den Mitarbeitern der analytischen Abteilung der Universitäten Karlsruhe sowie Dortmund danke ich herzlich für die Durchführung der Analysen und die Messung der Spektren. Mein besonderer Dank gilt hierbei Dr. Herbert Röttle für seine stete Hilfsbereitschaft, die das übliche Maß weit übersteigt. Christiane Vornweg und Dr. Petra Janning danke ich für die zügige Aufnahme der mitunter sehr zahlreichen Massenspektren.

Beim Land Baden-Württemberg bedanke ich mich für die Gewährung eines Landesgraduiertenstipendiums.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern für die Ermöglichung sowie die nicht unerhebliche finanzielle Unterstützung meines Studiums. Renate Bechtold sei gedankt für die herzliche Aufnahme in ihre Familie, sowie die Unterstützung während meiner Arbeit.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei meiner Verlobten, Maren Bechtold, für ihre Geduld, Liebe und ausdauernde Hilfe in allen Lebenslagen seit wir uns kennen.



## Lebenslauf

Name: Patrick Hugo Deck  
Geboren: am 07. Dezember 1972 in Mörsch / Baden  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: ledig

### Schulbildung:

08/1979 – 07/1983 Pestalozzi-Grundschule Mörsch  
08/1983 – 06/1992 Walahfrid-Strabo-Gymnasium Rheinstetten

### Zivildienst:

07/1992 – 10/1993 Arbeiter-Samariter-Bund Rheinstetten im Mobilien Sozialen Hilfsdienst  
und der Individuellen Schwerstbehindertenbetreuung

### Studium:

10/1993 – 08/1998 Studium der Chemie an der Universität Fridericiana zu Karlsruhe (TH)  
10/1995 Vordiplom  
02/1998 – 08/1998 Diplomarbeit unter der Betreuung von Prof. Dr. Herbert Waldmann:  
„Beiträge zur Synthese eines Peptidmimetikums der C-terminalen  
Sequenz des farnesylierten H-Ras-Proteins“  
08/1998 Diplom

### Promotion:

10/1998 – 09/2002 Anfertigung der Doktorarbeit unter der Betreuung von Prof. Dr. Herbert  
Waldmann an der Universität Fridericiana zu Karlsruhe (TH), ab  
05/2000 an der Universität Dortmund und ab 09/2000 am Max-Planck-  
Institut für molekulare Physiologie, Dortmund:  
„Synthese und biologische Evaluierung von Inhibitoren der Acyl-  
Protein-Thioesterase 1“  
10/2002 Promotion

Dortmund, im Oktober 2002