

Institut für Organische Chemie und Biochemie
der Technischen Universität München

Lineare und zyklische Homo- und Heterooligomere mit Zuckeraminosäuren

Matthias Stöckle

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Chemie der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Steffen J. Glaser

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. Horst Kessler
2. Univ.-Prof. Dr. Oskar Nuyken

Die Dissertation wurde am 30.09.2002 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät für Chemie am 12.11.2002 angenommen.

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von April 1998 bis September 2002 am Institut für Organische Chemie und Biochemie der Technischen Universität München unter Leitung von Prof. Dr. H. Kessler.

Herrn Prof. Dr. H. Kessler danke ich für die Überlassung des vielseitigen und interessanten Themas, die Bereitstellung hervorragender Arbeitsbedingungen, sein Interesse an meiner Arbeit und wertvollen Anregungen in Diskussionen.

Herrn Prof. Dr. O. Nuyken danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Mein weiterer Dank gilt:

meinen Eltern, ohne deren vorbehaltlose Unterstützung weder das Studium noch die Erstellung dieser Arbeit möglich gewesen wäre,

meinen Laborkollegen Elsa Locardi, Uli Hersel, Armin Modlinger, Dr. Jürgen Boer und Dr. Claudia Lehotkay (geb. Biro) für das ausgezeichnete Laborklima,

Armin Modlinger, Martin Sukopp und Uli Hersel für das sorgfältige und kritische Korrekturlesen des Manuskripts dieser Arbeit,

Georg Voll und Robert Günther für die Ausführung der Strukturrechnungen,

Burghard Cordes für die reibungslose Aufnahme und Diskussion der ESI- und HPLC-MS,

Maria Kranawetter für die Durchführung von HPLC-Trennungen,

Mona Wolff und Albert Schröder für ihre gewissenhafte und sorgfältige Unterstützung bei der wiederholten Synthese von Verbindungen,

Dr. Rainer Haeßner und Monika Goede für die Hilfe bei allen NMR-, Hardware- und Softwarefragen,

Dr. Jürgen Boer und Elsa Locardi für die Einführung in die NMR-Spektroskopie,

den Sekretärinnen Frau Machule und Frau Bruckmaier für ihre Hilfe bei administrativen Problemen,

allen anderen namentlich nichtgenannten derzeitigen und ehemaligen Mitarbeitern des Arbeitskreises, die dem Arbeitskreis das hervorragende Arbeitsklima verleihen,

allen Universitätsangestellten, ohne die das Arbeiten am Institut nicht möglich gewesen wäre.

Mein besonderer Dank gilt meiner Freundin Sylvia, die mich in schwierigen Phasen meiner Doktorarbeit immer wieder aufgebaut hat und mir dazu verhalf, auch noch an andere Dinge als an das Labor zu denken.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Zielsetzung.....	1
2. Zuckeraminosäuren und ihr Einsatz in der Struktur- und Wirkstoffforschung.....	4
2.1 Allgemeine Erläuterungen zu Zuckeraminosäuren.....	4
2.2 Funktion und Eigenschaften von Zuckeraminosäuren.....	9
2.2.1 Zuckeraminosäuren als Peptid- und <i>Turn</i> -Mimetika.....	9
2.2.2 Zuckeraminosäuren und Kohlenhydrate als Gerüstmimetika (<i>Scaffolds</i>).....	13
2.2.3 Zuckeraminosäuren als Kohlenhydratmimetika.....	16
2.2.4 Zuckeraminosäuren in Verbindung mit natürlichen Aminosäuren.....	20
2.3 Der Gum-Baustein und seine Derivate.....	24
2.3.1 Allgemeine Bemerkungen.....	24
2.3.2 Strukturuntersuchungen.....	25
2.3.3 Gum in biologisch aktiven Peptiden.....	28
2.3.4 Gum in Homooligomeren.....	35
2.3.5 Synthesestrategien.....	37
3. Ergebnisse und Diskussion.....	40
3.1 Synthese der Monomerbausteine.....	40
3.2 Oligomerisierung und Zyklisierung.....	44
3.2.1 Synthese alternierender, linearer Oligomere.....	44
3.2.2 Synthese von Homooligomeren.....	48
3.2.3 Zyklisierungen.....	52

3.3 CD-Spektroskopie.....	54
3.4 NMR-Studien.....	59
3.4.1 Allgemeine Messverfahren.....	60
3.4.2 NMR-spektroskopische Untersuchungen linearer, alternierender Oligomere mit Lys und Phe.....	62
3.4.3 NMR-spektroskopische Untersuchungen zyklischer, alternierender Oligomere mit Lys und Phe.....	65
3.4.4 Temperaturmessreihen.....	65
3.4.5 Bestimmung von Interprotonenabständen.....	69
3.4.6 Bestimmung von Kopplungskonstanten und Seitenkettenrotameren.....	72
3.4.7 NMR-spektroskopische Untersuchungen zyklischer, alternierender Oligomere mit Ala und Gly.....	76
3.4.8 NMR-spektroskopische Untersuchungen zyklischer Homooligomere.....	79
3.5 Strukturrechnungen.....	81
4. Zusammenfassung.....	87
5. Experimenteller Teil.....	90
5.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen.....	90
5.2 Übersicht über die hergestellten Verbindungen.....	93
5.3 Allgemeine Arbeitsvorschriften.....	96
5.4 Spezielle Arbeitsvorschriften.....	102
5.5 HPLC-, ESI-MS- und NMR-Daten der linearen und zyklischen Oligomeren.....	116
5.5.1 HPLC- und ESI-MS-Daten.....	116
5.5.2 NMR-Zuordnungstabellen.....	122
5.5.3 Temperaturmeßreihen.....	134

5.6 CD-Spektren.....	143
5.7 Strukturrechnung.....	149
6. Anhang.....	152
6.1 Theoretische Betrachtungen zur CD-Spektroskopie.....	152
6.2 Das Amidchromophor und seine Elektronenübergänge in Sekundärstrukturen.....	158
7. Literaturverzeichnis.....	161

Abkürzungsverzeichnis

Die in dieser Arbeit verwendete Nomenklatur orientiert sich an den von *Chemical Abstracts* (Chemical Abstracts, „Index Guide“, 77, 210) und den IUPAC-IUB-Kommissionen empfohlenen Richtlinien (IUPAC, *Eur. J. Biochem.* **1971**, 21, 455-477; IUPAC, *Pure Appl. Chem.* **1996**, 68, 1919; IUPAC Commission on Nomenclature of Organic Chemistry (CNOC) and IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN), *Biochemistry* **1974**, 10, 3983; IUPAC-IUB (JCBN), *Eur. J. Biochem.* **1984**, 138, 9-37). Fachausdrücke, die aus dem Englischen übernommen wurden, sind im Text *kursiv* gedruckt.

AA	<i>Amino Acid</i> [dt.: Aminosäure)
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
abs.	absolut (wasserfrei)
Ac	Acetyl
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
AcOH	Essigsäure
Ala	Alanin
Äquiv.	Äquivalente
Arg	Arginin
Asp	Asparaginsäure
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
Bn	Benzyl
Boc	tert.- Butyloxycarbonyl
Boc ₂ O	Di-tert.-butyl-dicarbonat
bs	breites Singulett
°C	Grad Celsius
CD	<i>Circular Dichroism</i> (dt.: Zirkulardichroismus)
CI	Chemische Ionisation
COSY	<i>Correlated Spectroscopy</i>
CVFF	<i>Consistent Valence Forcefield</i>
δ	Chemische Verschiebung
d	Duplett
DC	Dünnschichtchromatographie

DCC	N, N'- D icyclohexylcarbodiimid
DCM	D ichlormethan
dd	D oppeldublett
DG	D istanzgeometrie
DIC	D iisopropylcarbodiimid
DIPEA	D iisopropylethylamin
dm	D ezimeter
DMAP	4-(D imethylamino)pyridin
DMF	N, N- D imethylformamid
dmol	D ezimol
DMSO	D imethylsulfoxid
[D6]DMSO	Hexadeutero- D imethylsulfoxid
DQF-COSY	D oppelquantengefiltertes COSY
E.COSY	<i>Exclusive Correlated Spectroscopy</i>
ESI-MS	<i>Electrospray Ionization Mass Spectroscopy</i>
F1, F2	Erste und zweite F requenzdimension eines mehrdimensionalen Spektrums
FAB	<i>Fast Atom Bombardment</i>
Fmoc	Fluoren-9-yl- m ethoxycarbonyl
Gln	G lutamin
Gly	G lycin
GNA	G lucopyranosyl- N ucleinsäure- A mide
GnRH	G onadotropin- R ealising- H ormon
Gum	G lucosyl- u ronsäure- m ethylamin
h	<i>hour (dt.: Stunde)</i>
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyl-uronium hexafluorophosphat
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multibond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
IC ₅₀	<i>Inhibition Constant (dt.: Inhibierungskonstante)</i>

IUB	<i>International Union of Biochemistry</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Appplied Chemistry</i>
J	Kopplungskonstante
konz.	konzentriert
L	Liter
Leu	Leucin
Lys	Lysin
m	Multipllett
M	Molar
MAdCAM-1	<i>Mucosal Adressin Cell Adhesion Molecule-1</i>
MD	Moleküldynamik
Me	Methyl
mesh	Maß zur Beschreibung der Partikelgröße
Met	Methionin
min	Minute(n)
mL	Milliliter
mM	Millimolar
MMTr	Monomethoxytrityl
mRR	<i>mammalian Ribonucleotid Reduktase</i>
MSNT	1-(M esitylen-2-sulfonyl)-3-nitro-1H-1,2,4-triazol
n	Anzahl
NBA	3-Nitro benzyl alkohol
NBS	N-B romsuccinimid
NK	Neurokinin
nm	Nanometer
NMM	N-Methylmorpholin
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
NOE	<i>Nuclear Overhauser Enhancement</i>
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy</i>
PEG	Polyethylenglycol
Phe	Phenylalanin
PNA	<i>Peptide Nucleic Acids (dt.: Peptidnukleinsäuren)</i>
ppb	<i>parts per billion</i>
ppm	<i>parts per million</i>

Pro	Prolin
pt	Pseudotriplett
q	Quartett
R _f	Retentionsfaktor
RGD	Tripeptid Arg-Gly-Asp
rMD	<i>restrained</i> Moleküldynamik
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
ROE	<i>Rotating Frame Overhauser Enhancement</i>
ROESY	<i>Rotating Frame Overhauser Enhancement Spectroscopy</i>
RP-HPLC	<i>Reversed-phased</i> HPLC
Rt	Raumtemperatur
s	Singulett
s	Sekunde
SAA(s)	<i>Sugar Amino Acid(s)</i> [dt.: Zuckeraminosäure(n)]
Ser	Serin
SSTR	Somatostatin Seven Transmembran Rezeptor
t	Triplett
TASP	templat-assoziierte synthetische Proteine
TBABr	Tetrabutylammoniumbromid
^t Bu	tert.-Butyl
TCP	Tritylchlorid-Polystyrol
TEA	Triethylamin
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethyl-piperidin-1-oxyl
tert.	tertiär
TFA	<i>Trifluoro acetic acid</i> (dt.: Trifluoressigäure)
TFE	2,2,2-Trifluorethanol
THF	Tetrahydrofuran
Thr	Threonin
TMS-CN	Trimethylsilylcyanid
TOCSY	<i>Total Correlated Spectroscopy</i>
Trp	Tryptophan
Trt	Trityl
Tyr	Tyrosin
UV	Ultraviolett

Val	Valin
VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
WATERGATE	Water Suppression by Gradient Tailored Excitation
Xaa	beliebige Aminosäure
Z	Benzyloxycarbonyl

1. Einleitung und Zielsetzung

Für den in räumlichen Strukturen denkenden, bioorganischen Chemiker stellen Zuckeraminosäuren eine herausragende Verbindungsklasse dar. *Zuckeraminosäuren (SAAs) sind pyranoide oder furanoide Zuckerbausteine, die mindestens eine Carboxyl- und eine Aminogruppe enthalten.* Aufgrund einer definierten und zugleich variablen Anordnung der Amino- und Carboxylgruppen sowie funktionalisierbarer Hydroxygruppen an einem furanoiden bzw. relativ starren pyranoiden Ringsystem, lassen sich durch Zuckeraminosäuren eine Vielzahl von Konformationsräumen erschließen. Zuckeraminosäuren werden daher in vielfältiger Weise in der Wirkstoff- und Strukturforschung eingesetzt^[1, 2].

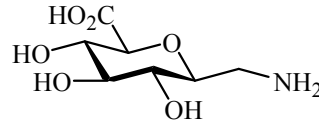
In der Wirkstoffforschung ist die Entwicklung von Peptidmimetika, die günstigere pharmakologische Eigenschaften als ihre peptidischen Leitstrukturen besitzen, nach wie vor eine große Herausforderung. Eine interessante Klasse an Peptidmimetika ist die Gruppe der Zuckeraminosäuren. Durch Modifikation des Peptidrückgrats oder der Seitenkette von Cyclopeptiden mit Zuckeraminosäuren lässt sich die Aktivität^[1-5], die Pharmakokinetik^[6, 7] und die metabolische Stabilität peptidischer Leitstrukturen verbessern.

Der Einbau von Zuckeraminosäuren in zyklische Peptide kann weiterhin dazu dienen, zyklische Verbindungen aufzubauen, die als Gerüstmimetika für templat-assoziierte synthetische Proteine (TASP) verwendet werden können. Nach dem TASP-Konzept werden amphiphile, sekundärstrukturbildende Peptidblöcke auf einem topologisch maßgeschneiderten Templatmolekül kovalent gebunden. Dabei hat das Templatmolekül die Aufgabe, die Peptidketten zu einer ähnlichen, definierten Packungsordnung wie in Proteinen zu dirigieren.^[8-10]

Zuckeraminosäuren stellen eine einheitliche Klasse bezüglich ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften dar und haben die Fähigkeit, unterschiedliche Konformationen in einem Peptid gezielt zu fixieren. So wurde in unserem Arbeitskreis ein umfangreicher Baukasten an Zuckeraminosäuren als *Turn-* bzw. Peptidmimetika geschaffen, mit dem sich Konformationsfreiräume von Peptiden in abgestufter Weise einschränken lassen, um so Struktur-Wirkungsbeziehungen von biologisch aktiven Peptiden zu erforschen.^[11] Manche Zuckeraminosäuren haben die Eigenschaft eines Dipeptidisosters, d. h. ihre Amino- und

Carboxylgruppen nehmen die Positionen des N- bzw. C-terminalen Restes eines Dipeptids ein, bei dem die Amidbindung durch eine andere Verknüpfung ersetzt wird.

Ein solches Dipeptidisoster, das die Fähigkeit zur Schleifenbildung hat, ist der in unserem Arbeitskreis etablierte Gum-Baustein^[12]:



Die Abkürzung Gum wurde von dem Namen **Glucosyl-uronsäure-methylamin** abgeleitet. Der systematische IUPAC-Name lautet *7-Amino-2,6-anhydro-7-desoxy-L-glycero-L-guloheptonsäure*.

Ziel dieser Arbeit war es, zunächst die schon existierenden Synthesewege für den benzyl- und ungeschützten Gum-Baustein zu verbessern. Die bisherigen Synthesewege waren sehr zeitintensiv und ergaben nur mäßige Ausbeuten, weshalb hier noch Optimierungsbedarf bestand. Als neue Modifikation sollte der acetylgeschützte Gum-Baustein synthetisiert werden. Man erhoffte sich, mit ihm einen verhältnismäßig unpolaren Baustein in der Hand zu haben, der im NMR-spektroskopischen Vergleich mit dem benzylgeschützten Gumbaustein deutlich einfachere Seitengruppensignale aufweist. Somit könnten NMR-spektroskopische Strukturuntersuchungen vereinfacht werden.

Durch Kombination von Festphasensynthese und Synthese in Lösung sollten neuartige, zyklische Gerüststrukturen aufgebaut werden, die den pyranoiden Gumbaustein alternierend mit den Aminosäuren Alanin, Phenylalanin und Lysin jeweils in der D- und L-Form sowie Gly enthalten. Um einen strukturellen Vergleich mit zyklischen Hexapeptiden zu haben, sollten in erster Linie alternierende, zyklische Tetramere synthetisiert werden. Der Größenvergleich basiert auf der Tatsache, dass Gum als Dipeptidisoster größenordnungsmäßig für zwei Aminosäuren steht. Konformationen zyklischer Hexapeptide werden in unserem Arbeitskreis seit langem gründlich untersucht, weshalb sich ein Strukturvergleich mit ihnen anbietet. Um diesen zu gewährleisten, sollten umfangreiche NMR-Daten bereitgestellt werden, aus denen sich über Distanzgeometrie- und Moleküldynamikrechnungen Strukturen ermitteln lassen.

Zuckeraminosäuren lassen sich nicht nur als Peptid- und Gerüstmimetika einsetzen, sondern auch als Kohlenhydratmimetika. Bisher wurden fast ausschließlich lineare Homooligomere von Zuckeraminosäuren synthetisiert. E. Locardi aus unserem Arbeitskreis gelang es als erste, durch Homooligomerisierung und Zyklisierung des ungeschützten Gumbausteins Cyclodextrinmimetika auf Zuckeraminosäurebasis zu synthetisieren und Wirt-Gast-Strukturvergleiche mit ihnen anzustellen.^[13] Anknüpfend an diese Ergebnisse, sollten im Rahmen dieser Arbeit zyklische Homooligomere des benzylgeschützten Gumbausteins vom Di- bis zum Hexamer synthetisiert und NMR-spektroskopisch untersucht werden.

2. Zuckeraminosäuren und ihr Einsatz in der Struktur- und Wirkstoffforschung

2.1 Allgemeine Erläuterungen zu Zuckeraminosäuren

Zuckeraminosäuren (engl. Sugar Amino Acids, abgekürzt SAAs) sind pyranoide oder furanoide Zuckerbausteine, die mindestens eine Carboxyl- und eine Aminogruppe enthalten (Abbildung 2.1).

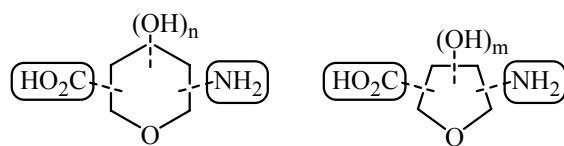
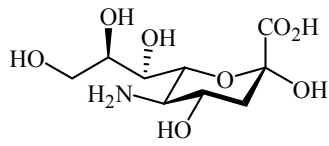


Abbildung 2.1: Allgemeine Struktur von pyranoiden und furanoiden Zuckeraminosäuren.

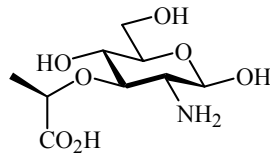
Der Begriff „Zuckeraminosäure“ wurde mit Beginn der Arbeiten von E. Graf von Roedern^[11, 12] durch unseren Arbeitskreis geprägt und in diesem Sinn auch noch von den Arbeitsgruppen um J. Gervay,^[14-16] J. H. van Boom,^[17-19] und A. Dondoni^[20] verwendet. Zwei weitere Arbeitsgruppen verwenden diesen Begriff, jedoch in einem anderen Kontext.^[21-23] Der in Bezug auf Zuckeraminosäuren von den Arbeitsgruppen um K. C. Nicolaou,^[24] Y. Ichikawa^[25] und G. W. J. Fleet^[26-30] verwendete Begriff „carbopeptoids“ ist in sofern irreführend, als dass es sich auch bei den Oligomeren nicht um Peptoidbindungen handelt, wie es der Name vermuten lässt. Von G. W. J. Fleet werden die Begriffe „carbohydrate amino acids“^[27, 31] und im Fall von furanoiden Zuckeraminosäuren „tetrahydrofuran amino acids“^[28, 32, 33] geprägt. Bei Begriffen wie „glycosamino acids“,^[34] „peptidosaccharides“^[35] und „saccharopeptides“^[36-38] denkt man bevorzugt an glycosylierte Aminosäuren oder Peptide und nicht an die vorliegenden amino- bzw. carboxyfunktionalisierten Kohlenhydrate.

Zuckeraminosäuren sind keine Erfindung des Menschen, sondern kommen auch in der Natur vor (Abbildung 2.2). Der wohl bekannteste Vertreter der natürlichen Zuckeraminosäuren ist die Neuraminsäure **1**. Sie ist als Bestandteil fast aller Glycoproteine die wichtigste Zuckeraminosäure in höheren Organismen.^[39, 40] Die Muraminsäure **2** sowie in selteneren Fällen auch die Uronsäuren des Galactosamins **3**, Glucosamins **4** und Mannosamins **5** wurden aus bakteriellen Zellmembranen isoliert, in denen sie in Form vernetzter Polysaccharide eine

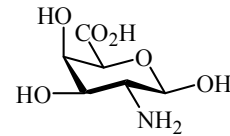
Stützfunktion innehaben.^[41, 42] Zuckeraminosäuren sind ferner Bestandteile diverser, mikrobieller Antibiotika.^[43, 44] So wurde z. B. die Glucosaminuronsäure **4** in einem dem Vancomycin verwandten Glycopeptid-Antibiotikum A40926 nachgewiesen.^[45]



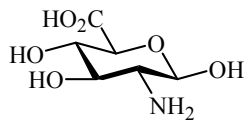
Neuraminsäure **1**



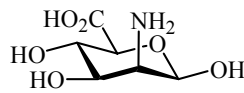
Muraminsäure **2**



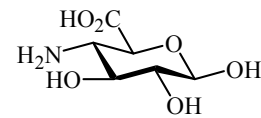
Galactosaminuronsäure **3**



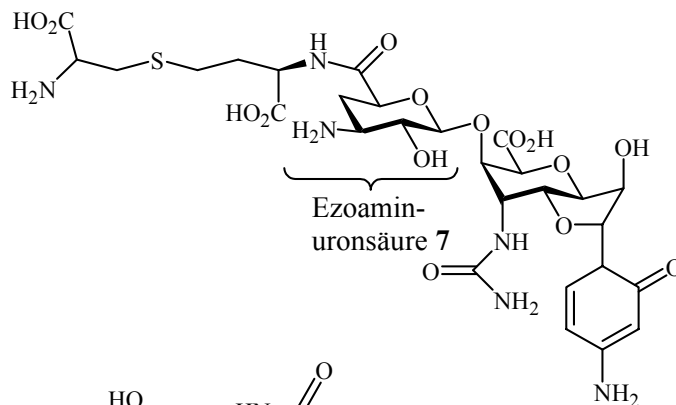
Glucosaminuronsäure **4**



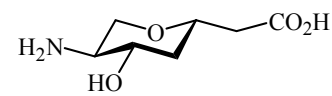
Mannosaminuronsäure **5**



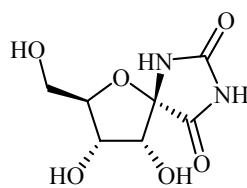
4-Amino-4-desoxy-glucuronsäure **6**



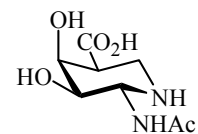
Ezoaminuronsäure **7**



Galantinsäure **8**



Hydanthocidin **9**



Siastatin B **10**

Abbildung 2.2: Auswahl an natürlichen Zuckeraminosäuren.

In dem von *Streptomyceten* produzierten, nucleosiden Antibiotikum Gougerotin fand man 4-Amino-4-desoxy-glucuronsäure **6**, die nucleosidisch mit Cytosin verknüpft ist.^[43, 46-49] Ein weiteres nucleosides Antibiotikum, in dem Zuckeraminosäuren wie die Ezoaminuronsäure **7** involviert sind, ist das Ezomycin A₁.^[50, 51] Die Galantinsäure **8** ist die einzige natürliche Zuckeraminosäure, die innerhalb eines Peptidrückgrats vorkommt.^[52] Sie entsteht unter

dehydratisierenden Bedingungen als Zersetzungsprodukt von Galantin I durch Zyklisierung der linearen Galantinamsäure. Galantin I ist ein antibakteriell wirkender Metabolit des *Bacillus pulviaciens*. (+)-Hydanthocidin **9** ist die einzige furanoide Zuckeraminosäure, die nicht von menschlicher Hand künstlich hergestellt wurde. Sie repräsentiert ein Spirohydanthoinderivat mit herbizider Aktivität.^[53-55] Ein Beispiel für eine natürliche Zuckeraminosäure, bei der der Stickstoff in den pyranoiden Ring integriert ist, stellt das Siastatin B **10** dar. Es wurde aus einer *Streptomyces*-Kultur isoliert und stellt einen Inhibitor sowohl für β -Glucuronidase als auch N-Acetylneuraminidase dar.^[56]

Als erste Zuckeraminosäure wurde 1955 von K. Heyns und H. Paulsen Glucosaminuronsäure und einige ihrer Derivate im Labor hergestellt.^[57] Die Synthese diente damals in erster Linie der Strukturaufklärung und der Erforschung von Bakterienzellwänden. Später wurden Zuckeraminosäuren auch zur Darstellung von Antibiotika eingesetzt. Mittlerweile gibt es unzählige, synthetisch hergestellte Zuckeraminosäuren. Eine Auswahl ist in Tabellen 2.1 für furanoide Zuckeraminosäuren und in Tabelle 2.2 für pyranoide Zuckeraminosäuren dargestellt. In unserem Arbeitskreis wurden bisher vorwiegend pyranoide Zuckeraminosäuren synthetisiert und untersucht, da die konformative Rigidität eines nur äquatorial substituierten Sechsrings eine stabilisierende Wirkung auf Cyclopeptide verspricht (Einschränkung des Konformationsraumes). Viele furanoide Zuckeraminosäuren werden in Form der Azidvorläuferverbindungen synthetisiert. So sind z. B. die furanoiden α -Zuckeraminosäuren nur in Form der Azidvorläuferverbindungen oder in der N-terminal geschützten Form stabil. In freier Form oder als Ester zeigen sie starke Anomerisierung in Lösung. Sie werden in der Regel erst kurz vor Umsetzung *in situ* zum Amin reduziert. S. Gruner aus unserem Arbeitskreis hat die zwei stabilen Fmoc-geschützten, furanoiden Zuckeraminosäuren **14** und **17** (siehe Tabelle 2.1) hergestellt und oligomerisiert.^[58, 4, 59] Umfangreiche Bibliotheken an furanoiden Zuckeraminosäuren wurden von den Arbeitsgruppen um J. P. T. Lansbury,^[34] G. W. J. Fleet,^[27, 60] T. K. Chakraborty^[3, 61] und Y. L. Merrer^[62] hergestellt. Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit liegt jedoch auf pyranoiden Zuckeraminosäuren, insbesondere auf dem Gumbaustein **32**, der erstmals 1994 von E. Graf von Roedern vorgestellt wurde^[12] (siehe Kapitel 2.3).

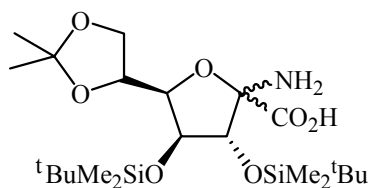
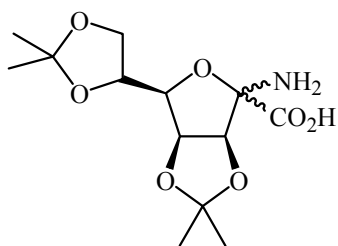
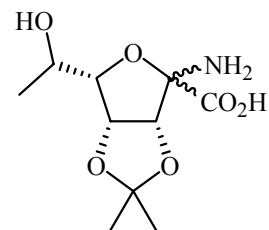
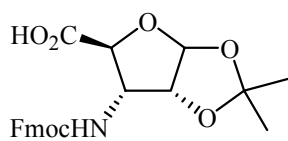
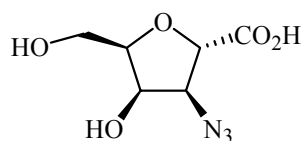
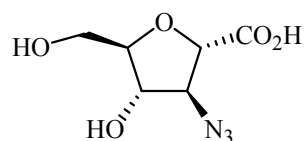
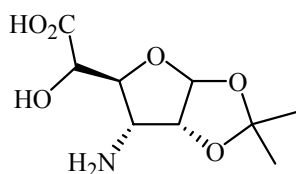
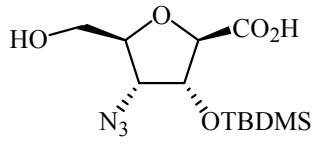
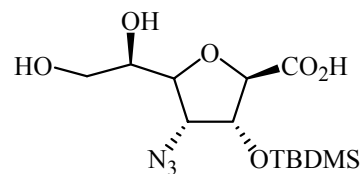
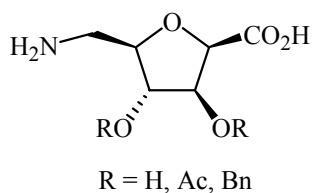
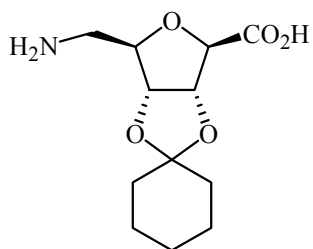
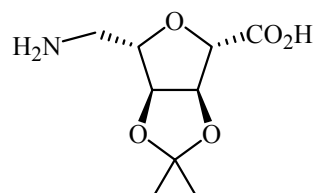
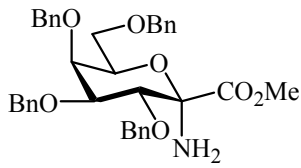
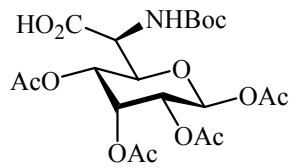
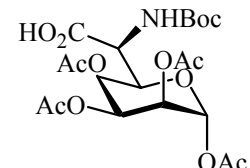
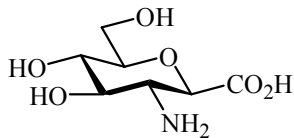
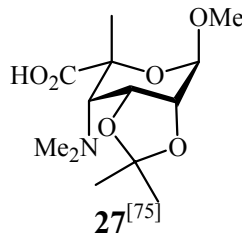
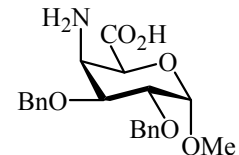
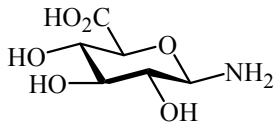
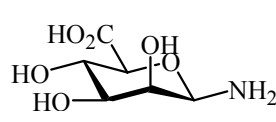
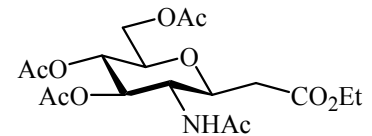
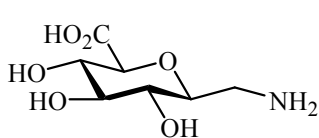
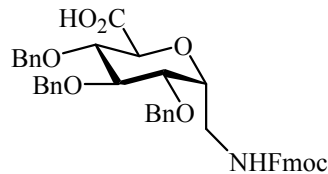
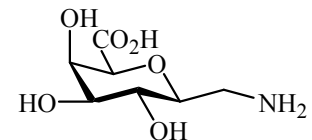
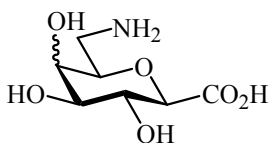
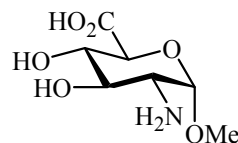
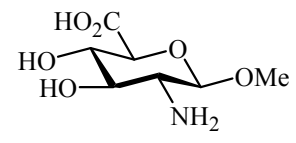
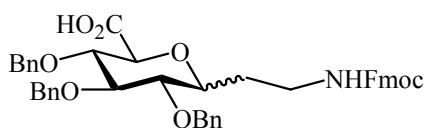
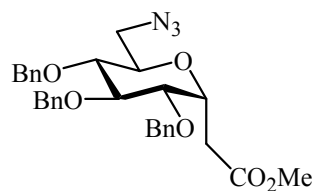
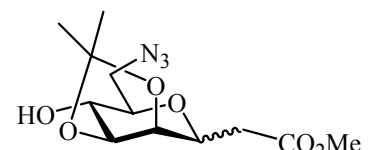
Tabelle 2.1: Auswahl an furanoiden Zuckerraminosäuren bzw. deren Vorläuferverbindungen. **α -Zuckerraminosäuren****11**^[63, 64]**12**^[65]**13**^[66] **β -Zuckerraminosäuren****14**^[4, 59]**15**^[32, 67]**16**^[32, 67] **γ -Zuckerraminosäuren****17**^[68, 4, 59]**18**^[32, 67]**19**^[32, 67] **δ -Zuckerraminosäuren****20**^[3, 62, 60, 69, 61]**21**^[60, 69]**22**^[60, 69]

Tabelle 2.2: Auswahl an pyranoiden Zuckeraminosäuren bzw. deren Vorläuferverbindungen. **α -Zuckeraminosäuren****23**^[20, 70, 71]**24**^[72]**25**^[72] **β -Zuckeraminosäuren****26**^[73, 74]**27**^[75]**28**^[76] **γ -Zuckeraminosäuren****29**^[77-80]**30**^[81, 82]**31**^[83] **δ -Zuckeraminosäuren****32**^[11, 12, 84]**33**^[79]**34**^[85, 86]**35**^[87]**36**^[57, 84]**37**^[84] **ϵ -Zuckeraminosäuren****38**^[79]**39**^[34]**40**^[34]

2.2 Funktion und Eigenschaften von Zuckeraminosäuren

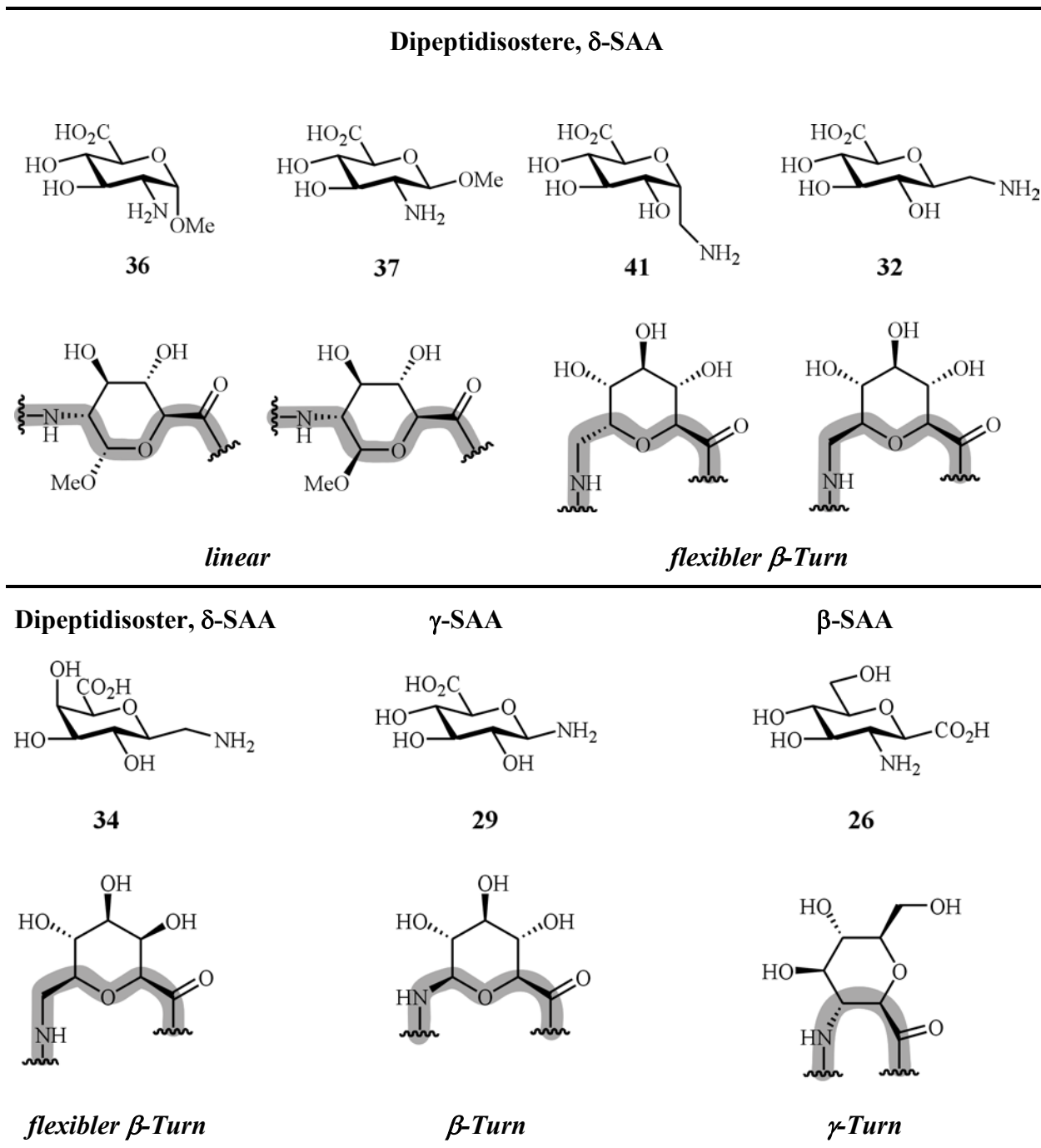
Zuckeraminosäuren werden als Schleifen- bzw. *Turn*-Mimetika^[1, 2, 11, 12, 88], peptidmimetische und glycomimetische Gerüststrukturen (*scaffolds*)^[1, 2, 89] und in der kombinatorischen Chemie^[34, 89-91] eingesetzt.

2.2.1 Zuckeraminosäuren als Peptid- und *Turn*-Mimetika

Die Entwicklung von Peptidmimetika, die günstigere pharmakologische Eigenschaften als ihre peptidischen Leitstrukturen besitzen, ist Gegenstand der Forschung. Der Begriff Peptidmimetika umfasst zunächst einmal Peptide, in denen nur einzelne Atome oder Atomgruppen aus den Seitenketten oder dem Peptidrückgrat der natürlichen Peptide verändert oder ersetzt wurden. Aber auch Strukturen, die mit ihrer peptidischen Leitstruktur, abgesehen von generellen Ähnlichkeiten der funktionellen Gruppen, nur noch den Aspekt der physiologischen Wirkung gemeinsam haben, können als Peptidmimetika bezeichnet werden. Es handelt sich hierbei für gewöhnlich um kleine, nichtpeptidische Moleküle.

Eine vielversprechende Klasse an Peptidmimetika stellt die Gruppe der Zuckeraminosäuren dar. Der Einfluß der Zuckeraminosäuren auf die Konformation von Peptiden ist abhängig von der Anordnung der Amino- und Carboxylfunktionen am furanoiden oder pyranoiden Ring. Ferner haben die funktionalisierbaren Hydroxygruppen oder andere Substituenten am Ring Einfluß auf die Konformation. Zuckeraminosäuren besitzen (abgesehen von ihren geschützten Derivaten) fast alle gleiche Lösungseigenschaften und ähnliche Raumstrukturen. Zuckeraminosäuren erlauben daher die Ausarbeitung eines einheitlichen Konzepts zur gezielten Fixierung unterschiedlicher Konformationen in Peptiden. Der in unserem Arbeitskreis entwickelte, umfangreiche Baukasten an *Turn*- bzw. Peptidmimetika, mit dem sich Peptidkonformationen in abgestufter Weise einschränken lassen, ist in Tabelle 2.3 zu sehen. Die Einstufung erfolgt hierbei nicht nur nach der auszubildenden oder zu induzierenden Raum- bzw. Schleifenstruktur (*Turn*-Eigenschaften), sondern auch nach der Positionierung der Amino- und Carboxylfunktion am Ring (α -, β -, γ - und δ -SAA). Manche, in Tabelle 2.3 aufgelisteten Zuckeraminosäuren haben die Eigenschaft eines Dipeptidisosters, d. h. ihre Amino- und Carboxylgruppen nehmen die Positionen des N- bzw. C-terminalen Restes eines Dipeptids ein, bei dem die Amidbindung durch eine andere Verknüpfung ersetzt wird. Auch diese Eigenschaft wurde in Tabelle 2.3 berücksichtigt. Alle in Tabelle 2.3 aufgeführten Zuckeraminosäuren liegen in der starren Sesselkonformation 4C_1 vor.

Tabelle 2.3: Überblick über die in diesem Arbeitskreis hergestellten pyranoiden Zuckeraminosäuren.



Auf multifunktionelle Gunderivate, die analoge *Turn*-Eigenschaften wie **32** aufweisen, wird gesondert eingegangen (siehe Kapitel 2.2.2, 2.2.3 und 2.3). Die Zuckeraminosäuren **36** und **37** wurden von E. Graf von Roedern^[84] hergestellt. Ein Vergleich der Seitenketten von SAA **36** mit denen eines natürlichen Dipeptids zeigt eine strukturelle Verwandtschaft mit der D-Ser-Ser-Sequenz. Der Einbau dieses Bausteins in das lineare Enkephalinanalogon H-Tyr-SAA**36**-Phe-Leu-OMe sowie in zwei HIV-Proteaseinhibitoren zeigten keine bzw. nur sehr schwache

biologische Aktivität. Die Konformation dieser Peptidanaloga ist gestreckt und zeigt wie erwartet keine Schleifenbildung.

Die Zuckeraminosäure **29** wurde von E. Lohof^[79] eingehend untersucht und in Somatostatinanaloga wie *cyclo*(-SAA**29**-Phe-D-Trp-Lys(Boc)-Thr(^tBu)-) **42** eingebaut. Wegen der fehlenden hydrophoben Benzylethergruppen fiel die biologische Aktivität erwartungsgemäß gering aus. Durch die von G. Heßler in unserem Arbeitskreis durchgeführte Konformationsanalyse konnte eine Eignung von SAA **29** als Dipeptidisoester und β -Turn-Mimetikum nachgewiesen werden^[92] (Abbildung 2.3).

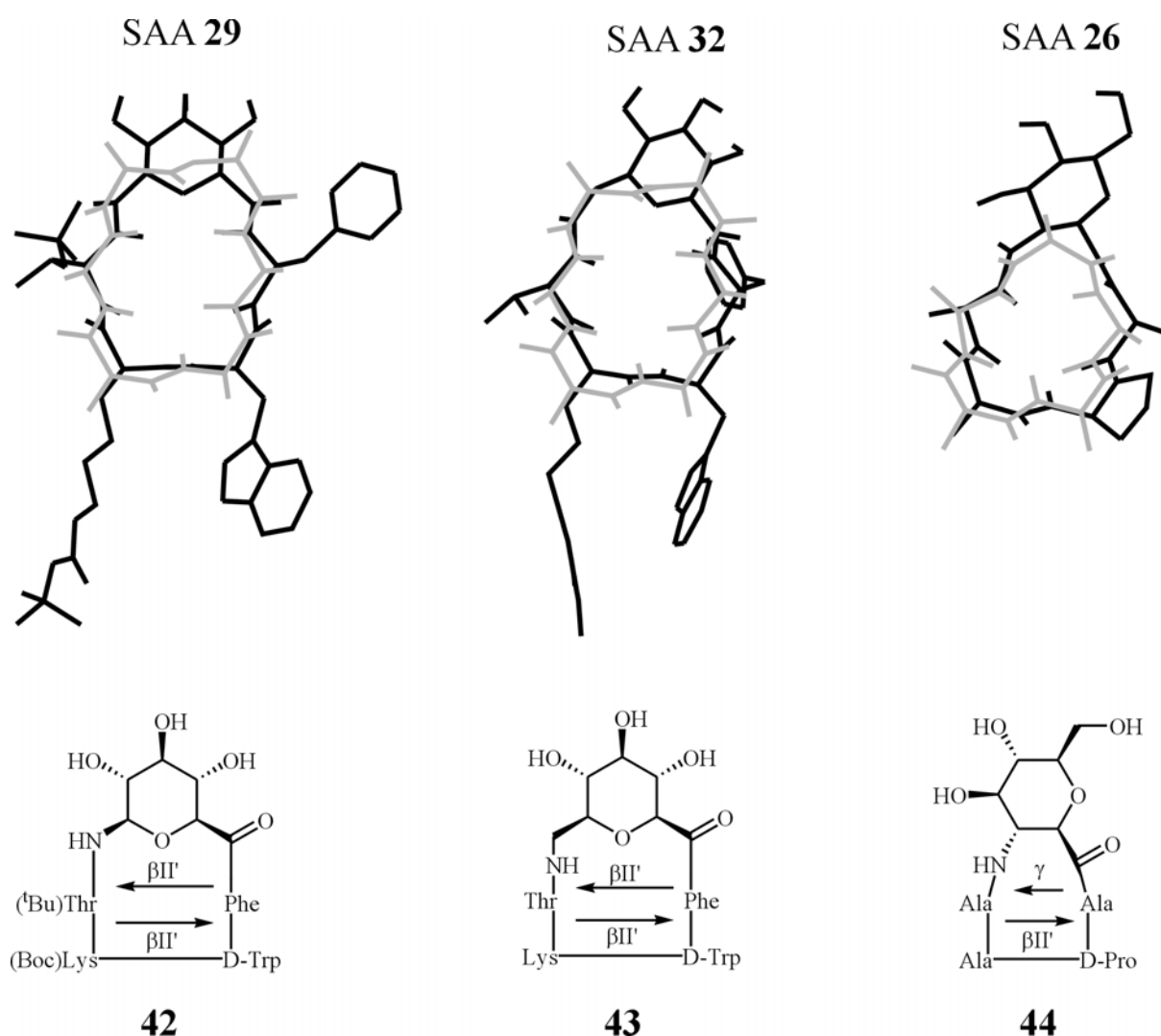


Abbildung 2.3: Überlagerung der Rückgratstrukturen der zyklischen Peptide **42**, **43** und **44**, die die Zuckeraminosäuren, **29**, **32** bzw. **26** enthalten mit den rein-peptidischen Rückgratstrukturen einer idealisierten β II'/ β II'-Anordnung (grau hinter den Zyklen **42** und **43** hinterlegt) bzw. einer β II'/ γ -Turn-Struktur (grau hinter dem Zyklus **44** hinterlegt).

Das Peptid *cyclo(-SAA32-Phe-D-Trp-Lys-Thr-)* **43** weist eine sehr ähnliche Struktur mit zwei β II'-Schleifen auf wie sein Pendant **42** (Abbildung 2.3). Der Gumbaustein **32** besetzt erwartungsgemäß die Positionen i+1 und i+2 in einer der beiden Schleifen. Obwohl dem Cyclopeptid **43** eine aktivitätssteigernde, lipophile Seitenkette fehlt, zeigt es eine nur um den Faktor 75 niedrigere Aktivität als die Leitstruktur *cyclo(-Phe-Pro-Phe-D-Trp-Lys-Thr-)* **45**. Gemessen wurde hierbei die Inhibierung des spezifisch rezeptorgebundenen Radioliganden [¹²⁵I]-Tyr¹¹Somatostatin-14 durch die Somatostatinanaloga an Zellmembranen AtT20, die aus einer aus Mäusehypophyse gewonnen Zelllinie erhalten wurden.

Die Zuckeraminosäure **26** wurde erstmals nach der von V. Wittmann entwickelten Dianionenmethode von M. Hoffmann^[74] aus unserem Arbeitskreis synthetisiert. M. Born baute diesen Baustein in seiner ungeschützten als auch benzylgeschützten Form in verschiedene Somatostatinanaloga ein.^[73] Ein von M. Hoffmann synthetisiertes Modellpeptid *cyclo(Ala-SAA26-Ala-D-Pro-Ala-)* **44** wurde von G. Heßler gerechnet^[92] (Abbildung 2.3). Wie erwartet liegt die Zuckeraminosäure in der Position i+1 eines aufgeweiteten γ -Turns. Die übrigen vier Aminosäuren sind in dieser Konformation in einem β II'-Turn angeordnet (D-Pro in i+1). Eine ähnliche Struktur nimmt die Hauptkonformation des von M. Born hergestellten Somatostatinanalogons *cyclo(-Thr-SAA26(Bn)₃-Tyr-D-Trp-Lys-)* ein. Diese Hauptkonformation steht über eine cis/trans-Isomerisierung der Peptidbindung zwischen SAA **26** und Tyr mit einer Nebenkongformation im Gleichgewicht. Das Cyclopeptid hat eine zytostatische Aktivität in einer Tumorzelllinie, allerdings keine Apoptose-induzierende Wirkung.

Die erste nichtzyklische, peptidische β -Haarnadelstruktur, die eine Zuckeraminosäure enthält, wurde letztes Jahr von der Arbeitsgruppe um J. H. van Boom publiziert^[17]. Die Autoren setzten die mit dem Gumbaustein **32** verwandte Zuckeraminosäure **46** ein, um einen β -Turn in der Polypeptidkette AcKKYTVSI-SAA**46**-KKITVSI **47** zu stabilisieren (Abbildung 2.4).

Ein weiteres, wegweisendes Beispiel für den Einsatz von Zuckeraminosäuren als Peptidmimetika stammt ebenfalls aus der Arbeitsgruppe um J. H. van Boom.^[18] Die Autoren konnten durch Substitution aliphatischer Aminosäuren durch die Zuckeraminosäure **46** (\Rightarrow Produkt **48**) und deren 2,6-cis-Isomer **49** (\Rightarrow Produkt **50**) in einem pre-Ras Proteinfsegment einen potenten Inhibitor für die Protein:Farnesyltransferase synthetisieren (Abbildung 2.5). Dieser Inhibitor kann bei der Bekämpfung bestimmter Dickdarm- und Bauchspeicheldrüsentumoren eine entscheidende Rolle spielen.

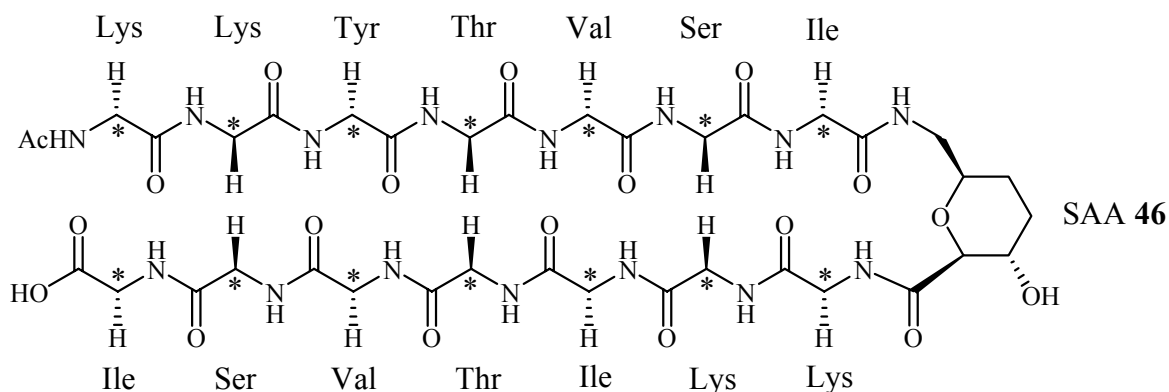


Abbildung 2.4: β -Haarnadelstruktur des Polypeptids 47.^[17] Abgebildet ist nur das Rückgrat. Die Seitenketten wurden der besseren Übersicht halber weggelassen und nur durch einen Stern markiert.

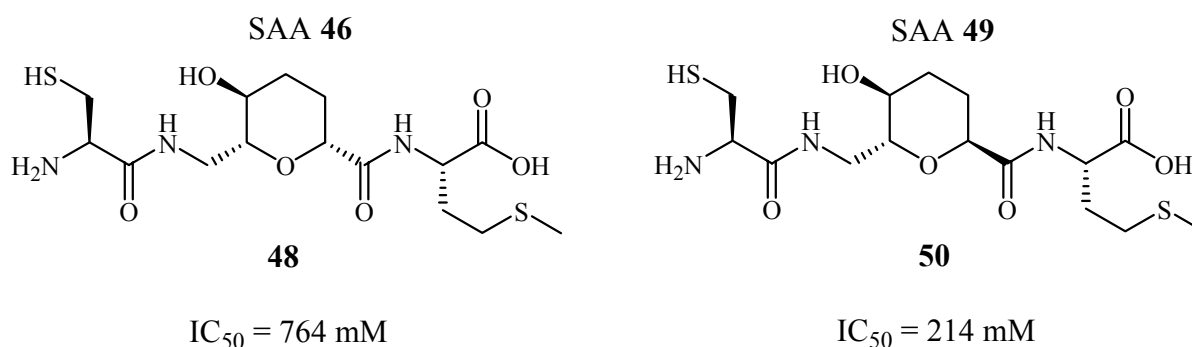


Abbildung 2.5: Strukturen und IC_{50} -Werte der Protein:Farnesyltransferase-inhibitoren 48 und 50.^[18]

2.2.2 Zuckeraminosäuren und Kohlenhydrate als Gerüstmetika (*Scaffolds*)

Pyranoide Zuckeraminosäuren eignen sich neben ihrem Einbau in Peptidketten aufgrund ihrer starren Sesselkonformation besonders gut als Gerüstmetika. Bei Gerüstmetika sind an einem meist völlig artfremden Rückgrat die für die Bindung an die Zielstruktur erforderlichen Seitenkettenelemente des Referenzpeptids verankert. Man erhofft sich durch Einsatz von Gerüstmetika, die orale Bioverfügbarkeit biologisch aktiver Peptidvorläuferverbindungen zu steigern. Wichtig bei Gerüstmetika ist die relative Starrheit ihrer Konformationen, die

ein Zusammenfallen der Struktur zu einer inaktiven Konformation verhindern soll. Aus diesem Grund werden die relativ flexiblen furanoiden Zuckeraminosäuren in geringerem Maß als Gerüstmetika eingesetzt.^[93]

Erste Gedanken in die Richtung von Gerüstmetika wurden 1980 von P. S. Farmer angestellt, der aufgrund von thermodynamischen Betrachtungen postulierte, dass sich rigide, stark vereinfachte Gerüststrukturen, versehen mit funktionellen, peptidischen Gruppen, als Gerüstmetika eignen sollten.^[94]

Das wohl bekannteste Beispiel für ein Gerüstmetikum auf Kohlenhydratbasis ist das Beispiel aus dem Jahr 1993 von R. Hirschmann et al.^[95] (Abbildung 2.6): Ausgehend von β -D-Glucose wurde ein Peptidmetikum **51** synthetisiert, bei dem die drei entscheidenden funktionellen Seitenketten an den Positionen i , $i+1$ und $i+2$ des β -Turns des hochaktiven, zyklischen Somatostatinanalogons *cyclo*(-Pro-Phe-Thr-Lys-D-Trp-Phe-) **45** an dem pyranoiden Kohlenhydratgerüst verankert wurden.

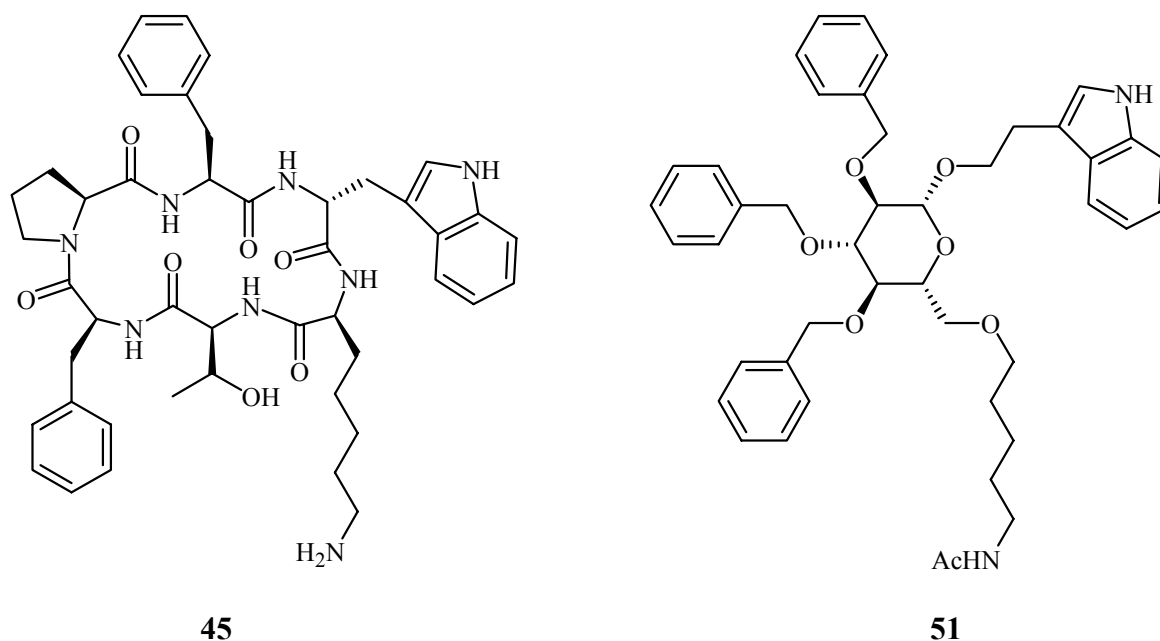


Abbildung 2.6: Zyklisches Hexapeptid **45** als Vorbild für das Gerüstmetikum **51**.^[95]

Das Glucosegerüst ersetzt somit das gesamte Rückgrat des zyklischen Hexapeptids. Die biologische Aktivität blieb teilweise erhalten, obwohl sämtliche Amidbindungen ersetzt oder eliminiert wurden. Einzige Grundvoraussetzung war, dass die relativen Positionen der funktionellen Gruppen der Seitenketten erhalten blieben. Dieses bekannte Beispiel der

systematischen Reduzierung einer Grundgerüststruktur unter Beibehaltung der pharmakophoren Seitenketten lieferte einen maßgeblichen Beitrag zum Verständnis der Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Somatostatinanaloga.

Auch in unserem Arbeitskreis wird auf dem Gebiet der Kohlenhydrat-Gerüstmimetika geforscht. So hat J. Boer Gerüstmimetika auf der Grundlage von β -D-Mannose synthetisiert.^[96, 97] Diese stellen nichtpeptidische Mimetika der natürlichen Liganden VCAM-1 und MAdCAM-1 der $\alpha_4\beta_1$ - und $\alpha_4\beta_7$ -Integrinrezeptoren dar. Diese Arbeiten werden derzeit von E. Locardi und A. Modlinger fortgeführt.

Neben den zahlreichen Kohlenhydrat-Gerüstmimetika gibt es auch Beispiele für Zuckeraminosäuren als zentrales Strukturtemplat. So konnte R. Hirschmann in Kooperation mit A. B. Smith III und B. S. Cooperman eine Zuckeraminosäure weiter derivatisieren und in ein Peptid einbauen.^[98] Zusätzlich zu den Aminosäuren, die mit der Amino- und Carboxylfunktion der Zuckeraminosäure verknüpft waren, wurden weitere Pharmakophore am Zucker verankert. Heraus kam ein Inhibitor **52** der Mammalian Ribonucleotid Reduktase (mRR), der sich an der Bindungskonformation des Heptapeptides N-AcFTLDADF **53** orientierte (Abbildung 2.7).

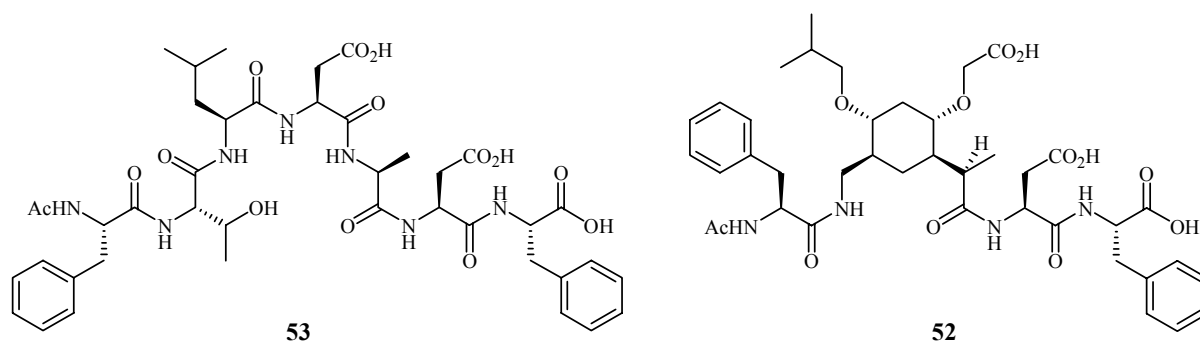


Abbildung 2.7: Zuckeraminosäure-Gerüstmimetikum **52** als Inhibitor von mRR, abgeleitet vom Peptidvorbild **53**.

1998 stellte M. Sofia die beiden Zuckeraminosäuren **54** und **55** vor, die als Templatmoleküle im Rahmen einer kombinatorischen Synthese zur Fixierung von potentiellen pharmakophoren Substituenten dienen^[99] (Abbildung 2.8). Mit einer freien Hydroxygruppe, einer Fmoc-geschützten Aminogruppe und einer Carboxylgruppe besitzen diese Gerüststrukturen drei Ankergruppen, an die selektiv pharmakophore Gruppen angebracht werden können. Einen ähnlichen Ansatz, multifunktionalisierbare Zuckeraminosäuren herzustellen, wählte C. Mang

aus unserem Arbeitskreis, der die beiden Gumberivate **56** und **57**, die zusätzlich in 4- bzw. 2-Position des Ringes eine weitere Boc-geschützte Aminogruppe enthalten, synthetisierte^[86] (Abbildung 2.8).

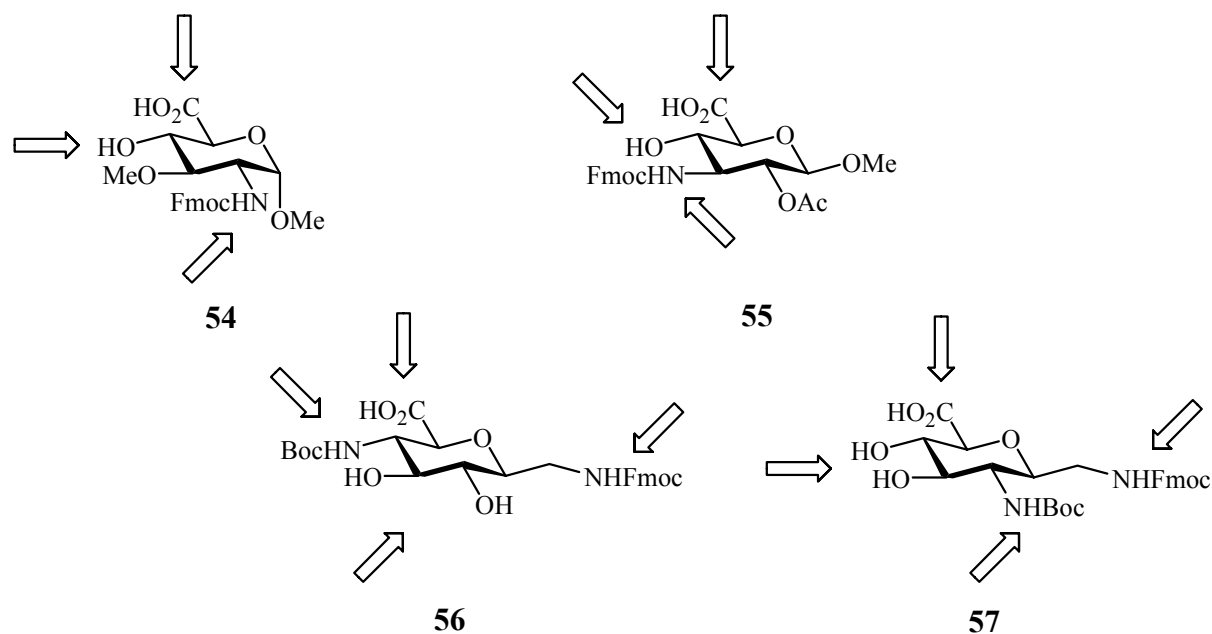


Abbildung 2.8: Zuckeraminosäuren mit mehreren Angriffspunkten.

2.2.3 Zuckeraminosäuren als Kohlenhydratmimetika

Zuckeraminosäuren lassen sich nicht nur als Peptid- und Gerüstmimetika einsetzen, sondern auch als Kohlenhydratmimetika. Hierbei werden die Zuckeraminosäuren meist unter dem Gesichtspunkt der (Homo-)Oligomerisierung betrachtet, um Oligosaccharide nachzuahmen. Die zentrale Aufgabe liegt in der Erschließung neuer Synthesewege und der Untersuchung, inwieweit diese Oligosaccharidmimetika Sekundär- bzw. Tertiärstrukturen ausbilden oder von biologischen Systemen erkannt werden. Zuckeraminosäurenoligomere werden als potentielle Antimetaboliten von synthetisch schwerer zugänglichen Oligosacchariden angesehen.

Die ersten noch in der Kettenlänge unbestimmten Zuckeraminosäurenoligomere wurden 1976 durch unselektive Polykondensation von E.-F. Fuchs, und J. Lehmann erhalten^[100] (Abbildung 2.9). Die Charakterisierung erfolgte hierbei noch ausschließlich über Massenspektrometrie. Strukturaussagen z. B. über NMR-Untersuchungen waren noch nicht

möglich. Seitdem wurden zahlreiche Zuckeraminosäurenoligomere publiziert, auf die hier nur punktuell eingegangen werden kann.

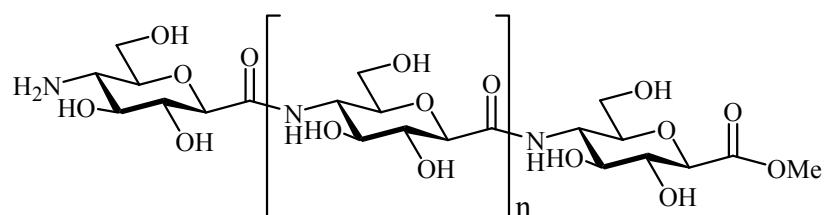


Abbildung 2.9: Erste Zuckeraminosäurenoligomere.^[100] ($n = 0, 1, 2$ oder 3)

Oligomere der α -2-Aminoglucuronsäure wurden von den Arbeitsgruppen um P. Fügedi^[36] ($R = \text{Me}$, Oligomer **58** in Abbildung 2.10a) bzw. P. Wessel^[101] ($R = \text{Bn}$, Oligomer **59** in Abbildung 2.10a) publiziert.

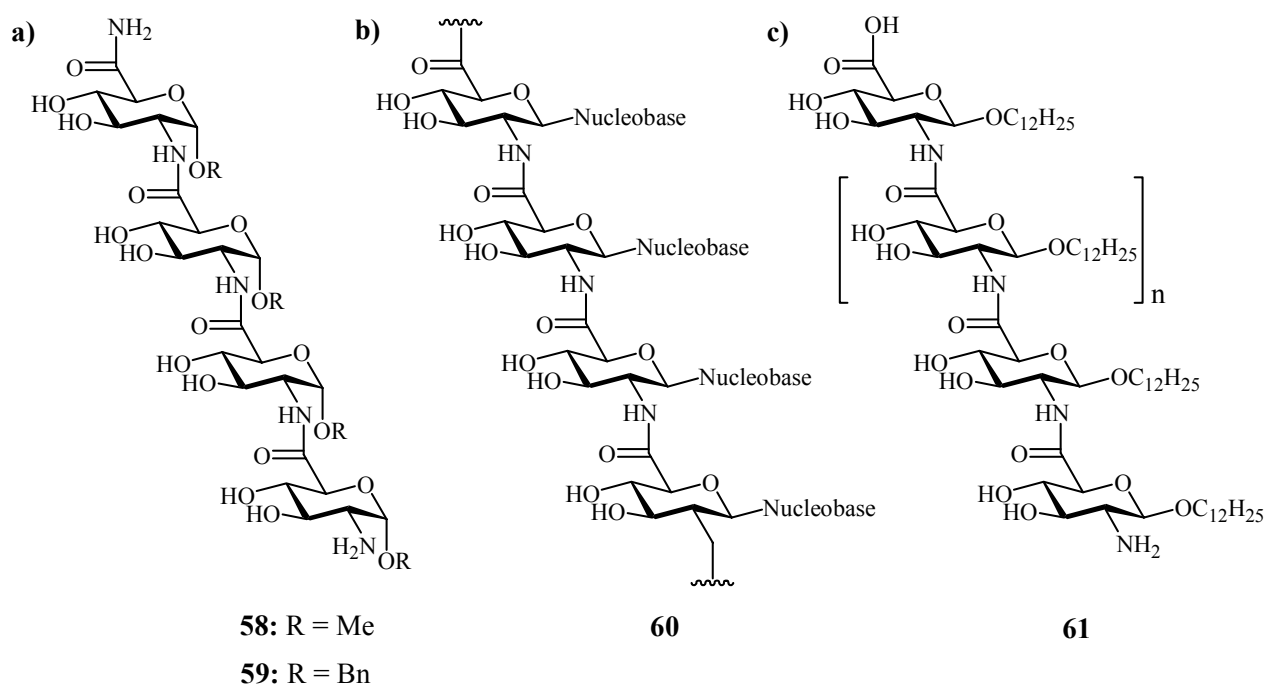


Abbildung 2.10: a) Oligomere **58** ($R = \text{Me}$) und **59** ($R = \text{Bn}$) der α -2-Aminoglucuronsäure. b) α -2-Aminoglucuronsäure als GNA-Rückgrat. c) Polymere höherer Alkylglycoside der β -2-Aminoglucuronsäure.

Das analoge β -Zuckeraminosäurerückgrat wurde von R. A. Goodnow verwendet, um Oligonucleotidanaloga **60** darzustellen^[102, 103] (Abbildung 2.10b). Diese auch unter dem Namen Glucopyranosyl-Nucleinsäure-Amide (GNA) bekannte Gruppe ist das Pendant zu den

Peptidnukleinsäuren (PNA). Interessante Oberflächeneigenschaften zeigen Polymere **61** höherer Alkylglycoside der β -2-Aminoglucuronsäure, die von der Arbeitsgruppe um S.-I. Nishimura vorgestellt wurden^[104] (Abbildung 2.10c). Die Polymere haben Molmassen zwischen 700 und 4500 Daltons und bilden *Monolayer* auf Wasseroberflächen.

Im Hinblick auf medizinische Anwendung interessante Zuckeraminosäureoligomere sind die in der Arbeitsgruppe von Y. Ichikawa synthetisierten, sulfatiserten Oligomere **62**^[105] und **63**^[25] (Abbildung 2.11). Die Autoren homooligomerisierten die mit dem Gumbaustein verwandten Zuckeraminosäure **64** und lieferten gleichzeitig den Nachweis biologischer Eigenschaften des sulfatiserten Oligomers **62**. Dieses ist ein potenter Inhibitor der HIV-Replikation ($IC_{50} = 1 \mu\text{m}$). Das gleiche gilt für das sulfatisierte Tetramer **63** ($IC_{50} = 50 \mu\text{m}$) der Zuckeraminosäure **26**. Beide Oligomeren sind naturgemäß gegen Glycosidasen stabil und stellen somit eine interessante Alternative zu den Heparinderivaten dar. Neben den Homooligomeren **62** und **63** synthetisierten die Mitarbeiter um Y. Ichikawa auch noch die Homooligomeren **65** und **66** der Zuckeraminosäuren **67** bzw. **68** (Abbildung 2.11). Die Homooligomeren wurden NMR-spektroskopisch untersucht, zeigten jedoch keine Sekundärstrukturen, d. h. die NMR-Spektren der Oligomeren unterschieden sich nicht von denen der entsprechenden Monomerbausteine.

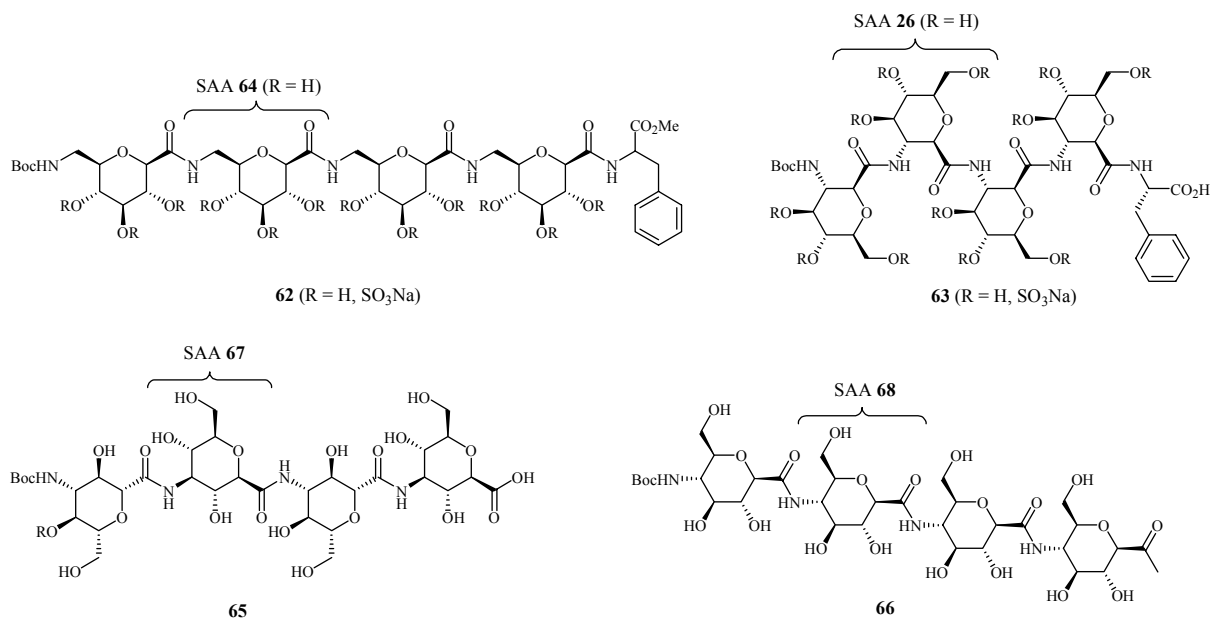


Abbildung 2.11: Homotetramere der Zuckeraminosäuren **26**, **64**, **67** und **68**.

Eines der ersten Beispiele für eine stabile Sekundärstruktur eines Homooligomers einer pyranoiden Zuckeraminosäure in Wasser wurde 1998 von der Arbeitsgruppe um J. Gervay

präsentiert^[15] (Abbildung 2.12). Die Autoren synthetisierten Di- bis Oktamere der Neuraminsäure und konnten über NMR-spektroskopische Bestimmung des H/D-Austausches der Amidprotonen sowie über CD-Spektroskopie die Veränderung der Sekundärstruktur in Abhängigkeit von der Kettenlänge nachweisen. Umfangreiche Strukturuntersuchungen von Oligosaccharidmimetika wurden in den Arbeitskreisen um S. H. Gellman^[106] und G. W. J. Fleet^[60] durchgeführt.

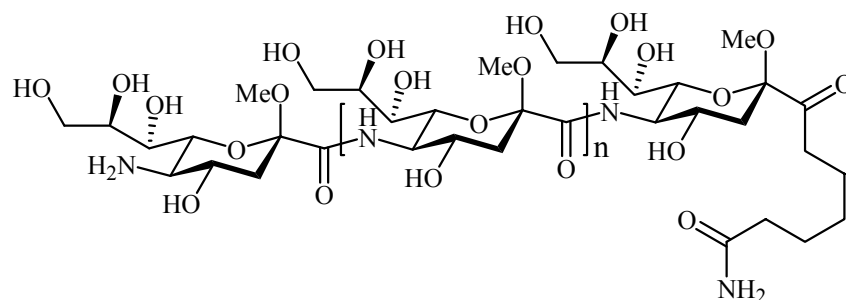


Abbildung 2.12: Amidverknüpfte Sialooligomere.^[15] ($n = 0 - 6$)

1997 oligomerisierten die Mitarbeiter von J. H. van Boom erstmals eine glycosylierte Zuckeraminosäure und stellten ein zuckeraminosäurehaltiges Glycan her^[107] (Abbildung 2.13). Die Autoren konnten gleichzeitig zeigen, dass das amidische Glycan **69** nicht mehr über die biologische Aktivität des natürlichen Vorläufers **70** verfügt. Hierfür könnten die starren Amidbindungen verantwortlich sein, die vermutlich einen entscheidenden Einfluß auf die Konformation und Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen haben.

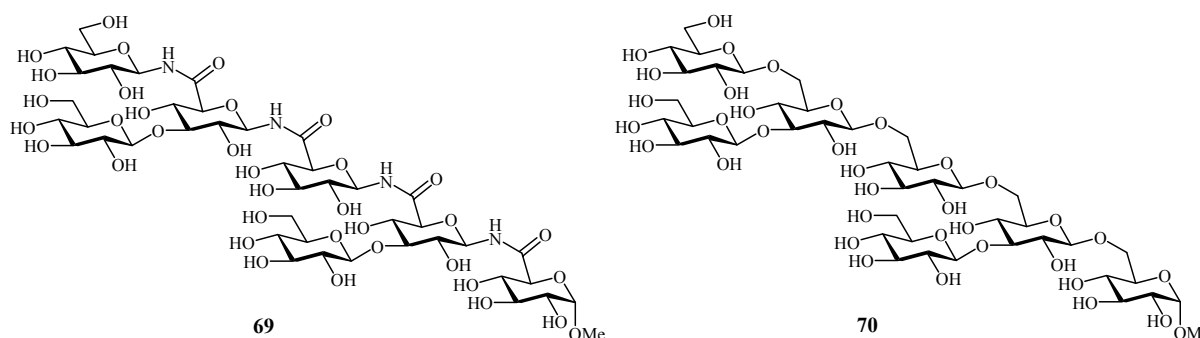


Abbildung 2.13: Zuckeraminosäurehaltiges Glycan **69** und sein natürlicher Vorläufer **70**.

Das erste Beispiel für amidische Verzweigungseinheiten in Oligosaccharidmimetika ist das von C. Mang synthetisierte, verzweigte Zuckeraminosäureheterooligomer **71**^[86] (Abbildung 2.14).

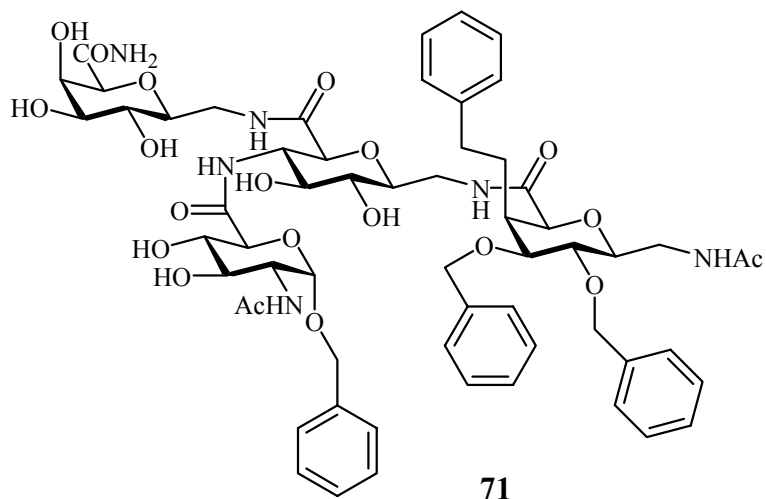


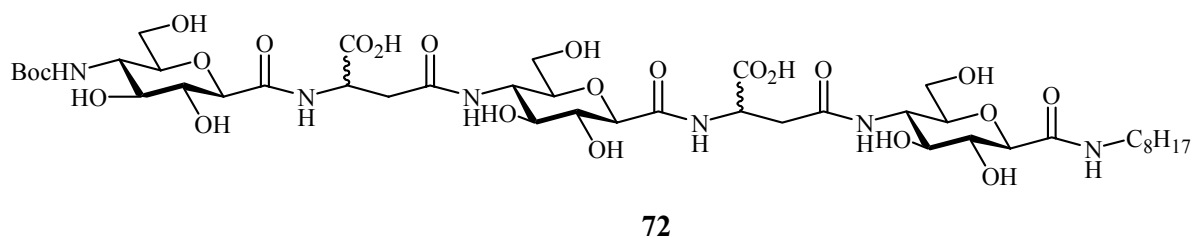
Abbildung 2.14: Verzweigtes Zuckeraminosäureheterooligomer **71**.

Die ersten zyklischen Zuckeraminosäurehomooligomere, die als Cyclodextrinmimetika angesehen werden können, wurden von E. Locardi in unserem Arbeitskreis synthetisiert.^[13] Da es sich um Homooligomere des ungeschützten Gum-Bausteins handelt, werden sie in Zusammenhang mit Gum in Kapitel 2.3.4 näher erläutert.

2.2.4 Zuckeraminosäuren in Verbindung mit natürlichen Aminosäuren

Von großem Interesse sind nicht nur Homooligomere von Zuckeraminosäuren, sondern auch Oligomere, in denen alternierend Zuckeraminosäuren mit normalen Aminosäuren kombiniert sind. So konnte Y. Ichikawa 1997 zeigen, dass die Kombination von Zuckeraminosäuren mit natürlichen Aminosäuren auch biologisch interessant sein kann.^[108] Oligomere **72**, die alternierend aus der Zuckeraminosäure 4-Amino- β -1-carboxy-D-glucose und β -Asparaginsäure bestehen (Abbildung 2.15a), konnten die Metastatisierung von Tumorzellen unterbinden. Es konnte sowohl die Zelladhäsion an Vitronectin bindende Zellen als auch die Invasion von Tumorzellen unterdrückt werden. β -Asparaginsäure wurde dabei sowohl in der L- als auch in der D-Form eingesetzt, wobei sich die L-Form als etwas wirkungsvoller erwies.

a)



b)

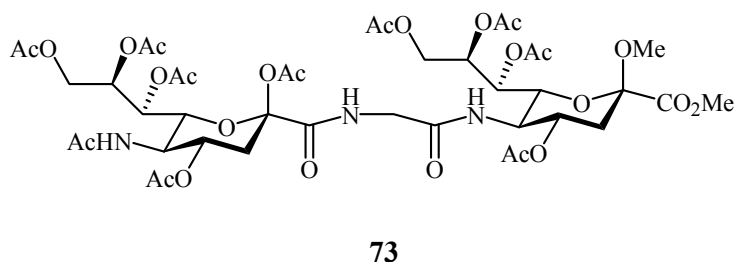


Abbildung 2.15: a) Zuckeraminosäure-Aminosäure Konjugat **72** mit unterbindender Wirkung gegenüber der Metastatisierung von Tumorzellen. b) schwach wirkender Sialidaseinhibitor **73**.

Die Gruppe um J. Gervay konnte zeigen, dass Neuraminsäurebausteine alternierend verknüpft mit Glycin (\Rightarrow **73**; Abbildung 2.15b) eine schwach inhibierende Wirkung auf *clostridial* Sialidase haben^[16].

Zuckeraminosäure-Aminosäure-Konjugate sind nicht nur unter biologischem Aspekt, sondern auch strukturell sehr interessant. So zeigt das von S. Gruner hergestellte alternierende, lineare Oligomer **74** aus einer furanoiden β -Zuckeraminosäure in Kombination mit β -Alanin eine für β -Aminosäuren typische rechtsdrehende 12/10/12-Helix^[58, 2] (Abbildung 2.16a). Das entsprechende, zyklisierte Produkt **75** zeigte im Rahmen der NMR-Zeitskala eine hochsymmetrische C3-Symmetrie (Abbildung 2.16b).

Zyklisierte Zuckeraminosäure-Aminosäure-Konjugate wurden zudem von Mitarbeitern des Arbeitskreises um J. H. van Boom publiziert^[19] (Abbildung 2.17). Die Autoren wählten hierbei wieder eine furanoide Zuckeraminosäure, kombinierten diese jedoch nicht nur alternierend (Zyklen **76-79** in Abbildung 2.17), sondern verknüpften auch ein SAA-Dimer mit Dipeptiden (Zyklen **80** und **81** in Abbildung 2.17).

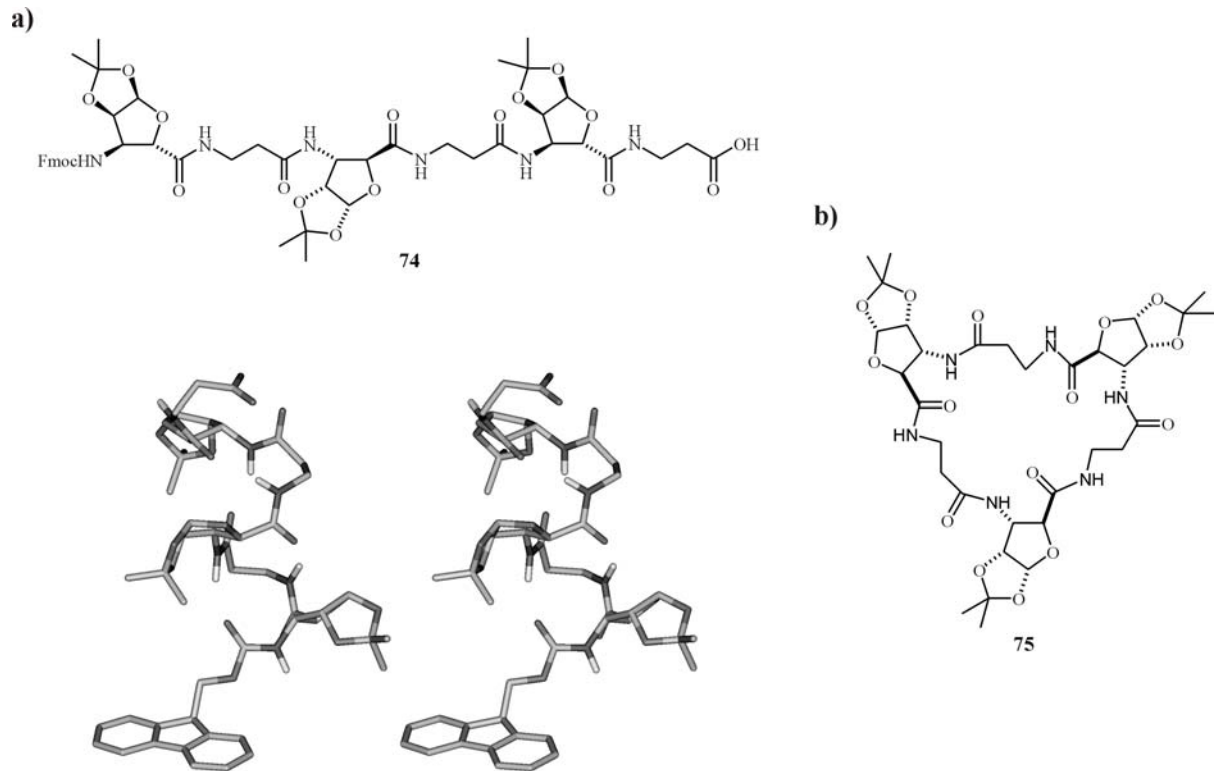
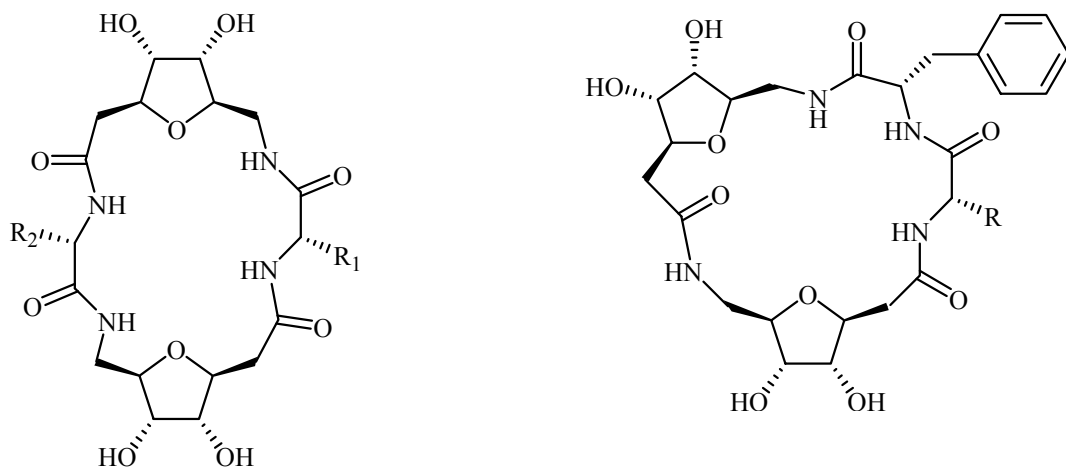


Abbildung 2.16: a) Stereobild der 12/10/12-Helix-Struktur des linearen, alternierenden Oligomers **74**. b) C₃-symmetrisches Zyklisierungsprodukt **75**.



	R₁	R₂
76	H	H
77	H	Bn
78	CH ₃	Bn
79	Bn	Bn

	R
80	H
81	CH ₃

Abbildung 2.17: Zyklische Heterooligomere von van Boom.^[19]

Wie erste NMR-Studien an Verbindung **81** zeigten, liegt eine bevorzugte Konformation dieses Zyklus vor. Eine auf Grundlage von NMR-Daten berechnete Struktur steht noch aus. Ferner wurden bisher noch nie alternierende Zyklen publiziert, in denen pyranoide Zuckeraminosäuren involviert waren. Diese Lücke wurde im Rahmen dieser Arbeit und der daraus hervorgegangenen Publikation^[109] geschlossen (siehe Kapitel 3). Dabei wurden nicht nur Tetramere, wie in der Arbeitsgruppe von J. H. van Boom synthetisiert, sondern auch Hexamere. Zyklen dieses Typs sind denkbare Moleküle für Wirt-Gast-Strukturen analog denen der Cyclodextrine.^[110-116]

Durch Einbau von Aminosäuren mit funktionellen Seitenketten (z. B. Lysin), wie es im Rahmen der vorliegenden Arbeit geschehen ist, wäre ein Einsatz dieser Zyklen als Transportmoleküle für Wirkstoffe im Organismus möglich. Ferner ließen sich derartige Templatmoleküle auch für das von M. Mutter und G. Tuchscherer entwickelte TASP-Konzept^[8-10] verwenden. Das Konzept setzt sich zum Ziel, das bisher ungelöste Faltungsproblem der Proteinchemiker, d. h. aus der linearen Proteinsequenz unmittelbar auf die unverwechselbare, dreidimensionale Struktur zu schließen oder umgekehrt, zu umgehen. Es ist eine Strategie zur Konstruktion von künstlichen Proteinen, die die Gesetzmäßigkeiten der Proteinstruktur mit den Möglichkeiten der synthetischen Organischen Chemie konzeptionell verbindet. Nach dem TASP-Konzept werden amphiphile, sekundärstrukturbildende Peptidblöcke auf einem topologisch maßgeschneiderten Templatmolekül kovalent gebunden. Dabei hat das Templatmolekül die Aufgabe, die Peptidketten zu einer ähnlichen Packungsordnung wie in Proteinen zu dirigieren, indem es zum einen die intramolekularen Wechselwirkungen der kovalent fixierten Peptidblöcke begünstigt und zum anderen aufgrund der räumlichen Anordnung der funktionellen Gruppen die Packungstopologie des TASP-Moleküls festlegt. Das Trägermolekül hat sowohl die Aufgabe als „Quervernetzer“ strukturstabilisierend zu wirken als auch als Templat für die zu entwerfende dreidimensionale Konformation des Moleküls zu dienen. Es hat eine strukturinduzierende Wirkung auf die verankerten Polypeptidketten. Die resultierenden Makromoleküle werden entsprechend ihrem strukturellen Aufbau als Templat-assoziierte synthetische Proteine (TASP) bezeichnet. In Abbildung 2.18a werden als Beispiel schematisch zwei β -Faltblattstränge und ein α -Helixblock auf einem trifunktionellen Templatmolekül zu einer „ $\beta\alpha\beta$ “-ähnlichen Faltungseinheit zusammengelagert. Abbildung 2.18b zeigt den hypothetischen Faltungsweg von TASP-Molekülen am Beispiel einer 4α -Helixbündel-Struktur.

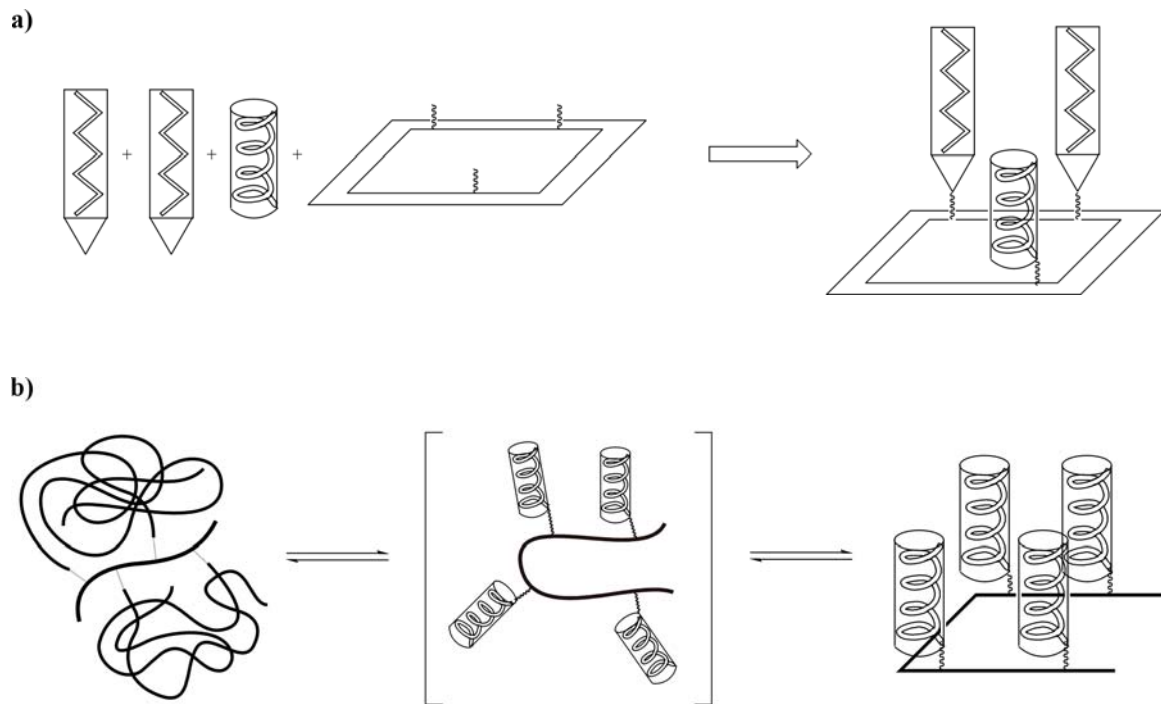


Abbildung 2.18: Templat-assoziierte synthetische Proteine (TASP) als Konzept für künstliche Proteine. a) Verknüpfung zweier β -Faltblattstränge und einem α -Helixblock auf einem trifunktionellen Templatmolekül zu einer „ $\beta\alpha\beta$ “-ähnlichen Faltungseinheit. b) Hypothetischer Faltungsweg von TASP-Molekülen am Beispiel einer 4α -Helixbündel-Struktur.

2.3 Der Gum-Baustein und seine Derivate

2.3.1 Allgemeine Bemerkungen

Der Gum-Baustein **32** besitzt in dieser Arbeit eine zentrale Bedeutung und wird in diesem Kapitel gesondert besprochen. Der Name Gum geht auf E. Graf von Roedern zurück, der diesen Baustein erstmals synthetisierte.^[11, 12, 84] Die Abkürzung Gum wurde vom Namen **G**lucosyl-**u**ronsäure-**m**ethylamin abgeleitet. Der systematische IUPAC-Name lautet 7-Amino-2,6-anhydro-7-desoxy-L-glycero-L-gulo-heptonsäure. Der Gum-Baustein ist die in unserem Arbeitskreis am besten untersuchte Zuckeraminosäure. Sie ist die erste Zuckeraminosäure, die in Peptide eingebaut wurde. Der Gum-Baustein als Dipeptidisoester imitiert von seiner Größe und Raumstruktur her die Gly-Ser-Sequenz (Abbildung 2.19a). Es wurden jedoch auch schon

Peptide synthetisiert, bei dem der Gum-Baustein eine Gly-Gly-, Phe-Pro-, D-Phe-Val, Tyr-Gly oder Trp-Phe-Einheit ersetzt.^[79, 84] Der Gumbaustein ist eine Zuckeraminosäure, die die Fähigkeit zur Schleifenbildung besitzt (Abbildung 2.19b). Für gewöhnlich vertritt er in Cyclopeptiden die $i+1$ und $i+2$ Position eines β II'-Turns.

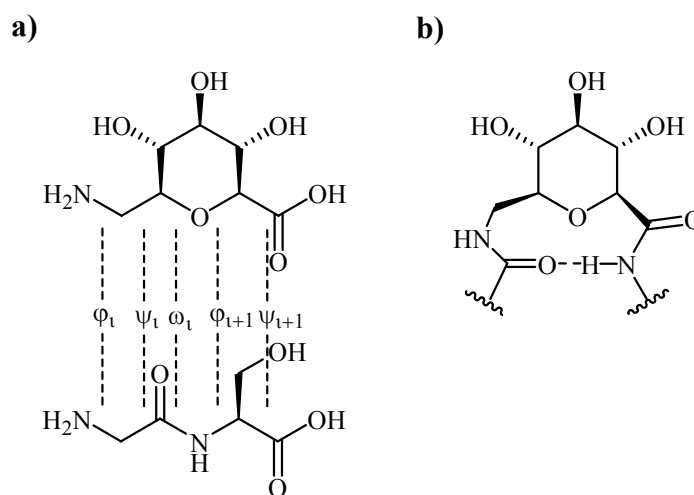


Abbildung 2.19: Der Gum-Baustein als a) Dipeptidisoster und b) als β -Turn-Mimetikum.

Sofern in diesem Kapitel nicht anders angegeben, liegt der Gum-Baustein stets in der thermodynamisch günstigen, starren 4C_1 -Sesselkonformation vor, bei der alle großen Reste äquatorial stehen.

2.3.2 Strukturuntersuchungen

Zur systematischen Untersuchung der strukturellen Eigenschaften des Gum-Bausteins in zyklischen Hexa- und Pentapeptiden synthetisierte E. Graf von Roedern die beiden zyklischen Modellpeptide *cyclo*(-Gum¹-Phe²-D-Pro³-Ala⁴-Phe⁵-) **82** und *cyclo*(-Gum¹-Phe²-Phe³-Phe⁴-) **83** (Abbildung 2.20). **82** entspricht dabei der Ringgröße eines zyklischen Hexapeptids, **83** der eines zyklischen Pentapeptids. Das D-Prolin in Modellpeptid **82** soll hierbei in der günstigen $i+1$ -Position einer β II'-Schleife liegen, so dass mit hoher Wahrscheinlichkeit die Positionen $i+1$ und $i+2$ der anderen β -Schleife von Gum eingenommen werden. Diese Annahme ist in sofern berechtigt, als zyklische Hexapeptide für gewöhnlich in einer mehr oder minder starren, meist gut bestimmbar Hauptkonformation mit zwei gegenüberliegenden β -Schleifen vorliegen. NMR- und MD-Studien zeigten, dass in dem Modellpeptid **82** in der Tat zwei gegenüberliegende β II'-Turns zu beobachten sind. Allerdings sind die beiden Schleifen

nicht in einer Ebene, wie es näherungsweise bei der Referenzsequenz *cyclo(-Gly-Ala-Ala-Gly-Ala-Ala-)* **84** oder anderen Cyclohexapeptiden mit sechs natürlichen Aminosäuren der Fall ist.

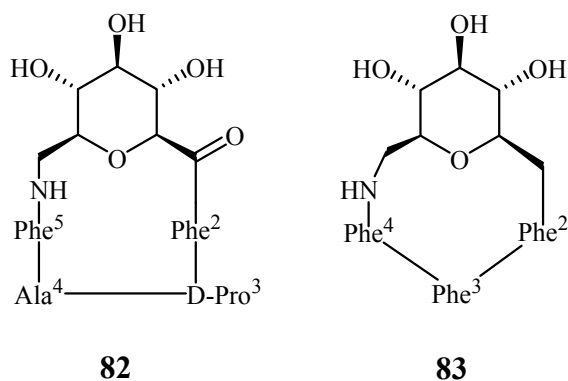


Abbildung 2.20: Sequenzbilder der zyklischen Modellpeptide **82** und **83**.

Aufgrund der ungünstigen Wechselwirkung zwischen dem Ringsauerstoffatom von Gum und dem Carbonylsauerstoff von Phe⁵ kommt es zu einer starken Wölbung des Peptidrings (Abbildung 2.21a). Dennoch sind sich die Rückgratstrukturen von **82** und **84** recht ähnlich, wie in Abbildung 2.21b zu sehen ist (vergleiche auch die strukturelle Ähnlichkeit zu Cyclopeptid **43** in Abbildung 2.3).

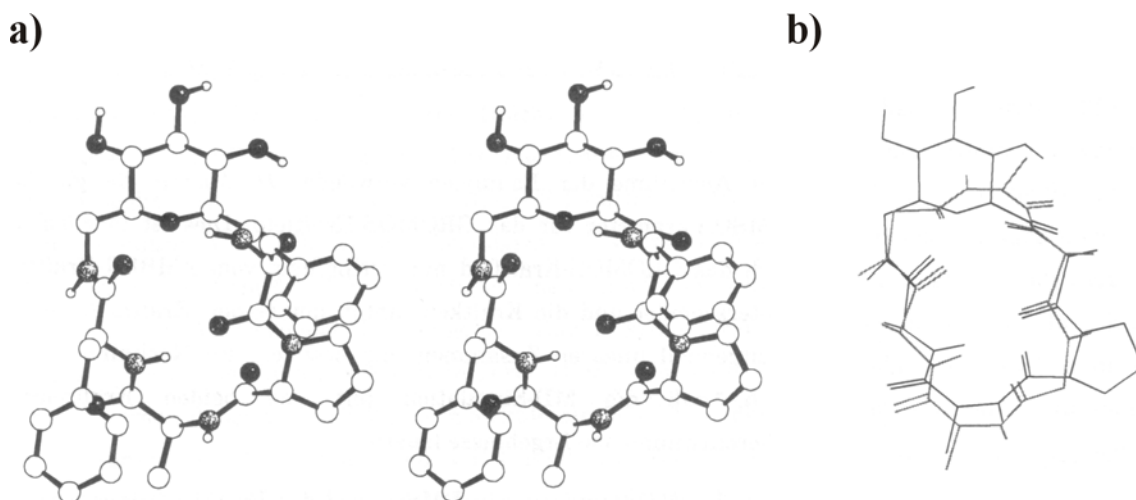


Abbildung 2.21: a) Stereodarstellung der gemittelten und energieminierten MD-Struktur von **82** in DMSO. Zur besseren Übersicht sind nur die polaren Wasserstoffatome abgebildet, Sauerstoff ist dunkel, Stickstoff hell schraffiert. b) Superpositionierung des Rückgrates von **82** mit dem Referencyclopeptid **84**.

Wie aus Strukturuntersuchungen des zyklischen Modellpeptids **83** hervorgeht, schränkt der Einbau von Gum den Konformationsfreiraum zyklischer Pentapeptide stark ein (Abbildung 2.22). Das zyklische Peptidrückgrat ist gespannt. Zwar liegt der Gum-Baustein auch unter den gespannten Strukturverhältnissen in der gewünschten 4C_1 -Sesselkonformation vor, allerdings ist er nicht mehr in der Lage, in zyklischen Pentapeptiden eine β -Schleife auszubilden, da hierbei kein Ringschluß möglich wäre. Die übrigen Aminosäuren 2 bis 4 nehmen jedoch eine ähnliche Konformation wie in „gewöhnlichen“ Pentapeptiden ein, d. h. sie bilden eine γ -turn-ähnliche Struktur aus. Überdies kann die „Versteifung“ des Rückgrates von Cyclopentapeptiden durchaus erwünscht sein. Obwohl die Ringgröße kleiner ist als bei den Hexapeptiden, sind Pentapeptide häufig flexibler als diese und liegen teilweise in mehreren Konformationen vor.^[117, 118] Eine Änderung des Konformationsraumes von Cyclopentapeptiden durch den Einbau von Peptidisosteren oder *Turn*-Mimetika wie dem Gum-Baustein, ist somit durchaus interessant und kann Aufschluß über Struktur-Wirkungsbeziehungen von biologisch aktiven Cyclopentapeptiden geben.

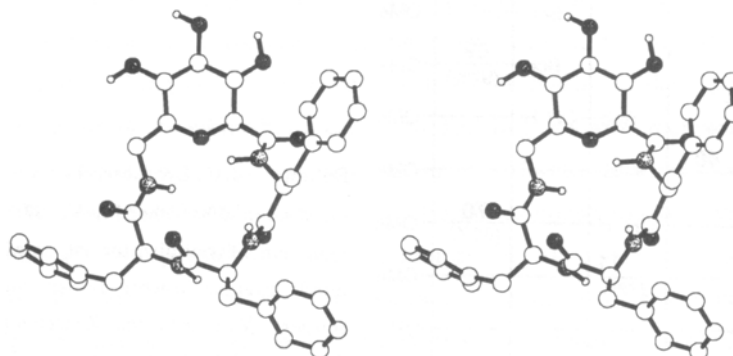


Abbildung 2.22: Stereodarstellung der gemittelten und energieminierten MD-Struktur von **83** in DMSO. Zur besseren Übersicht sind nur die polaren Wasserstoffatome abgebildet, Sauerstoff ist dunkel, Stickstoff hell schraffiert.

Um den Einfluß, den Gum auf die Konformation linearer Peptide ausübt, zu untersuchen, baute E. Graf von Roedern den Gum-Baustein in Leu-Enkephalin H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH **85** ein. Der Gum-Baustein ersetzt in dieser Sequenz die Diglycin-Einheit. Dies bot sich an, da für das rezeptorgebundene Enkephalin an dieser Stelle eine β -Schleife prognostiziert wird^[119] und Gum in der Lage ist, eine solche Schleifenstruktur auszubilden. In der Tat wird, wie NMR-Studien zeigten, in dem Peptid H-Tyr-Gum-Phe-Leu-OMe **86** eine Schleifenstruktur mit Auswirkung auf die benachbarte, aromatische Seitenkette des Tyrosins

beobachtet, ohne das Gum in diesem Peptid ein starres (β -)*Turn*-Mimetikum darstellt (Abbildung 2.23).

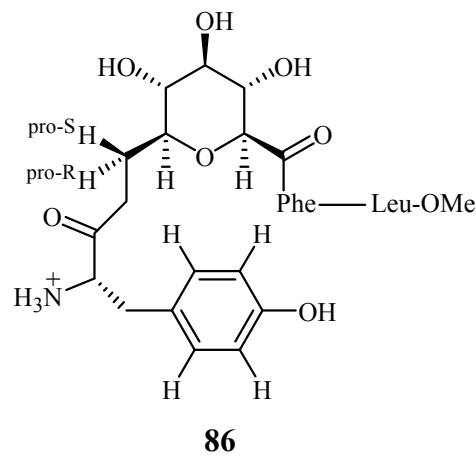


Abbildung 2.23: Schematische Darstellung der Konformation von Gum im Enkephalinanalogon **86**.

2.3.3 Gum in biologisch aktiven Peptiden

Der Einbau des Gum-Bausteins in Leu-Enkephalin **85** ist eines der Beispiele, bei denen Gum in biologisch aktive Peptide eingebaut wurde. Enkephaline sind Pentapeptide mit den Sequenzen H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH **85** oder H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-O **87**. Sie wurden 1975 von J. Hughes et al.^[120] in Hirnsubstanz entdeckt und wirken im gleichen Sinne wie Morphine und andere Opiate blockierend auf die spezifischen (κ -, δ - und μ -) Opiatrezeptoren; sie unterbinden damit als sogenannte endogene Opiate die Schmerzfortleitung. Das Enkephalinanalogon zeigt allerdings bei den an Meerschweinchen-Ileum-Gewebe (Teil des Dünndarms) gemessenen Rezeptoraffinitätstests keinerlei biologische Aktivität. Dies bestätigt Studien, nachdem ein Leu-Enkephalinanalogon, bei dem das Diglycin durch die Gly-Ser-Sequenz ersetzt wurde, nur noch eine schwache Aktivität gegenüber dem nativen Enkephalin zeigt.^[121]

Eine breite Anwendung fand der Gum-Baustein und seine Derivate beim Einbau in Somatostatinanaloge. Das Peptidhormon Somatostatin **88** (Abbildung 2.24), ein über eine Disulfid-Brücke zyklisiertes Tetradecapeptid, wird vom Hypothalamus gebildet. Es hemmt die Freisetzung des Wachstumshormons Somatotropin in der Hypophyse. Ferner bestehen

Wechselwirkungen zu den Hormonen Insulin und Glucagon. Es hemmt die Gastrinausschüttung und die Magensäureproduktion und beeinflusst viele weitere Hormone des Verdauungssystems. Außerdem wirkt Somatostatin zytoprotektiv auf Leberzellen. Wegen der sehr kurzen Halbwertszeit von nur wenigen Minuten im Körper und seinen zahlreichen Nebenwirkungen bei hoher Dosierung, ist das Bestreben, geeignete Somatostatinanaloga zu finden, ungebrochen hoch. Die wohl bekanntesten Somatostatinanaloga sind das Octreotid **89** (Abbildung 2.24) das heute erfolgreich in der Tumorbehandlung eingesetzt wird^[122], sowie dessen Analogon **90** (Abbildung 2.24) und das von D. F. Veber et al.^[123] synthetisierte, hochaktive zyklische Hexapeptid **45** (Abbildung 2.24), das wiederum R. Hirschmann und K. C. Nicolaou^[95] bei der Entwicklung ihrer nichtpeptidischen *Scaffold*-Verbindung **51** als Leitpeptid diente (siehe Kapitel 2.2.2, Abbildung 2.6).

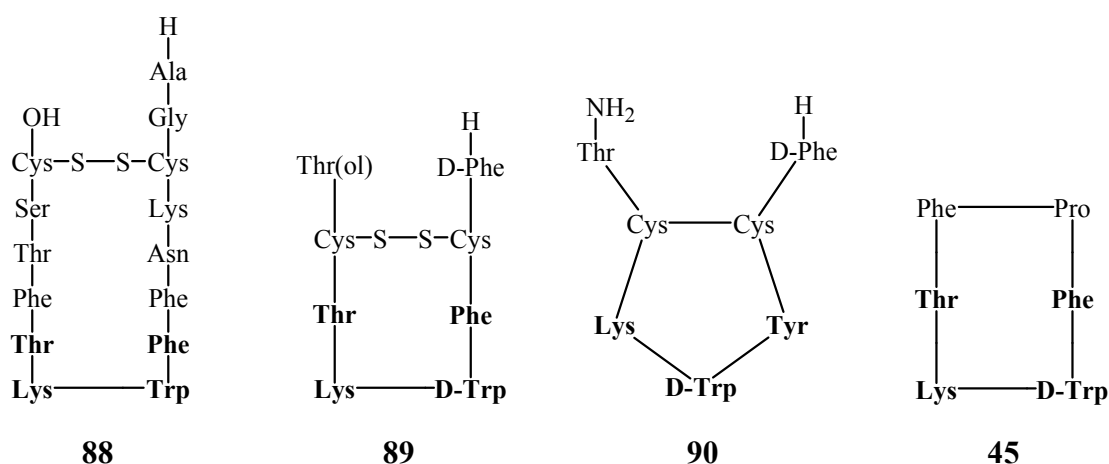


Abbildung 2.24: Somatostatin **88** und seine bekanntesten Analoga das Octreotid **89**, dessen Analogon **90** sowie das zyklische Hexapeptid **45**.

Auch in unserem Arbeitskreis bot es sich an, neue Somatostatinanaloga in Anlehnung an die drei Leitpeptide **89**, **90** und **45** zu entwickeln. Die vom Leitpeptid **45** abgeleiteten Somatostatin-derivate, die den Gum-Baustein oder Derivate desselben enthalten, sind in Abbildung 2.25 aufgeführt. Die Verbindungen **43** und **91** weisen Inhibierungskonstanten im mikromolaren Bereich auf. Die Rezeptoraffinität der Verbindung **43** ist im Vergleich mit dem hochaktiven Somatostatinanalogon **45** nur um den Faktor 75 niedriger und das, obwohl die zur Steigerung der Somatostatinwirkung wichtigen lipophilen Reste an beiden Seiten der aktiven Tetrasequenz fehlen (Testbedingungen: siehe Kapitel 2.2.1, S. 12).^[123] Die benzylethergeschützte Verbindung **92** zeigt im Gegensatz zu ihrem Pendant **93** eine beachtliche SSTR2 Rezeptorselektivität im Vergleich zu SSTR 5 bei einer zudem

beachtlichen Affinität. Mit einer Aktivität im nanomolaren Bereich ist sie die mit Abstand aktivste Verbindung der in Abbildung 2.25 dargestellten Somatostatinanaloge. Die teilweise benzylierten Analoga **94** und **95** sind von Interesse, da man über sie erfahren kann, inwieweit sich durch selektive Benzylierung die zusätzliche Phenylalaninseitenkette der Ursprungssequenz **45** nachahmen lässt und ob sich damit bezüglich der biologischen Relevanz der Peptide Konsequenzen ergeben. Ergebnisse der biologischen Tests liegen leider für diese Verbindungen wie auch für die Galactosederivate **96** und **97** nicht vor.

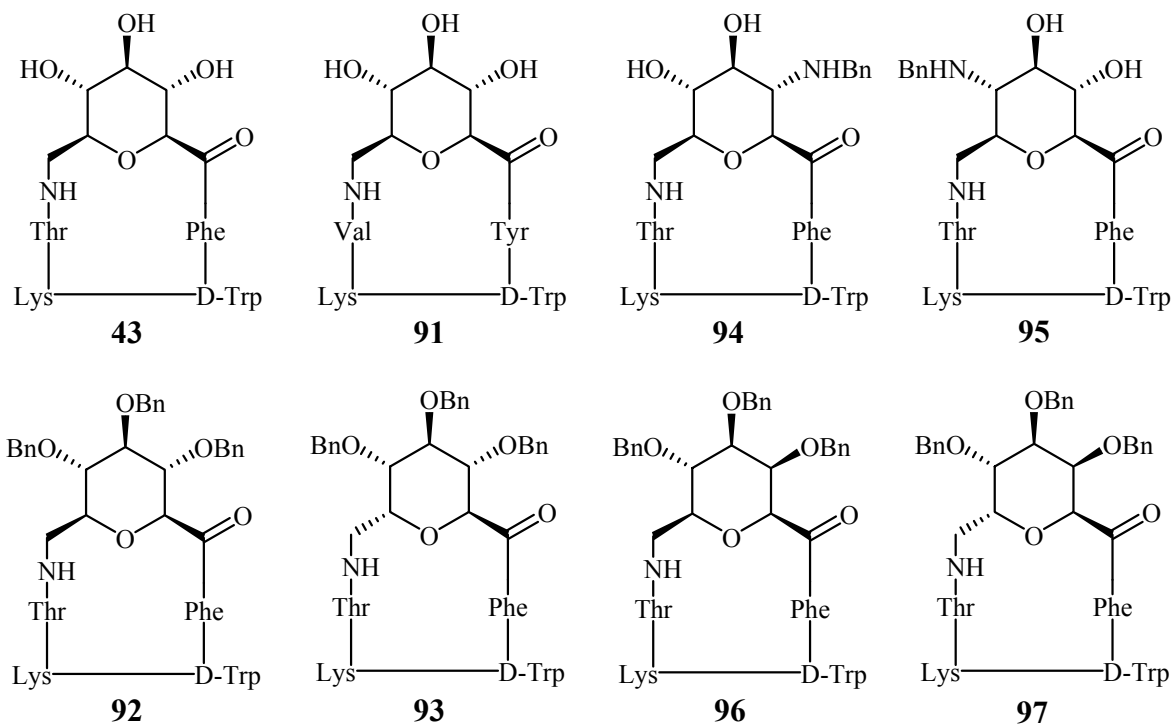


Abbildung 2.25: Vom Leitpeptid **45** abgeleitete Cyclopeptide, die Gum bzw. eines seiner Derivate enthalten.

In Anlehnung an das Octreotid **89** und dessen Analogon **90** wurden die Gum-glycosylierten Octreotidverbindungen **98** und **99** von E. Lohof synthetisiert (Abbildung 2.26).

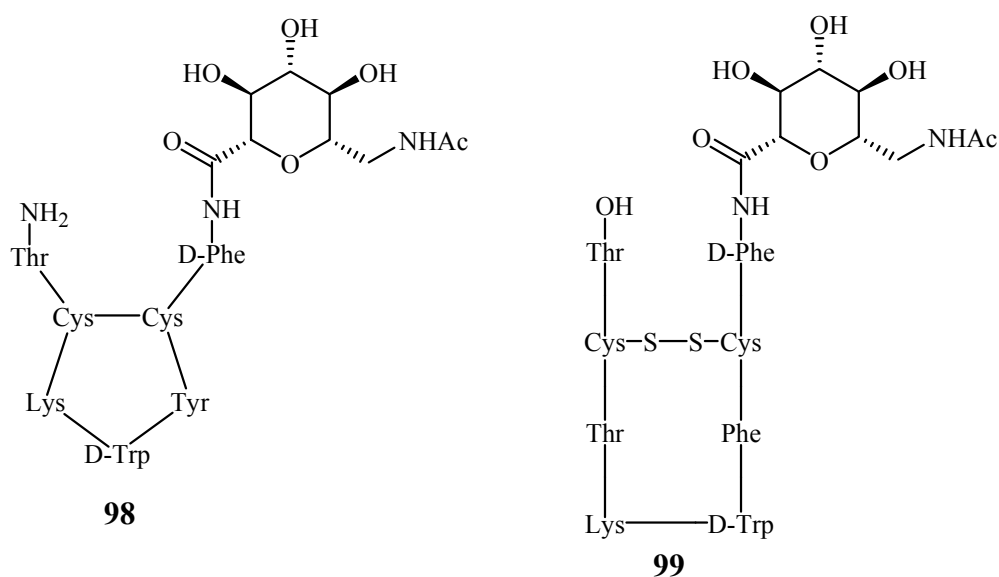
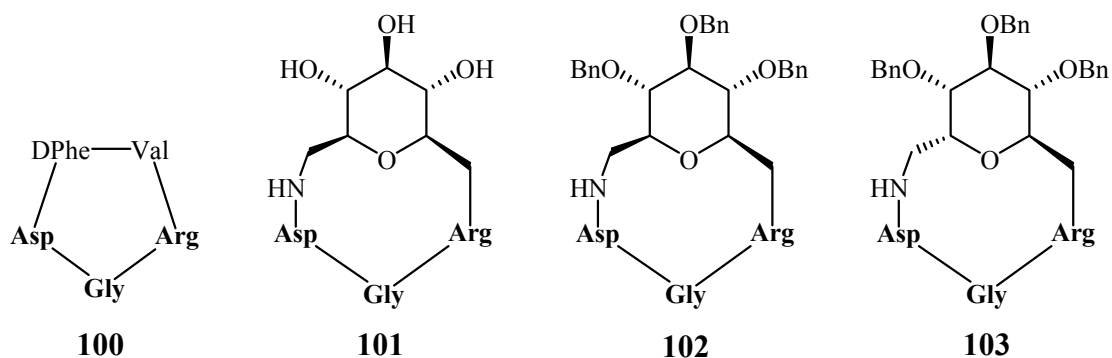


Abbildung 2.26: Gum-glycosylierte Octreotidderivate.

Ein weiterer wichtiger Forschungsschwerpunkt in unserem Arbeitskreis liegt auf der Synthese und Erforschung von RGD-Peptiden. Das Tripeptid Arg-Gly-Asp (RGD) ist eine der wichtigsten Zelladhäsionssequenzen vieler extrazellulärer Matrixproteine.^[124-126] Die RGD-vermittelte Zelladhäsion geht über Integrine. Diese sind neben Cadherinen, Selektinen und Rezeptoren der Immunglobulin-Superfamilie die größte Familie der Extrazellulären-Matrix-Adhäsionsrezeptoren. Integrine haben einen wichtigen Anteil an der Zell-Zell-Adhäsion und -Kommunikation sowie an Wechselwirkungen zwischen Zelle und dem extrazellulären Raum. Sie spielen für viele Körperfunktionen eine entscheidende Rolle, wie z. B. bei der Immunantwort, der Wundheilung, dem Knochenauf- und -abbau, der Thrombusbildung oder der Tumor- und Metastasenbildung. Die Darstellung von selektiven Inhibitoren für Integrine ist daher von großem therapeutischen Interesse und wird in unserem Arbeitskreis erforscht. Schon kleine Cyclopentapeptide können die Bindung eines Adhäsionsproteins inhibieren. So ist es M. Gurrath aus unserem Arbeitskreis gelungen, mit dem zyklischen Pentapeptid *cyclo*(-D-Phe-Val-Arg-Gly-Asp-) **100** einen selektiven Inhibitor für den Vitronectinrezeptor $\alpha_v\beta_3$ zu synthetisieren.^[127-129] Durch Inhibierung dieser $\alpha_v\beta_3$ -Rezeptoren, die gehäuft auf metastatisierenden Tumorzellen nachgewiesen wurden, konnte bei verschiedenen Tumorzelllinien eine Metastatisierung verhindert werden.^[130, 131]

Viele der kleinen RGD-Peptide blockieren auch den für die Blutplättchenaggregation wichtigen Fibrinogenrezeptor $\alpha_{IIb}\beta_3$. Deshalb ist es für die therapeutische Anwendung

besonders wichtig, selektiv wirkende Integrin antagonist zu entwickeln. Im Rahmen dieser Bemühungen wurden Cyclopeptide synthetisiert, die den Gum-Baustein enthalten (Abbildung 2.27). Bei den biologischen Assays wurde die Inhibierung von isolierten, immobilisierten Rezeptoren $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$ und $\alpha_{IIb}\beta_3$ durch die RGD-Peptide im Vergleich zu ihren natürlichen Adhäsionsproteinen Vitronectin und Fibrinogen gemessen^[5]. Als Referenzverbindung diente das lineare Standardpeptid H-Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro-Lys-OH und das zyklische Leitpeptid **100**.

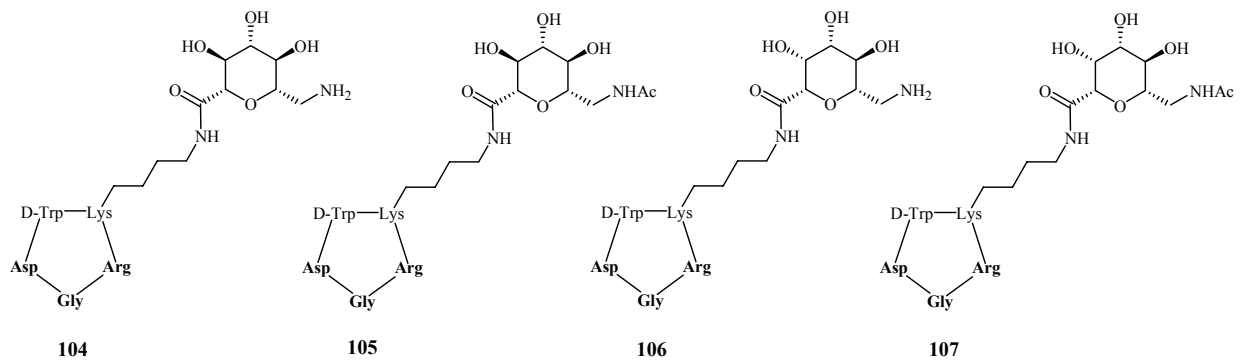


Peptid	IC ₅₀ [nM] Fibrinogen an $\alpha_{IIb}\beta_3$	IC ₅₀ [nM] Vitronectin an $\alpha_v\beta_3$	IC ₅₀ [nM] an $\alpha_v\beta_5$
GRGDSPK	1700	210	>10000
100	8000	2.5	320
101	2200	275	715
102	13.4	25	>10000
103	720	150	935

Abbildung 2.27: Zyklische RGD-Peptide, die Gum enthalten.

Die Aktivität wird zwar durch Einbau des benzylgeschützten Gum-Bausteins anstatt des ungeschützten Gum-Bausteins erheblich gesteigert, dafür sinkt jedoch die Selektivität gegenüber den $\alpha_v\beta_3$ - und $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Rezeptoren.

Um den Einfluß der Glycosylierung an RGD-Peptiden auf die biologische Aktivität zu testen, wurde *cyclo(-Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Lys-)* gewählt.^[5] Die mit Gum bzw. mit Gumperivaten glycosylierten Produkte sind in Abbildung 2.28 zu sehen.



Peptid	IC ₅₀ [nM] Fibrinogen an $\alpha_{IIb}\beta_3$	IC ₅₀ [nM] Vitronectin an $\alpha_v\beta_3$	IC ₅₀ [nM] an $\alpha_v\beta_5$
GRGDSPK	1700	210	>10000
100	8000	2.5	320
104	450	15	>10000
105	5000	21	970
106	>10000	55	2750
107	1910	0.8	24.7

Abbildung 2.28: Mit Gum bzw. mit Gumderivaten glycosylierte RGD-Peptide.^[5]

Die glycosylierten RGD-Peptid **104** und **105** zeigen beide eine Aktivität, die der des Leitpeptids **100** schon recht nahe kommt. In Hinblick auf die Selektivität unterscheiden sich die beiden Zyklen jedoch erheblich: während Verbindung **104** eine starke $\alpha_v\beta_5$ -Rezeptorantiselektivität aufweist, ist die Selektivität von **105** gegenüber den $\alpha_v\beta_3$ - und $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Rezeptoren deutlich höher als bei **104**. Generell kann man sagen, dass die Rezeptorselektivität durch die Glycosylierung nicht wesentlich beeinträchtigt wird. Dies gilt auch für die Galactosederivate **106** und **107**. Bemerkenswert ist bei Zyklus **107**, dass er als einziger von den glycosylierten RGD-Peptiden um den Faktor 2.5 aktiver ist als das Leitpeptid **100**. Weiterhin überraschend ist die Umkehrung der Tendenz beim Aktivitätsvergleich zwischen den Pärchen **104/105** und **106/107**. Während der Austausch des gluco- gegen den galactokonfigurierten Zucker im Fall der nicht acetylierten Verbindungen zu einem Aktivitätsabfall führt, ist mit der Acetylierung eine Umkehrung dieser Tendenz zu beobachten. Bisher ist es noch nicht gelungen, die Ursache für dieses Phänomen aufzuklären.

Neben dem Einbau von Gum und seinen Derivaten in Enkephalinanaloge, Somatostatinanaloge und RGD-Peptide unternahm E. Graf von Roedern den Versuch, den Gum-Baustein als Rückgratmodifikation in einen linearen LH-RH-Agonist sowie in zwei

lineare LH-RH-Antagonisten einzubauen. LH-RH ist neben Somatoliberin und Somatostatin ein weiteres wichtiges Peptidhormon, das vom Hypothalamus gebildet wird. Weitere, verbreitete Synonyme für LH-RH sind Gonadoliberin, Gonadorelin und Gonadotropin-Realising-Hormon (GnRH). In Rezeptoraffinitätstests zeigen die dargestellten LH-RH-Analoga jedoch nur eine schwache Bindung. Außerdem war es anhand von NMR-Daten nicht möglich, bei den synthetisierten Verbindungen eine Vorzugskonformation zu ermitteln. Ein weiterer Schwerpunkt dieses Projekts war die Verknüpfung u. a. des Gum-Bausteins mit der Lysinseitenkette eines LH-RH-Antagonisten mit dem Ziel, den Saccharidteil eines Glycopeptids zu imitieren. Ein Antagonist mit Z-Gum an der Lysinseitenkette zeigt im Tierversuch an Ratten eine ähnlich lang andauernde Testosteronunterdrückung wie das von der Firma Asta Medica (heute Baxter) entwickelte hochaktive *Cetrorelix*.

Unter Anlehnung an das sehr aktive Neurokininanalogen *cyclo*(-Phe-Trp-Gly-Leu-Met-Gln-) als Leitstruktur synthetisierte E. Lohof die beiden Zyklen *cyclo*(-SAA33-Gly-Leu-Met-Gln-) und *cyclo*(-Gum(Bn)₃-Gly-Leu-Met-Gln-). Beide Verbindungen zeigten eine sehr hohe Aktivität im nanomolaren Bereich für den NK-2-Rezeptor. Ferner gelang ihr die Anknüpfung des N-acetylierten Gum-Baustein an Substanz P-analoge Peptide. Neurokinine bilden eine Klasse von kurzen linearen Peptiden. Substanz P ist eines von ihnen und ist der erste peptidische Neurotransmitter.^[132]

Ergänzend soll erwähnt werden, dass der Gum-Baustein, wie auch teilweise andere Zuckeraminosäuren, als Glucosidaseinhibitor geeignet ist. Bei Tests, in denen die Wirkung des Gum-Bausteins auf die β -Glucuronidaseaktivität bei HMR (Behringwerke) untersucht wurde, konnte festgestellt werden, dass Fmoc-Gum-OH eine besonders hohe Inhibierung gegenüber der β -Glucuronidase aus *E. coli* zeigt, wohingegen Z-Gum-OH ausschließlich gegenüber menschlicher β -Glucuronidase (humane FUP 960105 β -Glucuronidase) eine Wirkung zeigt. Dieser überraschende Unterschied in der Spezifität für die beiden Enzyme lässt Unterschiede in der Nähe des aktiven Zentrums vermuten, das mit den hydrophoben Resten der Zuckeraminosäuren wechselwirkt.

2.3.4 Gum in Homooligomeren

Während bei den bisher geschilderten Anwendungen des Gum-Bausteins stets nur eine Zuckeraminosäure involviert war, gelang es E. Locardi, lineare und zyklische Di-, Tri-, Tetra- und Hexamere zu synthetisieren.^[13] NMR-Studien im Temperaturbereich zwischen 273 K und 293 K brachten interessante Erkenntnisse. Während bei den zyklischen Tri-, Tetra- und Hexameren auf den ersten Blick (von einer minimalen relativen Verschiebung der Signale für die diastereotopen Methylenprotonen in Abhängigkeit von der Temperatur beim Trimer einmal abgesehen) nur ein Satz an NMR-Signalen zu beobachten war, was auf eine hochsymmetrische, im Rahmen der NMR-Zeitskala gemittelte Konformation schließen lässt, konnten beim Dimer drei zeitaufgelöste Konformere beobachtet werden. Zwei von ihnen waren bei 273 K unter 10 % populiert und gingen bei höheren Temperaturen ineinander über. Die Hauptkonformation konnte über NMR-Daten eindeutig als die anti-Konformation in Bezug auf die beiden Gumzyklen identifiziert werden. Wie in Abbildung 2.29 exemplarisch für das Trimer gezeigt, ist die *all-anti*-Konformation hochsymmetrisch und nahezu planar. Sie ähnelt der Struktur einer makrozyklischen Chelatverbindung. Die *all-syn*-Konformation hingegen ist stark gekrümmt. Analog zu den Cyclodextrinen ist ihre Außenschicht polar, während sich im Innern ein lipophiler Hohlraum ausbildet.

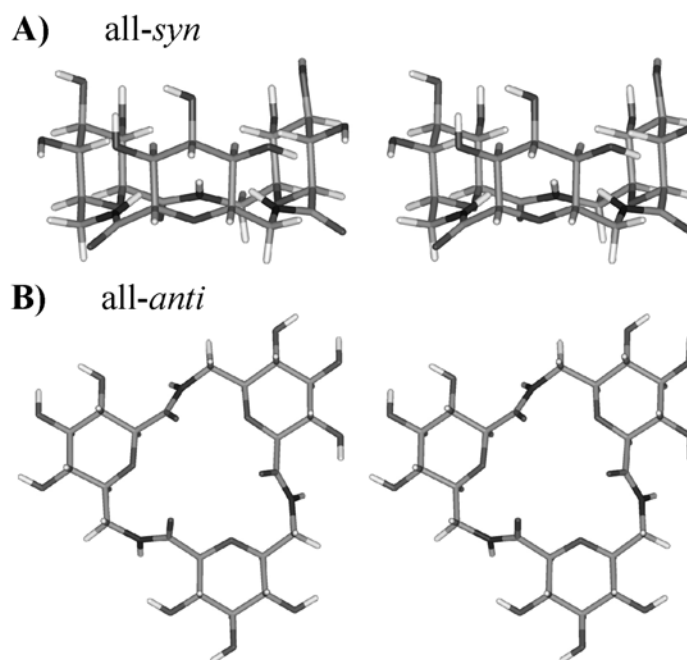


Abbildung 2.29: Stereobilder der *syn*- und *anti*-Konformation des zyklischen Homotrimers von Gum.^[13]

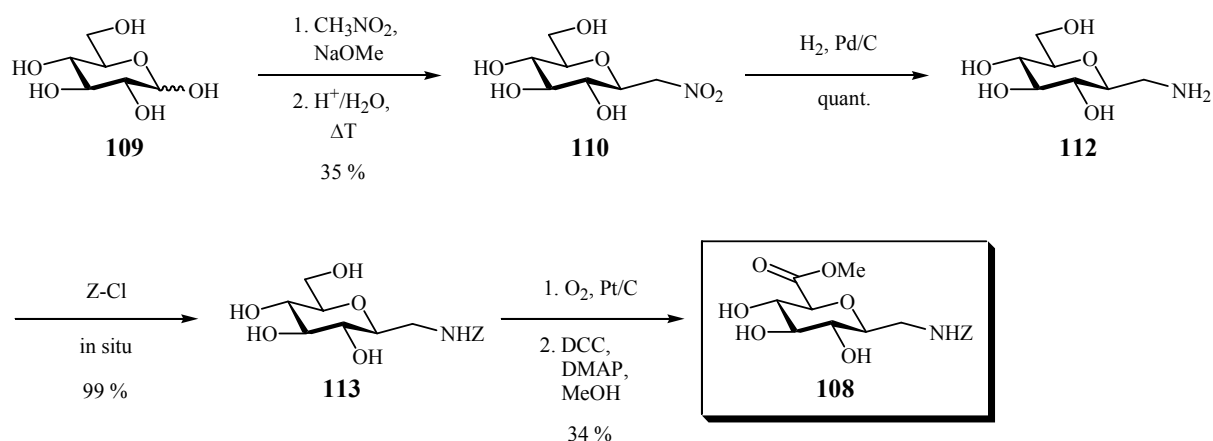
Bei allen synthetisierten, zyklischen Homooligomeren sind die Amidbindungen trans-konfiguriert und die Gumbausteine in der starren 4C_1 -Sesselkonformation fixiert. Mit zunehmender Ringgröße verschiebt sich das syn : anti-Verhältnis in Richtung der syn-Konformation. Während beim Dimer ausschließlich die anti-Konformation beobachtet wurde, beträgt das im Rahmen der NMR-Zeitskala gemittelte syn : anti-Verhältnis beim Trimer schon 3 : 7 und beim Tetra- sowie Hexamer 1 : 1. Dies konnte über Abstandsberechnungen aus ROE-Daten ermittelt werden. Je größer also die zyklischen Homooligomere des Gum-Bausteins werden, desto bevorzugter nehmen sie die syn-Konformation ein und ähneln damit der Struktur von Cyclodextrinen. Das zyklische Hexahomooligomer des Gum-Bausteins sollte demnach mit geeigneten Gastmolekülen ähnliche Wirt-Gast-Strukturen ausbilden können wie Cyclodextrine es tun. NMR-spektroskopische Komplexstudien mit Benzoesäure und p-Nitrophenol als Gastmoleküle und dem zyklischen Hexahomooligomer des Gumbausteins als Wirtmolekül bestätigen dies.

Die Möglichkeit, durch Veränderung der Ringgröße die Hohlraumgröße für potentiell einzuschließende Wirkstoffe oder sonstige Gruppierungen zu variieren, macht diese Klasse von zyklischen Homooligomeren zu einem nützlichen Werkzeug für Ligandbindungsstudien und die molekulare Erkennung.

Ausgehend von diesen sehr interessanten Studien war es von Interesse, nun auch den benzylgeschützten Gum-Baustein zu homooligomerisieren und zu zyklisieren. Dies war neben der Synthese von alternierenden Zyklen ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit.

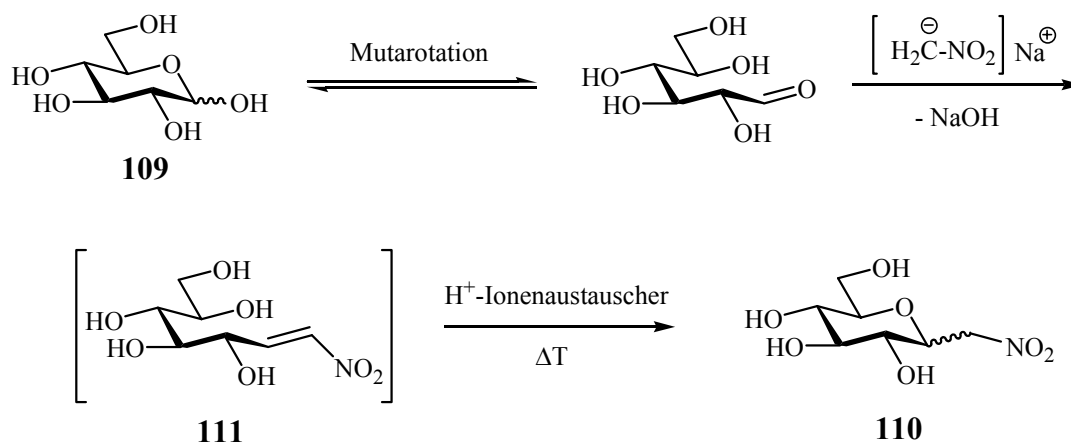
2.3.5 Synthesestrategien

Für den Einsatz zur Peptidkupplung in Lösung synthetisierte E. Graf von Roedern Z-Gum-OMe **108** ausgehend von der preiswerten Glucose **109** in einer vierstufigen Synthese mit einer Gesamtausbeute von 12 % (Schema 2.1).



Schema 2.1: Synthese von Z-Gum-OMe.

Der zentrale Reaktionsschritt ist die basenkatalysierte Umsetzung von Glucose **109** mit Nitromethan zu β -D-Glucopyranosylnitromethan **110** nach L. Petrus et al.^[133] (Schema 2.2)

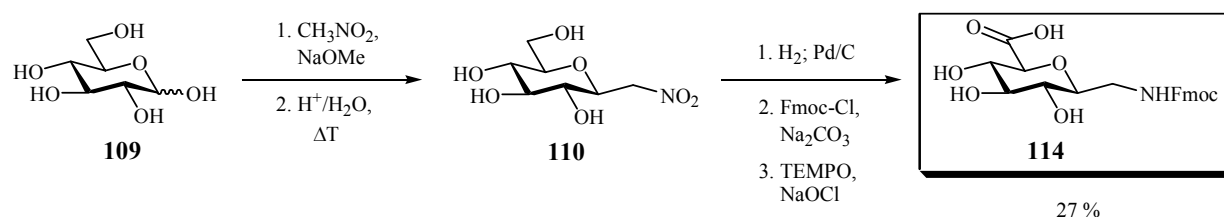


Schema 2.2: Synthese von **110** über Nitroaldolkondensation aus Glucose **109**.

Es handelt sich hierbei um eine Nitroaldolreaktion, bei der im ersten Schritt das offenkettige Kondensationsprodukt **111** entsteht. Anschließend erfolgt säurekatalysiert in einer intramolekularen Addition der Ringschluß zum β -D-Glucopyranosylnitromethan **110**. Das bei

der Reaktion ebenfalls entstehende α -Anomer konnte durch Umkristallisation in Methanol größtenteils abgetrennt werden. Katalytische Hydrierung der Nitrogruppe von **110** ergab nahezu quantitativ β -D-Glucopyranosylmethylamin **112**. Dieses konnte *in situ* ohne weitere Aufreinigung mit Benzyloxycarbonylchlorid (Z-Chlorid) in die entsprechend Z-geschützte Verbindung **113** übergeführt werden. Die Oxidation der primären Hydroxygruppe erfolgte nach der von K. Heyns und H. Paulsen beschriebenen Methode^[134] mit Sauerstoff an einem Platinkatalysator. Die Ausbeuten hierbei waren niedrig, da es unter den recht drastischen Reaktionsbedingungen (85°C) teilweise zur Oxidation der Z-Schutzgruppe kam. Über die Aktiv-Estermethode mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP) in Methanol wurde die Säuregruppe verestert. Mit dem als kristallines Pulver vorliegenden Methylester **108** konnten Kupplungen in Lösung durchgeführt werden. Verseifung des Methylesters mit Natronlauge und hydrogenolytische Entfernung der Z-Schutzgruppe liefert den ungeschützte Gum-Baustein **32**.

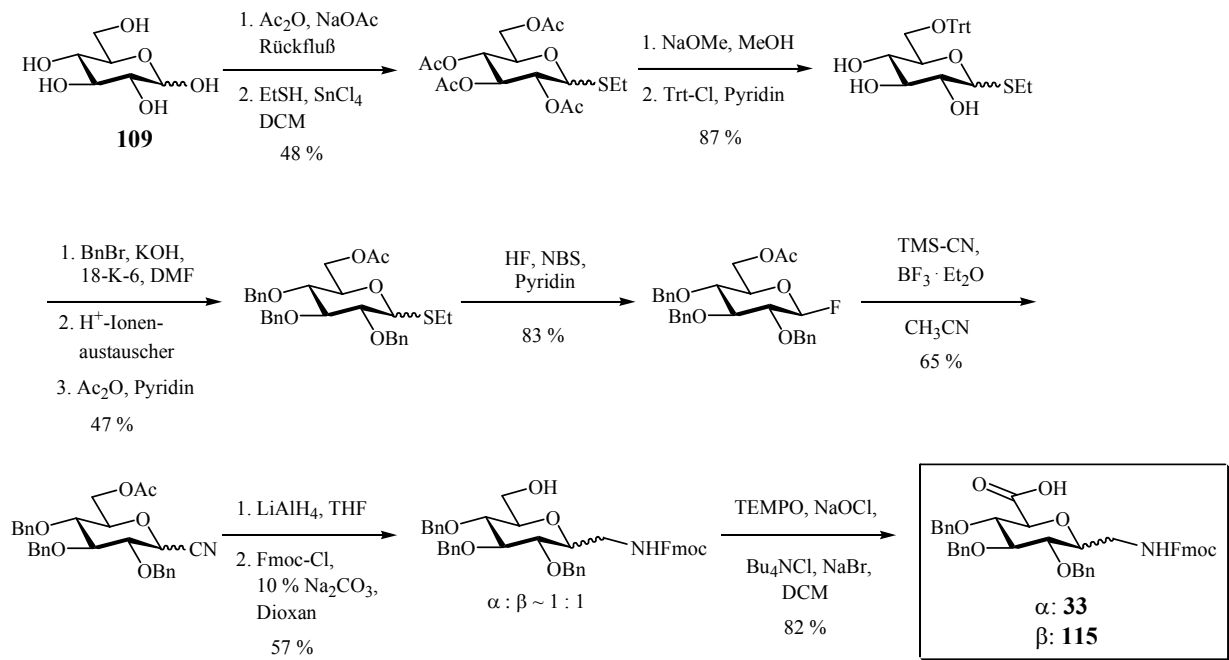
E. Lohof entwickelte die Synthese des auch für die Festphasensynthese geeigneten Gum-Bausteins Fmoc-Gum-OH **114** (Schema 2.3).



Schema 2.3: Synthese von Fmoc-Gum-OH **114** nach E. Lohof.^[79]

Sie ersetzte die nur mit schlechten Ausbeuten und Nebenreaktionen verlaufende Oxidation der primären Hydroxygruppe mit Platin/ O_2 durch die wesentlich mildere und selektiv verlaufendere TEMPO-Oxidation^[135-138] (TEMPO = 2,2,6,6-Tetramethyl-piperidin-1-oxyl). Auf diese Weise gelang es ihr, die Gesamtausbeute von 12 % für Z-Gum-OMe auf 27 % für das synthetisch viel günstigere Fmoc-Gum-OH zu steigern. Eine weitere Optimierung dieser Synthese erfolgte im Rahmen dieser Arbeit (siehe Kapitel 3.1).

Zur Herstellung des benzylgeschützten Gum-Bausteines Fmoc-Gum(Bn)₃-OH **115** wurde bisher der von E. Lohof ausgearbeitete und publizierte Syntheseweg in Schema 2.4 beschrieben.^[1]



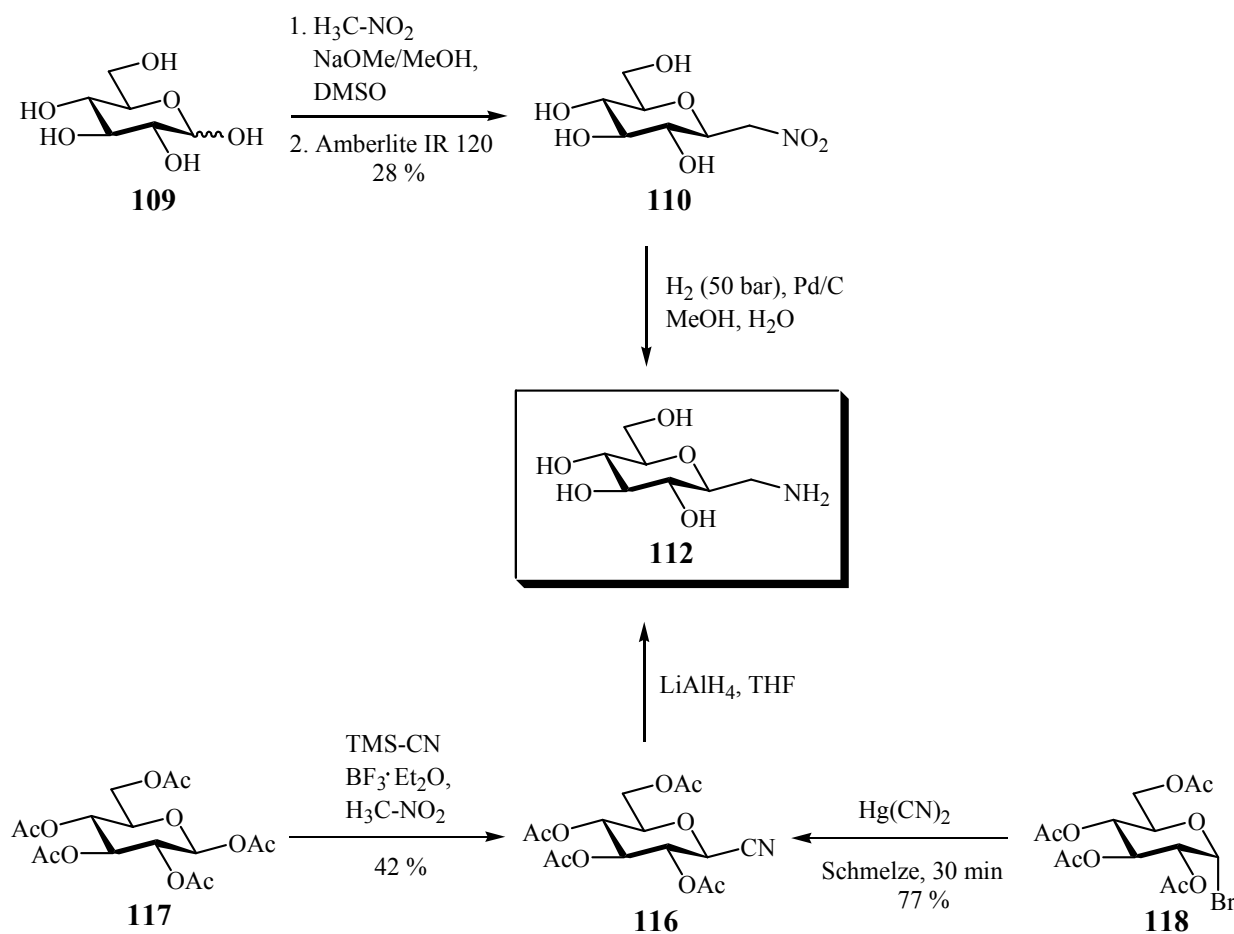
Schema 2.4: Synthese von Fmoc-Gum(Bn)₃-OH **115** und der anomeren Verbindung **33** nach E. Lohof.^[1]

Die Gesamtausbeute der in Schema 2.4 dargestellten Synthese von Fmoc-Gum(Bn)₃-OH **115** belief sich ausgehend von Glucose **109** über 12 Stufen auf magere 3 %. Zudem konnte auf diesem Weg nur ein schwer trennbares Anomerengemisch erhalten werden. Die Ausarbeitung eines Syntheseweges, über den sich Fmoc-Gum(Bn)₃-OH **115** in guten Ausbeuten anomerenrein darstellen lässt, war u. a. Gegenstand dieser Arbeit (siehe Kapitel 3.1).

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Synthese der Monomerbausteine

Der zentrale Baustein für die Synthese von Gum ist β -D-Glucopyranosylmethylamin **112**. Dieses lässt sich auf drei verschiedene Arten herstellen (Schema 3.1). Da **112** *in situ* weiter umgesetzt wird, ist eine genaue Ausbeuteangabe der Reduktionsschritte nicht möglich.



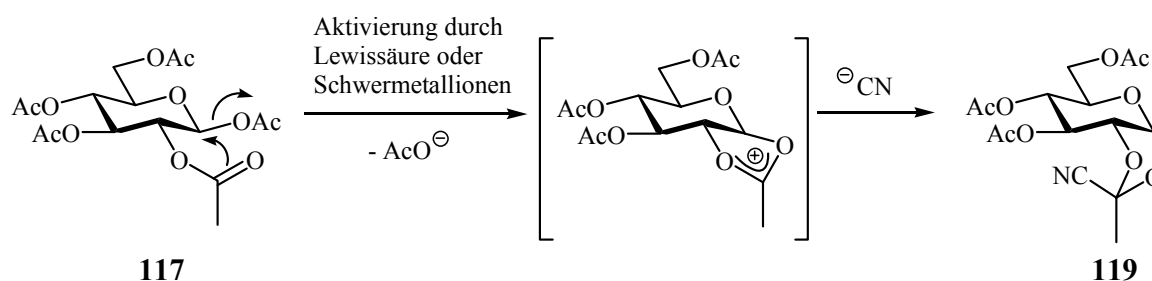
Schema 3.1: Synthese von β -D-Glucopyranosylmethylamin **112**, einem wichtigen Zwischenprodukt der Gumsynthese.

Der bisher im Arbeitskreis von E. Graf von Roedern und E. Lohof beschrittene Weg^[11, 139], führt über β -D-Glucopyranosylnitromethan **110**. Dieses lässt sich durch Nitroaldolreaktion aus Glucose **109** herstellen (siehe Schema 2.2).

Der zeitliche und experimentelle Aufwand für diesen Schritt ist groß und die Ausbeuten zudem niedrig (28-35 %). Die Reduktion zum gewünschten Zwischenprodukt **112** erfolgt im Autoklaven unter einem Druck von 50 bar in Wasserstoffatmosphäre und Pd/C-Katalyse über Nacht sehr sauber und in hohen Ausbeuten (laut DC-Kontrolle quantitativ). Insgesamt erweist sich dieser Weg jedoch als unvorteilhaft.

Deutlich komfortabler ist die Synthese über 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosylcyanid **116**. Die Reduktion zum gewünschten Intermediat **112** verläuft in diesem Fall unter Verwendung von LiAlH_4 zwar nicht so glatt wie im vorherigen Fall (geschätzte Ausbeute gemäß DC 60 %), da hier neben der Cyanogruppe auch noch vier Acetylschutzgruppen (Estergruppierungen) reaktiv entfernt werden müssen, dafür erfolgt die Synthese der Vorstufe **116** ungleich schneller und mit deutlich höheren Ausbeuten. In der Literatur sind zwei Synthesemethoden zur Darstellung von **116** beschrieben: P. Köll et al.^[140] lösten das Syntheseproblem durch Umsetzung von Pentaacetylglucose **117** mit TMS-CN, wobei unter strikt wasserfreien Bedingungen gearbeitet werden muss. E.-F. Fuchs et al.^[85] gingen von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid **118** aus, das sie mit Quecksilber(II)cyanid in der Schmelze zu **116** umsetzten.

Alle drei hier skizzierten Synthesewege wurden im Verlauf der Arbeit getestet mit dem Ergebnis, dass sich der zuletzt genannte Weg ausgehend von **118** als am praktikabelsten erwies. Gegen den traditionellen Weg über den Nitrozucker **110** spricht dessen aufwendige Herstellung. Bei dem Weg ausgehend von **117** besteht die Gefahr, dass sich, wie in der Literatur beschrieben^[141-143], eine Orthoesterverbindung **119** bildet (Schema 3.2). Hierauf beruht die niedrige Ausbeute von nur 42 %.



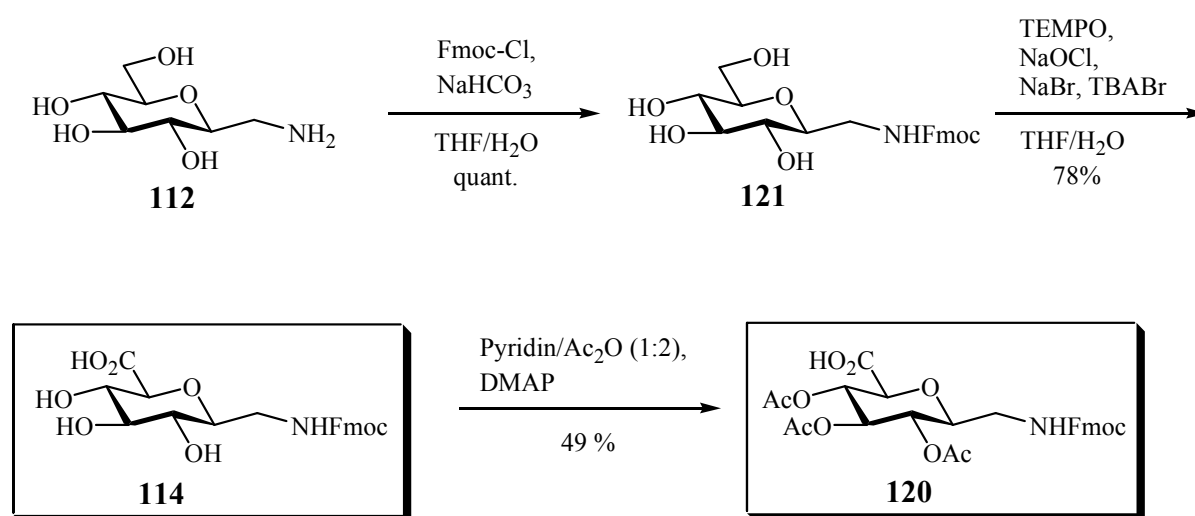
Schema 3.2: Nebenreaktion bei der Synthese von **116** in Lösung.

Arbeitet man in der Schmelze ohne Lösungsmittel unter Schutzgas, so kann obige Nebenreaktion unterbunden werden. Die Ausbeute über den dritten Weg nach E.-F. Fuchs et

al. ist demnach am höchsten (77 %) und kann sogar noch auf rund 90 % gesteigert werden, indem man die Reaktionszeit von 30 min auf 1 h erhöht. Allerdings entstehen bei der längeren Reaktionszeit auch mehr, nicht charakterisierte Nebenprodukte, die sich nur schwer chromatographisch abtrennen lassen.

Ausgehend von **112** lassen sich der OH-freie, der acetylierte und der benzylierte Gum-Baustein in der am N-Terminus Fmoc-geschützten Form synthetisieren. Während alternative Synthesewege für den ungeschützte Gumbaustein **114** und sein benzylgeschütztes Derivat **115** bekannt waren (siehe Kapitel 2.3.5), stellt der acetylierte Gum-Baustein **120** ein neues Derivat dar. **120** ist im Vergleich zu **114** deutlich unpolarer und weist im Gegensatz zu dem benzylgeschützten Baustein **115** sehr einfache Singulettssignale für die Acetylschutzgruppen im NMR auf. Dadurch werden die NMR-Spektren deutlich übersichtlicher. Zudem sind die Acetylschutzgruppen sterisch nicht so anspruchsvoll wie die Benzylschutzgruppen, was sich bei der Kupplung positiv bemerkbar machen sollte.

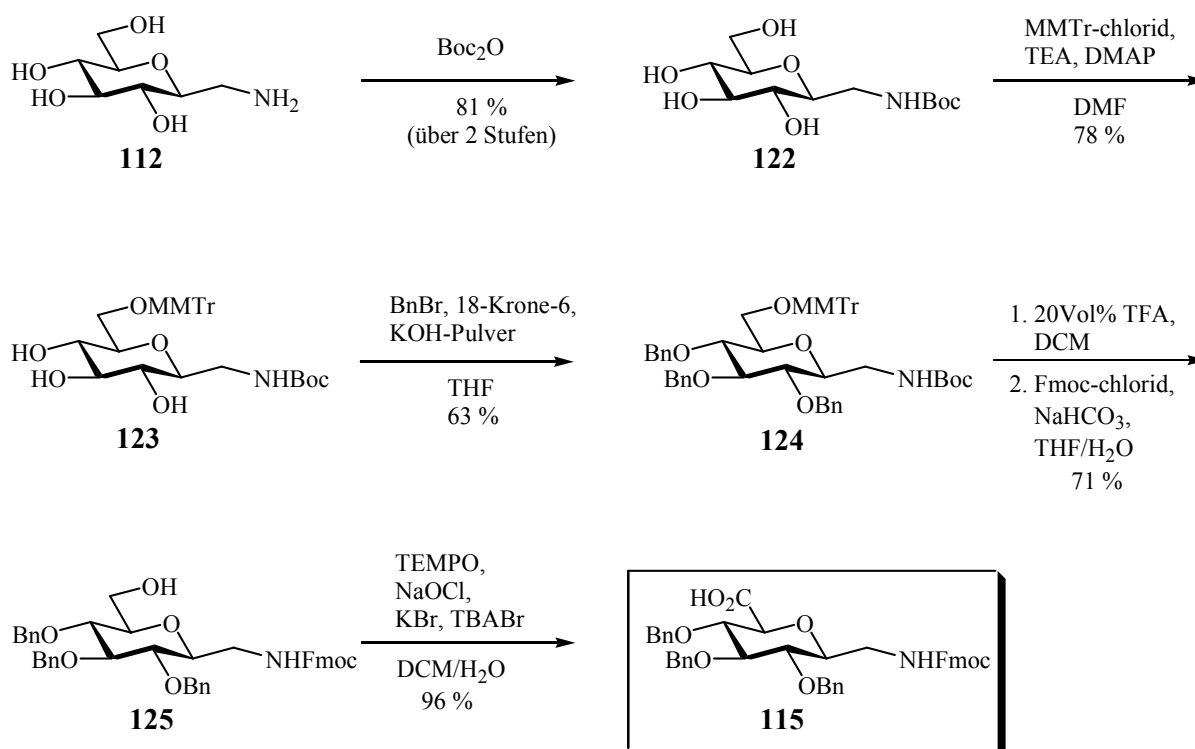
Zur Darstellung von Fmoc-Gum-OH [7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-2,6-anhydro-7-desoxy-L-glycero-L-gulo heptonsäure] **114** und Fmoc-Gum(Ac)₃-OH [7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-3,4,5-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-7-desoxy-L-glycero-L-gulo heptonsäure] **120** wird **112** zunächst mit Fmoc-Chlorid und Natriumhydrogencarbonat als Base in THF/Wasser (3:2) zu Fmoc-N-(β-D-glucopyranosyl)methylamin **121** nahezu quantitativ umgesetzt (Schema 3.3).



Schema 3.3: Synthese von Fmoc-Gum-OH **114** und Fmoc-Gum(Ac)₃-OH **120**.

TEMPO-Oxidation^[135-138] (TEMPO = 2,2,6,6-Tetramethyl-piperidin-1-oxyl) in einem THF/Wasser-Gemisch mit NaBr und Tetrabutylammoniumbromid unter Zugabe von 13 Gew%iger, wässriger NaOCl-Lösung liefert mit 78 % Ausbeute den OH-freien Gum-Baustein **114**. Dieser lässt sich mit absolutem Pyridin/Essigsäureanhydrid (2:1) unter Zugabe katalytischer Mengen an 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP) zum acetylierten Gum-Baustein **120** umsetzen (49 % Ausbeute). Grund für die schlechte Ausbeute der Acetylierungsreaktion sind vermutlich Eliminierungsprodukte, die bei der Reaktion leicht entstehen können.

Der benzylgeschützte Gum-Baustein Fmoc-Gum(Bn)₃-OH [7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-2,6-anhydro-3,4,5-tri-O-benzyl-7-desoxy-L-glycero-L-gulo heptonsäure] **115** wurde bisher über eine zwölfstufige Synthese ausgehend von D-Glucose mit einer Gesamtausbeute von 3 % hergestellt^[1, 2] (siehe Kapitel 2.3.2, Schema 2.4). Hier war noch Optimierungsarbeit zu leisten, zumal nach dem bisher in der Literatur beschriebenen Verfahren nur ein Anomerengemisch erhalten wurde. Gegenstand dieser Arbeit war es, einen alternativen Syntheseweg auszuarbeiten, über den sich mit deutlich höherer Gesamtausbeute (21 %) und anomerenrein Fmoc-Gum(Bn)₃-OH **115** synthetisieren lässt (Schema 3.4).



Schema 3.4: Synthese von Fmoc-Gum(Bn)₃-OH **115**.

Die Einführung der Boc-Aminoschutzgruppe in β -D-Glucopyranosylmethylamin **112** erfolgt *in situ* unter Standardbedingungen^[144] mit Boc_2O zu Boc-N-(β -D-glucopyranosyl)methylamin **122** (81 % über 2 Stufen ausgehend von **116**). Dieses reagiert mit Monomethoxytritylchlorid (1.1 Äquiv.), Triethylamin (1.5 Äquiv.) und katalytischer Menge DMAP in DMF mit guten Ausbeuten (78 %) zu Boc-N-(6-O-MMTr- β -D-glucopyranosyl)methylamin **123**. Boc-N-(2,3,4-Tri-O-benzyl-6-O-MMTr- β -D-glucopyranosyl)methylamin **124** wird mit 63 % Ausbeute erhalten, indem man **123** in THF mit Benzylbromid (3.3 Äquiv.), KOH-Pulver (5.4 Äquiv.) und katalytischen Mengen an 18-Krone-6 behandelt. Nach gleichzeitiger Spaltung des Monomethoxytriphenylmethylethers und Abspaltung der Boc-Schutzgruppe, wird das Zwischenprodukt *in situ* mit Fmoc-Chlorid zu Fmoc-N-(2,3,4-Tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosyl)methylamin **125** umgesetzt (71 % über 2 Stufen). Schließlich führt TEMPO-Oxidation in einem Zwei-Phasensystem (Wasser/Dichlormethan) mit Tetrabutylammoniumbromid als Phasentransferkatalysator zum gewünschten Endprodukt 7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-2,6-anhydro-3,4,5-tri-O-benzyl-7-desoxy-L-glycero-L-gulo heptonsäure [Fmoc-Gum(Bn)₃-OH] **115** in hervorragender Ausbeute (96%). Die Gesamtausbeute ausgehend von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid **118** beträgt 21 %.

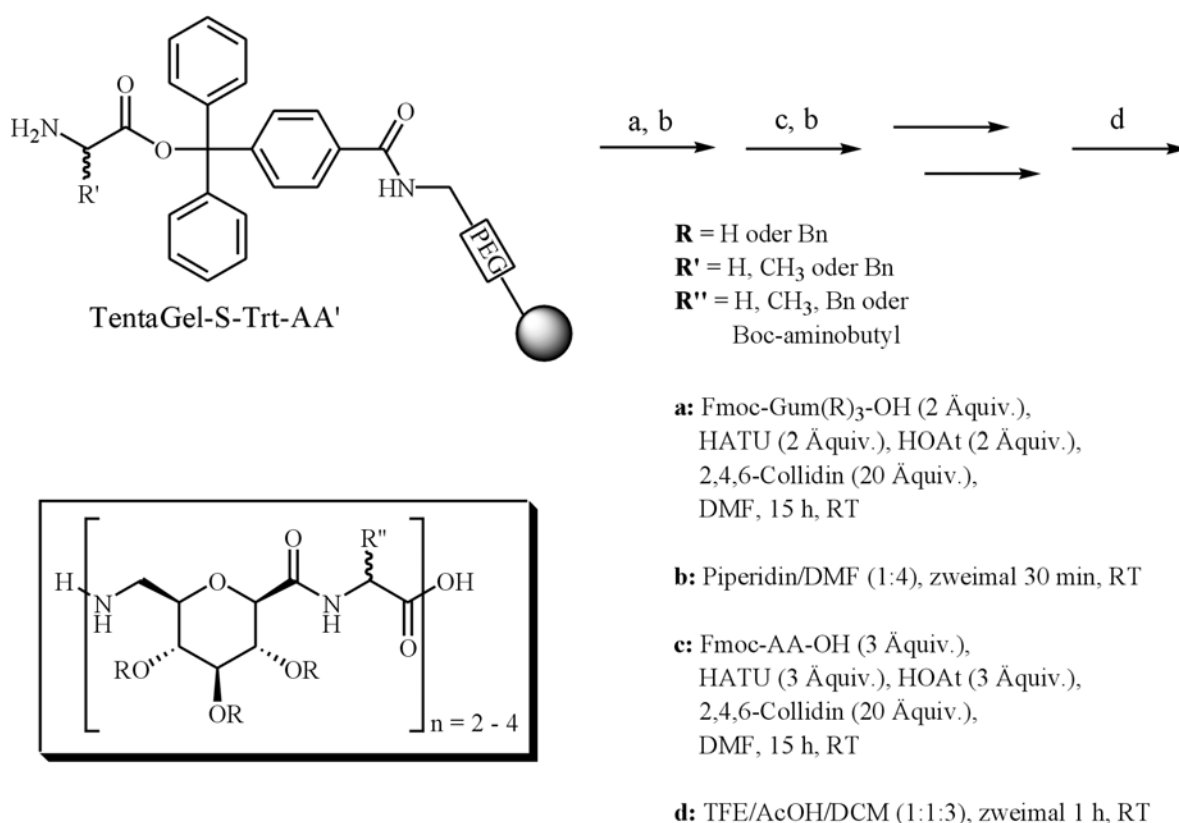
3.2 Oligomerisierung und Zyklisierung

3.2.1 Synthese alternierender, linearer Oligomere

Bisher wurden noch nie alternierende Zyklen publiziert, in denen pyranoide Zuckeramino­säuren involviert waren. Außerdem existieren in der Literatur keine gerechneten Strukturen derartiger Zyklen auch nicht für furanoide Zuckeramino­säuren. Diese Lücke wurde im Rahmen dieser Arbeit geschlossen.^[109] Dabei wurden nicht nur Tetramere, wie in der Arbeitsgruppe von J. H. van Boom^[19] synthetisiert, sondern auch Hexamere. Zyklen dieses Typs sind denkbare Moleküle für Wirt-Gast-Strukturen analog denen der Cyclodextrine.^[110-116] Als Aminosäuren wurden Alanin, Phenylalanin und Lysin jeweils in der D- und L-Form sowie Gly gewählt. Durch den Einbau von Lysin ergibt sich die Möglichkeit, Seitenkettenmodifikationen an den Zyklen vorzunehmen, um sie so dem TASP-Konzept zugänglich zu machen (siehe Kapitel 2.2.4). Der Einbau von Phenylalanin erhöht zum einen die UV-Aktivität der Zyklen, um sie so besser per HPLC reinigen zu können, zum anderen

besitzt D-Phe strukturinduzierende Eigenschaften und ermöglicht somit eine gute Separierung der NMR-Signale. Alanin als die einfachste, chirale Aminosäure und Glycin mit seiner hohen konformativen Beweglichkeit sowie seiner Achiralität, was eine Razemisierung beim Kuppeln ausschließt, wurden schon häufig in der Vergangenheit in Modellpeptide eingebaut.

Die Oligomerisierung von Gum(Bn)₃-OH in abwechselnder Reihenfolge mit Glycin und den L- und D-Formen der Aminosäuren Alanin, Lysin und Phenylalanin erfolgt an fester Phase nach der Fmoc-Strategie^[145] in akzeptablen Ausbeuten (60 % - 75 %). Die Kupplung erfolgt an TentaGel S Trt-Harz (Rapp Polymere), das wahlweise mit Gly, L-Ala, D-Ala, L-Phe bzw. D-Phe belegt vom Hersteller bezogen werden kann. O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyl-uronium hexafluorophosphat (HATU)^[146, 147] und 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt)^[148] dienen hierbei als Kupplungsreagenzien, 2,4,6-Collidin als Kupplungsbase. Als Lösungsmittel kommt absolutes DMF zum Einsatz (Schema 3.5).



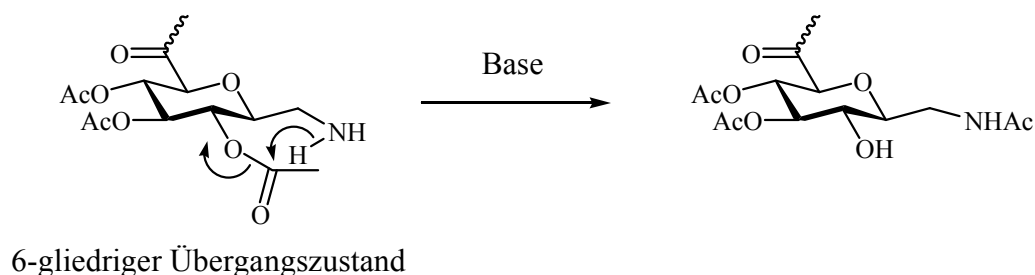
Schema 3.5: Oligomerisierung von Gum(R)₃ (R = H oder Bn) in abwechselnder Reihenfolge mit Gly und den L- und D-Formen von Ala, Lys und Phe am Tentagel S Trt-Harz.

Die auf Azabenzotriazol basierenden Kupplungsreagenzien erwiesen sich als am geeignetsten, da sie hohe Kupplungsausbeuten und zugleich geringe Razemisierung erlauben. Wie Studien

in Lösung gezeigt haben^[149], ist die Razemisierung kleiner, wenn 2,4,6-Collidin als Base anstatt Diisopropylethylamin (DIPEA) verwendet wird. Dies konnte durch Arbeiten in unserem Arbeitskreis bestätigt werden^[13]. Die Oligomeren werden mit einer Lösung aus 2,2,2-Trifluorethanol, Eisessig und Dichlormethan im Verhältnis 1:1:3 oder mit 20 Vol%iger Hexafluorisopropanol-Lösung in DCM abgespalten.

Ungeschützte lineare, alternierende Oligomere konnten durch Oligomerisierung von Gum-OH und den entsprechenden Aminosäuren analog zu dem oben beschriebenen Kupplungsprotokoll (Schema 3.5) erhalten werden. Die Ausbeuten hierfür waren jedoch deutlich schlechter (30 % - 50 %). Störende Einflüsse durch freie Hydroxygruppen könnten hierfür ausschlaggebend sein.

Oligomerisierungen mit Gum(Ac)₃ schlugen leider fehl, da bei der Fmoc-Abspaltung partiell eine Acetylschutzgruppenwanderung zu beobachten war, die weitere Kupplungsschritte unmöglich machte (Schema 3.6).



Schema 3.6: Acetylschutzgruppenwanderung bei der Fmoc-Abspaltung von Fmoc-Gum(Ac)₃

Damit lassen sich die sonstigen, eingangs erwähnten Vorteile acetylgeschützter Verbindungen gegenüber den benzylgeschützten nicht nutzen.

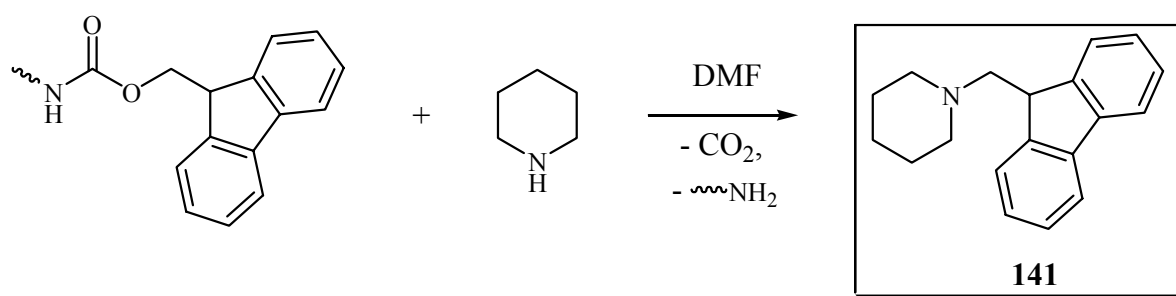
Eine Übersicht über die hergestellten, linearen Oligomere zeigt Tabelle 3.1.

Tabelle 3.1: Synthetisierte, lineare, alternierende Oligomere

<i>Oligomer</i>	<i>Sequenz</i>
126	H ₂ N-Gum-Lys(Boc)-Gum-Phe-OH
127	H ₂ N-Gum-Lys(Boc)-Gum-D-Phe-OH
128	H ₂ N-Gum-D-Lys(Boc)-Gum-Phe-OH
129	H ₂ N-Gum-D-Lys(Boc)-Gum-D-Phe-OH
130	Fmoc-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-OH
131	Fmoc-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-OH
132	H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Gly-Gum(Bn) ₃ -Gly-OH
133	H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-OH
134	H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-OH
135	H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-OH
136	H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -Phe-OH
137	H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -D-Phe-OH
138	H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -D-Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -Phe-OH
139	H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -D-Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -D-Phe-OH
140	H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-OH

Die Prüfung auf Vollständigkeit der Kupplungen während der Synthese erfolgte über den Kaisertest^[150, 151] (siehe auch AAV 6 in Kapitel 5.3), die Bestimmung der Kupplungsausbeuten zum einen durch Gewichtskontrolle und zum anderen über UV-spektroskopische Bestimmung des bei der Fmoc-Abspaltung mit 20 Vol% Piperidin in DMF sich bildenden Fmoc-Piperidin-Komplexes^[152] **141** (Schema 3.7).

Aus der gemessenen Absorption lässt sich über das Lambert-Beersche Gesetz (Gleichung 3.1) die Konzentration der vermessenen Lösung bestimmen und über das Produkt aus Konzentration und Volumen schließlich die Stoffmenge. Dieses Verfahren eignet sich auch hervorragend zur Bestimmung der Belegungsdichte von Harzen.



Lambert-Beersches Gesetz:

$$\boxed{E = \varepsilon \cdot c \cdot d} \quad (\text{Gleichung 3.1})$$

$$\text{Mit } c = \frac{n}{V} : \boxed{n = \frac{E \cdot V}{\varepsilon \cdot d}} \quad (\text{Gleichung 3.2})$$

n: Stoffmenge [mmol]

E: Extinktion

V: Volumen [cm³]

ε : Extinktionskoeffizient [cm²/mmol]

d: Dicke der Küvette = 1 cm

*UV-Maxima mit Extinktionskoeffizienten
von 141 in DCM*

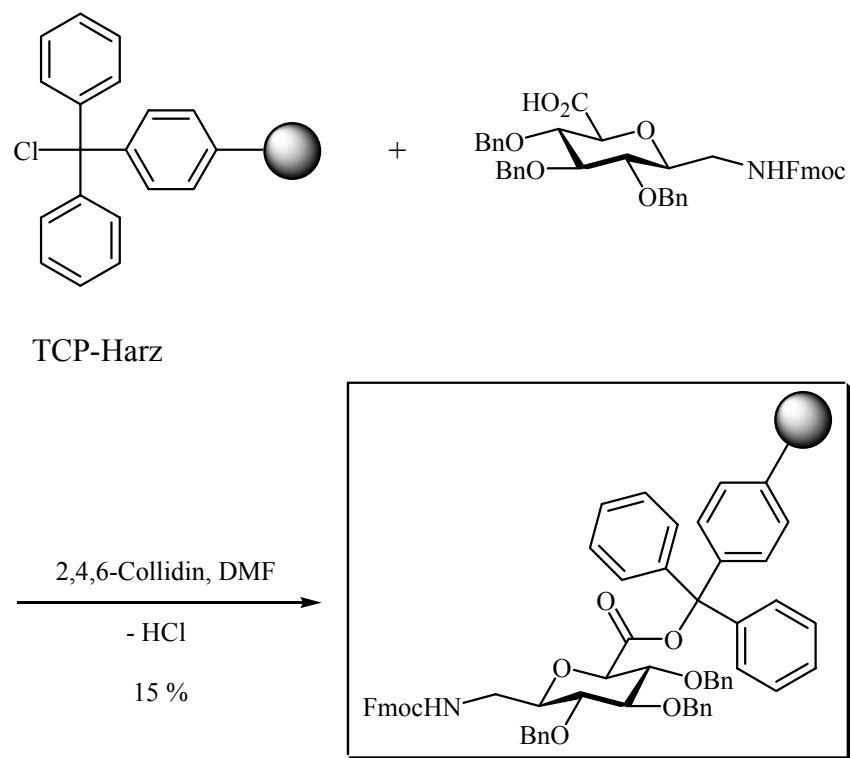
λ_{max} [nm]	ε [cm ² /mmol]
267	17500
290	5800
301	7800

Schema 3.7: Bestimmung der Kupplungsausbeuten und Belegungsdichten über den Fmoc-Piperidin-Komplex.

3.2.2 Synthese von Homooligomeren

Ausgehend von den in Kapitel 2.3.4 erläuterten, sehr interessanten Studien von E. Locardi über Homooligomere des ungeschützten Gum-Bausteins, war es von Interesse, auch den benzylgeschützten Gum-Baustein zu homooligomerisieren und zu zyklisieren.

Zur Festphasensynthese wurde das in dieser Arbeitsgruppe bewährte Tritylchlorid-Polystyrol-Harz (TCP-Harz) der Firma *PepChem* verwendet (Schema 3.8). Das Harz verfügt über eine sehr hohe Belegungsdichte (0.95 mmol/g), was sich für sterisch anspruchsvolle Kupplungen eher nachteilig auswirkt. Da die sperrige Tritylgruppe jedoch das Ankuppeln des ersten Gum(Bn)₃-Bausteines mit 2,4,6-Collidin in DMF erschwert, lagen die beobachteten Kupplungsausbeuten bei 15 %. Dies entspricht einer Belegungsdichte von nur noch 0.14 mmol/g, ideal für die anstehenden Gum(Bn)₃-Gum(Bn)₃-Kupplungen.



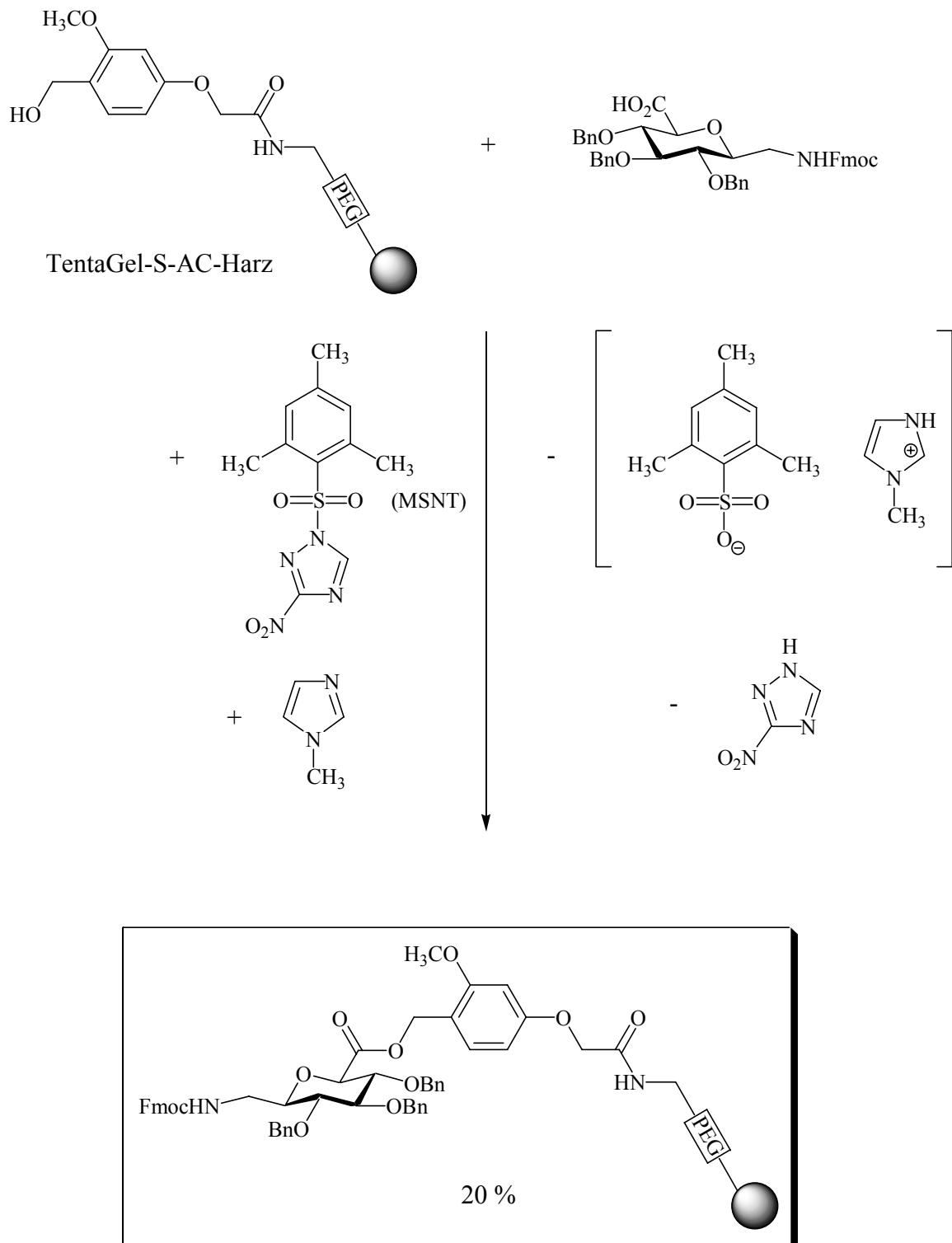
Schema 3.8: Belegung von TCP-Harz mit Fmoc-Gum(Bn)₃-OH.

Auf die Verwendung der starken Kupplungsbase DIPEA wurde bewusst verzichtet, da Studien mit dem ungeschützten Gum-Baustein gezeigt haben,^[13] dass ein Umklappen der ⁴C₁-Sesselkonformation des pyranoiden Rings die Folge ist.

Noch niedrigere Belegungsdichten wurden mit TentaGel S AC-Harz der Firma *Rapp-Polymere* erzielt. Das Harz hat eine Belegungsdichte von 0.27 mmol/g. Die Kupplung des ersten Gum-Bausteines an das Harz erfolgte nach Blankemeyer-Menge et al.^[153] mit 1-(Mesitylen-2-sulfonyl)-3-nitro-1H-1,2,4-triazol (MSNT) und 1-Methylimidazol in DCM (Schema 3.9). Die Ausbeute lag bei 20 %, d. h. die resultierende Belegungsdichte betrug 0.05 mmol/g.

Die Homooligomerisierung an fester Phase erfolgte analog zu den oben beschriebenen Kupplungen mit HATU und HOAt als Kupplungsreagenzien sowie 2,4,6-Collidin als Kupplungsbase in DMF (siehe AAV 3 in Kapitel 5.3). Die Gesamtausbeute der linearen Oligomere schwankte sehr stark zwischen 35 % (Hexamer) und 80 % (Dimer), wobei eine erhebliche Ausbeuteminderung um ca. 30 % von der dritten Gum(Bn)₃-Gum(Bn)₃-Kupplung (Tetramer) auf die vierte Gum(Bn)₃-Gum(Bn)₃-Kupplung (Pentamer) zu beobachten war. Ein Grund hierfür sind vermutlich sterische Hinderung durch die langen, sich gegenseitig

störenden und eventuell auch aggregierenden Homooligomeren am Harz. Eine Übersicht über die hergestellten Homooligomere gibt Tabelle 3.2.



Schema 3.9: Belegung von TentaGel S AC-Harz mit Fmoc-Gum(Bn)₃-OH.

Tabelle 3.2: Synthetisierte, lineare, Homooligomere

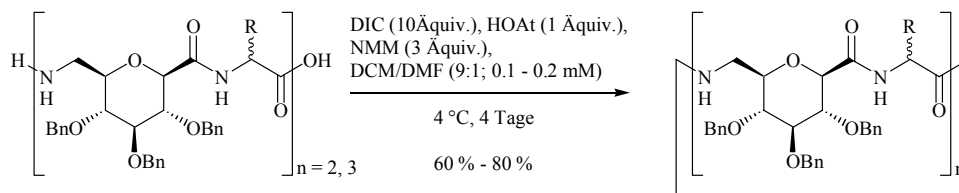
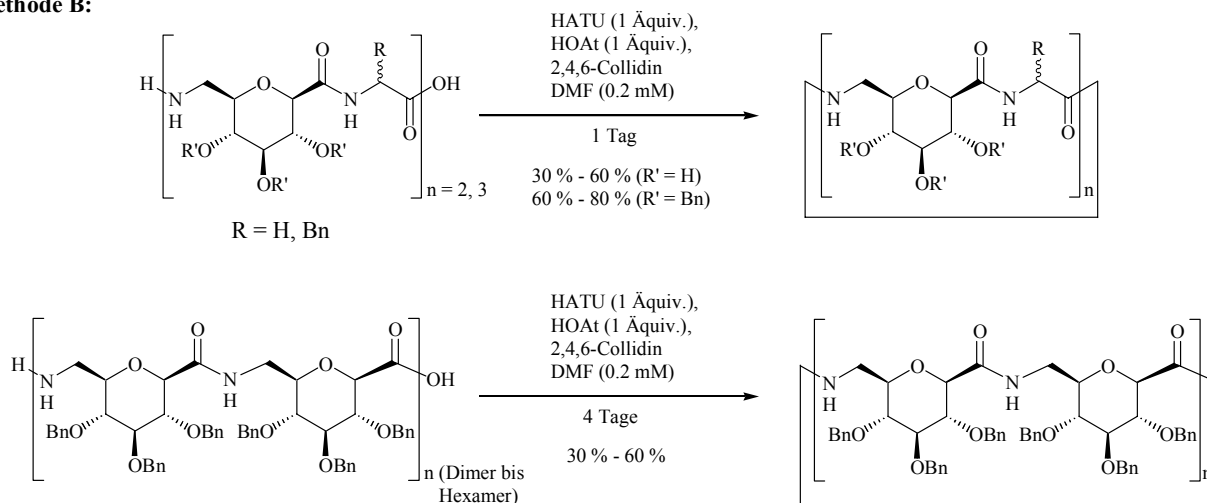
<i>Oligomer</i>	<i>Sequenz</i>
142	H ₂ N-{Gum(Bn) ₃ } ₂ -OH
143	H ₂ N-{Gum(Bn) ₃ } ₃ -OH
144	H ₂ N-{Gum(Bn) ₃ } ₄ -OH
145	H ₂ N-{Gum(Bn) ₃ } ₅ -OH
146	H ₂ N-{Gum(Bn) ₃ } ₆ -OH

3.2.3 Zyklisierungen

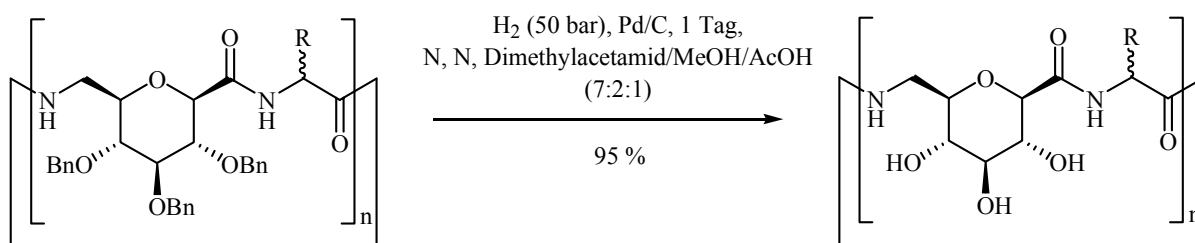
Um einen Strukturvergleich mit zyklischen Hexapeptiden zu haben, sollten in erster Linie zyklische Tetramere des Typs *cyclo*(-Gum-Xaa-Gum-Xaa-) mit Xaa = Ala, Phe, Lys jeweils in der L- und D-Form sowie Gly synthetisiert werden. Der Größenvergleich basiert auf der Tatsache, dass Gum als Dipeptidisoester für zwei Aminosäuren steht.

Zyklische Oligomere wurden durch Zyklisierung der linearen Oligomere mit Diisopropylcarbodiimid (DIC, 10 Äquiv), HOAt (1 Äquiv.) und N-Methylmorpholin (NMM, 3 Äquiv.) in einer sehr stark verdünnten Lösung (0.1 mM – 0.2 mM) von DCM/DMF (9:1) bei 4 °C in vier Tagen erhalten (Methode A in Schema 3.10); oder aber über Nacht durch Behandeln der linearen Oligomere mit HATU (1 Äquiv.), HOAt (1 Äquiv.) und 2,4,6-Collidin in einer 0.2 mM Lösung in DMF (Methode B in Schema 3.10).

Während für die Zyklisierung alternierender Oligomere, die den benzylierten Gum-Baustein enthalten, beide Methoden geeignet waren, erwies sich für die Zyklisierung der ungeschützten Oligomere aufgrund der schlechten Löslichkeit der linearen Oligomere in DCM nur die Methode B als brauchbar. Die Zyklisierung der Homooligomeren erfolgte ebenfalls nach dieser Methode. Die Zyklisierungszeit betrug in diesem Fall jedoch vier Tage statt einem. Während die Zyklisierungsausbeuten für die alternierenden Zyklen mit Gum(Bn)₃ zwischen guten 60 – 80 % lagen, konnten für die alternierenden Zyklen mit Gum(H)₃ sowie für die Homooligomeren nur Zyklisierungsausbeuten von 30 – 60 % erhalten werden. Bei der letztgenannten Gruppe spielen mit Sicherheit sterische Aspekte eine Rolle, während bei den alternierenden Zyklen mit Gum(H)₃ möglicherweise störenden Einflüsse der freien Hydroxygruppen geltend gemacht werden können.

Methode A:**Methode B:****Schema 3.10:** Zyklisierungsmethoden.

Ungeschützte Zyklen wurden neben der Zyklisierung von linearen, ungeschützten Oligomeren auch durch hydrogenolytische Spaltung der Benzylether aus den geschützten Zyklen mit Pd/C (5 %, trocken) und Wasserstoff (50 bar) über Nacht in N, N-Dimethylacetamid/MeOH/AcOH (7:2:1) in hervorragenden Ausbeuten (95 %) erhalten (Schema 3.11). Die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe der Lysinseitenkette erfolgte mit 50 Vol% TFA in DCM nahezu quantitativ.

**Schema 3.11:** Hydrogenolytische Spaltung der Benzylether.

Eine Übersicht aller in dieser Arbeit hergestellten Zyklen zeigt Tabelle 3.3.

Tabelle 3.3: Synthetisierte Zyklen.

<i>Oligomer</i>	<i>Sequenz</i>
147	<i>cyclo</i> [-Gum-Gly-Gum-Gly-]
148	<i>cyclo</i> [-Gum-Ala-Gum-Ala-]
149	<i>cyclo</i> [-Gum-Ala-Gum-D-Ala-]
150	<i>cyclo</i> [-Gum-D-Ala-Gum-D-Ala-]
151	<i>cyclo</i> [-Gum-Lys-Gum-Phe-]
152	<i>cyclo</i> [-Gum-Lys-Gum-D-Phe-]
153	<i>cyclo</i> [-Gum-D-Lys-Gum-Phe-]
154	<i>cyclo</i> [-Gum-D-Lys-Gum-D-Phe-]
155	<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Gly-Gum(Bn) ₃ -Gly-]
156	<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-]
157	<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-]
158	<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-]
159	<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -Phe-]
160	<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -D-Phe-]
161	<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -D-Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -Phe-]
162	<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -D-Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -D-Phe-]
163	<i>cyclo</i> [-Gum-Ala-Gum-Ala-Gum-Ala-]
164	<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-]
165	<i>cyclo</i> [-{Gum(Bn) ₃ } ₂ -]
166	<i>cyclo</i> [-{Gum(Bn) ₃ } ₃ -]
167	<i>cyclo</i> [-{Gum(Bn) ₃ } ₄ -]
168	<i>cyclo</i> [-{Gum(Bn) ₃ } ₅ -]
169	<i>cyclo</i> [-{Gum(Bn) ₃ } ₆ -]

3.3 CD-Spektroskopie

Die CD-Spektroskopie ist eine häufig und erfolgreich eingesetzte chiroptische Methode, um Sekundärstrukturen von Peptiden und Proteinen unter vielseitigen Bedingungen (variable Lösungsmittel, Temperaturen, Konzentrationen, etc.) zu untersuchen. Zirkulardichroismus (CD) wird überwiegend bei elektronischen Übergängen im ultravioletten oder sichtbaren Bereich des Spektrums beobachtet. Die Übergänge müssen sowohl elektrische als auch magnetische Anteile besitzen (siehe Anhang).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die linearen Oligomere **126-129** im Vergleich zu den entsprechenden Zyklen **151-154** sowie die langen Oligomere **130** und **131** in Bezug auf Sekundärstrukturmerkmale mit Hilfe der CD-Spektroskopie untersucht. Hierzu wurden mit einem CD-Spektrometer der Firma *Jasco* CD-Spektren bei verschiedenen Temperaturen und in verschiedenen Lösungsmitteln aufgenommen. CD-Spektren der benzylgeschützten Verbindungen konnten nicht aufgenommen werden, da sie sich in Lösungsmitteln, die zwischen 180 nm und 250 nm UV-durchlässig sind, nicht lösten.

Abbildung 3.1 zeigt die CD-Spektren der linearen Oligomere **126-129** im UV-Bereich von 180 nm bis 250 nm in einem Lösungsmittelgemisch von Acetonitril/Wasser (4:1) bei 20 °C und einer Konzentration von 0.25 mM.

Die CD-Kurven sind nahezu spiegelbildlich angeordnet. Während die Oligomere mit D-Phe **127** und **129** ein relatives Minimum bei 218 nm, ein absolutes Minimum bei 198 nm bzw. 196 nm und schließlich ein absolutes Maximum bei 187 nm aufweisen, ergibt sich für die L-Phe enthaltenden Zyklen **126** und **128** das umgekehrte Bild: relatives Maximum bei 216 nm, absolutes Maximum bei 197 nm bzw. 198 nm und absolutes Minimum bei 187 nm bzw. 188 nm.

Die Struktur einer α -Helix kann bei allen vier Oligomeren anhand der CD-Spektren ausgeschlossen werden. Dieser Sekundärstrukturtyp war ohnehin nicht zu erwarten, da hierfür die Sequenz der Oligomeren zu kurz war, als dass sich in Lösung stabile Helices hätten ausbilden können.

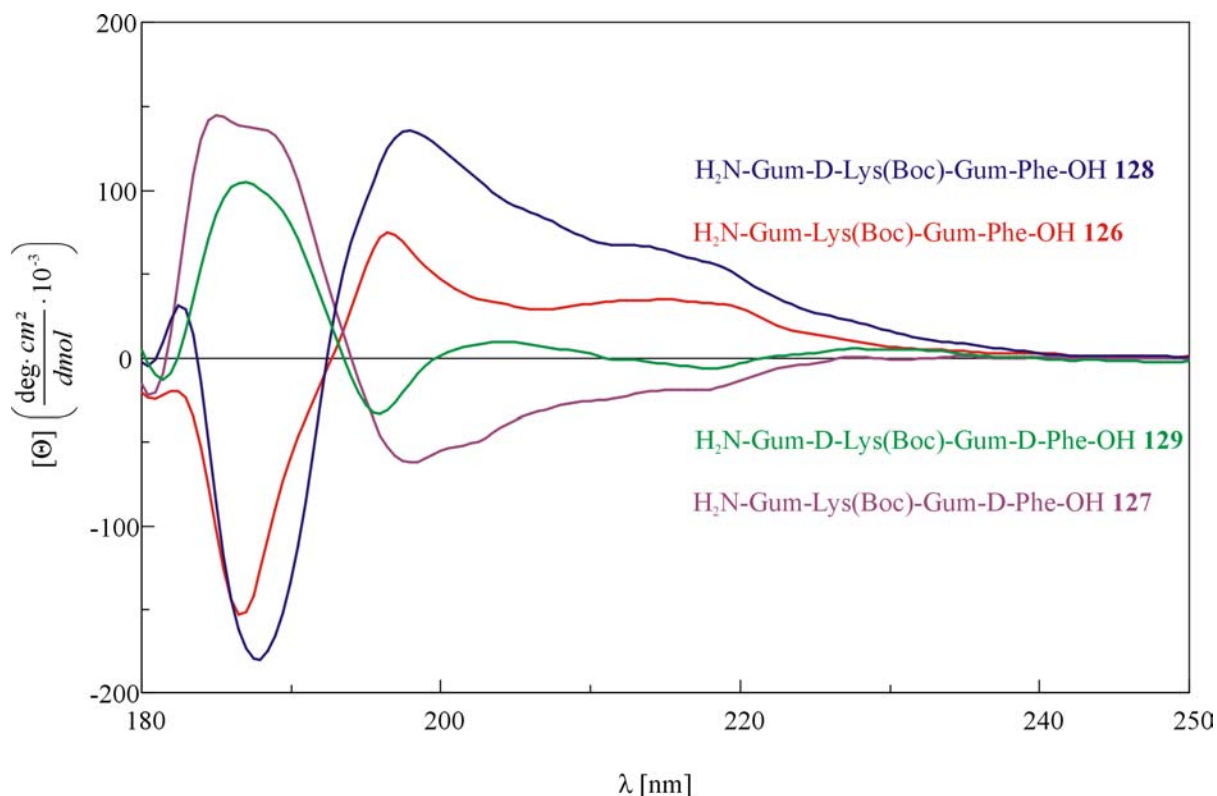


Abbildung 3.1: CD-Spektren der linearen Oligomere **126-129** in MeCN/H₂O (4:1) bei 20 °C, $c = 0.25$ mM.

Aufgrund des Kurvenverlaufs könnte man bei den Oligomeren **127** und **129** am ehesten auf eine miniaturisierte β -Faltblattstruktur schließen. Allerdings liegt das beobachtete absolute Minimum der CD-Kurven von **127** und **129** bei deutlich zu kurzer Wellenlänge (197 nm statt 216 nm). Bei dieser Wellenlänge erwartet man bei β -Faltblattstrukturen eher das Maximum. Aufgrund des fehlenden Minimums im kurzwelligen Bereich ist eine ungeordnete Struktur für die Oligomeren **127** und **129** auszuschließen, das gleiche gilt für den Vergleich mit den Spektren eines β -Turns der Klassen A bis C (Tabelle 6.1). Wider Erwarten ergeben Temperaturmessreihen von 20 °C bis 70 °C (siehe Kapitel 4.5.4) jedoch kaum eine Abnahme der Maxima bei höheren Temperaturen, was untypisch für geordnete Strukturen ist. Der Wechsel zum stark polaren Lösungsmittel Wasser hat eine Abnahme der Elliptizität zur Folge. Diese Abnahme muß jedoch nicht zwingend auf Konformationsänderungen, z. B. durch den Wegfall intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen beruhen, sondern kann lediglich durch Solvatationseffekte ausgelöst worden sein. Qualitativ ändert sich der Kurvenverlauf der CD-Spektren beim Übergang zu reinem Wasser nicht. Für weitere Strukturaussagen müssen NMR-Spektren herangezogen werden.

Auf den ersten Blick vermutet man bei den CD-Spektren der linearen Oligomere **126** und **128** eine ungeordnete Struktur mit einem starken CD-Minimum unterhalb 200 nm. Beim genaueren Vergleich der CD-Spektren mit den CD-Kurven der Klassen A und B für β -Turns (siehe Tabelle 6.1) kann man jedoch deutliche Gemeinsamkeiten erkennen. So ist für diese Sekundärstrukturtypen ein Maximum um 200 nm sowie ein Minimum zwischen 180 nm und 190 nm charakteristisch. Beides konnte bei den CD-Spektren der linearen Oligomere **126** und **128** beobachtet werden. Der schwache $n-\pi^*$ -Übergang, der in Form einer schwachen, negativen Bande um 225 nm hervorgerufen werden sollte, ist allerdings nur andeutungsweise zu erkennen. Dass es sich möglicherweise um einen modifizierten und keinen typischen β -Turn handelt, zeigt auch das zweite relative Maximum bei 216 nm, das bei den klassischen β -Turn-Konformationen nicht zu sehen ist. Temperaturmessreihen zeigen eine deutlich Abnahme der Maxima und auch sonst vergleichsweise starke Änderungen der Elliptizität mit Erhöhung der Temperatur. Auch der Übergang von dem recht unpolaren Lösungsmittelgemisch Acetonitril/Wasser (4:1) zu reinem, stark polarem Wasser zeigt eine erhebliche Abnahme der Elliptizität der Maxima. Alles deutet darauf hin, dass die linearen Oligomere **126** und **128** Strukturelemente eines modifizierten β -Turns enthalten, die in polaren Lösungsmitteln weniger stark ausgeprägt sind als in unpolaren.

Abbildung 3.2 zeigt die CD-Spektren der vier zyklisierten Oligomere **151-154** im UV-Bereich von 180 nm bis 250 nm bei 20 °C in einem Lösungsmittelgemisch von Acetonitril/Wasser (4:1). Die Konzentration der Lösungen wurde dieses Mal mit 0.14 mM etwas niedriger gewählt, da bei einer Konzentration von 0.25 mM ab einer Wellenlänge von knapp unter 200 nm die Empfindlichkeit des UV-Detektors überschritten war. Dies hätte eine negative Beeinflussung der Spektrenqualität zur Folge gehabt. Der Unterschied im Aggregationsverhalten zwischen 0.14 mM und 0.25 mM dürfte aufgrund der ohnehin schon sehr starken Verdünnung vernachlässigbar sein.

Die Spiegelbildsymmetrie der CD-Kurven im Vergleich zu den linearen Oligomeren **126-129** wurde teilweise aufgehoben. Bemerkenswert ist auch die Umkehr der Minima und Maxima der CD-Kurven bei den Zyklen **151**, **152** und **154** im Vergleich zu den entsprechenden linearen Oligomeren **126**, **127** und **129** (Tabelle 3.4).

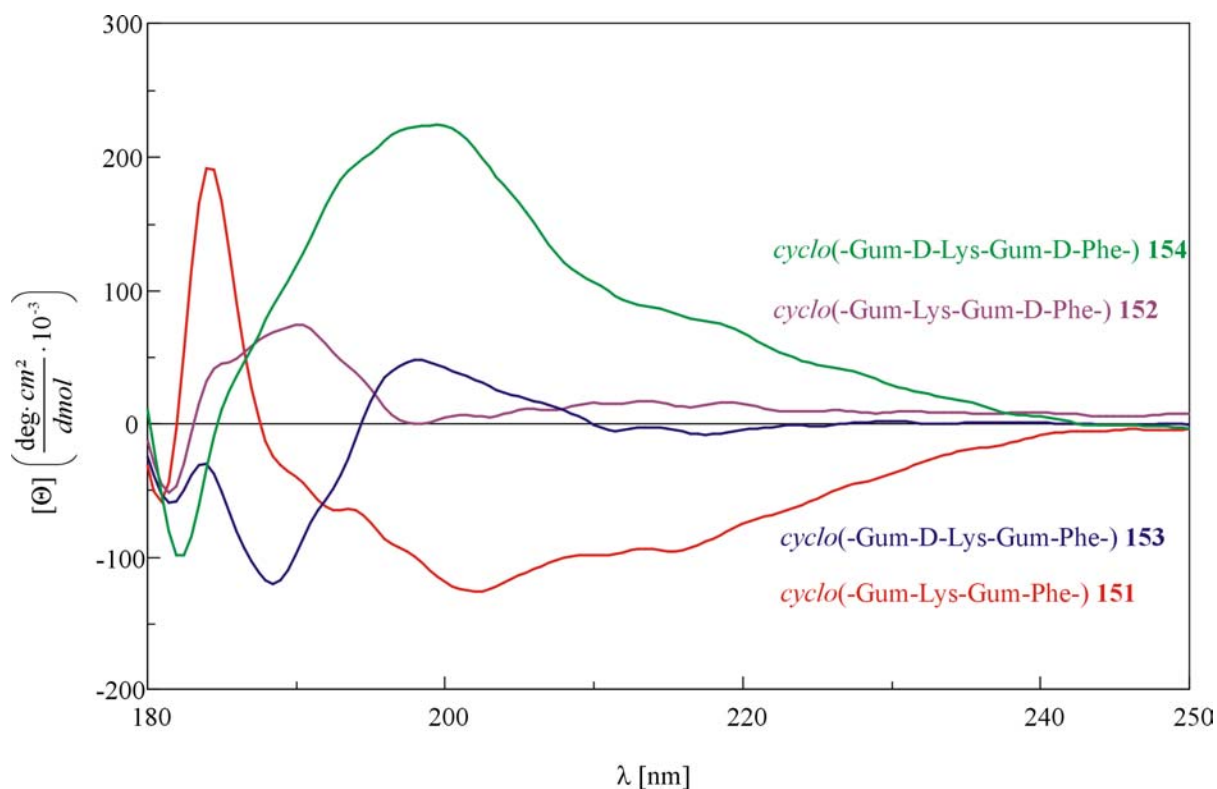


Abbildung 3.2: CD-Spektren der zyklischen Oligomere **151-154** in MeCN/H₂O (4:1) bei 20 °C, $c = 0.14$ mM.

Wider den allgemeinen Trend der Gegenläufigkeit, sind bei den Verbindungen **128** und **153** deutliche Parallelen zu erkennen. Die Temperaturabhängigkeit bei den zyklischen Verbindungen ist im Allgemeinen gering. Lediglich beim Zyklus **154** ist eine deutliche Abnahme des Maximums bei 199 nm mit steigender Temperatur zu beobachten. Dies ist verwunderlich, denn Zyklisierungen bringen für gewöhnlich eine Strukturstabilisierung mit sich, die eine starke Temperaturabhängigkeit der CD-Kurven erwarten ließe. Möglicherweise kommt es bei den Zyklen jedoch zu einer partiellen, gegenseitigen Aufhebung der resultierenden elektrischen und magnetischen Dipole, so dass letztendlich keine Temperaturabhängigkeit beobachtet werden kann. Auf einen Vergleich mit dem polaren Lösungsmittel Wasser wurde bei den Zyklen verzichtet. Ein Hinweis auf gängige Sekundärstrukturelemente konnte aus den CD-Spektren der zyklischen Oligomere **151-154** nicht abgelesen werden. Hierzu müssen NMR-Studien und auf NMR-Daten basierende Strukturrechnungen herangezogen werden.

Tabelle 3.4: Vergleichender Überblick über die Minima und Maxima der linearen und zyklischen Oligomere.

Lineares Oligomer	Zyklisches Oligomer
126:	151:
216 nm: relatives Maximum	216 nm: relatives Minimum
197 nm: absolutes Maximum	202 nm: absolutes Minimum
187 nm: absolutes Minimum	184 nm: absolutes Maximum
127:	152:
218 nm: relatives Minimum	214 nm: relatives Maximum
198 nm: absolutes Minimum	190 nm: absolutes Maximum
187 nm: absolutes Maximum	182 nm: absolutes Minimum
128:	153:
217 nm: relatives Maximum	230 nm: sehr schwaches, relatives Maximum
198 nm: absolutes Maximum	198 nm: absolutes Maximum
188 nm: absolutes Minimum	189 nm: absolutes Minimum
129:	154:
218 nm: relatives Minimum	218 nm: relatives Maximum
196 nm: absolutes Minimum	199 nm: absolutes Maximum
187 nm: absolutes Maximum	182 nm: absolutes Minimum

Bisher erwiesen sich die linearen Oligomere als zu kurz, um in Lösung stabile Helixkonformationen ausbilden zu können. Es wurden deshalb die um eine bzw. zwei Gum-Xaa-Sequenzen verlängerten linearen Hexa- und Oktamere **130** und **131** synthetisiert und deren CD-Spektren untersucht. Während in reinem Wasser keinerlei nennenswert ausgeprägten CD-Kurven zu beobachten waren (siehe Kapitel 5.5.4) konnten im Lösungsmittelgemisch Acetonitril/Wasser (4:1) zumindest Ansätze einer CD-Kurve beobachtet werden (Abbildung 3.3).

Mit Minima bei 211 nm bzw. 214 nm und Maxima bei 194 nm bzw. 195 nm ähnelten die Spektren am ehesten dem einer Helix, allerdings wurden keine ausgeprägten Doppelminima beobachtet, wie sie z. B. für ein α -Helix charakteristisch sind. Beim Vergleich mit dem CD-Spektrum einer 14-Helix (3_{14} -Helix) konnten jedoch Übereinstimmungen beobachtet werden. Das Referenz-CD-Spektrum einer 14-Helix weist ein Maximum bei 200 nm und ein starkes Minimum bei 215 nm auf. Da dieser Helixtyp meist bei β -Peptiden beobachtet wird,^[106] es

sich jedoch weder bei **130** noch bei **131** um ein β -Peptid handelt, sind Zweifel an einer solchen Struktur angebracht. Gegen diese sprechen zudem die sehr schwachen Minima bei 211 nm bzw. 214 nm. Diese müssten in einer 14-Helix deutlich stärker sein. Zudem wurden keinerlei Veränderungen der CD-Kurven im Verlauf von 20 °C bis 70 °C beobachtet, was ebenfalls gegen eine stabile Helixstruktur spricht.

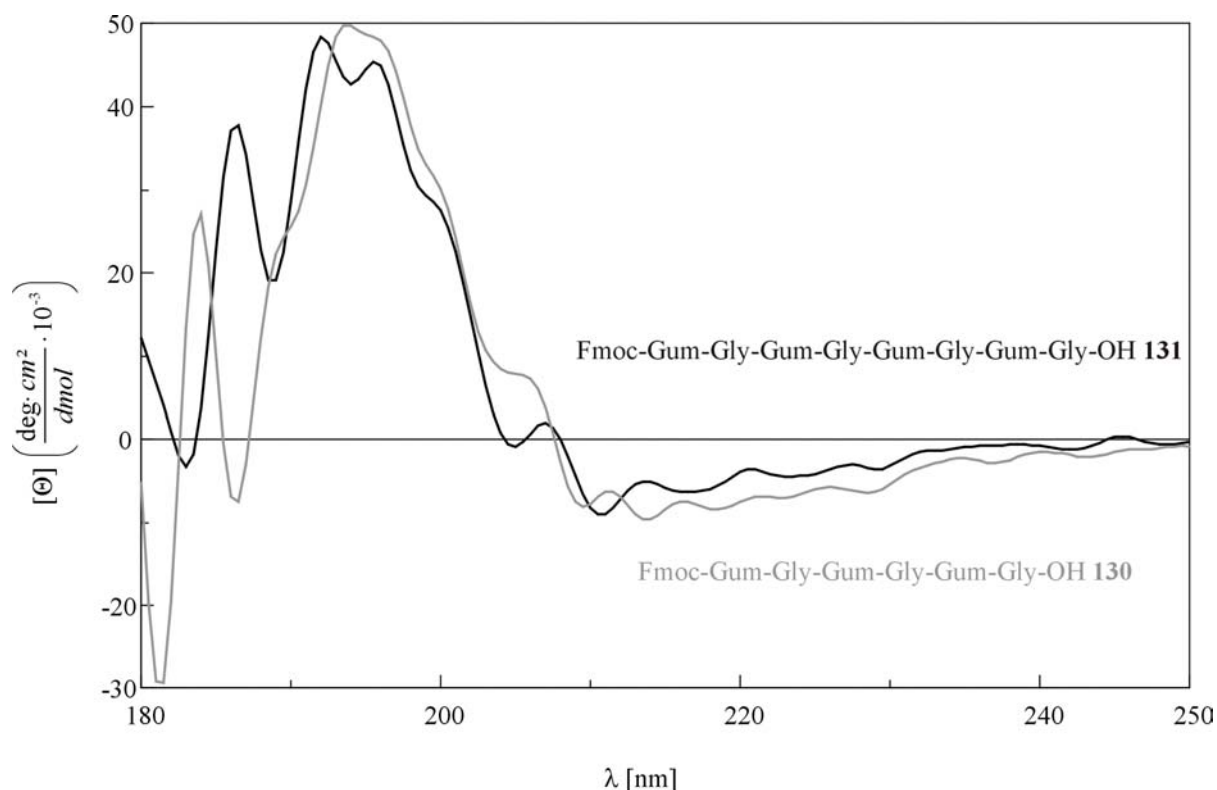


Abbildung 3.3: CD-Spektren der Hexa- und Oktamere **130** und **131** in MeCN/H₂O(4:1) bei 20 °C, c = 0.33 mM.

3.4 NMR-Studien^[154-157]

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit war es, Strukturvergleiche zwischen den hergestellten Zyklen (siehe Tabelle 3.3) und den in unserer Arbeitsgruppe intensiv untersuchten Hexapeptiden anzustellen. Ferner war es von Interesse zu erfahren, inwieweit die Ergebnisse von E. Locardi bezüglich der ungeschützten, zyklischen Homooligomeren des Gum-Bausteins auf die in dieser Arbeit hergestellten benzylgeschützten Derivate übertragen werden können.

Um all diese Fragen klären zu können, mussten NMR-Daten bereitgestellt werden, aus denen sich über Distanzgeometrie- und Moleküldynamikrechnungen Strukturen ermitteln lassen.

3.4.1 Allgemeine Meßverfahren

Für die detaillierte NMR-spektroskopische Charakterisierung der Monomerbausteine, die Zuordnung der Protonen- und ^{13}C -Signale der Oligomeren sowie zur Bestimmung von Strukturparametern wurden NMR-Studien durchgeführt. Neben den klassischen, eindimensionalen ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren^[158], wurden zahlreiche zweidimensionale Spektren^[159] aufgenommen. Das DQF-COSY-Experiment^[160-165] zeigt Kreuzsignale zwischen direkt benachbarten skalar koppelnden Kernen, im homonuklearen Fall also in der Regel ^3J - und ^2J -Kopplungen.^[161] Mit Hilfe dieses Spektrentyps gelang die Zuordnung der Amidprotonen und der dazu benachbarten Protonen. Die Zuordnung der Zuckerprotonen erwies sich mit diesem Experiment schwierig, da starke Überlappung der Signale die Auswertung erschwerte. In diesen Fällen wurde das TOCSY-Experiment^[166-168] herangezogen. Das TOCSY-Experiment ist das Standardexperiment zur Identifizierung ganzer Spinsysteme. In dieser Arbeit wurde eine Mischzeit von 80 ms gewählt. Dies ermöglicht nahezu die gesamte Erfassung eines Spinsystems. Zur Bestimmung der $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -Korrelationen wurden HMQC-Spektren^[169, 170] bzw. ^{13}C -HSQC-Spektren^[171] aufgenommen. Die Auswertung von HMQC-COSY-Spektren^[172, 173] half bei schwierigen Entscheidungen bezüglich der richtigen Zuordnung weiter. Das HMQC-COSY-Spektrum ermöglicht in einem einzigen Experiment die vollständige Zuordnung der Spinsysteme der Protonen und der aller Protonen tragenden Kohlenstoffe. Die Sequenzbestimmung der Oligomeren erfolgte mit Hilfe des ROESY-Experiments^[174-177] über die Bestimmung von Raumabständen zwischen Protonen bzw. über HMBC-Spektren^[178, 179] und den daraus ablesbaren Informationen über die Korrelation zwischen Protonen und der über eine C-C bzw. C-X-Bindung benachbarten Kohlenstoffatome. Mit dem HMBC-Experiment lassen sich somit auch quartäre Kohlenstoffatome detektieren und zuordnen.

Zur Erhöhung der Messempfindlichkeit wurde das Wassersignal in Spektren, die in Wasser oder wasserhaltigen Lösungsmitteln aufgenommen wurden, unterdrückt. Bei Proben, die nur wenig Wasser enthielten, geschah dies nach der Methode der Vorsättigung.^[180, 181] Hierbei wird die Lösungsmittelresonanz durch einen langen (1 s), schwachen (ca. 60 dB) Puls vorgesättigt. Diese Methode konnte jedoch nur bei Spektren angewandt werden, bei denen die Intensitäten der Integrale nicht quantitativ ausgewertet werden mußten (TOCSY, HMQC,

etc.), da alle chemisch austauschbaren Protonen eine Verfälschung der Integrale erfahren. Ein weiterer Nachteil dieser Methode ist die Sättigung der Resonanzen, die auf oder nahe bei der Lösungsmittelresonanz liegen. Sehr gutes Shimmen ist Grundvoraussetzung für diese Methode.

Eine deutlich höhere Wasserunterdrückung ist mit der WATERGATE-Methode^[182-185] zu erreichen. Austauschbare Protonen werden bei dieser Technik, bei der gepulste Feldgradienten eingesetzt werden, nur wenig bis gar nicht beeinflusst. Es ist kein Phasensprung der Wasserresonanz zu beobachten, wie dies z. B. bei der „*Jump and Return*“-Methode^[180, 186] der Fall ist. Eine Unterdrückung der Signale, die sehr dicht am Wasserresonanzsignal liegen, lässt sich jedoch auch bei dieser Methode nicht vermeiden.

Zur Auswahl der Lösungsmittel lässt sich folgendes sagen: Das gebräuchlichste Lösungsmittel für Peptide und Peptidmimetika, wie sie in dieser Arbeit hergestellt wurden, ist [D6]DMSO. Dieses aprotische Lösungsmittel, in dem sich fast alle Peptide lösen, dient als Akzeptor für Wasserstoffbrücken. Es kann nur im begrenzten Temperaturbereich von 300 K bis 350 K eingesetzt werden.

CDCl_3 löst unpolare Peptide und Peptidmimetika. Es koordiniert an Carbonylgruppen und erlaubt für NMR-Messungen einen Temperaturbereich von 250 K bis 330 K. Die chemische Verschiebungen der ^1H -NMR-Resonanzsignale zeigen meist eine große Dispersion in CDCl_3 . Allgemein können hydrophobe Lösungsmittel wie CDCl_3 die lipophile Umgebung bei der Bindung des Peptids bzw. eines Peptidmimetikums an einen Rezeptor simulieren.^[187]

Hervorragende Wasserstoffbrückenakzeptor- und -donoreigenschaften zeigt naturgemäß H_2O bzw. dessen deuterierte Form D_2O . Es ist ein protisches, sehr polares Lösungsmittel, das aufgrund seiner Polarität nur zum Lösen sehr polarer, ungeschützter Verbindungen geeignet ist. Es repräsentiert physiologische Bedingungen und wird aufgrund dessen bevorzugt zur Strukturuntersuchung von biologisch relevanten Verbindungen eingesetzt.

3.4.2 NMR-spektroskopische Untersuchungen linearer, alternierender Oligomere mit Lys und Phe

Die NMR-spektroskopische Charakterisierung der linearen Oligomere **126-129** erfolgte in H₂O bei 293 K. Wie aus den in Abbildung 3.4 gezeigten Ausschnitten der aufgenommenen TOCSY-Spektren zu sehen ist, zeigen alle vier Oligomere zwei nahezu gleichgewichtige Konformere, die im Rahmen der NMR-Zeitskala langsam austauschen. Auffallend hierbei ist, dass sich (mit Ausnahme von Gum³ in Zyklus **126**) lediglich die chemischen Verschiebungen der jeweiligen Phe- bzw. Lys-Signale unterscheiden, während die chemischen Verschiebungen der Gum-Signale zwischen den beiden Konformeren nahezu identisch sind.

Eine Razemisierung während der Synthese in α -Position der Aminosäuren konnte ausgeschlossen werden. So zeigten HPLC-Studien an einer analytischen RP-HPLC-Säule deutlich unterschiedliche Retentionszeiten für die vier Oligomeren. Wäre partielle Razemisierung aufgetreten, so hätte man in der HPLC mindestens zwei dieser Peaks pro Synthesefraktion beobachten müssen. Zudem unterscheiden sich die vier Oligomeren in der chemischen Verschiebungen ihrer Protonen deutlich voneinander, so dass auch hier eine Razemisierung auszuschließen ist. Die Auswertung der entsprechenden ROESY-Spektren ergab keine nennenswerten Wechselwirkungen zwischen den Amidprotonen. Eine durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisierte Sekundärstruktur ist demnach unwahrscheinlich. Dies wird durch Temperaturmessreihen bestätigt (siehe Tabelle 3.5).

Tabelle 3.5: Temperaturkoeffizienten der Amidprotonen der linearen Oligomere **126-129** mit folgender Zählweise: H₂N-Gum¹-Lys²-Gum³-Phe⁴-OH. Die Einheit ist ppb/K.

Oligomer	Gum ¹ H ^N	Lys ² H ^{N,1}	Lys ² H ^{N,2}	Gum ³ H ^{N,1}	Gum ³ H ^{N,2}	Phe ⁴ H ^{N,1}	Phe ⁴ H ^{N,2}
126	-4.85 ± 0.21	-8.15 ± 0.30	-7.65 ± 0.20	-8.76 ± 0.19	-8.00 ± 0.17	-7.17 ± 0.20	-7.62 ± 0.19
127	-4.63 ± 0.38	-7.98 ± 0.25	-7.99 ± 0.25	-7.81 ± 0.26		-8.14 ± 0.28	-8.42 ± 0.27
128	-4.55 ± 0.29	-9.24 ± 0.18	-9.32 ± 0.16	-8.68 ± 0.15		-7.22 ± 0.29	-7.49 ± 0.26
129	-4.57 ± 0.25	-9.21 ± 0.31	-9.30 ± 0.31	-8.53 ± 0.33		-8.47 ± 0.36	-8.69 ± 0.35

Von starken Wasserstoffbrückenbindungen kann man erst ab Temperaturkoeffizienten von – 3 ppb/K sprechen (siehe Kapitel 3.4.4). Von diesem Wert sind die gemessenen Temperaturkoeffizienten der linearen Oligomere **126-129** deutlich entfernt.

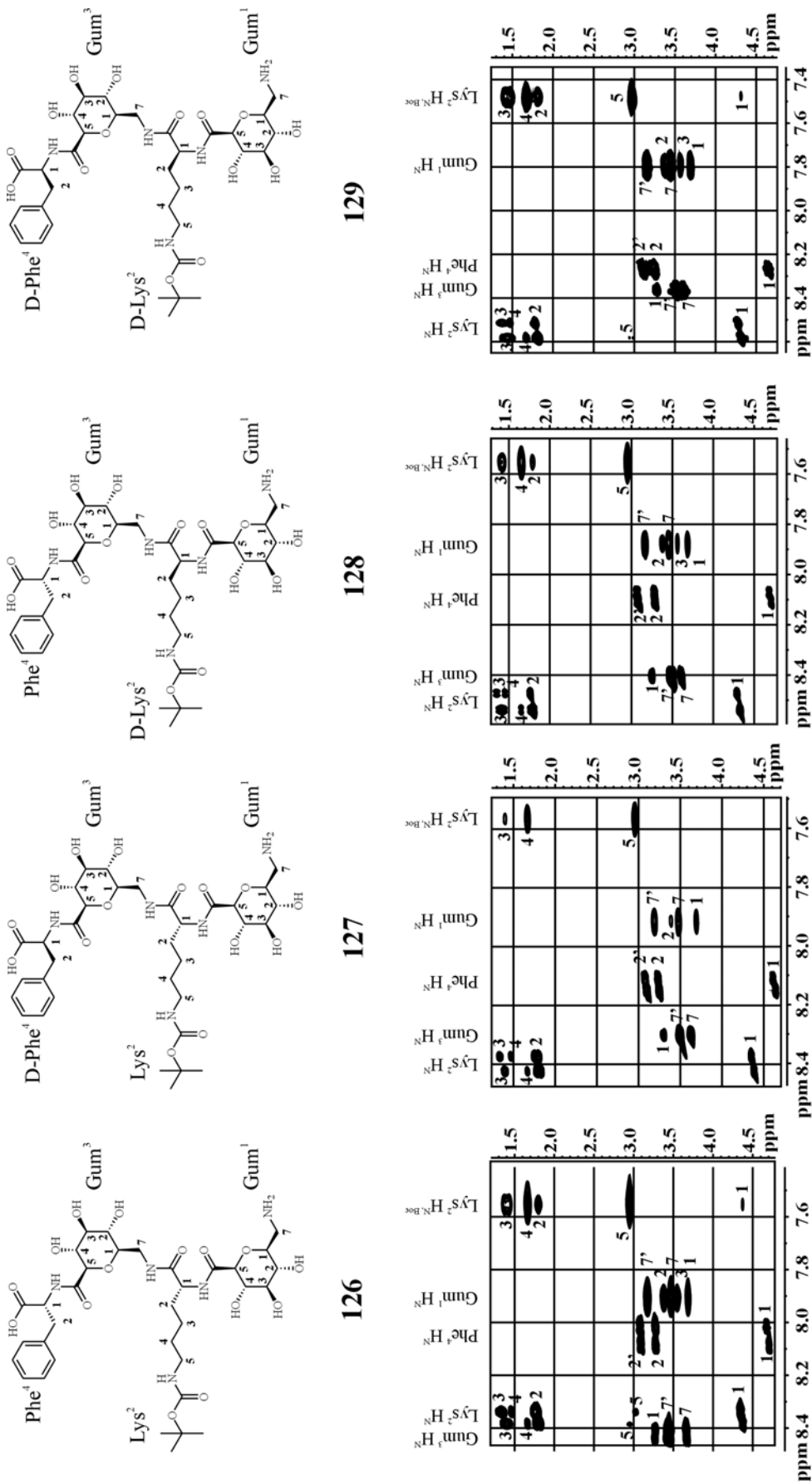


Abbildung 3.4: TOCSY-Spektren der linearen, alternierenden Oligomeren 126-129 in H₂O (+ 10 % D₂O) bei 293 K (DMX500).

Vergleichende NMR-Studien bei 293 K mit den Ursprungsmessungen zeigen nach 9-11 Wochen Lagerung der gelösten Proben im Kühlschrank deutlich sichtbare Veränderungen der Populationsverhältnisse der Konformere (Tabelle 3.6). Dies ist ein weiteres Indiz dafür, dass es sich bei den beobachteten Konformeren keinesfalls um in Lösung z. B. durch Wasserstoffbrückenbindungen strukturell stabilisierte Sekundärstrukturen handelt, sondern vielmehr um ineinander umwandelbare Gleichgewichtskonformationen mit geringer Energiebarriere.

Tabelle 3.6: Änderung der Populationsverhältnisse der Konformere der linearen Oligomeren **126-129** ermittelt durch vergleichende NMR-Studien bei 293 K (DMX500).

Oligomer	Konformer 1 : Konformer 2	
	(Probe frisch gelöst nach HPLC-Trennung)	(in Wasser gelöste Probe im Kühlschrank gelagert)
126	1 : 0.93	1 : 1.40 (11 Wochen Lagerzeit)
127	1 : 1.13	1 : 0.92 (9 Wochen Lagerzeit)
128	1 : 0.74	1 : 0.42 (11 Wochen Lagerzeit)
129	1 : 0.61	1 : 0.43 (11 Wochen Lagerzeit)

Temperaturmessreihen zwischen 277 K und 320 K zeigen ebenfalls deutliche Veränderungen der Populationsverhältnisse der jeweiligen Konformere (Tabelle 3.7).

Tabelle 3.7: Veränderung der Populationsverhältnisse in Abhängigkeit von der Temperatur.

Oligomer	Prozentualer Anteil bei 277 K		Prozentualer Anteil bei 320 K	
	Konformer 1	Konformer 2	Konformer 1	Konformer 2
126	40	60	45*	55*
127	53	47	48	52
128	71	29	64	36
129	73	27	67	33

*: Werte gelten für 300 K, da bei höheren Temperaturen die Signale ineinander wanderten und nicht mehr separierbar waren.

Die Extraktion von Strukturparametern aus den vorliegenden NMR-Spektren gestaltete sich sehr schwierig, denn eine Separierung der ROESY-Signale der zwei koexistierenden Konformere war nur bedingt möglich. So konnten keine geeigneten, gut separierten

Kreuzsignale gefunden werden, die zur Bestimmung eines Referenzabstandes herangezogen werden könnten. Ohne einen Eichabstand ist jedoch keine quantitative Auswertung des ROESY-Spektrums möglich, so dass auf quantitative Strukturaussagen anhand von NMR-Daten verzichtet werden mußte.

3.4.3 NMR-spektroskopische Untersuchungen zyklischer, alternierender Oligomere mit Lys und Phe

Wie NMR-Studien an zyklischen Oligomeren zeigten (Abbildung 3.5), ist es durch Zyklisierung möglich, das Konformerengleichgewicht der linearen Oligomere zu einem bevorzugten Konformer hin zu fixieren. Aus in H₂O gemessenen ¹H-NMR-Spektren geht hervor, dass der obige Eindruck von konformererenreinen Spektren nicht ganz stimmt. Genauere Studien zeigen bei Zyklus **152** einen 3-5 %igen Anteil eines zweiten Konformers, der mit steigender Temperatur zunimmt, wie Temperaturmessreihen von 293 K bis 320 K zeigen. Die anderen ungeschützten Zyklen sind konformererenrein, zumindest im Rahmen der Messgenauigkeit des DMX500-NMR-Spektrometers. Bei den benzylierten Zyklen **159-162** wurden in allen vier Sequenzen Nebenkongomere zwischen 2 % und 5 % beobachtet. Wegen zum Teil starker Überlagerung war eine genaue Bestimmung der Population nicht immer möglich. Die HMQC bzw. HMQC-COSY-Spektren der Verbindungen **159-162** (Abbildung 3.6) zeigen analog zu oben nur die Hauptkongomere.

3.4.4 Temperaturmessreihen

Aus Temperaturmessreihen lassen sich über die Steigung der jeweiligen Temperaturgeraden die Temperaturkoeffizienten der Amidprotonen bestimmen. Diese lassen Aussagen über die Solvenzzugänglichkeit der jeweiligen Amidprotonen zu. Der Grund hierfür ist, dass schwache Wasserstoffbrückenbindungen zum Lösungsmittel bei einer Erhöhung der Temperatur aus entropischen Gründen leichter gebrochen werden als intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen. Die Schwächung einer Wasserstoffbrückenbindung hat eine Hochfeldverschiebung des Signals zur Folge. Daher sollten Amidprotonen, die zur Stabilisierung der Sekundärstruktur hauptsächlich intramolekulare H-Brückenbindungen ausbilden, einen sehr kleinen Temperaturgradienten ($< | - 3 \text{ ppb/K} |$) zeigen. Allerdings folgt über die Temperaturgradienten nur ein bedingter Nachweis der Beteiligung eines Protons an einer Wasserstoffbrücke. Amidprotonen, die durch eine voluminöse Seitenkette vom Lösungsmittel räumlich abgeschirmt sind, zeigen ebenfalls eine Temperaturabhängigkeit der

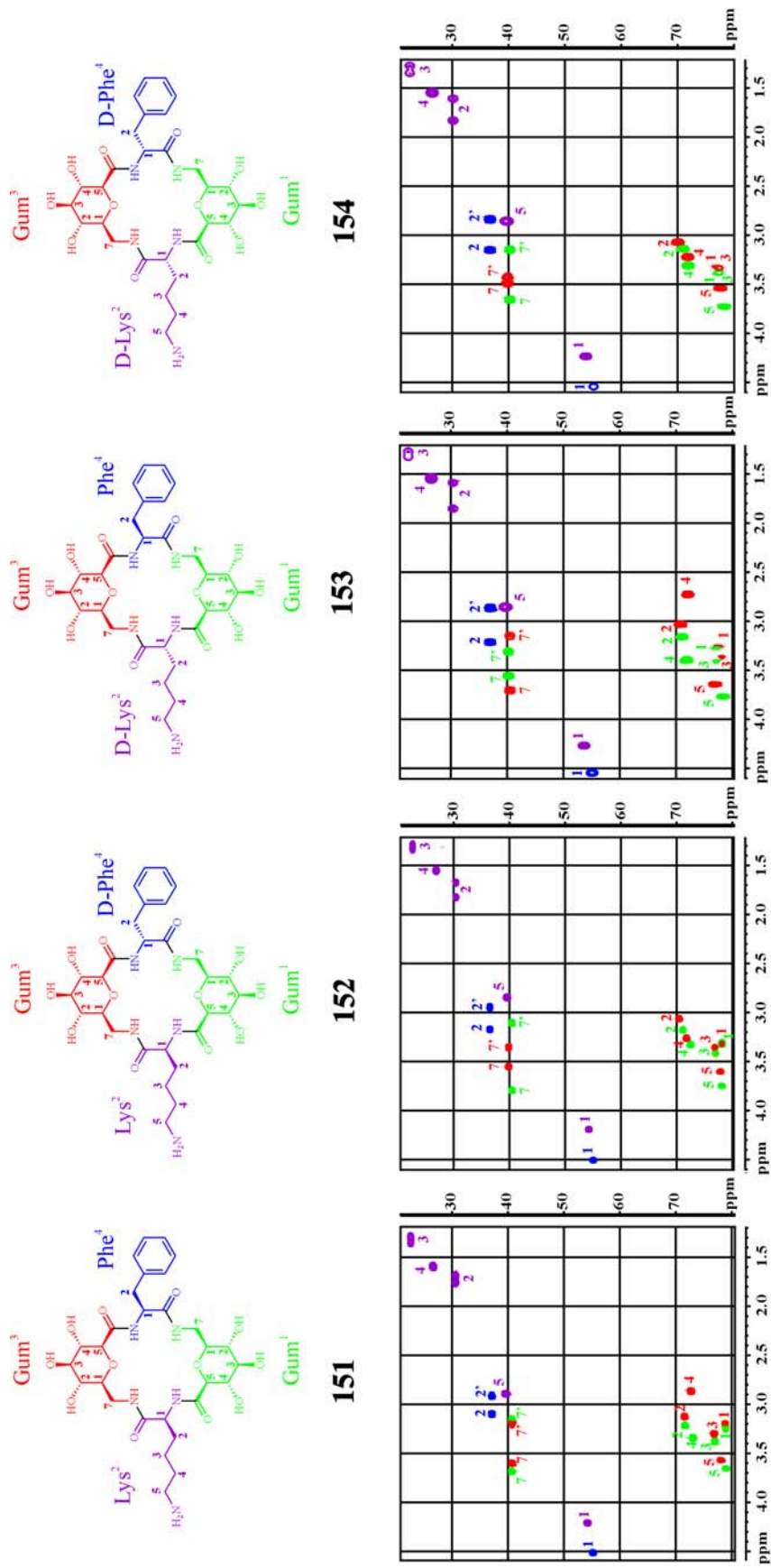


Abbildung 3.5: ^{13}C -HSQC-Spektren der zyklischen Oligomeren 151-154 in D_2O bei 293 K (DMX500).

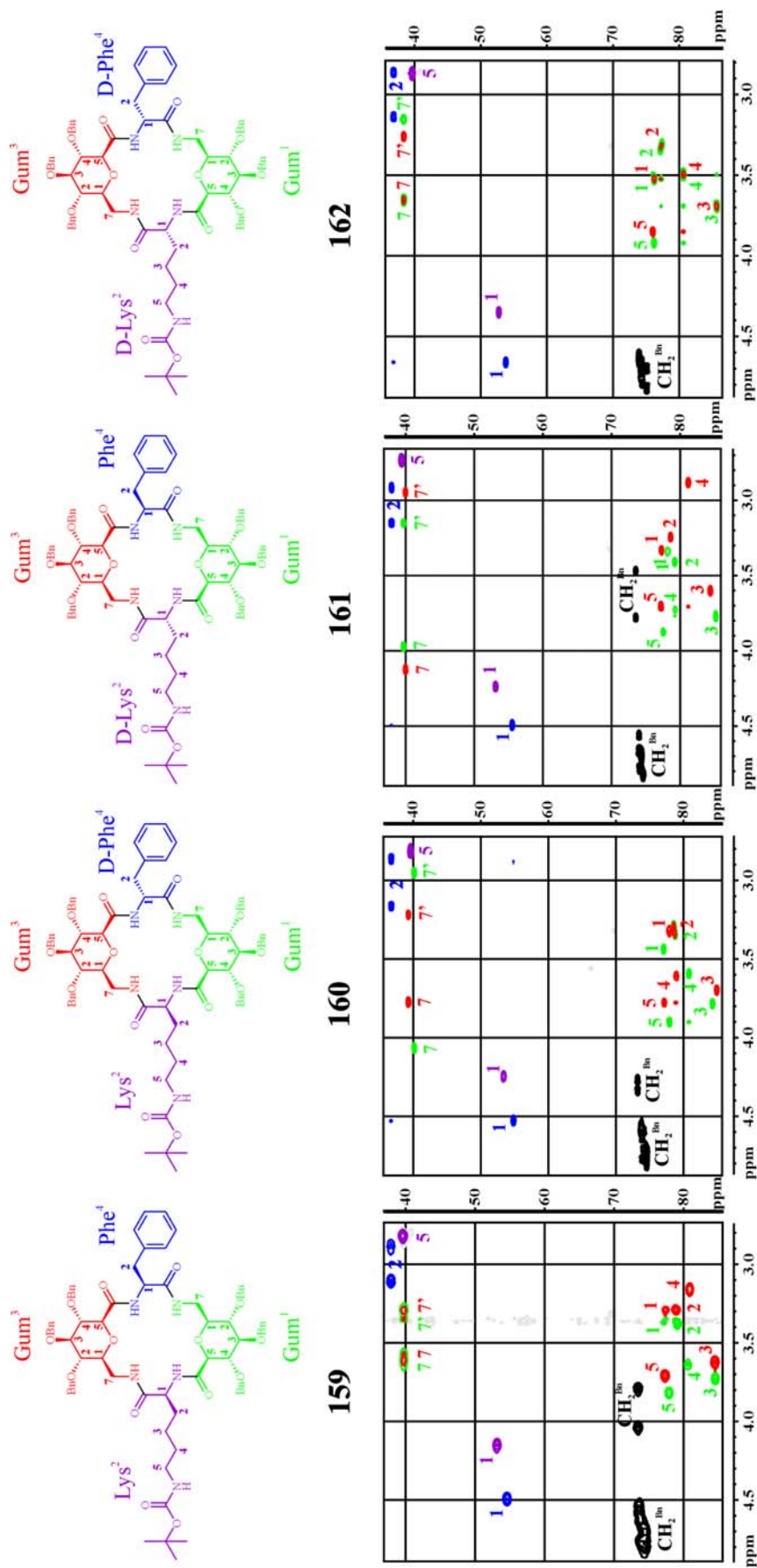


Abbildung 3.6: HMQC- bzw. HMQC-COSY-Spektren der Cyclopeptide 159-162 in [D₆]DMSO bei 293 K (DMX500).

chemischen Verschiebung. Dieser Aspekt kann bei den ungeschützten Zyklen vernachlässigt werden, spielt jedoch bei den benzylgeschützten Zyklen eine Rolle.

Aus den Temperaturmessreihen der Zyklen **151-154** (Tabelle 3.8) geht hervor, dass der Austausch der Amidprotonen mit dem Lösungsmittel sehr hoch ist, denn die Temperaturkoeffizienten sind allesamt recht groß (-6.69 ppb/K bis -10.64ppb/K). Lediglich das Amidproton $\text{Gum}^1 \text{H}^{\text{N}}$ (-4.71 ppb/K) des Zyklus **151** sowie $\text{Lys}^2 \text{H}^{\text{N}}$ (-5.35 ppb/K) von **152** zeigen eine geringfügige Abschirmung gegenüber dem Lösungsmittel. Jedoch liegen auch diese Werte deutlich über dem Richtwert von -3 ppb/K ab dem man von einer starken Wasserstoffbrückenbindung sprechen kann.

Erwartungsgemäß sind die Temperaturkoeffizienten der benzylgeschützten Zyklen **159-162** im Schnitt betragsmäßig deutlich kleiner als bei den ungeschützten Analogverbindungen (Tabelle 3.8). Sie liegen zwischen -1.22 ppb/K und -4.83 ppb/K. Dies kann mit den sterischen Einflüssen der Benzylschutzgruppen erklärt werden, die die Amidprotonen räumlich vom Lösungsmittel abschirmen. Auffallend sind die extremen Größenunterschiede der Temperaturkoeffizienten in Zyklus **162**. Während die Amidprotonen von D-Lys und D-Phe stark vom Lösungsmittel abgeschirmt sind (Temperaturgradienten: -1.30 ppb/K bzw. -1.94 ppb/K), beobachtet man bei den Amidprotonen der beiden $\text{Gum}(\text{Bn})_3$ -Bausteine sehr große Temperaturgradienten (-9.29 ppb/K bzw. -9.72 ppb/K). Diese Unterschiede sind bemerkenswert, signalisieren sie doch deutlich unterschiedliche Orientierungen der Amidbindungen dieses Cyclopeptids.

Tabelle 3.8: Temperaturkoeffizienten der Amidprotonen der Zyklen **151-154** und **159-162** mit folgender Zählweise: *cyclo(-Gum¹-Lys²-Gum³-Phe⁴-)*. Die Einheit ist ppb/K.

Zyklus	$\text{Gum}^1 \text{H}^{\text{N}}$	$\text{Lys}^2 \text{H}^{\text{N}}$	$\text{Gum}^3 \text{H}^{\text{N}}$	$\text{Phe}^4 \text{H}^{\text{N}}$
151	- 4.71 ± 0.20	- 6.96 ± 0.18	- 8.66 ± 0.19	- 7.48 ± 0.19
152	- 8.08 ± 0.13	- 5.35 ± 0.10	- 9.16 ± 0.14	- 7.60 ± 0.12
153	- 7.09 ± 0.20	- 7.72 ± 0.20	- 7.92 ± 0.20	- 6.98 ± 0.21
154	- 6.69 ± 0.20	- 10.64 ± 0.17	- 8.38 ± 0.19	- 10.32 ± 0.18
159	- 2.83 ± 0.02	- 2.40 ± 0.08	- 4.58 ± 0.03	- 2.52 ± 0.11
160	- 1.22 ± 0.11	- 3.45 ± 0.08	- 4.56 ± 0.31	- 4.61 ± 0.06
161	- 4.83 ± 0.03	- 3.99 ± 0.03	- 1.60 ± 0.02	- 3.44 ± 0.01
162	- 9.29 ± 0.04	- 1.30 ± 0.04	- 9.72 ± 0.06	- 1.94 ± 0.05

Neben den soeben beschriebenen Temperaturgradienten der ^1H -Verschiebung von Amidprotonen und der daraus sich ergebenden Auskunft über die Lösungsmittelzugänglichkeit gibt es noch weitere, wichtige Strukturparameter, die sich aus NMR-Daten ablesen lassen. Von besonderem Interesse sind aus den NOE-Aufbauten ableitbare Interprotonenabstände durch den Raum^[188-190], die nicht von der Konstitution des Moleküls, sondern allein von dessen Konformation bestimmt werden. Aus der Bestimmung von Kopplungskonstanten sind Diederwinkel zugänglich, sowohl für das Peptidrückgrat als auch für die Seitenkettenrotamere. Auf die Bestimmung dieser Parameter soll in den folgenden zwei Kapiteln anhand des Cyclopeptids **152** eingegangen werden. Von geringerem Interesse ist im Rahmen dieser Arbeit die NMR-spektroskopische Bestimmung von Diffusionskonstanten des Moleküls in Lösung und dem daraus abgeleiteten Aggregationsverhalten. Auch auf die Messung von intramolekularer Dynamik soll hier nicht weiter eingegangen werden.

3.4.5 Bestimmung von Interprotonenabständen

Die Volumenintegration der Kreuzsignale aus NOESY-Spektren^[191-194] und (kompensierten) ROESY-Spektren liefert einen Satz von strukturell relevanten NOEs, mit denen die Interprotonenabstände bestimmt werden können, sofern sich die NOE-Aufbauten im linearen Bereich befinden. Der NOE ist die Änderung der Intensität I der NMR-Resonanz des Kernspins i , hervorgerufen durch die Nicht-Gleichgewichts-Population eines räumlich benachbarten Kernspins j und dessen Relaxation. Der NOE beruht auf der Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen zwei Kernen. Die Kreuzrelaxationsrate, die die Größe des NOE-Effekts bestimmt, hängt im wesentlichen von der Korrelationszeit τ_C und dem Interprotonenabstand r_{ij} ab. Bei schnellen Molekülbewegungen ($\tau_C \rightarrow 0$, *extreme narrowing* Bereich) entstehen positive NOE-Effekte. Ist die Molekülbewegung jedoch sehr langsam ($\tau_C \rightarrow \infty$, *spin diffusion limit*) so werden negative NOE-Effekte beobachtet.^[195] Kleine Peptide, Oligonukleotide oder Kohlenhydrate haben oft Korrelationszeiten in der Größenordnung des Nulldurchgangs und liefern deshalb häufig sehr geringe Signalintensitäten. In solchen Fällen, also auch für die in dieser Arbeit zu untersuchenden Moleküle, werden daher ROESY-Spektren aufgenommen. Der ROE wird durch Kreuzrelaxation transversaler Magnetisierung im rotierenden Koordinatensystem verursacht. Ein schwaches *spinlock*-Feld (B_1) senkrecht zum B_0 -Feld eliminiert die Wirkung des B_0 -Feldes und die *spins* relaxieren im B_1 -Feld im rotierenden Koordinatensystem mit einer transversalen Relaxationszeit $T_{1\rho}$. Der ROE ist immer positiv und führt zu Signalen mit umgekehrtem Vorzeichen wie die Diagonalsignale.

Die Intensität des ROE zeigt eine zusätzliche Abhängigkeit der Intensität vom Abstand des Resonanzsignals zur Sendefrequenz. Eine mathematische *offset*-Korrektur muß daher durchgeführt werden.^[196] Ein ROESY-Spektrum der Verbindung **152** zeigt Abbildung 3.7.

Die Mischzeit bei der Aufnahme des ROESY-Spektrums betrug 200 ms. Für Peptide mit einem Molekulargewicht unter 1000 g/mol ist die Spindiffusion bis zu diesem Wert kaum relevant. Ferner kann man annehmen, dass sich die NOE-Aufbauzeiten bei dieser Mischzeit noch im linearen Bereich befinden. Die *Zweispinn*-näherung hat somit ihre Gültigkeit. Über eine *qfil*-Funktion wurde die Mitte des Spektrums in der F2-Projektion geglättet. Auf diese Weise wurde die störende Wasserbande eliminiert. ROE-Signale in der Nähe wurden jedoch hierbei bezüglich ihrer Integralintensität verfälscht und durften daher nicht für die Bestimmung der Interprotonenabstände herangezogen werden. Da jeder ROE zweimal im Spektrum auftritt (gespiegelt zur Diagonale) wurde im Zweifelsfall das Signal integriert, das von der Mitte der F2-Projektion am weitesten entfernt war. Nach *offset*-Korrektur der erhaltenen Integrale wurden diese nach der für die *Zweispinn*-näherung gültigen Gleichung 3.3 mit dem Programm Excel in 18 entsprechende Interprotonenabstände r_{ij} zwischen dem Proton i und dem Proton j umgerechnet (siehe Tabelle 5.11 in Kapitel 5.5.5).

$$\boxed{\frac{I_{ref}}{I_{ij}} = \frac{r_{ij}^6}{r_{ref}^6}} \quad (\text{Gleichung 3.3})$$

I_{ref} = Integral des Eichabstandes r_{ref}

I_{ij} = Integral des zu bestimmenden Abstandes r_{ij}

Das Integral der Korrelation $\text{Gum}^1 \text{H3} - \text{Gum}^1 \text{H5}$ diente dabei als Referenz. Der dazugehörige Referenzabstand beträgt 2.64 Å unter der Annahme, dass der Zuckerring in einer ${}^4\text{C}_1$ -Sesselkonformation vorliegt, bei der alle großen Reste äquatorial angeordnet sind. Die Interprotonenabstände zusammen mit Kopplungskonstanten, die es im folgenden zu bestimmen galt, dienten Georg Voll aus unserem Arbeitskreis als Ausgangsbasis für eine Distanzgeometrierechnung, an die sich eine Moleküldynamik-Simulation anschloss (siehe Kapitel 3.5).

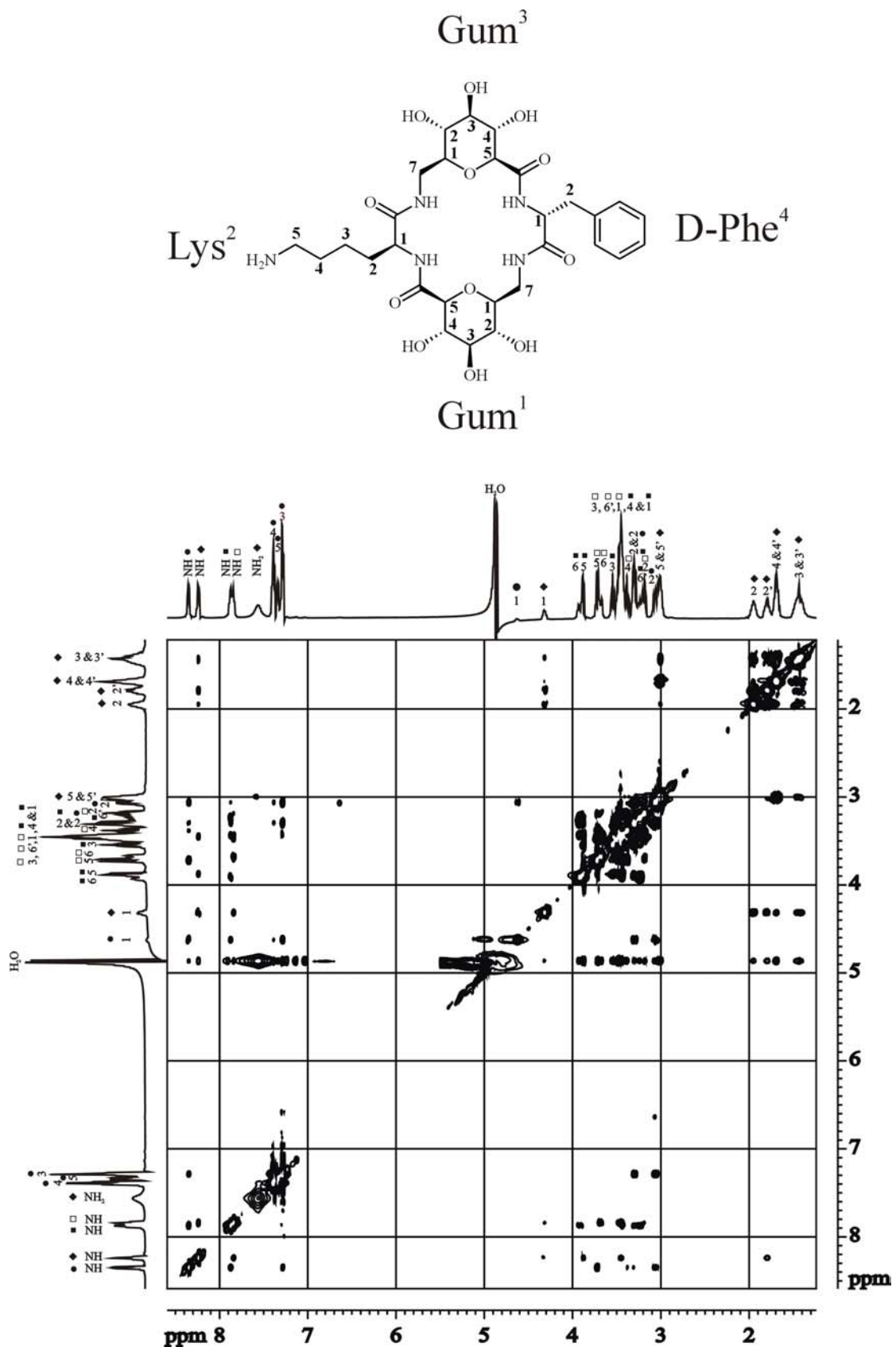


Abbildung 3.7: ROESY-Spektrum von **152** in H₂O (+ 10 % D₂O) bei 293 K (DMX 500). ■ : Gum¹; ◆ : Lys²; □ : Gum³; ● : Phe⁴

3.4.6 Bestimmung von Kopplungskonstanten und Seitenkettenrotameren

Die indirekte, skalare Spin-Spin-Kopplung (J-Kopplung)^[197, 198] zweier Kernspins ist vermittelt durch die Bindungselektronen und liefert daher Aussagen über die Konstitution des Moleküls. Die Größe der Kopplungskonstanten ist jedoch nicht nur von der Anzahl der Bindungen, die die beiden Kernspins voneinander trennen, abhängig, sondern auch von der räumlichen Anordnung und der elektronischen Konfiguration.^[199, 200] J-Kopplungen lassen sich somit auch zur Ermittlung der Konfiguration und Konformation nutzen.

Die vier strukturbestimmenden Diederwinkel in einer Peptidkette sind die Winkel ϕ , ψ , χ_1 und ω (Abbildung 3.8). Gemäß der IUPAC-IUB-Kommission^[201] ist ϕ als der Diederwinkel $C'_{i-1}-N_i-C^\alpha_i-C'_i$, ψ als der Diederwinkel $N_i-C^\alpha_i-C'_i-N_{i+1}$ und χ_1 als der Diederwinkel $N_i-C^\alpha_i-C^\beta_i-C^\gamma_i$ definiert. Der Torsionswinkel ω um die Peptidbindung $C^\alpha_i-C'_i-N_{i+1}-C^\alpha_{i+1}$ ist aufgrund des partiellen Doppelbindungscharakters in der Regel 180° (*trans*-Konfiguration) oder 0° (*cis*-Konfiguration).

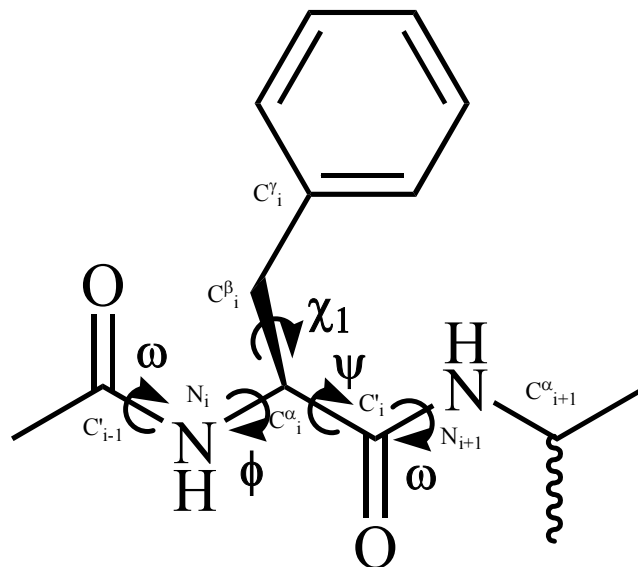


Abbildung 3.8: Diederwinkel (Torsionswinkel) ω , ϕ , ψ und χ_1 von Aminosäuren am Beispiel des Phenylalanins.

Während ϕ , ψ und ω das Peptidrückgrat eindeutig festlegen wird durch χ_1 die Seitenkettenkonformation bestimmt.

Der ϕ -Winkel lässt sich aus den ${}^3J(\text{H}^{\text{N}}, \text{H}^{\alpha})$ -, ${}^3J(\text{H}^{\text{N}}, \text{C}')$ -, ${}^3J(\text{H}^{\text{N}}, \text{C}^{\beta})$ - und ${}^3J(\text{H}^{\alpha}, \text{C}'_{i-1})$ -Kopplungskonstanten eindeutig bestimmen. Genauso lässt sich der χ_1 -Winkel aus den Kopplungskonstanten ${}^3J(\text{H}^{\alpha}, \text{H}^{\beta})$, ${}^3J(\text{H}^{\text{N}}, \text{H}^{\beta})$, und ${}^3J(\text{H}^{\beta}, \text{C}')$ bestimmen. Der ψ -Winkel ist praktisch nur für ${}^{15}\text{N}$ -markierte Proben z. B. über die ${}^3J(\text{H}^{\alpha}, \text{N}_{i+1})$ -Kopplungskonstante messbar.

Bei der Bestimmung der homonuklearen Kopplungskonstanten wurde häufig das ${}^1\text{H}$ -NMR-Spektrum herangezogen. In manchen Fällen ließ sich die Kopplungskonstante auch aus dem DQF-COSY-Spektrum entnehmen. Hat ein Proton jedoch mehr als einen Kopplungspartner, so bietet sich zur selektiven Bestimmung der Kopplungskonstanten auch das E.COSY-Experiment^[202-204] an. Heteronukleare Kopplungskonstanten lassen sich qualitativ aus den Intensitäten eines HMBC-Spektrums ablesen.

Die Kopplungskonstanten können in Verbindung mit den Abstandsinformationen aus dem ROESY-Experiment zur stereospezifischen Zuordnung von diastereotopen Gruppen und Protonen herangezogen werden. Die richtige Zuordnung dieser Gruppen erhöht die Qualität der mit Abstands-*restraints* simulierten Strukturen beträchtlich, da Verfahren wie die Pseudoatomnäherung^[205] nicht mehr angewandt werden müssen. Die für die diastereotope Zuordnung der β -Protonen von **152** wichtigen Kopplungskonstanten sowie ${}^3J(\text{H}^{\text{N}}, \text{H}^{\alpha})$ sind in Tabelle 3.9 aufgelistet.

Tabelle 3.9: Kopplungskonstanten von Lys² and D-Phe⁴, die u. a. zur diastereotopen Zuordnung der β -Protonen in *cyclo*[-Gum¹-Lys²-Gum³-D-Phe⁴-] **152** dienen.

Atom	${}^3J_{\text{H,H}}$	${}^3J_{\text{H,C}}$ [qualitativ]
Lys ²	${}^3J(\text{H}^{\text{N}}, \text{H}^{\alpha}) = 7.5 \text{ Hz}$	
Lys ²	${}^3J(\text{H}^{\alpha}, \text{H}^{\beta, \text{pro R}}) = 9.4 \text{ Hz}$	${}^3J(\text{H}^{\beta, \text{pro R}}, \text{C}') = \text{sehr klein}$
Lys ²	${}^3J(\text{H}^{\alpha}, \text{H}^{\beta, \text{pro S}}) = 5.8 \text{ Hz}$	${}^3J(\text{H}^{\beta, \text{pro S}}, \text{C}') = \text{sehr klein}$
D-Phe ⁴	${}^3J(\text{H}^{\text{N}}, \text{H}^{\alpha}) = 8.2 \text{ Hz}$	
D-Phe ⁴	${}^3J(\text{H}^{\alpha}, \text{H}^{\beta, \text{pro R}}) = 9.3 \text{ Hz}$	${}^3J(\text{H}^{\beta, \text{pro R}}, \text{C}') = \text{klein}$
D-Phe ⁴	${}^3J(\text{H}^{\alpha}, \text{H}^{\beta, \text{pro S}}) = 4.9 \text{ Hz}$	${}^3J(\text{H}^{\beta, \text{pro S}}, \text{C}') = \text{groß}$

Unter der Annahme, dass die gestaffelten Seitenkettenrotamere bevorzugt werden, ergeben sich für Lys und D-Phe die in Abbildung 3.9 gezeigten Konformationen. Unter dem jeweiligen Rotamer sind die zu erwartenden Kopplungskonstanten und Interprotonenabstände angegeben. Für $^3J(H^\beta, C^\gamma)$ bedeutet „groß“ eine intensive Korrelation im HMBC. Für $^3J(H^\alpha, H^\beta)$ entspricht „groß“ ca. 10-12 Hz und „klein“ ca. 3-5 Hz. Ein „langer“ Abstand heißt ca. 300 pm, „kurz“ bedeutet ca. 220 pm.

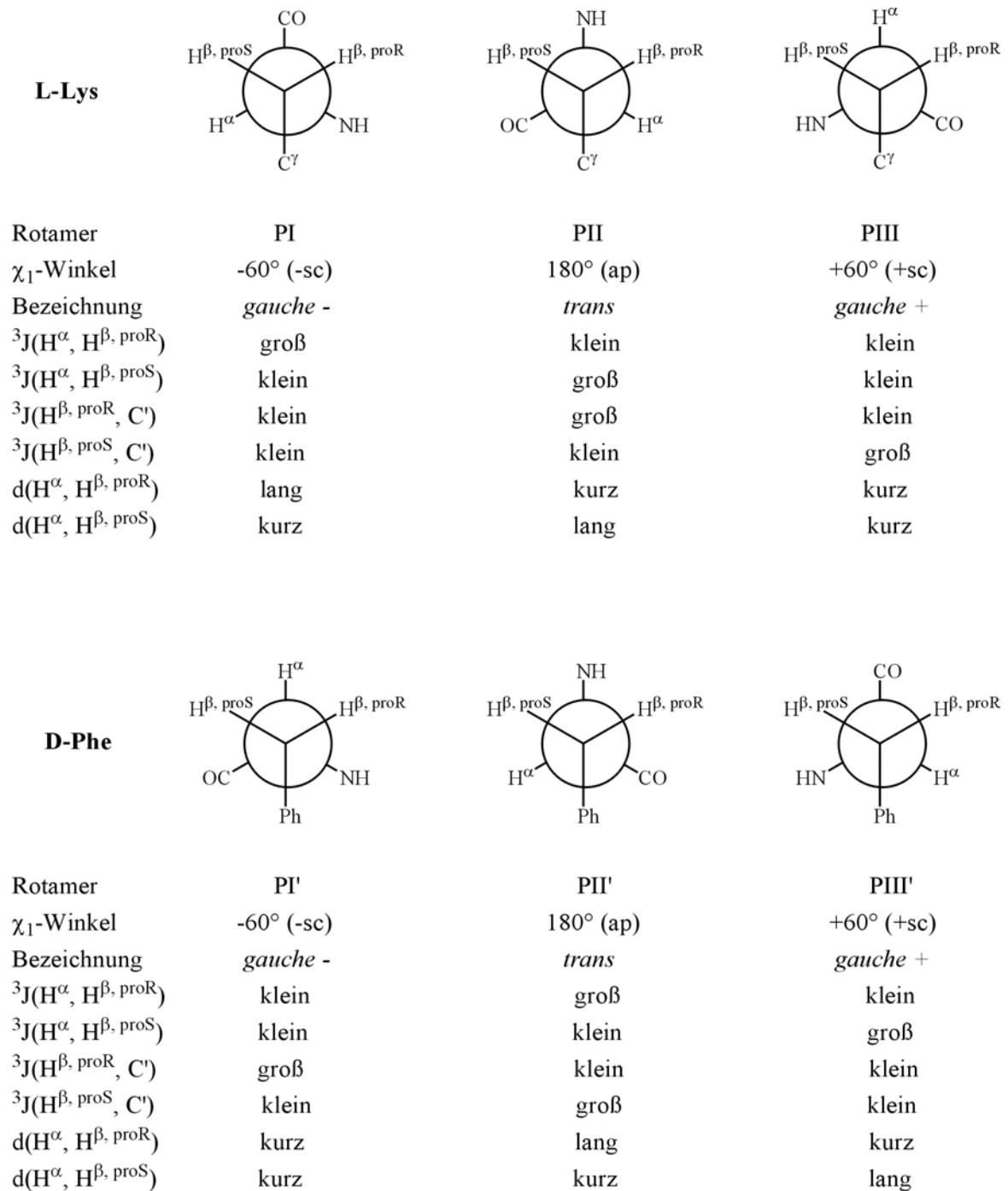


Abbildung 3.9: Seitenkettenrotamere von Lys und D-Phe.

Sieht man sich unter diesem Aspekt die Kopplungskonstanten von **152** aus Tabelle 3.9 an, so kann man auf ein schnelles Gleichgewicht mehrerer Rotamere schließen. Aussagen über das Populationsverhältnis der Rotamere können über die Pachler-Gleichung^[206, 207] (Gleichung 3.4) gemacht werden. Die gemessene Kopplungskonstante ergibt sich dabei als arithmetisches Mittel über die Kopplungskonstanten J_i aller drei Rotamere i , gewichtet mit ihrer jeweiligen Population P_i .

$$J_{\text{beobachtet}} = \sum_i P_i \cdot J_i \quad (\text{Gleichung 3.4})$$

J_i = Kopplungskonstante des Rotamers i

P_i = Population des Rotamers i

Die Populationen berechnen sich wie folgt:

$$PI = \frac{{}^3J(H^\alpha, H^{\alpha, \text{proR}}) - {}^3J_{sc}}{{}^3J_{ap} - {}^3J_{sc}}, \quad PII = \frac{{}^3J(H^\alpha, H^{\beta, \text{proS}}) - {}^3J_{sc}}{{}^3J_{ap} - {}^3J_{sc}}, \quad PIII = 1 - PI - PII$$

$$PI' = 1 - PII' - PIII', \quad PII' = \frac{{}^3J(H^\alpha, H^{\beta, \text{proR}}) - {}^3J_{sc}}{{}^3J_{ap} - {}^3J_{sc}}, \quad PIII' = \frac{{}^3J(H^\alpha, H^{\beta, \text{proS}}) - {}^3J_{sc}}{{}^3J_{ap} - {}^3J_{sc}}$$

Nimmt man eine antiperiplanare Kopplungskonstante $J_{ap} = 13.6$ Hz und eine synclinale Kopplungskonstante $J_{sc} = 2.6$ Hz an, so ergeben sich aus den gemessenen ${}^3J(H^\alpha-H^\beta)$ -Werten der Tabelle 3.9 folgende Konformerpopulationen in Zyklus **152** (Tabelle 3.10).

Tabelle 3.10: Populationsverhältnis der Seitenkettenrotamere von Lys und D-Phe in **152**.

Aminosäure	PI	PII	PIII	PI'	PII'	PIII'
Lys	62 %	29 %	9 %			
D-Phe				18 %	61 %	21 %

Eine genaue Orientierung der Seitenkettenrotamere sowie des Peptidrückrates liefern die Rechnungen in Kapitel 3.5.

3.4.7 NMR-spektroskopische Untersuchungen zyklischer, alternierender Oligomere mit Ala und Gly

Während die Einführung von Phe in die Cyclopeptide **151-154** und **159-162** erwartungsgemäß zu einer guten Separierung der NMR-Signale führte, gilt es in diesem Abschnitt, die Struktur der Cyclopeptide **147-150** sowie **155-158** zu klären, die über keine strukturinduzierenden Aminosäuren wie Phe verfügen. Wie aus den NMR-Spektren ersichtlich (Abbildungen 3.10 und 3.11), sind lediglich bei den „gemischten“ Zyklen **149** und **157** Asymmetrien zu erkennen. Alle anderen Zyklen zeigen im Rahmen der NMR-Zeitskala hochsymmetrische Konformationen. Daran ändert sich auch nichts durch Vergrößerung des Ringsystems vom Tetramer (entspricht Hexapeptid) zum Hexamer (entspricht Nonapeptid), wie NMR-Studien zeigen. Aufgrund der sehr geringen Löslichkeit von **158** in DMSO war es nicht möglich, von diesem Zyklus NMR-Spektren aufzunehmen.

Trotz der starren Sesselkonformationen der Gum-Bausteine und der starren Peptidbindungen (Doppelbindungscharakter) reichen die Rotationsfreiheitsgrade um die noch verbleibenden Bindungen im Peptidrückgrat aus, um eine hohe Flexibilität zu erzeugen. Die Folge sind zeitlich gemittelte, hochsymmetrische Konformationen im Rahmen der NMR-Zeitskala.

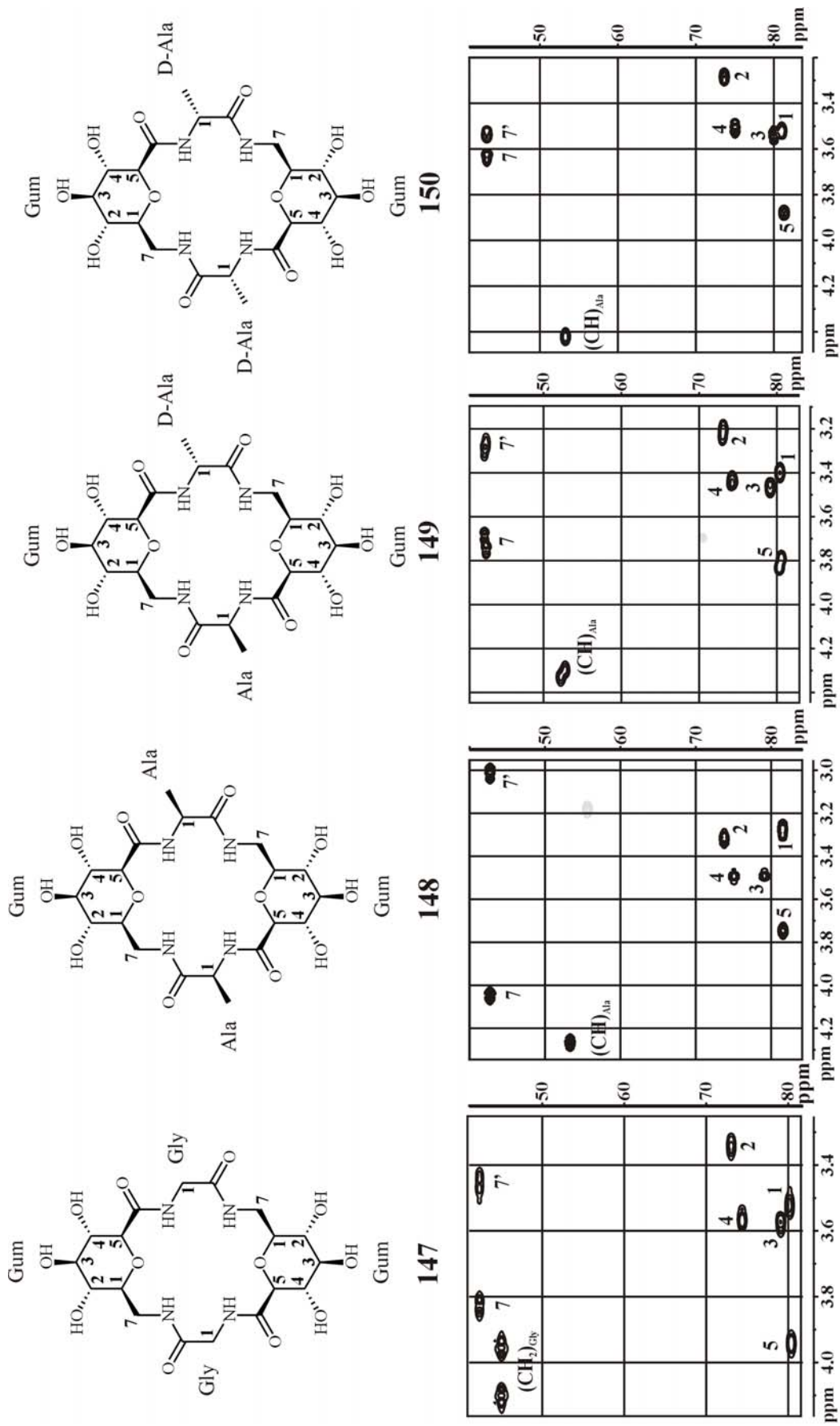


Abbildung 3.10: HMQC-Spektren der Cyclopeptide 147-150 in D_2O bei 300 K (DMX500).

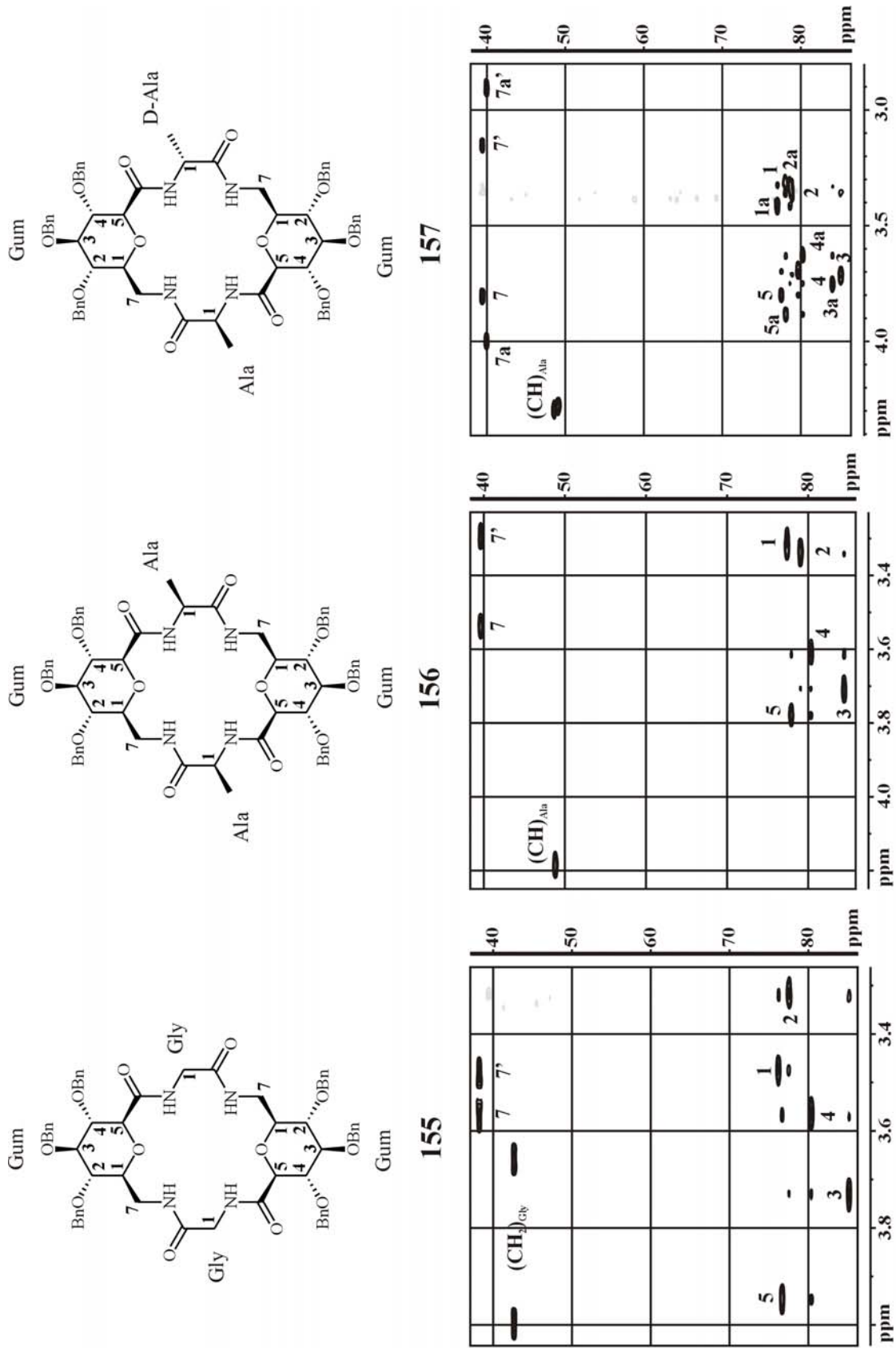


Abbildung 3.11: HMQC-COSY-Spektren der Cyclopeptide 155-157 in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ bei 300 K (DMX500).

3.4.8 NMR-spektroskopische Untersuchungen zyklischer Homooligomere

Wie NMR-Studien in Wasser an ungeschützten, zyklischen Homooligomeren des Gum-Bausteines von E. Locardi gezeigt haben,^[13] ist es durch systematische Verkleinerung der Zyklen möglich, Asymmetrien bei diesen im Rahmen der NMR-Zeitskala hervorzurufen. Während die ungeschützten, zyklischen Tetra- und Hexahomooligomere im Rahmen der NMR-Zeitskala und im Temperaturbereich zwischen 273 K und 293 K hochsymmetrisch waren, wies das Homotrimer bei detaillierter Analyse der NMR-Spektren schon gerinfüfige Differenzen der chemischen Verschiebungen der Methylenprotonen zueinander in Abhängigkeit von der Temperatur auf. Beim Dimer wurden bei 273 K gleich drei in der NMR-Zeitskala aufgelöste Konformationen beobachtet, von denen die beiden niederpopulierten jedoch bei 293 K ineinander übergingen.

Es galt nun zu klären, inwieweit sich diese Ergebnisse auf benzylgeschützte Homooligomere des Gum-Bausteines übertragen lassen. Hierzu wurden NMR-Studien vom zyklischen Homodimer **165** bis zum zyklischen Homoheptamer **169** durchgeführt. Alle fünf Homooligomere **165-169** zeigten im Rahmen der NMR-Zeitskala zwischen 277 K und 293 K hochsymmetrische Konformationen. Es war stets nur ein Signalsatz für den Gum(Bn)₃-Baustein zu beobachten (Abbildung 3.12). Die vollständige Signalzuordnung bei beiden Temperaturen kann Tabelle 5.9 entnommen werden.

Aufgrund der extremen Unpolarität der Zyklen war eine Reinigung derselben per RP-HPLC nur bedingt möglich. Die Verunreinigungen konnten jedoch über DQF-COSY- und HMQC-COSY-Spektren definitiv als Verunreinigungen nachgewiesen werden, deren Signale keinerlei Bezug zu den Signalen der Homooligomeren hatten.

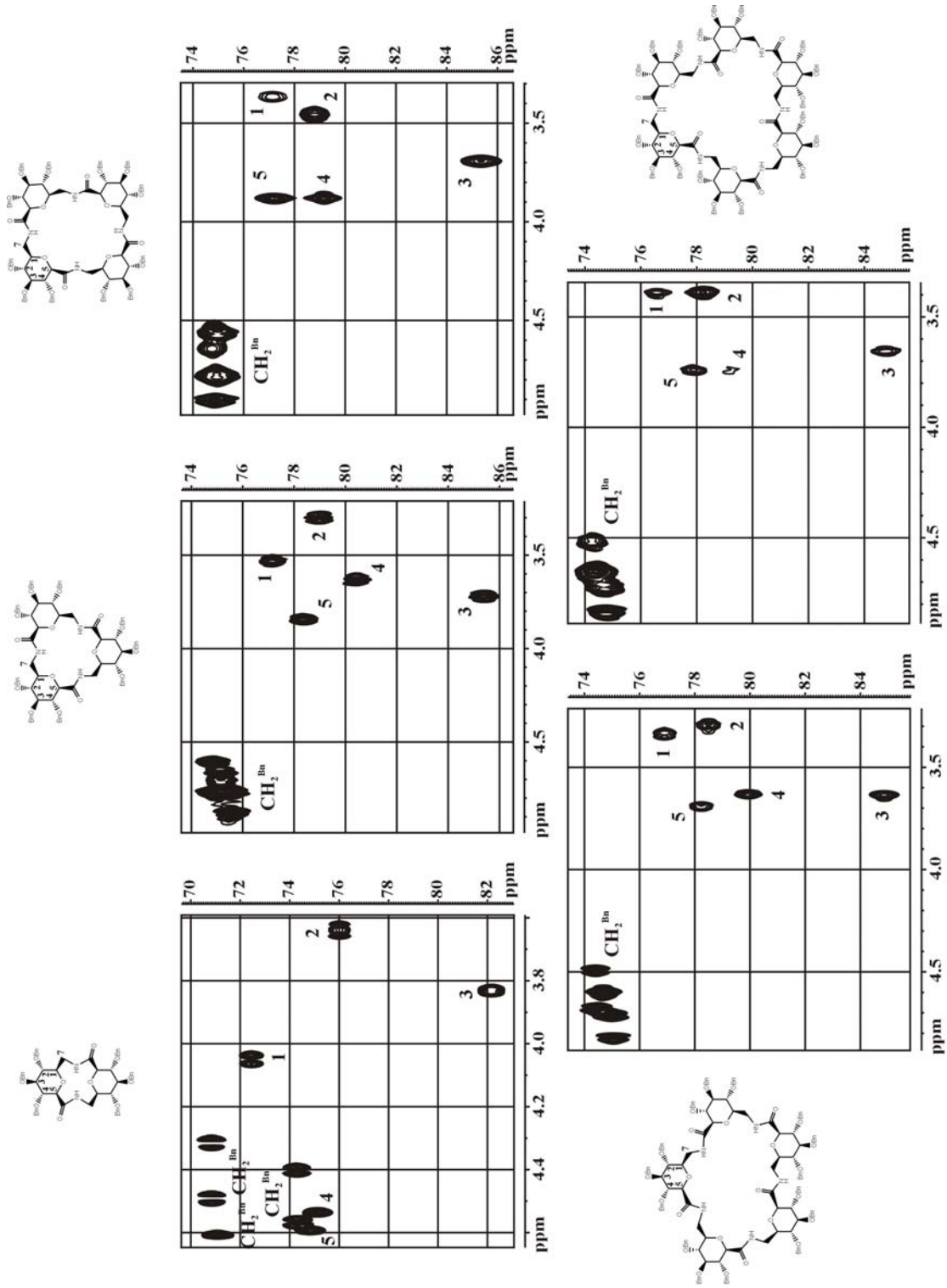


Abbildung 3.12: HMQC-Spektren der zyklischen Homooligomeren 165-169 in CDCl_3 bei 293 K (DMX500).

3.5 Strukturrechnungen

In dieser Arbeit wurden u. a. alternierende Tetramere synthetisiert, um zyklische Hexapeptide größenordnungsmäßig nachzuahmen. Bisher konnten in allen Cyclohexapeptiden, in denen Gum als Einzelbaustein involviert war, β -Turn-Strukturen desselben nachgewiesen werden (siehe Kapitel 2.3.2). Gegenstand dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob der Gumbaustein seine β -turn-induzierenden Eigenschaften auch in Cyclopeptiden beibehält, in denen er in doppelter Ausführung vertreten ist, wie dies in den Zyklen **147-162** der Fall ist. Hierzu führte Georg Voll aus unserem Arbeitskreis exemplarisch für den ungeschützten, alternierenden Zyklus *cyclo*[-Gum-Lys-Gum-D-Phe-] **152** auf Grundlage der in dieser Arbeit gesammelten NMR-Daten eine Distanzgeometrie-Rechnung (DG-Rechnung) und daran anschließend eine Moleküldynamiksimulation mit (rMD) und ohne Abstands-*restraints* durch.

Insgesamt wurden für die Rechnungen 18 Abstands-*restraints* verwendet, die, wie in Kapitel 3.4.5 erläutert, aus dem ROESY-Spektrum der Abbildung 3.7 erhalten wurden. Ferner wurden die in Tabelle 3.8 aufgeführten Kopplungskonstanten berücksichtigt. Die stereospezifische Zuordnung von Gum¹ H^{C, proS} erfolgte durch geometrische Betrachtungen unter Zuhilfenahme der Korrelation im ROESY-Spektrum mit Lys² H^N. Für die Distanzgeometrie-Rechnung wurde eine modifizierte Version^[189] von DISGEO^[208, 209] verwendet. Die auf diese Weise erhaltenen 1000 Startstrukturen wurden nach einem speziellen Algorithmus^[210] bezüglich der Position ihrer Rückgratotope einschließlich der Zuckeratome im Ring *geclustert*. Der so erhaltene Konformations*pool* wurde für weitere strukturelle Verfeinerungen herangezogen. Hierzu wurde eine 150 ps Moleküldynamiksimulation mit Abstands-*restraints* in einem CVFF Kraftfeld, wie es im Discover Programmpaket^[211] enthalten ist, durchgeführt. Die Simulation wurde in einer expliziten, kubischen Wasserbox (46 × 46 × 46 Å³), die 3199 Wassermoleküle enthielt, durchgeführt, um so möglichst realistische Bedingungen zu simulieren. Alle ROE-Verletzungen, die über die gesamte Trajektorie nach dem $\langle r^{-3} \rangle^{1/3}$ -Mittelungsverfahren berechnet wurden, blieben unter 0.13 Å. Die gemittelte und energieminierte Struktur der durch Abstands-*restraints* eingeschränkten MD-Trajektorie (Abbildung 3.13) steht in Übereinstimmung mit den Temperaturgradienten der Amidprotonen, die, wie zuvor erläutert, im Austausch mit Lösungsmittelmolekülen stehen.

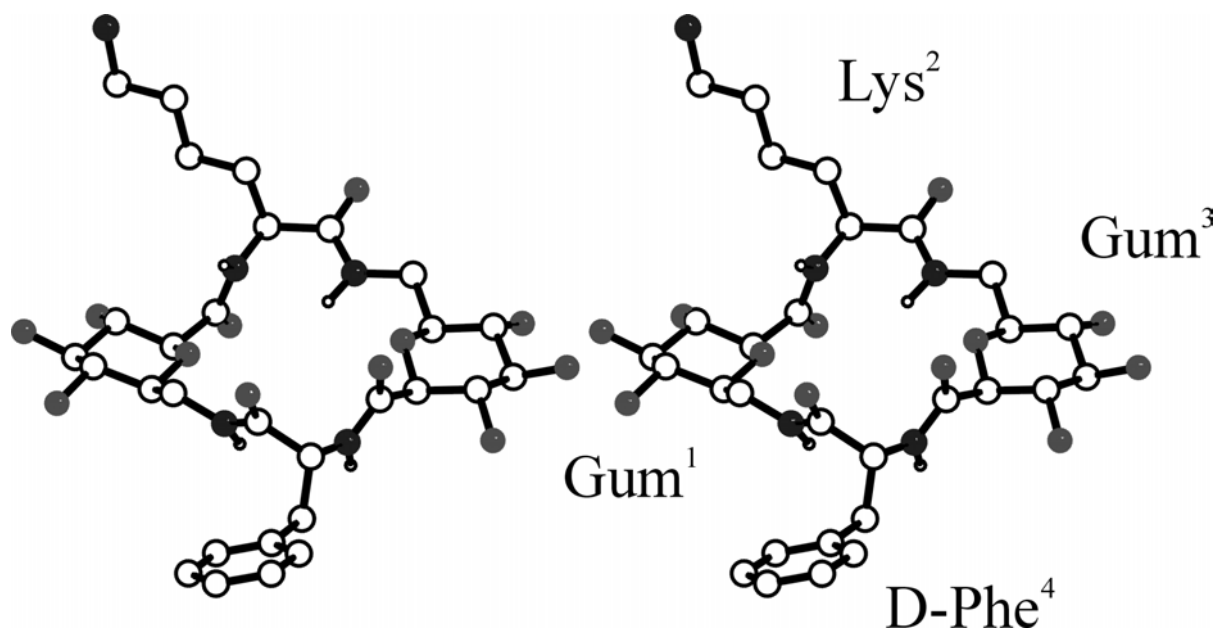


Abbildung 3.13: Stereobild der dreidimensionalen Struktur von **152** in Wasser. Zur besseren Übersicht sind nur die polaren Wasserstoffatome abgebildet.

Um weitere Einblicke in die konformationelle Flexibilität von **152** zu bekommen, wurde eine 150 ps MD-Simulation in Wasser ohne *Abstands-restraints* (freie Dynamikrechnung) durchgeführt. Die Struktur blieb dabei stabil und war nahezu identisch mit der zuvor gerechneten und in Abbildung 3.13 gezeigten Struktur. Der Abstands-RMSD-Wert zwischen den gemittelten und minimierten Strukturen sowohl der freien als auch der durch Abstandsvorgaben eingeschränkten Dynamiksimulation beträgt bezüglich der Rückgratprotonen 0.46 Å. Diese gute Übereinstimmung beweist, dass die Lösungsstruktur basierend auf den in dieser Arbeit gesammelten NMR-Daten eine stabile Konformation mit niedriger Energie im CVFF-Kraftfeld darstellt.

Überraschenderweise agiert Gum in Verbindung **152** nicht als β -*Turn*-Mimetikum. Dies kann durch einen Vergleich zwischen einem idealen β II'-*Turn* in einem regulären Tetrapeptid und dem analogen *Turn* in Xaa-Gum-Xaa (Xaa = Lys oder D-Phe) erklärt werden: Während in einem regulären Tetrapeptid die Amidbindung zwischen den Aminosäuren in den Positionen $i + 1$ und $i + 2$ planar ist, ist die analoge Bindung in Xaa-Gum-Xaa wie in einer aliphatischen Kette angeordnet. Daher ist die Wasserstoffbrücke CO(i)-HN($i+4$) im Tetrapeptid 1.83 Å kurz, während sie im Xaa-Gum-Xaa-*Turn* 2.43 Å lang ist. Es ist zu vermuten, dass die Ersetzung einer einfachen Xaa-Xaa-Sequenz in einem regulären Hexapeptid durch einen Gum-Baustein eine zusätzliche Ringspannung aufbaut, die jedoch durch den Rest des

Moleküls geometrisch ausgeglichen werden kann, die β -Turn-Geometrie also noch erhalten bleibt. Der Ersatz von zwei Xaa-Xaa-Sequenzen führt jedoch zu einer so hohen Ringspannung, dass eine Ausbildung von β -Turns energetisch extrem ungünstig wird.

Ferner ist es Verbindung **152** nicht möglich, eine Konformation, in der D-Phe in der Standardposition $i + 1$ eines β II'-Turns steht, wie dies bei den übrigen Modellpeptiden mit Gum der Fall ist, auszubilden. In einer solchen Konformation würden sich nämlich zwei sehr ungünstige Wechselwirkungen zwischen den Sauerstoffatomen CO(i) und O($i + 4$) ausbilden, die im Widerspruch zu der Ausbildung von stabilisierenden Wasserstoffbrücken in einem gewöhnlichen, zyklischen Sechsering stehen.

Um die wesentlichen Konformationsmerkmale von **152** noch besser herauszuarbeiten, wurde die errechnete Struktur nach dem Prinzip von Dunitz und Waser^[212] reduziert. Cyclohexapeptide nehmen in solch einem Modell bevorzugt die Konformation eines Cyclohexanringes ein.^[213] Das Verfahren soll im folgenden kurz skizziert werden. Zur Vereinfachung werden folgende Rückgrat-Atome umbenannt: Xaa^{*i*}C ^{α} wird zu C ^{α *i*}, Xaa^{*i*}N zu N^{*i*} und Xaa^{*i*}C' zu C^{*i*}. Ein Peptidrückgratfragment C ^{α 1}-C¹-N²-C ^{α 2} wird gewöhnlich durch formales Verbinden von zwei C ^{α} -Atomen zu C ^{α 1}-C ^{α 2} reduziert (Abbildung 3.14a).

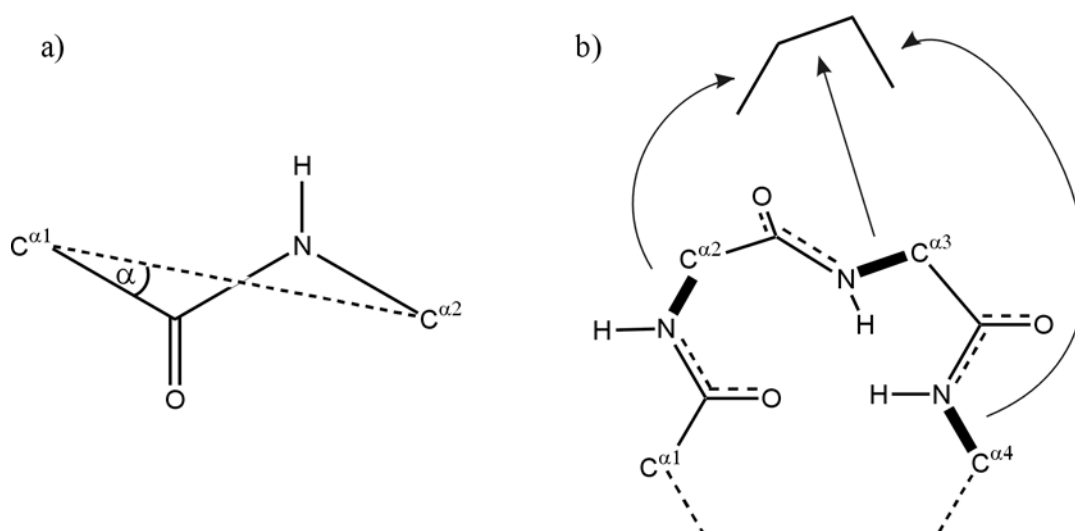


Abbildung 3.14: a) Standardverfahren, um C ^{α} -Atome zu verbinden und dadurch das Peptidrückgrat nach Dunitz-Waser zu reduzieren. b) Parallelverschiebung von N-C ^{α} -Fragmenten, um Fehler, die durch den Winkel α in a) entstehen, zu vermeiden.

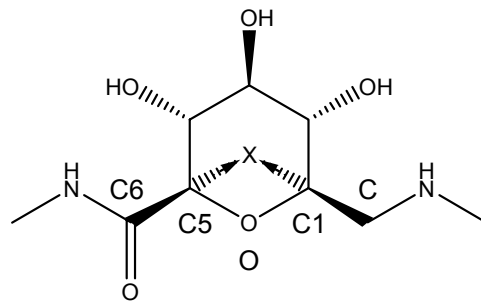
Dieses Verfahren liefert für gewöhnlich eine gute bis nahezu perfekte Näherung eines vollständig reduzierten Diederwinkels, der durch die Rückgratátome $C^{\alpha 1}-C^{\alpha 2}-C^{\alpha 3}-C^{\alpha 4}$ in einem Standardpeptid gebildet wird. Der Differenzwinkel α in Abbildung 3.14a) führt jedoch zu einer kleinen Differenz bei dem sich durch die Reduktion ergebenden Diederwinkels. Da die Teilabschnitte $C^{\alpha 1}-C^1$ und $N^2-C^{\alpha 2}$ in einer Transpeptidbindung beinahe parallel angeordnet sind, ist es mathematisch sinnvoller, die Fragmente $N^{(i+1)}-C^{\alpha(i+1)}$ in der Weise parallel zu verschieben, dass $N^{(i+1)}$ auf die gleiche Position im Raum zu liegen kommt wie $C^{\alpha i}$ (Abbildung 3.14b). Dies kann durch Vektoraddition der folgenden Art leicht erreicht werden.

$$\boxed{(x, y, z)_{C_{neu}^{\alpha(i+1)}} = (x, y, z)_{C^{\alpha(i+1)}} - (x, y, z)_{N^{\alpha(i+1)}} + (x, y, z)_{C^{\alpha i}}} \quad (\text{Gleichung 3.5})$$

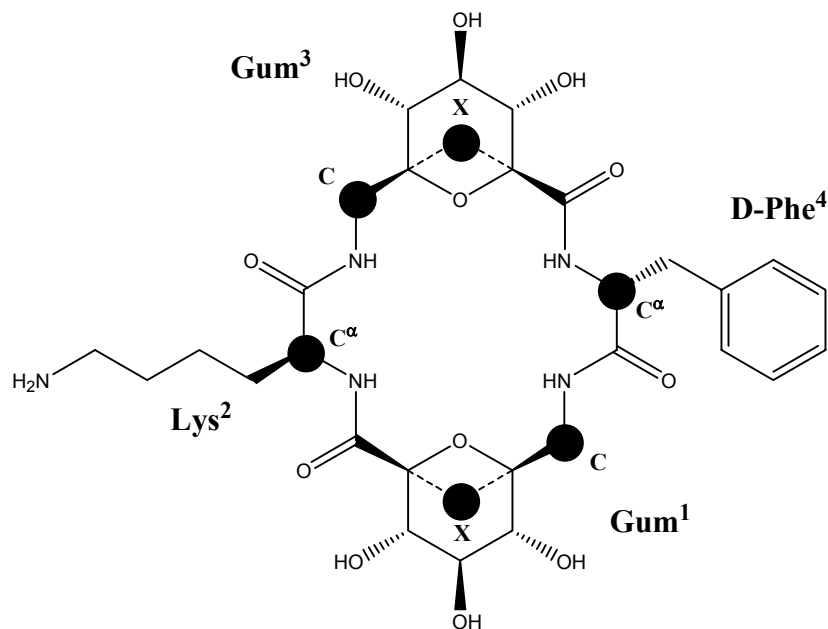
Nach sukzessiver Translation zweier dieser Fragmente kann der Diederwinkel $C^{\alpha 1}-C^{\alpha 2}-C^{\alpha 3}-C^{\alpha 4}$ wie oben beschrieben bestimmt werden. Bis heute existiert noch keine hundert prozentig exakte mathematische Beschreibung dieses Reduktionsverfahrens, da die Bindungswinkel um die Atome C' und N (sp^2 -Hybridisierung) nie exakt 120° sind. Dies gilt natürlich auch für die hier zu reduzierende Struktur von **152**.

Der Gum-Baustein verfügt über fünf große Substituenten, die entweder in *all*-axialer Anordnung oder in *all*-äquatorialer Anordnung stehen können. Die letztere Anordnung ist energetisch klar bevorzugt. Daher können das Kohlenstoffatom der Methylengruppe im Gum-Baustein, die drei Ringátome C1, O und C5 sowie das Carbonylkohlenstoffatom C6 als im Raum sterisch fixiert zueinander betrachtet werden. Als Konsequenz dessen ist es möglich, C1, O und C5 zu einem einzelnen Pseudoatom X zu reduzieren (Abbildung 3.15a). Wenngleich sich die Linien durch die Atome C und C1 sowie durch die Atome C5 und C6 sehr nahe kommen, kreuzen sie sich jedoch nicht. Wollte man den hierdurch gemachten Fehler beseitigen, so müsste man die Koordinaten eines Punktes berechnen, der zu beiden Geraden den kürzesten Abstand hat und zudem von beiden Geraden genau gleich weit entfernt ist. Die hierdurch gewonnene Genauigkeit steht jedoch in keinem Verhältnis zu dem enormen Rechenaufwand, der für diese Korrektur nötig wäre. Für die Dunitz-Wasser-Reduktion der Verbindung **152** wurde deshalb das Verfahren der Parallelverschiebung gewählt. Kombiniert man dieses Reduktionsverfahren mit dem Standardverfahren von Dunitz und Wasser, so erhält man einen Hexazyklus, der aus Xaa- C^α und den beiden Gumátomen X und C besteht (Abbildung 3.15b).

a)



b)



c)

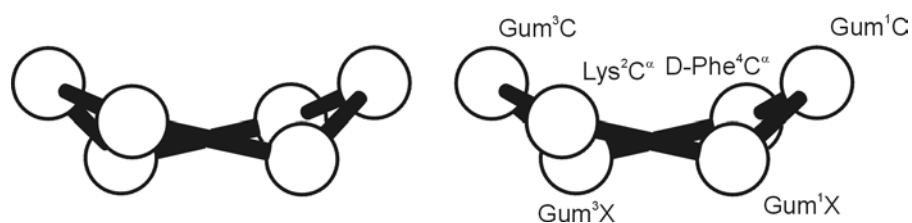


Abbildung 3.15: a) Reduktion der Zuckerrückgratotope C1, O und C5 zu einem einzelnen Pseudoatom X nach dem Prinzip von Dunitz und Waser. b) Die sechs Atome, die nach der Reduktion des Rückgrates von **152** zu ein Hexazyklus noch übrigbleiben. c) Getwistete Bootkonformation von **152** nach der Dunitz-Waser-Reduktion.

Für diese Konformation wurde eine nahezu ideale, getwistete Bootkonformation gefunden (Abbildung 3.15c). Der Vergleich der Diederwinkel zwischen einem idealen getwistetem Boot und dem berechneten macht dies deutlich. Startet man beim Diederwinkel $\text{Lys}^2\text{C}^\alpha$ - Gum^3C - Gum^3X - $\text{D-Phe}^4\text{C}^\alpha$ und schaut sich dann im Uhrzeigersinn die Diederwinkel im Hexazyklus an, so ergeben sich folgende errechneten/idealen Winkel in Grad:

$$-53.1/-54.8; 17.7/27.0; 43.9/27.0; -64.6/-54.8; 41.9/27.0; 13.1/27.0$$

Die Struktur der zweiten für **152** gefundenen Konformation, die zu 3-5 % populiert ist, konnte nicht aufgeklärt werden, da sich die Signale der beiden Konformere zu sehr überlappen. Es ist jedoch anzunehmen, dass das zweite Konformer, wenn man es nach Dunitz-Waser reduziert, eine Sesselkonformation einnimmt. Dies würde auch erklären, weshalb die beiden Konformationen nur langsam ineinander übergehen, denn es besteht bei Hexazyklen eine hohe Energiebarriere zwischen einer Boot- und einer Sesselkonformation.

4. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Synthese von Fmoc-Gum-OH **114** entscheidend verbessert, indem die nur mit schlechten Ausbeuten verlaufende Nitroaldolreaktion von Glucose mit Nitromethan zu β -D-Glucosylnitromethan **110** umgangen wurde. Alternativ erfolgte die Synthese über 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosylcyanid **116**, das sich in kurzer Zeit (30 - 60 min Reaktionszeit) mit guten Ausbeuten (77 - 90 %) herstellen ließ. Die Gesamtausbeute der Synthese von Fmoc-Gum-OH konnte somit von bisher 27 % (ausgehend von Glucose) auf nun 48 % (ausgehend von Acetobromglucose) gesteigert werden. Acetylierung von **114** ergab mit 49 % Ausbeute Fmoc-Gum(Ac)₃-OH **120**. Weiterhin konnte Fmoc-Gum(Bn)₃-OH **115** über einen achtstufigen Syntheseweg ausgehend von Acetobromglucose mit einer Gesamtausbeute von 21 % anomenrein hergestellt werden. Damit wurde der bisher 12 stufigen Syntheseweg, bei dem mit einer Gesamtausbeute von 3 % ausgehend von Glucose nur ein Anomerengemisch von **115** erhalten werden konnte, ersetzt.

Durch Kombination von Festphasensynthese und Synthese in Lösung wurden 18 neuartige zyklische Gerüststrukturen aufgebaut, die den pyranoiden Gum-Baustein mit freien Hydroxygruppen sowie in benzylgeschützter Form alternierend mit den Aminosäuren Alanin, Phenylalanin und Lysin jeweils in der D- und L-Form sowie Gly enthalten. Kupplungen mit dem acetylierten Gum-Baustein **120** schlugen fehl, da bei der Fmoc-Abspaltung eine Acetylschutzgruppenwanderung von der 2-Position des pyranoiden Rings auf die benachbarte Aminogruppe auftritt.

Durch den Einbau von Lysin in die oben genannten Zyklen wurde die Möglichkeit geschaffen, Seitenkettenmodifikationen an den Zyklen vorzunehmen. Der Einbau von Phenylalanin bot sich zum einen aus rein laborpraktischen Gründen an, um die UV-Aktivität der Zyklen zu verbessern und somit eine leichte Aufreinigung mittels HPLC zu ermöglichen. Zum anderen besitzt D-Phe strukturinduzierende Eigenschaften und ermöglichte folgerichtig eine gute Separierung der NMR-Signale. Alanin als die einfachste, chirale Aminosäure und Glycin mit seiner hohen konformativen Beweglichkeit sowie seiner Achiralität, was eine Razemisierung beim Kuppeln ausschließt, wurden schon häufig in der Vergangenheit in Modellpeptide eingebaut.

Wie aus NMR-Spektren ersichtlich, bilden die linearen, alternierenden Oligomere **126-129** bei 293 K in Wasser jeweils zwei Konformationen aus, die im Rahmen der NMR-Zeitskala

nur langsam miteinander austauschen. Razemisierung bei der Synthese konnte als mögliche Ursache ausgeschlossen werden. Temperatur- und zeitabhängige Veränderungen der Konformerenverhältnisse wurden NMR-spektroskopisch untersucht. Durch Zyklisierung war es möglich, das Konformerengleichgewicht der linearen Oligomere zu einem bevorzugten Konformer hin zu fixieren.

Um einen Strukturvergleich mit zyklischen Hexapeptiden zu haben, wurden in erster Linie zyklische Tetramere des Typs *cyclo*(-Gum(R)₃-Xaa-Gum(R)₃-Xaa-) mit Xaa = L-/D-Ala, L-/D-Phe, L-/D-Lys bzw. Gly und R = H oder Bn synthetisiert. Während die Zyklen mit L- bzw. D-Ala und Gly bis auf die gemischten Zyklen **149** und **157** im Rahmen der NMR-Zeitskala hochsymmetrisch waren, konnte bei den übrigen Zyklen mit Lys und Phe jeweils in der L- und D-Form erwartungsgemäß eine gute Separierung der NMR-Signale beobachtet werden. Für Strukturuntersuchungen wurden NMR-Daten bereitgestellt. Exemplarisch wurde anhand dieser Daten über Distanzgeometrie- und Moleküldynamikrechnungen eine Lösungsstrukturen in Wasser des Zyklus *cyclo*(-Gum¹-Lys²-Gum³-D-Phe⁴-) **152** ermittelt. In dieser bildet Gum nicht, wie in den bisher in unserem Arbeitskreis untersuchten Zyklen, einen β II'-*Turn* aus. Strukturreduktion nach einer modifizierten Methode von Dunitz-Waser ergab eine getwistete Bootkonformation für das Hauptkonformer von **152**. Für die bei 293 K mit 3 - 5 % populierte Nebenkonformation kann nach obiger Reduktionsmethode eine ⁴C₁-Sesselkonformation angenommen werden.

CD-spektroskopische Untersuchungen an den linearen und zyklischen L-/D-Phe- und L-/D-Lys enthaltenden, alternierenden Oligomere ergaben interessante Ergebnisse. So zeigten die linearen Oligomere eine nahezu spiegelbildliche Anordnung der CD-Kurven: Während die D-Phe enthaltenden, linearen Oligomere **127** und **129** einen negativen Cotton-Effekt zeigten, fielen die L-Phe enthaltenden Oligomere **126** und **128** durch einen positiven Cotton-Effekt auf. Bei den zyklischen Oligomeren **151-154** ergab sich mit Ausnahme des Zyklus **153** ein umgekehrtes Bild. Während aus den CD-Kurven der zyklischen, alternierenden Oligomere keine eindeutigen Strukturaussagen gemacht werden konnten, lässt sich aus den CD-Kurven der linearen Oligomeren **126** und **128** eine β -*turn*-ähnliche Struktur ableiten. Bei den anderen beiden linearen Oligomeren **127** und **129** sind Strukturaussagen anhand der CD-Spektren schwierig. Eine gänzlich ungeordnete Struktur ist jedoch auszuschließen, da ihre CD-Spektren keinerlei Übereinstimmung mit dem Referenz-CD-Spektrum einer *random coil*-ähnlichen Struktur haben. Zudem beobachtet man eine starke Temperaturabhängigkeit der Elliptizität, was ebenfalls gegen eine ungeordnete Struktur spricht. Aufgrund starker Überlappung der

Signale in den entsprechenden ROESY-Spektren waren quantitative Strukturaussagen anhand von NMR-Daten nicht möglich.

Während bei den linearen Tetrameren **126-129** helixartige Strukturen aufgrund eines fehlenden Minimums oberhalb von 200 nm ausgeschlossen werden konnten, zeigen die CD-Kurven der linearen, alternierenden Hexa- und Oktamere **130** und **131** in Acetonitril/Wasser (4:1) Ansätze von Minima bei 211 nm und 214 nm sowie starke Maxima bei 194 nm. bzw. 195 nm. Damit ähneln die CD-Kurven am ehesten der Form einer 14-Helix (3_{14} -Helix), dessen Referenz-CD-Spektrum ein starkes Minimum bei 215 nm und ein Maximum um 200 nm aufweist. Auch wenn eine fehlende Temperaturabhängigkeit der Elliptizität gegen die Ausbildung einer stabilen, helixartigen Struktur bei den Zyklen **130** und **131** spricht, ist eine vollkommen ungeordnete Struktur genauso unwahrscheinlich, da das für *random-coil*-Strukturen charakteristische, sehr starke Minimum unterhalb 200 nm fehlt.

Neben alternierenden Oligomeren wurden lineare und zyklische Homodi-, -tri-, -tetra-, -penta- und -hexamere des benzylgeschützten Gum-Bausteins **115** synthetisiert. Die NMR-spektroskopisch untersuchten Homozyklen zeigten im Temperaturbereich zwischen 277 K und 293 K in CDCl_3 im Rahmen der NMR-Zeitskala gemittelte, hochsymmetrische Konformationen. Asymmetrien, wie sie für zunehmend kleiner werdende Homozyklen des ungeschützten Gum-Bausteins von E. Locardi beobachtet wurden, sind auszuschließen.

Die in dieser Arbeit synthetisierten, alternierende Zyklen lassen sich über die Lysinseitenkette funktionalisieren. Die Zyklen mit freien Hydroxygruppen sind denkbare Moleküle für Wirt-Gast-Strukturen analog denen der Cyclodextrine. Sie könnten als Carriermoleküle für Wirkstoffe in Organismen verwendet werden.

Durch Einbau mehrerer Aminosäuren oder sonstiger Verbindungen, die in der Seitenkette orthogonale, funktionelle Gruppen für die chemoselektive Ligation tragen, wäre es möglich, alternierende Zyklen des in dieser Arbeit vorgestellten Typs dem TASP-Konzept zugänglich zu machen.

Weiterhin besteht Interesse daran, inwieweit sich die extrem unpolaren, zyklischen Homooligomeren des benzylgeschützten Gum-Bausteins in der chiralen Gaschromatographie einsetzen lassen.

5. Experimenteller Teil

5.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen

Die **Lösungsmittel** für die Reaktionen wurden destillativ gereinigt und nach den üblichen Methoden bei Bedarf absolutiert^[214] bzw. in absolutierter Form bei den Firmen *Fluka* bzw. *Sigma Aldrich* gekauft.

Die **Lösungsmittel für die DC- und Säulen-Chromatographie** wurden vor Gebrauch destilliert. Für schon charakterisierte Zwischenstufen wurde bei der wiederholten Synthese der Verbindungen auf die destillative Reinigung der mobilen Phase verzichtet.

Das verwendete Tritylchlorid-Polystyrol-Harz (TCP-Harz) wurde von der Firma *PepChem*, Tübingen bezogen. Die TentaGel Harze wurde von der Firma *Rapp-Polymere GmbH*, Tübingen geliefert. Die geschützten Aminoäuren sowie Kupplungsreagenzien kamen von den Firmen *Bachem*, *Novabiochem*, *Neosystem*, *Alexis* oder *Senn Chemicals*. Palladium/Aktivkohle war eine Spende der Firma *Degussa*. Zuckerderivate wurden soweit erhältlich von der Firma *Glycon*, Luckenwalde bezogen. Alle übrigen eingesetzten Reagenzien stammten von den Firmen *E. Merck (VWR)*, *Fluka*, *Sigma Aldrich* und *Lancaster* und entsprachen der Qualität „zur Synthese“.

Zur **analytischen Dünnschichtchromatographie (DC)** wurden Aluminiumfertigfolien der Firma *E. Merck* (Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicke 0.25 mm) verwendet. Die Detektion erfolgte durch UV-Absorption bei $\lambda = 254$ nm und/oder durch Eintauchen in eines der folgenden Reagenzien sowie anschließender Wärmebehandlung mit dem Heißluftföhn.

- Lösung aus 2.4 l 10%-iger Schwefelsäure mit 120 g Ammoniummolybdat-tetrahydrat $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}]$ und 7.4 g Cer(IV)sulfat.
- 7.5 mL Anisaldehyd, 7.5 mL konz. H_2SO_4 , 1.5 mL Eisessig, 135 mL Ethanol.
- 3 % Ninhydrin in EtOH.

Die **präparative Flashchromatographie** wurde mit einem Druck von 1.2 bar mit Kieselgel 60 (0.040-0.063 mm, 230-400 mesh ASTM) der Firma *E. Merck* durchgeführt. Zur Herstellung eines Säulenkopfes diente MN Kieselgel 60 (0.063-0.2 mm, 70-230 mesh ASTM) der Firma *Macherey-Nagel*.

Die **analytischen** und **präparativen HPLC-Trennungen** wurden mit *reversed phase*-HPLC-Säulen an Geräten der Firmen *Beckmann* (System Gold, Hochdruckpumpenmodul 126, UV-Detektor 166), *PharmaciaBiotech* (Pumpenmodell P-900, Detektor UV-900, Autosampler für analytische Proben Modell A-900) sowie *Waters* (Waters 1525 Binary HPLC Pump kombiniert mit dem Waters 2487 Dual λ Absorbance Detector) durchgeführt. Die mobile Phase bestand in allen Fällen aus Wasser-Acetonitril-Mischungen, die 0.1 Vol% Trifluoressigsäure enthielten. Beim präparativen HPLC-Modell der Firma *PharmaciaBiotech* musste die Obergrenze für Acetonitril aus gerätetechnischen Gründen auf 90 % beschränkt werden.

Folgende RP-Säulen der Firma *YMC* wurden verwendet:

- YMC-Pack ODS-A-10-C₁₈-Säule (10 μ m, 12nm; l = 250 mm; d = 30 mm)
- YMC-Pack ODS-A-11-C₁₈-Säule (11 μ m, 12nm; l = 250 mm; d = 20 mm)
- YMC-Pack ODS-A-10-C₁₈-Säule (10 μ m, 12nm; l = 250 mm; d = 20 mm)
- YMC-Pack ODS-A-5-C₁₈-Säule (5 μ m, 12nm; l = 250 mm; d = 20 mm)
- YMC-Pack ODS-A-5-C₁₈-Säule (5 μ m, 12nm; l = 250 mm; d = 4.6 mm)
- YMC-Pack ODS-A-5-C₄-Säule (5 μ m, 12nm; l = 250 mm; d = 20 mm)
- YMC-Pack ODS-A-5-C₄-Säule (5 μ m, 12nm; l = 250 mm; d = 4.6 mm)

Die **Kernresonanzspektren** wurden an einem der folgenden Geräte aufgenommen:

- Bruker DMX500 (500 MHz für ¹H-NMR-Spektren, 125 MHz für ¹³C-NMR-Spektren)
- Bruker DMX750 (750 MHz für ¹H-NMR-Spektren)

Die NMR-Untersuchungen wurden in 0.5 cm Durchmesser Probenröhrchen der Firma *Wilmad Glass Co., Inc* (gute Qualität mit roter Kappe) durchgeführt, wobei in der Regel ca. 5 mg bis 10 mg Substanz in 0.5 mL [D₆]DMSO, CDCl₃, D₂O bzw. H₂O mit ca. 10 % D₂O gelöst wurden. Für sehr kleine Substanzmengen (\leq 2 mg) wurden SHIGEMI-Röhrchen der Firma *SHIGEMI Co., LTD* verwendet. Als interne Standards dienten für [D₆]DMSO und CDCl₃ die Restprotonensignale bei 2.49 ppm (DMSO) bzw. 7.24 ppm (CDCl₃) für ¹H-NMR-Spektren sowie die ¹³C-Signale bei 39.7 ppm (DMSO) bzw. 77.0 (CDCl₃) ppm für ¹³C-NMR-Spektren. Für H₂O bzw. D₂O wurde als interner Standard Tetramethylsilan (0 ppm im ¹H-NMR) zugesetzt. Das gleiche galt für Spektren, in denen Signale der zu vermessenden

Verbindungen die Lösungsmittelsignale überlagern. Die Auswertung der Spektren erfolgte an SGI-Workstations mit dem Programm XWIN-NMR Version 3.0 der Firma *Bruker*. Die verwendeten Pulsprogramme stammen von *Bruker* oder wurden von Mitgliedern des Arbeitskreises geschrieben. Für die Aufnahme von ROESY-Spektren wurden die Proben zuvor im Ultraschallbad entgast.

Erläuterungen zu den NMR-Daten:

Es bedeuten: s = Singulett, bs = breites Singulett, d = Dublett, t = Triplett, pt = Pseudotriplett, q = Quartett, m = Multiplett, dd= Dublett von einem Dublett, etc.

Die Interpretation der 1D-Spektren erfolgte qualitativ, d. h. es wurden stets nur die Signalbezeichnungen gewählt, die auch wirklich im Spektrum beobachtet werden konnten und nicht die theoretisch zu erwartenden. Die Zuordnung der Signale erfolgte mittels 2D-homo- und heteronuclearer NMR-Spektren (TOCSY, DQF-COSY, E.COSY, ROESY, HMQC, ¹³C-HSQC, HMQC-COSY und HMBC). Die Kopplungskonstanten wurden soweit möglich aus den ¹H-NMR-Spektren entnommen. Alle chemischen Verschiebungen δ werden in ppm angegeben.

HPLC-ESI-MS-Spektren wurden an einem Gerät der Firma *Finnigan* mit der Typbezeichnung NCQ-ESI mit HPLC Kopplung LCQ (HPLC-System Hewlett Packard HP 1100, Säulenmaterial Nucleosil 100 5C₁₈) aufgenommen. Zur Berechnung der Molekulargewichte wurden, wenn nicht anders angegeben, nur die am häufigsten auftretenden Isotope der einzelnen Elemente berücksichtigt. Dies sind: ¹H: 1.0078; ¹²C: 12.0000, ¹⁴N: 14.0031 und ¹⁶O: 15.9949.

FAB- und CI-MS-Spektren wurde an einem Gerät der Firma *Finnigan* mit der Typbezeichnung MAT 90 aufgenommen. Als Matrix diente bei den FAB-Spektren 3-Nitrobenzylalkohol (NBA). Als Reaktandgas für CI-Messungen kam Isobutan zum Einsatz. Analog zu ESI-MS wurden wieder nur die am häufigsten auftretenden Isotope der einzelnen Elemente berücksichtigt.

CD-Spektren wurden an dem Gerät J-715 der Firma *Jasco* aufgenommen. Dabei wurden 0.1 cm dicke Quarzglasküvetten der Firma *Hellma GmbH & Co KG*, Müllheim verwendet. Die Auswertung der Spektren erfolgte mit dem Programm J-700 für Windows, Version 1.50.01 der Firma *Jasco*.

5.2 Übersicht über die hergestellten Verbindungen

Die Verbindungen sind nach der Nummerierung im Hauptteil sortiert.

a) Monomerbausteine

110: β -D-Glucopyranosylnitromethan

112: β -D-Glucopyranosylmethylamin

114: 7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-2,6-anhydro-7-desoxy-L-*glycero*-L-*gulo* heptonsäure [Fmoc-Gum-OH]

115: 7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-2,6-anhydro-3,4,5-tri-O-benzyl-7-desoxy-L-*glycero*-L-*gulo* heptonsäure [Fmoc-Gum(Bn)₃-OH]

116: 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosylcyanid

120: 7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-3,4,5-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-7-desoxy-L-*glycero*-L-*gulo* heptonsäure [Fmoc-Gum(Ac)₃-OH]

121: Fmoc-N-(β -D-glucopyranosyl)methylamin

122: Boc-N-(β -D-glucopyranosyl)methylamin

123: Boc-N-(6-O-MMTr- β -D-glucopyranosyl)methylamin

124: Boc-N-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-MMTr- β -D-glucopyranosyl)methylamin

125: Fmoc-N-(2,3,4-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosyl)methylamin

b) Lineare Oligomere:

126: H₂N-Gum-Lys(Boc)-Gum-Phe-OH

127: H₂N-Gum-Lys(Boc)-Gum-D-Phe-OH

128: H₂N-Gum-D-Lys(Boc)-Gum-Phe-OH

- 129:** H₂N-Gum-D-Lys(Boc)-Gum-D-Phe-OH
- 130:** Fmoc-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-OH
- 131:** Fmoc-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-OH
- 132:** H₂N-Gum(Bn)₃-Gly-Gum(Bn)₃-Gly-OH
- 133:** H₂N-Gum(Bn)₃-Ala-Gum(Bn)₃-Ala-OH
- 134:** H₂N-Gum(Bn)₃-Ala-Gum(Bn)₃-D-Ala-OH
- 135:** H₂N-Gum(Bn)₃-D-Ala-Gum(Bn)₃-D-Ala-OH
- 136:** H₂N-Gum(Bn)₃-Lys(Boc)-Gum(Bn)₃-Phe-OH
- 137:** H₂N-Gum(Bn)₃-Lys(Boc)-Gum(Bn)₃-D-Phe-OH
- 138:** H₂N-Gum(Bn)₃-D-Lys(Boc)-Gum(Bn)₃-Phe-OH
- 139:** H₂N-Gum(Bn)₃-D-Lys(Boc)-Gum(Bn)₃-D-Phe-OH
- 140:** H₂N-Gum(Bn)₃-Ala-Gum(Bn)₃-Ala-Gum(Bn)₃Ala-OH
- 142:** H₂N- {Gum(Bn)₃}₂-OH
- 143:** H₂N- {Gum(Bn)₃}₃-OH
- 144:** H₂N- {Gum(Bn)₃}₄-OH
- 145:** H₂N- {Gum(Bn)₃}₅-OH
- 146:** H₂N- {Gum(Bn)₃}₆-OH
- c) zyklische Oligomere**
- 147:** *cyclo*[-Gum-Gly-Gum-Gly-]
- 148:** *cyclo*[-Gum-Ala-Gum-Ala-]
- 149:** *cyclo*[-Gum-Ala-Gum-D-Ala-]

- 150:** *cyclo*[-Gum-D-Ala-Gum-D-Ala-]
- 151:** *cyclo*[-Gum-Lys-Gum-Phe-]
- 152:** *cyclo*[-Gum-Lys-Gum-D-Phe-]
- 153:** *cyclo*[-Gum-D-Lys-Gum-Phe-]
- 154:** *cyclo*[-Gum-D-Lys-Gum-D-Phe-]
- 155:** *cyclo*[-Gum(Bn)₃-Gly-Gum(Bn)₃-Gly-]
- 156:** *cyclo*[-Gum(Bn)₃-Ala-Gum(Bn)₃-Ala-]
- 157:** *cyclo*[-Gum(Bn)₃-Ala-Gum(Bn)₃-D-Ala-]
- 158:** *cyclo*[-Gum(Bn)₃-D-Ala-Gum(Bn)₃-D-Ala-]
- 159:** *cyclo*[-Gum(Bn)₃-Lys(Boc)-Gum(Bn)₃-Phe-]
- 160:** *cyclo*[-Gum(Bn)₃-Lys(Boc)-Gum(Bn)₃-D-Phe-]
- 161:** *cyclo*[-Gum(Bn)₃-D-Lys(Boc)-Gum(Bn)₃-Phe-]
- 162:** *cyclo*[-Gum(Bn)₃-D-Lys(Boc)-Gum(Bn)₃-D-Phe-]
- 163:** *cyclo*[-Gum-Ala-Gum-Ala-Gum-Ala-]
- 164:** *cyclo*[-Gum(Bn)₃-Ala-Gum(Bn)₃-Ala-Gum(Bn)₃-Ala-]
- 165:** *cyclo*[-{Gum(Bn)₃}₂-]
- 166:** *cyclo*[-{Gum(Bn)₃}₃-]
- 167:** *cyclo*[-{Gum(Bn)₃}₄-]
- 168:** *cyclo*[-{Gum(Bn)₃}₅-]
- 169:** *cyclo*[-{Gum(Bn)₃}₆-]

5.3 Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV 1: Oligomerisierung von Fmoc-Gum(Bn)₃-OH mit Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Phe oder D-Phe an fester Phase

TentaGel S Trt-AA-Fmoc (AA = Gly, L-Ala, D-Ala, L-Phe bzw. D-Phe) wird von der Firma *Rapp Polymere GmbH* bezogen. Ein eigenständiges Beladen der Harze entfällt somit. Alle Oligomerisierungen werden in mit Kunststoffritten (*Roland Vetter*, Ammerbuch) bestückten 2 mL- bzw. 5 mL-Spritzen durchgeführt. Die Gesamtausbeute der linearen Oligomere schwankt zwischen 60 % und 75 %.

a) Kupplung von Fmoc-Gum(Bn)₃-OH an eine Aminosäure:

Nach Fmoc-Entschützung der endständigen, sich am Harz befindenden Aminosäure mit 20 Vol% Piperidin in DMF (zweimal 30 min) wird das Harz nacheinander mit zweimal DMF, MeOH, DCM, DMF, MeOH, DCM, DMF und abschließend zweimal mit wasserfreiem DMF gewaschen. Eine Kupplungslösung bestehend aus Fmoc-Gum(Bn)₃-OH (2 Äquiv.), HATU (2 Äquiv.), HOAt (2 Äquiv.) und 2,4,6-Collidin (20 Äquiv.) in absolutem DMF (c = 0.1 M bezüglich des eingesetzten Gumbausteins) wird hinzugegeben und die Spritze über Nacht bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Kupplungslösung wird entfernt und das Harz gründlich analog zu oben gewaschen. Das DMF am Ende des Spülgangs muß in diesem Fall jedoch nicht wasserfrei sein.

b) Kupplung einer Aminosäure an Fmoc-Gum(Bn)₃-OH:

Nach Fmoc-Entschützung des endständigen, sich am Harz befindenden Gum-Bausteins mit 20 Vol% Piperidin in DMF (zweimal 30 min) wird das Harz nacheinander mit zweimal DMF, MeOH, DCM, DMF, MeOH, DCM, DMF und abschließend zweimal mit wasserfreiem DMF gewaschen. Eine Kupplungslösung bestehend aus Fmoc-AA-OH (3 Äquiv.), HATU (3 Äquiv.), HOAt (3 Äquiv.) und 2,4,6-Collidin (30 Äquiv.) in absolutem DMF (c = 0.1 M bezüglich der eingesetzten Aminosäure) wird hinzugegeben und die Spritze über Nacht bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Kupplungslösung wird entfernt und das Harz gründlich analog zu oben gewaschen. Das DMF am Ende des Spülgangs muß in diesem Fall jedoch nicht wasserfrei sein.

*c) Abspaltung vom Harz*Methode I:

Nach Fmoc-Entschützung des endständigen, sich am Harz befindenden Gum-Bausteins mit 20 Vol% Piperidin in DMF (zweimal 30 min) wird das Harz nacheinander mit zweimal DMF, MeOH, DCM, DMF, MeOH und abschließend zweimal mit DCM gewaschen. Anschließend wird das Harz zweimal 1 h mit 20 Vol% Hexafluorisopropanol in DCM behandelt. Vor dem Austausch der Abspaltlösung wird das Harz mit DCM, DMF, MeOH und abschließend erneut zweimal mit DCM gewaschen. Am Ende wird das Harz gründlich mit DMF, MeOH, DCM, DMF, MeOH und DCM gewaschen, die Abspalt- sowie Waschlösungen vereint und einrotiert. Man erhält die linearen Oligomere **136-139**, die per HPLC gereinigt und per ESI-MS und analytischer HPLC charakterisiert werden (siehe Tabelle 5.1).

Methode II:

Nach Fmoc-Entschützung des endständigen, sich am Harz befindenden Gumbausteins und Waschen des Harzes analog zu Methode I, wird das Harz zweimal 1 h mit 2,2,2-Trifluorethanol (TFE)/Essigsäure/DCM (1:1:3) behandelt. Vor dem Austausch der Abspaltlösung wird das Harz analog zu Methode I gewaschen. Auch das abschließende Waschen und Aufarbeiten erfolgt analog zu oben. Die linearen Oligomere **132-135** sowie **140** werden per HPLC gereinigt und per ESI-MS sowie analytischer HPLC charakterisiert (siehe Tabelle 5.1).

AAV 2: Oligomerisierung von Fmoc-Gum-OH mit Gly, L-Lys, D-Lys, L-Phe oder D-Phe an fester Phase

TentaGel S Trt-AA-Fmoc wird von der Firma *Rapp Polymere GmbH* bezogen. Ein eigenständiges Beladen der Harze entfällt somit. Alle Oligomerisierungen werden in mit Kunststoffritten (*Roland Vetter*, Ammerbuch) bestückten 2 mL bzw. 5 mL-Spritzen durchgeführt. Die Gesamtausbeute der linearen Oligomere schwankt zwischen 30 % und 50 %. Das Kupplungsprotokoll ist identisch mit dem, das für die Oligomerisierung von Fmoc-Gum(Bn)₃-OH mit Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Phe oder D-Phe an fester Phase beschrieben wurde. Die linearen Oligomere **126-131** werden per HPLC gereinigt und über NMR, ESI-MS und analytischer HPLC charakterisiert. (siehe Tabellen 5.2 und 5.6)

AAV 3: Homooligomerisierung von Fmoc-Gum(Bn)₃-OH

Die Homooligomerisierung erfolgt wahlweise am TentaGel S AC Harz von der Firma *Rapp Polymere GmbH* oder am TCP-Harz der Firma *PepChem*. Das TentaGel-Harz lässt sich mit höheren Ausbeuten mit dem Fmoc-Gum(Bn)₃-OH beladen. Die Kupplungen erfolgen am TCP-Harz jedoch homogener und besser, was Ausbeutebestimmungen über den Fmoc-Piperidin-Komplex (siehe AAV 5) als auch HPLC-Analytiken beweisen. Alle Oligomerisierungen werden in mit Kunststoffritten (*Roland Vetter*, Ammerbuch) bestückten 5 mL-Spritzen durchgeführt. Die Gesamtausbeute der linearen Oligomere schwankt sehr stark zwischen 35 % (Hexamer) und 80 % (Dimer), wobei ein eklatanter Ausbeuteeinbruch um ca. 30 % von der dritten Gum-Gum-Kupplung (Tetramer) auf die vierte Gum-Gum-Kupplung (Pentamer) zu beobachten ist. Die linearen Oligomere **142-146** werden per HPLC gereinigt und per ESI-MS und analytischer HPLC charakterisiert (siehe Tabelle 5.3).

a) Harzbelegung

TentaGel S AC-Harz:

1-(Mesitylen-2-sulfonyl)-3-nitro-1H-1,2,4-triazol (MSNT; 2 Äquiv.) wird in wasserfreiem Dichlormethan ($c = 0.125$ M bezüglich dem eingesetzten Monomerbaustein) suspendiert. Nach Zugabe von 1-Methylimidazol (4 Äquiv.) wird die zuvor trübe Suspension klar. Fmoc-Gum(Bn)₃-OH (2 Äquiv.) löst sich sehr schnell in der Reaktionsmischung auf. TentaGel S AC-Harz (Belegungsdichte, 0.27 mmol/g; 1 Äquiv.) wird in einer Spritze mit DCM vorgequollen (zweimal 1 min), die Kupplungslösung aufgezogen und die Spritze über Nacht bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach Entfernen der Kupplungslösung wird das Harz gründlich mit zweimal DMF, MeOH, DCM, DMF, MeOH und abschließend zweimal DCM gewaschen. Über den Fmoc-Piperidin-Komplex wird die Belegungsdichte, wie in AAV 5 beschrieben, bestimmt. Die Ausbeute liegt bei ca. 20 %. Dies entspricht einer Belegungsdichte von 0.05 mmol/g.

TCP-Harz:

TCP-Harz (Belegungsdichte = 0.95 mmol/g, 1 Äquiv.) wird in einer Spritze mit DMF 2 min vorgequollen und anschließend eine Kupplungslösung aus Fmoc-Gum(Bn)₃-OH (1 Äquiv.) und 2,4,6-Collidin (10 Äquiv.) in abs. DMF (0.1 M bezüglich eingesetztem Gum-Baustein) aufgezogen und die Spritze über Nacht bei Raumtemperatur an einer Rührwelle des

Rotationsverdampfers gedreht. Nach Entfernen der Kupplungslösung wird das Harz gründlich mit zweimal DMF, MeOH, DCM, DMF, MeOH und abschließend zweimal mit DCM gewaschen. Über den Fmoc-Piperidin-Komplex wird die Belegungsdichte bestimmt (siehe AAV 5). Die Ausbeute liegt bei ca. 15 %. Dies entspricht einer Belegungsdichte von 0.14 mmol/g.

b) Gum-Gum-Kupplung an fester Phase

Nach Fmoc-Entschützung des endständigen, sich am Harz befindenden Gum-Bausteins mit 20 Vol% Piperidin in DMF (zweimal 30 min) wird das Harz nacheinander mit zweimal DMF, MeOH, DCM, DMF, MeOH, DCM, DMF und abschließend zweimal mit absolutem DMF gewaschen. Eine Kupplungslösung bestehend aus Fmoc-Gum(Bn)₃-OH (1 Äquiv. bezüglich ursprünglicher Belegungsdichte des Harzes), HATU (1 Äquiv.), HOAt (1.1 Äquiv.) und 2,4,6-Collidin (11 Äquiv.) in absolutem DMF (c = 0.1 M bezüglich des eingesetzten Gumbausteins) wird hinzugegeben und die Spritze über Nacht bei Raumtemperatur an einer Rührwelle des Rotationsverdampfers gedreht. Die Kupplungslösung wird entfernt und das Harz gründlich analog zu oben gewaschen. Das DMF am Ende des Spülgangs muß in diesem Fall jedoch nicht wasserfrei sein.

c) Abspaltung vom Harz

TentaGel S AC-Harz:

Nach Fmoc-Entschützung des endständigen, sich am Harz befindenden Gumbausteines mit 20 Vol% Piperidin in DMF (zweimal 30 min) wird das Harz nacheinander zweimal mit DMF, MeOH, DCM, DMF, MeOH und abschließend zweimal mit DCM gewaschen. Anschließend wird das Harz zweimal 1 h mit 10 Vol% TFA in „nassem“ DCM behandelt. Zwischen dem Austausch der Abspaltlösung wird das Harz mit DCM, DMF, MeOH und abschließend erneut zweimal mit DCM gewaschen. Am Ende wird das Harz gründlich mit DMF, MeOH, DCM, DMF, MeOH und DCM gewaschen, die Abspalt- sowie Waschlösungen vereint und einrotiert.

TCP-Harz:

Die Abspaltung erfolgt mit 2,2,2-Trifluorethanol(TFE)/Essigsäure/DCM (1:1:3) wie in AAV 1c (Methode II) beschrieben.

AAV 4: Zyklisierungsmethoden sowohl für Homooligomere als auch HeterooligomereMethode A:

Eine stark verdünnte Lösung (0.1 - 0.2 mM) des entsprechenden linearen Oligomers in DCM/DMF (9:1) wird im Eisbad auf 0 °C gekühlt, mit DIC (10 Äquiv.), HOAt (1 Äquiv.) und NMM (3 Äquiv.) versehen und 1 h im Eisbad gerührt. Danach wird die Zyklisierungslösung für 4 Tage in den Kühlschrank gestellt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und die zyklisierten Produkte per HPLC gereinigt.

Methode B:

Eine stark verdünnte Lösung (0.1 - 0.2 mM) des entsprechenden linearen Oligomers in DMF wird im Eisbad auf 0 °C gekühlt, mit HATU (1 Äquiv.), HOAt (1 Äquiv.) und 2,4,6-Collidin (10 Äquiv.) versehen und 1 h im Eisbad gerührt. Danach wird die Zyklisierungslösung für einen Tag in den Kühlschrank gestellt, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und die zyklisierten Produkte per HPLC gereinigt.

Für gemischte Cyclopeptide, die Gum(Bn)₃ enthalten, sind beide Zyklisierungsmethoden geeignet. Für alternierende Cyclopeptide, die den ungeschützten Gumbaustein enthalten, ist Methode B bevorzugt. Letztere wird auch zur Zyklisierung der Homooligomeren verwendet. Die Zyklisierungszeit beträgt hierfür jedoch vier Tage statt einem. Die Zyklisierungsausbeuten liegen für die alternierenden Zyklen mit dem benzylierten Gumbaustein zwischen 60 % und 80 %, für die alternierenden Zyklen mit dem ungeschützten Gumbaustein sowie für die benzylgeschützten Homooligomere zwischen 30 % und 60 %. Alle Zyklen **147-169** wurden sowohl über analytische HPLC und ES-MS (siehe Tabellen 5.4 und 5.5) als auch über NMR-Spektroskopie charakterisiert (siehe Tabellen 5.7, 5.8 und 5.9).

AAV 5: Bestimmung der Kupplungsausbeuten und Belegungsdichten über den Fmoc-Piperidin-Komplex^[152]

Getrocknetes Harz wird zweimal 30 min mit einer 20 Vol%igen Piperidinlösung in DMF zur Fmoc-Abspaltung behandelt, zwischendurch mit DMF gewaschen und abschließend das Harz gründlich mit zweimal DMF, MeOH, DCM, DMF, MeOH, DCM gewaschen. Die Abspalllösungen wird zusammen mit den Waschlösungen bis zur Trockene einrotiert, z. T. im

Hochvakuum, der weißen Rückstand in DCM (25 – 100 mL je nach Menge) gelöst und die UV-Absorption bei $\lambda = 267$ nm, 290 nm und 301 nm bestimmt. Mit Hilfe der Extinktionskoeffizienten des Fmoc-Piperidinkomplexes bei den genannten Wellenlängen ($\epsilon_{267} = 17500$ cm²/mmol, $\epsilon_{290} = 5800$ cm²/mmol, $\epsilon_{301} = 7800$ cm²/mmol) lassen sich über das Lambert-Beersche Gesetz $E = \epsilon \cdot c \cdot d$ und mit $c = n/V$ die Stoffmengen an Fmoc-Piperidinkomplex ermitteln und hierüber die Kupplungsausbeuten bzw. die Belegungsdichte von Harzen (vergleiche Schema 3.7 in Kapitel 3.2.1).

AAV 6: Nachweis primärer Amine mit dem Kaisertest^{[150], [151]}

Für den Kaisertest werden folgende Lösungen benötigt:

- 5 g Ninhydrin in 100 mL Ethanol
- 80 g Phenol in 20 mL Ethanol
- 2 mL einer 0.001 M wässrigen Kaliumcyanidlösung in 98 mL Pyridin

Die Lösungen sind käuflich zu erwerben. Um auf Vollständigkeit einer Kupplungsreaktion an fester Phase zu prüfen, werden ein paar Harzkügelchen gründlich mit DMF, MeOH und DCM sowie abschließend mit Ethanol gewaschen, in ein kleines, schwerschmelzbares Glasröhrchen gefüllt, mit je zwei Tropfen der obigen Lösungen versetzt und 4 - 6 min auf ca. 120 °C mit dem Heißluftföhn erwärmt. Eine blauviolette Färbung zeigt freie, noch nicht abreagierte Aminogruppen an.

AAV 7: Boc-Entschützung der Lysinseitenkette

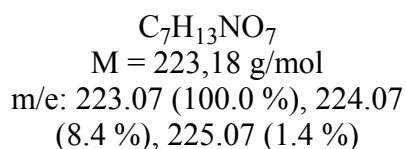
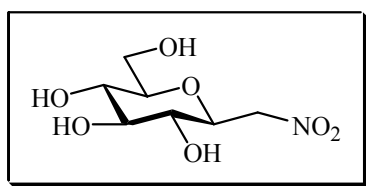
Die zyklischen Oligomere **159-162**, die Boc-geschütztes L-Lys oder D-Lys enthalten, werden in 50 Vol% TFA in wasserhaltigem DCM gelöst und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird abrotiert und der Rückstand dreimal mit Toluol koevaporiert. Die Boc-Entschützung erfolgt nahezu quantitativ.

AAV 8: Hydrogenolytische Spaltung der Benzylether

Cyclopeptide, die den benzylgeschützten Gumbaustein enthalten, werden in einem Lösungsmittelgemisch aus N,N-Dimethylacetamid/Methanol/Essigsäure (7:2:1) gelöst, eine katalytische Menge Palladium auf Aktivkohle (5 % Pd, trocken) hinzugegeben und die Suspension über Nacht bei Raumtemperatur im Autoklaven unter 50 bar Wasserstoff gerührt. Der Pd/C-Katalysator wird abfiltriert, das Lösungsmittel abrotiert und das Produkt per HPLC gereinigt. Die Ausbeute liegt bei ca. 95 %.

5.4 Spezielle Arbeitsvorschriften

β -D-Glucopyranosylnitromethan (110)



Wasserfreie Glucose **109** (50 g, 277.53 mmol) wird in absolutem DMSO (200 mL) gelöst, mit absolutem Methanol (100 mL) verdünnt und absolutes Nitromethan (100 mL) zugegeben. Natrium (12.5 g, 543.72 mmol) wird in absolutem Methanol (350 mL) gelöst und die erhaltene Natriummethylatlösung über eine Kapillare unter Schutzgas (Argon) in den Kolben mit der Glucose transferiert und 25 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von n-Butanol (250 mL) wird weiter 90 min im Eis/Kochsalzbad ($T \approx -10 \text{ }^\circ\text{C}$) gerührt. Von der ockerfarbenen Reaktionsmischung wird der Niederschlag abfiltriert, mit Isopropanol (100 mL) und Diethylether (150 mL) gewaschen und 1 h im Hochvakuum getrocknet. Das hellgelbe Pulver wird in Wasser (200 mL) gelöst, mit stark saurem Ionenaustauscher Amberlyst 15 (100 g) versehen, der Ionenaustauscher abfiltriert, mit Wasser (1200 mL) gewaschen, die rote Lösung auf ca. 150 mL eingengt und 37 h bei $90 \text{ }^\circ\text{C}$ unter Rückfluß gerührt. Die heiße Reaktionslösung wird einrotiert und nach Abkühlung säulenchromatographisch gereinigt. Hierzu wird das Säulenmaterial (Kieselgel 60, 0.040-0.063 mm, 230-400 mesh ASTM der Firma *E. Merck*) mit reinem Chloroform konditioniert und das mit Restspuren an Wasser versehene Rohprodukt aufgetragen. Chromatographisch

getrennt wird schließlich mit Chloroform/Ethanol (1:1). Die Fraktionen, die neben dem gewünschten β -Produkt auch noch das α -Produkt enthalten, werden einrotiert und der Rückstand in MeOH unter Zuhilfenahme eines Impfkristalles umkristallisiert. Die ausgefallenen, leicht gelben Kristalle werden mit eisgekühltem Methanol und anschließend mit Diethylether gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Man erhält 17.5 g (78.41 mmol, 28.3 % d. Th.) reines β -Anomer.

R_f [Chloroform/Ethanol (1:2)] = 0.69

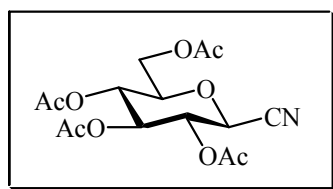
ESI-MS: 224.1 [M + H]⁺; 447.0 [2M + H]⁺

CI-MS: 224.1 [M + H]⁺; 447.2 [2M + H]⁺

¹H-NMR (500 MHz, [D6]DMSO + 10 % D₂O, 300 K): δ = 4.81 (m, 1H, H⁷), 4.47 (m, 1H, H⁷), 3.77 (m, 1H, H¹), 3.57 (ddd, $J_{5,6} = 1.7$ Hz, $J_{5,6'} = 5.1$ Hz, $J_{6,6'} = 12.0$ Hz, 1H, H⁶), 3.38 (ddd, $J_{5,6} = 1.7$ Hz, $J_{5,6'} = 5.1$ Hz, $J_{6,6'} = 12.0$ Hz, 1H, H⁶), 3.20 (dd, $J_{3,4} = 8.5$ Hz, $J_{2,3} = 8.6$ Hz, 1H, H³), 3.09 (m, 1H, H⁵), 3.06 (dd, $J_{3,4} = 8.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, 1H, H⁴), 3.00 (dd, $J_{2,3} = 8.6$ Hz, $J_{1,2} = 9.7$ Hz, 1H, H²)

¹³C-NMR (125 MHz, [D6]DMSO, 300 K): δ = 80.86 (C⁵), 77.78 (C⁷), 77.71 (C³), 76.85 (C¹), 70.94 (C²), 69.88 (C⁴), 60.99 (C⁶)

2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucofuranosylcyanid (116)



$C_{15}H_{19}NO_9$
 M = 357,31g/mol
 m/e: 357.11 (100.0 %), 358.11
 (17.3 %), 359.11 (3.2 %)

Methode I^[85]:

α -Acetobromglucose **118** (81.59 g, 198.4 mmol) wird im Mörser mit Quecksilber(II)cyanid (100 g, 395.8 mmol) verrieben und im 2 L Rundkolben unter Argonatmosphäre im Ölbad ca. 30 min erhitzt. Der ockerfarbene Reaktionsbrei wird in siedendem Chloroform (ca. 1 L) aufgenommen, nicht lösliche Quecksilbersalze abfiltriert und mit siedendem Chloroform (ca.

250 mL) nachgewaschen. Die organische Phase wird dreimal mit 10 Gew%iger Kaliumbromidlösung (je 265 mL) und anschließend mit reinem Wasser (250 mL) ausgeschüttelt, die organische Phase mit Natriumsulfat getrocknet und einrotiert. Das Produkt wird über eine große Flashsäule chromatographisch gereinigt (Hexan/Essigsäureethylester 9:1 → 4:1 → 7:3 → 3:2) und im Hochvakuum getrocknet. Ausbeute: 54.3 g (77 % d. Th.) weißer Feststoff.

Die Ausbeute obiger Reaktion kann erhöht werden, indem die Schmelzreaktionszeit von 30 min auf 1 h erhöht wird und die Chloroformphase nicht mit KBr-Lösung und Wasser ausgeschüttelt, sondern nur mit Natriumsulfat getrocknet wird. Ein Alternativansatz (119.1 g α -Acetobromglucose und 146 g Quecksilbercyanid) liefert nach dieser Variante eine Ausbeute von 94 g (91 % d. Th.) weißen Feststoff. NMR-Studien zeigen jedoch, dass das Produkt zu ca. 10 % verunreinigt ist. Diese Verunreinigung lässt sich auch säulenchromatographisch nicht entfernen.

Methode II^[140, 142]

Pentaacetylglucose **117** (20.5 g, 52.5 mmol) wird in abs. Nitromethan (400 mL) unter Argonatmosphäre gelöst, Trimethylsilylcyanid (20.4 mL, 162 mmol) und $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (4.1 mL, 32.6 mmol) hinzugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt. Am nächsten Tag wird erneut Trimethylsilylcyanid (10 mL, 79.2 mmol) und $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (2.3 mL, 18.3 mmol) hinzugegeben und abermals 3 h unter Schutzgas gerührt. Die rotbraune Lösung wird einrotiert und der Rückstand chromatographisch mit Hexan/Essigsäureethylester 19:1 → 9:1 → 4:1 → 7:3 gereinigt. Ausbeute: 8 g (42 % d. Th.)

$R_f[\text{Hexan/Essigsäureethylester (1:1)}] = 0.44$

ESI-MS: 377.2 $[(2M + \text{Ca})/2]^{2+}$; 380.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$

FAB-MS: 358.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$

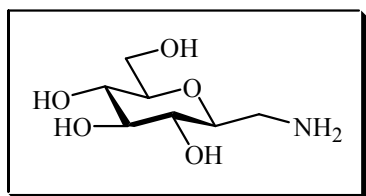
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 300 K): $\delta = 5.32$ (pt, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.46$ Hz, 1H, H^3), 5.23 (dd, $J_{1,2} = 10.01$ Hz, $J_{2,3} = 9.46$, 1H, H^2), 5.13 (d, $J_{1,2} = 10.01$ Hz, 1H, H^1), 5.00 (dd, $J_{3,4} = 9.46$ Hz, $J_{4,5} = 9.77$ Hz, 1H, H^4), 4.12 (m, 1H, H^6), 4.06 (m, 1H, H^5), 4.04 (m, 1H, H^6), 2.07 (s, 3H, CH_3^{Ac}), 2.02 (s, 3H, CH_3^{Ac}), 1.98 (s, 3H, CH_3^{Ac}), 1.96 (s, 3H, CH_3^{Ac})

^{13}C -NMR (125 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 300 K): $\delta = 170.16$ ($\underline{\text{CO}}^{\text{Ac}}$), 169.72 ($\underline{\text{CO}}^{\text{Ac}}$), 169.32 ($\underline{\text{CO}}^{\text{Ac}}$), 169.02 ($\underline{\text{CO}}^{\text{Ac}}$), 115.70 ($\underline{\text{CN}}$), 75.01 (C^5), 71.74 (C^3), 68.37 (C^2), 67.18 (C^4), 64.55 (C^1), 61.49 (C^6), 20.31 ($\underline{\text{CH}_3}^{\text{Ac}}$), 20.26 ($\underline{\text{CH}_3}^{\text{Ac}}$), 20.17 ($\underline{\text{CH}_3}^{\text{Ac}}$), 20.16 ($\underline{\text{CH}_3}^{\text{Ac}}$)

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 5.27$ (dd, $J_{1,2} = 10.1$ Hz, $J_{2,3} = 9.4$ Hz, 1H, H^2), 5.14 (dd, $J_{2,3} = 9.4$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, 1H, H^3), 5.06 (dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, 1H, H^4), 4.30 (d, $J_{1,2} = 10.1$ Hz, 1H, H^1), 4.20 (dd, $J_{5,6} = 4.9$ Hz, $J_{6,6'} = 12.6$ Hz, 1H, H^6), 4.11 (dd, $J_{5,6'} = 2.2$ Hz, $J_{6,6'} = 12.6$ Hz, 1H, $\text{H}^{6'}$), 3.68 (ddd, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, $J_{5,6} = 4.9$ Hz, $J_{5,6'} = 2.2$ Hz, 1H, H^5), 2.08 (s, 6H, 2 $\underline{\text{CH}_3}^{\text{Ac}}$), 2.01 (s, 3H, $\underline{\text{CH}_3}^{\text{Ac}}$), 2.00 (s, 3H, $\underline{\text{CH}_3}^{\text{Ac}}$)

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 170.46$ ($\underline{\text{CO}}^6$), 170.02 ($\underline{\text{CO}}^2$), 169.09 ($\underline{\text{CO}}^3$), 168.68 ($\underline{\text{CO}}^4$), 114.08 ($\underline{\text{CN}}$), 76.86 (C^5), 72.83 (C^3), 68.97 (C^2), 67.28 (C^4), 66.50 (C^1), 61.42 (C^6), 20.63 ($\underline{\text{CH}_3}^{\text{Ac}}$), 20.47 (2 $\underline{\text{CH}_3}^{\text{Ac}}$), 20.35 ($\underline{\text{CH}_3}^{\text{Ac}}$)

β -D-Glucopyranosylmethylamin (112)



$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NO}_5$
 $M = 193,20$ g/mol
 m/e : 193.10 (100.0 %), 194.10
 (8.2 %), 195.10 (1.3 %)

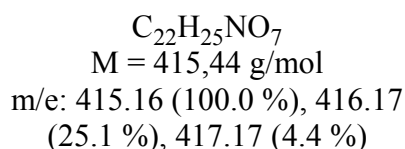
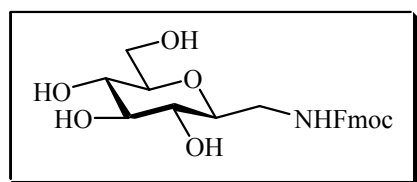
Methode I:

β -D-Glucopyranosylnitromethan **110** (5 g, 22.4 mmol) wird in hochreinem Wasser (22.4 mL) und hochreinem Methanol (44.8 mL) gelöst, mit Pd/C-Katalysator (5 % Pd, 48 % H_2O , 1.2 g) versehen und über Nacht bei Raumtemperatur im Autoklaven bei 35 bar Wasserstoff gerührt. Der Pd/C-Katalysator wird abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Die Produktlösung wird auf ca. 90 mL eingengt und *in situ* weiter umgesetzt. Gemäß DC-Kontrolle erfolgt die Reduktion quantitativ.

$R_f[\text{Acetonitril/Wasser (4:1)}] = 0.06$

Methode II

2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosylcyanid **116** (94 g, 0.263 mol) wird unter Argonatmosphäre in wasserfreiem Tetrahydrofuran (600 mL) gelöst. Zu der klaren, farblosen Lösung wird bei 0 °C im Eisbad über eine Kapillare unter Schutzgas eine Suspension aus LiAlH_4 (37 g, 0.973 mol) in absolutem THF (400 mL) gegeben. Die Reaktionsmischung wird während der Reaktion mit absolutem THF (1300 mL) verdünnt, um ein Gelieren der Lösung zu vermeiden. Nach 4 h ist die Reaktion beendet. Überschüssiges LiAlH_4 wird durch Zugabe von Methanol und Wasser hydrolysiert. Die Reaktionsmischung wird auf ca. 400 mL eingengt und mit 25 %iger Ammoniumhydroxidlösung (350 mL) versehen. Der Anfangs graue Niederschlag wird allmählich weiß und flockig. Der Niederschlag wird abzentrifugiert und mehrmals gründlich mit Wasser (insgesamt 3500 mL) gewaschen. Die wässrige Produktlösung wird auf ca. 300 mL eingengt und die Aminogruppe des Produkts ohne weitere Reinigung *in situ* Boc-geschützt.

Fmoc-N-(β -D-glucopyranosyl)methylamin (121)

In einer Lösung aus β -D-Glucopyranosylmethylamin **112** (22.4 mmol unter der Annahme, dass vorherige Reaktion quantitativ erfolgte) in Wasser (90 mL) wird Natriumhydrogencarbonat (2.26 g, 26.9 mmol) gelöst, THF (90 mL) hinzugegeben und auf 0 °C im Eisbad gekühlt. Fmoc-Chlorid (6.4 g, 24.7 mmol) wird in THF (45 mL) gelöst und zu der Reaktionsmischung gegeben. Die Reaktionslösung wird langsam auf Raumtemperatur gebracht und 90 min gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit H^+ -Ionenaustauscher (Amberlite IR 120 von der Firma *Fluka*) neutralisiert, der Ionenaustauscher abfiltriert, mit Methanol (100 mL) oder wahlweise auch mit Ethanol nachgewaschen und die Produktlösung mit Wasser (100 mL) verdünnt. Die Produktlösung wird nun partiell einrotiert bis alle organischen Lösungsmittel entfernt sind. Es fällt ein weißer Niederschlag aus. Die Mutterlauge wird auf ca. 150 mL eingengt und zwei Tage im Kühlschrank aufbewahrt. Der weiße Niederschlag wird abzentrifugiert, dreimal mit

Wasser gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Die Waschlösungen und die Mutterlauge werden eingengt und zum Nachfällen in den Kühlschrank gestellt.

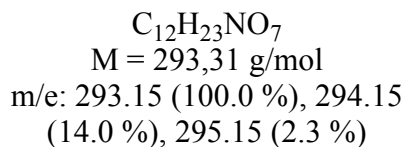
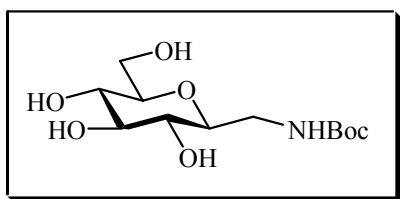
Ausbeute: 9.55 g weißes Pulver, das sich mit der Zeit bei Raumtemperatur gelb färbt. Das Produkt ist, wie DC-Kontrollen zeigen, noch leicht verunreinigt, kann jedoch weiter umgesetzt werden.

$R_f[\text{Chloroform/Methanol (4:1)}] = 0.41$

ESI-MS: 416.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 438.3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 634.9 $[(3\text{M} + \text{H} + \text{Na})/2]^{2+}$, 642.9 $[(3\text{M} + \text{H} + \text{K})/2]^{2+}$, 830.9 $[2\text{M} + \text{H}]^+$, 850.4 $[(4\text{M} + \text{Ca})/2]^{2+}$, 853.0 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$, 1057.7 $[(5\text{M} + \text{H} + \text{K})/2]^{2+}$, 1265.2 $[(6\text{M} + \text{Ca})/2]^{2+}$, 1473.0 $[(7\text{M} + \text{H} + \text{K})/2]^{2+}$, 1680.9 $[(8\text{M} + \text{Ca})/2]^{2+}$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 300 K): $\delta = 7.88$ (d, $J = 7.4$ Hz, 2H, Fmoc), 7.69 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H, Fmoc), 7.41 (pt, $J = 7.4$ Hz, 2H, Fmoc), 7.33 (m, 2H, Fmoc), 7.23 (dd, $J_{7, \text{NH}} = 4.1$ Hz, $J_{7, \text{NH}} = 7.3$ Hz, 1H, H^{N}), 4.97 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, OH^2), 4.90 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H, OH^3), 4.88 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, OH^4), 4.43 (dd, $J_{6, \text{OH}} = 4.4$ Hz, $J_{6, \text{OH}} = 8.2$ Hz, 1H, OH^6), 4.30 (m, 1H, CHH^{Fmoc}), 4.28 (m, 1H, CHH^{Fmoc}), 4.23 (dd, $J_1 = 6.7$ Hz, $J_2 = 7.0$ Hz, 1H, CH^{Fmoc}), 3.66 (ddd, $J_{5, 6} = 1.9$ Hz, $J_{6, \text{OH}} = 8.2$ Hz, $J_{6, 6'} = 12.0$ Hz, 1H, H^6), 3.60 (ddd, $J_{1, 7} = 2.0$ Hz, $J_{7, \text{NH}} = 7.3$ Hz, $J_{7, 7'} = 13.6$ Hz, 1H, H^7), 3.39 (ddd, $J_{6, \text{OH}} = 4.4$ Hz, $J_{5, 6'} = 6.7$ Hz, $J_{6, 6'} = 12.0$ Hz, 1H, H^6), 3.14 (dpt, $J_{3, \text{OH}} = 4.3$ Hz, $J_{2, 3} = J_{3, 4} = 8.8$ Hz), 3.08 (m, 1H, H^5), 3.07 (m, 1H, H^1), 2.99 (ddd, $J_{4, \text{OH}} = 5.3$ Hz, $J_{3, 4} = 8.8$ Hz, $J_{4, 5} = 9.3$ Hz, 1H, H^4), 2.91 (m, 1H, H^2), 2.88 (m, 1H, H^7)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 300 K): $\delta = 156.42$ ($\underline{\text{C}}\text{O}$), 144.07 (C^{Fmoc}), 140.89 (C^{Fmoc}), 127.39 (C^{Fmoc}), 126.93 (C^{Fmoc}), 125.03 (C^{Fmoc}), 119.85 (C^{Fmoc}), 80.36 (C^5), 78.23 (C^1), 77.82 (C^3), 71.70 (C^2), 70.43 (C^4), 65.35 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2^{\text{Fmoc}}$), 61.77 (C^6), 46.58 ($\underline{\text{C}}\text{H}^{\text{Fmoc}}$), 42.55 (C^7)

Boc-N-(β-D-glucopyranosyl)methylamin (122)

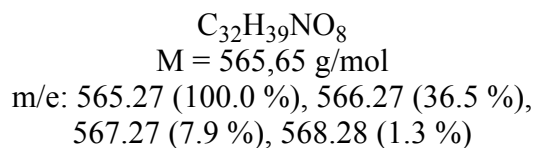
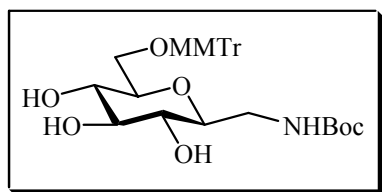
Zur alkalischen, wässrigen Lösung der Vorstufe (β-D-Glucopyranosylmethylamin **112**, Methode II, S. 106) wird Boc_2O (67 g, 0.307 mol) in THF (250 mL) gegeben. Die Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der weiße Niederschlag wird abzentrifugiert und mehrmals mit Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wird abrotiert und das Produkt mit Chloroform/Methanol (9:1 → 4:1 → 7:3) als mobile Phase chromatographisch gereinigt. Das saubere Produkt wird aus Dioxan lyophilisiert. Ausbeute: 62.4 g (0.213 mol, 81 % d. Th. über zwei Stufen)

$R_f[\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O} (4:1)] = 0.69$

ESI-MS: 194.1 $[\text{M} - \text{Boc} + 2\text{H}]^+$; 316.0 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 459.5 $[(3\text{M} + \text{H} + \text{K})/2]^{2+}$; 608.8 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$; 625.0 $[2\text{M} + \text{K}]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 300 K): $\delta = 6.67$ (bs, 1H, NH), 4.94 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, OH^2), 4.88 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, OH^3), 4.85 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, OH^4), 4.45 (m, 1H, OH^6), 3.63 (m, 1H, H^6), 3.54 (m, 1H, H^7), 3.34 (m, 1H, H^6), 3.11 (m, 1H, H^3), 3.04 (m, 1H, H^5), 3.01 (m, 1H, H^1), 2.94 (m, 1H, H^4), 2.86 (m, 1H, H^2), 2.78 (m, 1H, H^7), 1.38 (s, 9H, ^tBu)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 300 K): $\delta = 80.37$ (C^5), 78.44 (C^1), 77.77 (C^3), 71.76 (C^2), 70.48 (C^4), 61.89 (C^6), 42.17 (C^7), 28.16 ($\text{C}^{t\text{Bu}}$)

Boc-N-(6-O-MMTr- β -D-glucopyranosyl)methylamin (123)

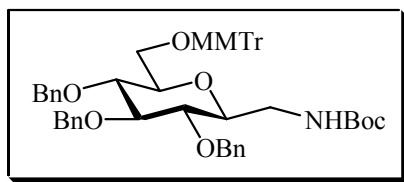
Boc-N-(β -D-Glucopyranosyl)methylamin **122** (8.65 g, 29.5 mmol) wird in absolutem DMF (100 mL) gelöst. Zur klaren Lösung werden 4-Methoxytriphenylchlormethan (10.05 g, 32.5 mmol), Triethylamin (7.4 mL, 53.4 mmol) und 4-(Dimethylamino)pyridin (0.28 g, 2.3 mmol) gegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die gelbe Lösung wird in Eiswasser gegossen, die wässrige Phase mehrmals mit Dichlormethan ausgeschüttelt, die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert. Der Rückstand wird chromatographisch mit dem Elutionsgemisch Chloroform/Methanol (19:1) mit 1 Vol% Triethylamin gereinigt. Ausbeute: 12.9 g (22.8 mmol, 78 % d. Th.) weißes Pulver.

$R_f[\text{CHCl}_3/\text{MeOH} (9:1)] = 0.41$

ESI-MS: 588.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 604.1 $[\text{M} + \text{K}]^+$; 1152.9 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$; 1169.0 $[2\text{M} + \text{K}]^+$; 1432.8 $[(5\text{M} + \text{H} + \text{K})/2]^{2+}$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 300 K): $\delta = 7.41$ (m, 4H, o-Ph^{MMTr}), 7.30 (m, 4H, M-Ph^{MMTr}), 7.26 (d, 2H, m-Ph-OMe^{MMTr}), 7.21 (m, 2H, p-Ph^{MMTr}), 6.88 (m, 2H, o-Ph-OMe^{MMTr}), 6.24 (bs, 1H, NH), 4.97 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, OH²), 4.88 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, OH³), 4.75 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, OH⁴), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.41 (m, 1H, H⁷), 3.28 (m, 1H, H⁵), 3.23 (m, 1H, H⁶), 3.19 (m, 1H, H¹), 3.11 (m, 1H, H³), 3.05 (m, 1H, H⁷), 3.01 (m, 1H, H⁶), 2.99 (m, 1H, H⁴), 2.94 (m, 1H, H²), 1.34 (s, 9H, ^tBu)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 300 K): $\delta = 130.07$ (C^{arom}), 128.10 (C^{arom}), 127.63 (C^{arom}), 126.53 (C^{arom}), 113.00 (C^{arom}), 78.04 (C⁵), 78.03 (C³), 77.85 (C¹), 71.99 (C²), 70.51 (C⁴), 63.96 (C⁶), 54.91 (OCH₃), 42.23 (C⁷), 28.15 (C^{tBu})

Boc-N-(2,3,4-Tri-O-benzyl-6-O-MMTr- β -D-glucopyranosyl)methylamin (124)

$C_{53}H_{57}NO_8$
 $M = 836,02 \text{ g/mol}$
 $m/e: 835.41 (100.0 \%), 836.41 (60.5 \%), 837.42$
 $(17.7 \%), 838.42 (4.4 \%), 837.41 (1.8 \%)$

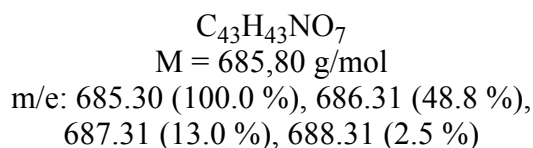
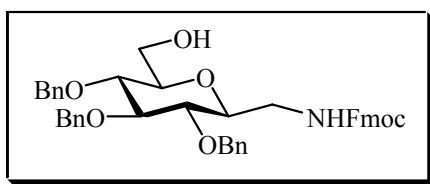
Boc-N-(6-O-MMTr- β -D-glucopyranosyl)methylamin **123** (7.54 g, 13.3 mmol) wird in absolutem THF (500 mL) unter Argonatmosphäre gelöst, 18-Krone-6 (0.44 g, 1.7 mmol), Kaliumhydroxidpulver (4.0 g, 71.3 mmol) hinzugegeben und abschließend nach 15 min Benzylbromid (5.3 mL, 44.6 mmol). Die weiße Suspension wird über Nacht unter Schutzgas (Argon) bei Raumtemperatur gerührt. Das THF wird abrotiert, der Rückstand in Essigsäureethylester gelöst, mit Wasser ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und einrotiert. Nach Flashchromatographie mit Hexan/Essigsäureethylester (9:1) + 1 Vol% Triethylamin erhält man 7.0 g (8.4 mmol, 63 % d. Th.) weißes Produkt.

R_f [Hexan/Essigsäureethylester (4:1)] = 0.33

ESI-MS : 758.4 [M - Boc + H + Na]⁺; 802.4 [M - ^tBu + H + Na]⁺; 858.4 [M + Na]⁺; 920.1 [M + HCOOH + K]⁺; 1692.8 [2M + Na]⁺

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]DMSO, 300 K): $\delta = 7.44$ (m, 4H, o-Ph^{MMTr}), 7.31-7.18 (m, 22H, m-Ph^{MMTr}, p-Ph^{MMTr}, m-Ph-OMe^{MMTr}, Ph^{Bn}), 6.88 (d, J = 8.9 Hz, 2H, o-Ph-OMe^{MMTr}), 6.82 (d, J = 7.2 Hz, 2H, Ph^{Bn}), 6.43 (m, 1H, NH), 4.79-4.78 (m, 3H, CH₂-Ph, CHH'-Ph'), 4.65 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CHH'-Ph'), 4.58 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CHH'-Ph''), 4.26 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CHH'-Ph''), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.63 (m, 1H, H⁴), 3.56 (m, 1H, H³), 3.43 (m, 2H, H¹, H²), 3.42 (m, 1H, H⁷), 3.41 (m, 1H, H⁵), 3.38 (m, 1H, H⁶), 3.27 (m, 1H, H^{7'}), 3.06 (m, 1H, H^{6'}), 1.35 (s, 9H, ^tBu)

¹³C-NMR (125 MHz, [D₆]DMSO, 300 K): $\delta = 130.08$ (C^{arom}), 128.06 (C^{arom}), 128.02 (C^{arom}), 127.88 (C^{arom}), 127.68 (C^{arom}), 127.63 (C^{arom}), 126.60 (C^{arom}), 113.07 (C^{arom}), 86.06 (C⁴), 79.60 (C⁵), 78.07 (C³), 77.57 (C²), 76.79 (C¹), 74.44 (CH₂-Ph), 73.81 (CH₂-Ph'), 73.79 (CH₂-Ph''), 62.41 (C⁶), 54.90 (OCH₃), 41.62 (C⁷), 28.13 (C^{tBu})

Fmoc-N-(2,3,4-Tri-O-benzyl-β-D-glucopyranosyl)methylamin (125)

Boc-N-(2,3,4-Tri-O-benzyl-6-O-MMTr-β-D-glucopyranosyl)methylamin **124** (1.54 g, 1.84 mmol) wird in 20 Vol% TFA in DCM (100 mL) gelöst, mit einem Spritzer Wasser versehen und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird abrotiert und Restspuren an TFA durch dreimaliges Koevaprieren mit Toluol entfernt. Der Rückstand wird in THF (30 mL) gelöst und eine Lösung aus Fmoc-Chlorid (0.75 g, 2.90 mmol) in THF (5 mL) hinzugegeben. Die Reaktionslösung wird auf 0 °C im Eisbad gekühlt und Natriumhydrogencarbonat (0.2 g, 2.38 mmol) in Wasser (5 mL) hinzugegeben. Die Lösung wird unter Rühren langsam auf Raumtemperatur gebracht. Nach 1 h erfolgt die Zugabe von gesättigter, wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (10 mL) und Fmoc-Chlorid (0.3 g, 1.16 mmol) in THF (5 mL). Nach einer weiteren Stunde ist die Reaktion vollständig (DC-Kontrolle). Die Reaktionslösung wird mit stark saurem Ionenaustauscher Amberlite IR 120 der Firma *Fluka* angesäuert, der Ionenaustauscher anschließend abfiltriert und mehrmals mit Essigsäureethylester gewaschen. Die wässrige Phase wird viermal mit Essigsäureethylester ausgeschüttelt, die organischen Phasen vereint und das Lösungsmittel abrotiert. Der Rückstand wird über eine Flashsäule mit Hexan/Essigsäureethylester (4:1 → 2:1 → 1:1) chromatographisch gereinigt. Man erhält 0.89 g (1.3 mmol, 71 % d. Th.) weißes Produkt.

R_f [Hexan/Essigsäureethylester (1:1)] = 0.37

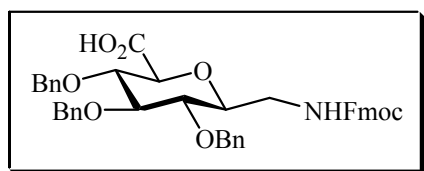
ESI-MS: 179.2 [Fmoc – CO₂]⁺; 686.2 [M + H]⁺; 708.3 [M + Na]⁺; 770.1 [M + HCOOH + K]⁺; 838.1 [M + 2 HCOOH – H + Na + K]⁺; 1047.9 [(3M + H + K)/2]²⁺; 1370.9 [2M + H]⁺; 1393.0 [2M + Na]⁺; 1523.1 [M – 2 HCOOH – H + Na + K]⁺; 1733.4 [(5M + H + K)/2]²⁺

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]DMSO, 300 K): δ = 7.88 (d, J = 7.6 Hz, 2H, Fmoc), 7.69 (d, J = 7.5 Hz, 2H, Fmoc), 7.39 (m, 2H, Fmoc), 7.36-7.21 (m, 18H, NH, Fmoc, 3 CH₂-C₆H₅), 4.83 (d, J = 11.3 Hz, 1H, CHH'-Ph), 4.79 (d, J = 11.3 Hz, 1H, CHH'-Ph), 4.73-4.71 (m, 2H, CHH'-Ph', CHH'-Ph''), 4.62 (d, J = 11.1 Hz, 1H, CHH'-Ph'), 4.54 (d, J = 10.7 Hz, 1H, CHH'-Ph''), 4.31 (m, 2H, CH₂^{Fmoc}), 4.23 (t, J = 7.0 Hz, 1H, CH^{Fmoc}), 3.67 (m, 1H, H³), 3.66 (m, 1H, H⁶),

3.52 (m, 1H, H⁶), 3.44 (m, 1H, H⁷), 3.43 (m, 1H, H⁴), 3.34 (m, 1H, H¹), 3.28 (m, 1H, H⁵), 3.26 (m, 1H, H²), 3.20 (m, 1H, H^{7'})

¹³C-NMR (125 MHz, [D6]DMSO, 300 K): δ = 128.40 (C^{arom}), 127.94 (C^{arom}), 127.88 (C^{arom}), 127.77 (C^{arom}), 127.72 (C^{arom}), 127.61 (C^{Fmoc}), 127.26 (C^{Fmoc}), 125.34 (C^{Fmoc}), 120.29 (C^{Fmoc}), 86.07 (C³), 79.15 (C², C⁵), 78.25 (C⁴), 76.94 (C¹), 74.58 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$), 74.07 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}'$, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}''$), 65.61 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2^{\text{Fmoc}}$), 60.91 (C⁶), 46.91 ($\underline{\text{C}}\text{H}^{\text{Fmoc}}$), 41.79 (C⁷)

7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-2,6-anhydro-3,4,5-tri-O-benzyl-7-desoxy-L-glycero-L-gulo heptonsäure [Fmoc-Gum(Bn)₃-OH] (115)



C₄₃H₄₁NO₈
 M = 699,79 g/mol
 m/e: 699.28 (100.0 %), 700.29 (48.8 %),
 701.29 (13.2 %), 702.29 (2.6 %)

Fmoc-N-(2,3,4-Tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosyl)methylamin **125** (0.42 g, 0.61 mmol) wird in Dichlormethan (2 mL) gelöst und im Eisbad gekühlt. 2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl (TEMPO, 16 mg, 0.1 mmol) wird hinzugefügt und anschließend eine Lösung aus gesättigter, wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (1.3 mL), Kaliumbromid (20 mg, 0.17 mmol) und Tetrabutylammoniumbromid (25 mg, 78 μ mol). Während die Reaktionsmischung im Eisbad gekühlt wird, tropft man langsam eine Lösung aus 13 Gew%iger Natriumhypochloritlösung (0.92 mL, 2.00 mmol), gesättigter, wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (0.67 mL) und gesättigter Kochsalzlösung (1.35 mL) hinzu, so dass der pH-Wert niemals den Wert 10 übersteigt. Nach 75 min ist die Reaktion beendet (DC-Kontrolle). Die Reaktionslösung wird mit Dichlormethan und Wasser zur besseren Phasentrennung verdünnt. Die wässrige Phase wird mit stark saurem Ionenaustauscher Amberlite IR 120 der Firma *Fluka* angesäuert und mehrmals mit Essigsäureethylester ausgeschüttelt. Die organischen Phasen werden vereint, die Lösungsmittel abrotiert und der Rückstand chromatographisch mit Hexan/Essigsäureethylester (2:1) \rightarrow Chloroform/Methanol (39:1) gereinigt. Das chromatographisch gereinigte Produkt wird aus Dioxan lyophilisiert. Man erhält 0.41 g (0.59 mmol, 96 % d. Th.) weißes Pulver, das für Oligomerisierungsversuche verwendet werden kann.

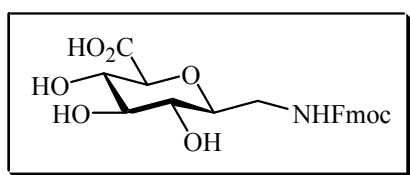
R_f [CHCl₃/MeOH (4:1)] = 0.60

ESI-MS: 179.2 [Fmoc – CO₂]⁺; 388.3 [(M + 2K)/2]²⁺; 700.3 [M + H]⁺; 722.6 [M + Na]⁺; 738.4 [M + K]⁺; 1069.2 [(3M + H + K)/2]²⁺; 1399.3 [2M + H]⁺; 1421.4 [2M + Na]⁺; 1437.7 [2M + K]⁺; 1768.4 [(5M + H + K)/2]²⁺

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]DMSO, 300 K): δ = 7.87 (d, J = 7.13 Hz, 2H, Fmoc) 7.70 (m, 2H, Fmoc), 7.39 (m, 3H, NH, Fmoc), 7.32-7.24 (m, 17H, Fmoc, 3 CH₂-C₆H₅), 4.82 (d, J = 11.3 Hz, 1H, CHH'-Ph) 4.77 (d, J = 11.3 Hz, 1H, CHH''-Ph), 4.74 (d, J = 11.2 Hz, 1H, CHH'-Ph'), 4.70 (d, J = 10.9 Hz, 1H, CHH''-Ph''), 4.59 (m, 2H, CHH'-Ph', CHH''-Ph''), 4.26 (m, 2H, CH₂^{Fmoc}), 4.20 (m, 1H, CH^{Fmoc}), 3.83 (d, J = 9.3 Hz, 1H, H⁵), 3.74 (m, 1H, H³), 3.64 (dd, J_{3,4} = 9.1 Hz, J_{4,5} = 9.3 Hz, 1H, H⁴), 3.47 (m, 1H, H¹), 3.46 (m, 1H, H⁶), 3.35 (m, 1H H²), 3.14 (m, 1H, H^{6'})

¹³C-NMR (125 MHz, [D₆]DMSO, 300 K): δ = 128.14 (C^{arom}), 127.51 (C^{arom}), 126.99 (C^{arom}), 125.18 (C^{arom}), 119.99 (C^{arom}), 84.89 (C³), 79.82 (C⁴), 78.78 (C²), 77.60 (C⁵), 77.38 (C¹), 74.33 (CH₂-Ph), 73.76 (CH₂-Ph'), 73.75 (CH₂-Ph''), 65.48 (CH₂^{Fmoc}), 46.59 (CH^{Fmoc})

7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-2,6-anhydro-7-desoxy-L-glycero-L-gulo heptonsäure [Fmoc-Gum-OH] (114)



C₂₂H₂₃NO₈
 M = 429,42 g/mol
 m/e: 429.14 (100.0 %), 430.15 (25.1 %),
 431.15 (4.6 %)

Fmoc-N-(β -D-glucopyranosyl)methylamin **121** (0.25 g, 0.60 mmol) wird in destilliertem THF (4 mL) gelöst, anschließend wird TEMPO (2.6 mg, 0.02 mmol) sowie eine Lösung aus Natriumbromid (24 mg, 0.23 mmol) und Tetrabutylammoniumbromid (10 mg, 0.03 mmol) in Wasser (12 mL) zugegeben. Die klare, hellgelbe Lösung wird im Eisbad auf 0 °C gekühlt und binnen 75 min tropfenweise mit 13 Gew%iger Natriumhypochloritlösung (0.80 mL, 1.75 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wird zeitweise trüb, klart dann aber wieder auf und wird zunehmend gelber. Der pH-Wert sollte konstant bei pH 10 liegen. Nach 75 min wird abermals 13 Gew%iger Natriumhypochloritlösung (0.40 mL, 0.87 mmol) hinzugegeben.

Dieser Zugabe folgen noch zwei weitere jeweils im 60-Minutenabstand. Neben Natriumhypochloritlösung (0.5 mL und 0.3 mL) wird auch noch TEMPO (je 1 Spatelspitze) sowie Tetrabutylammoniumbromid (je 1 Spatelspitze) hinzugegeben und nach der letzten Zugabe von NaOCl, TEMPO und Tetrabutylammoniumbromid über Nacht die Reaktionslösung langsam auf Raumtemperatur gebracht. Am nächsten Morgen wird aufgearbeitet, in dem man die Reaktionslösung mit stark saurem Ionenaustauscher Amberlyst 15 der Firma *Fluka* auf pH 1.5 bringt, den Ionenaustauscher abfiltriert, ihn mit Wasser sowie Essigsäureethylester wäscht, die wässrigen Lösungen vereint und dreimal mit Essigsäureethylester (je 20 mL) ausschüttelt. Die organischen Phasen werden vereint, mit Kochsalzlösung (einmal 10 mL) und anschließend mit reinem Wasser (zweimal 10 mL) gewaschen, einrotiert und der Rückstand zweimal mit Toluol (je 15 mL) koevaporiert. Der gelbe, kristalline Rückstand wird in Diethylether aufgenommen, die gelben Verunreinigungen gehen dabei in Lösung. Zurück bleibt ein weißer Feststoff, der im Hochvakuum getrocknet wird. Die Ausbeute beträgt 0.2 g (0.47 mmol, 78 % d. Th.).

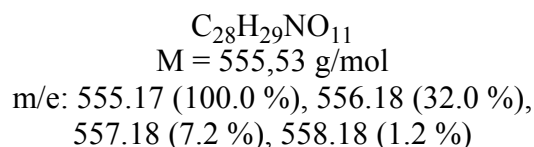
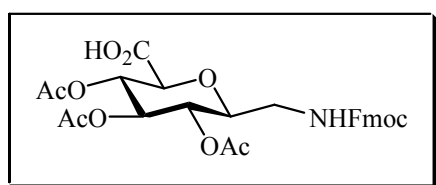
$R_f[\text{Chloroform/Methanol (4:1)}] = 0.09$; $R_f[\text{Acetonitril/Wasser (4:1)}] = 0.44 - 0.62$

ESI-MS: 179.2 $[\text{Fmoc} - \text{CO}_2]^+$; 430.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$; 452.4 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 509.0 $[\text{M} + \text{H}_2\text{O} - \text{H} + \text{Na} + \text{K}]^+$; 663.9 $[(3\text{M} + \text{H} + \text{K})/2]^{2+}$; 683.1 $[(3\text{M} + 2\text{K})/2]^{2+}$; 859.1 $[2\text{M} + \text{H}]^+$; 881.2 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$; 897.3 $[2\text{M} + \text{K}]^+$; 1326.0 $[3\text{M} + \text{K}]^+$; 1364.3 $[3\text{M} - \text{H} + 2\text{K}]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 300 K): $\delta = 12.58$ (bs, 1H, CO_2H), 7.87 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, Fmoc), 7.69 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, Fmoc), 7.4 (m, 2H, Fmoc), 7.31 (m, 2H, Fmoc), 7.29 (m, 1H, H^{N}), 4.24 (m, 2H, $\text{CH}_2^{\text{Fmoc}}$), 4.21 (m, 1H, CH^{Fmoc}), 3.54 (d, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, 1H, H^5), 3.48 (m, 1H, H^7), 3.31 (dd, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, 1H, H^4), 3.19 (m, 1H, H^1), 3.16 (dd, $J_{2,3} = 9.0$ Hz, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, 1H, H^3), 2.95 (dd, $J_{2,3} = 9.0$ Hz, $J_{1,2} = 9.2$ Hz, 1H, H^2), 2.93 (m, 1H, H^7)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 300 K): $\delta = 170.97$ (CO_2H), 156.41 (NHCO), 144.09 (C^{Fmoc}), 144.06 (C^{Fmoc}), 140.87 (C^{Fmoc}), 127.45 (C^{Fmoc}), 126.97 (C^{Fmoc}), 125.15 (C^{Fmoc}), 119.95 (C^{Fmoc}), 79.37 (C^5), 78.76 (C^1), 77.24 (C^3), 71.54 (C^4), 71.48 (C^2), 65.44 ($\text{CH}_2^{\text{Fmoc}}$), 46.59 (CH^{Fmoc}), 42.26 (C^7)

7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-3,4,5-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-7-desoxy-L-glycero-L-gulo heptonsäure [Fmoc-Gum(Ac)₃-OH] (120)



7-N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-2,6-anhydro-7-desoxy-L-glycero-L-gulo heptonsäure **114** (3.0 g, 6.99 mmol) wird in absolutem Pyridin (100 mL) gelöst, mit Essigsäureanhydrid (50 mL) und 4-Dimethylaminopyridin (1 Spatelspitze) versehen und bei Raumtemperatur gerührt. Die anfänglich gelbe Reaktionslösung wird mit der Zeit braun. Nach 2 h wird die Reaktionslösung einrotiert (z. T. im Hochvakuum) und der Rückstand chromatographisch mit Chloroform/Ethanol (4:1) gereinigt. Die vollständige Abtrennung eines strukturell ungeklärten Nebenprodukts (vermutlich umgelagertes Eliminierungsprodukt) gelingt leider nicht. Das Produkt wird aus Dioxan lyophilisiert. Die Ausbeute beträgt 1.89 g (3.4 mmol, 49 % d. Th.).

$R_f[\text{Chloroform/Methanol (4:1)}] = 0.19$

ESI-MS: 179.2 [Fmoc – CO₂]⁺; 556.1 [M + H]⁺; 578.3 [M + Na]⁺; 594.2 [M + K]⁺; 1133.2 [2M + Na]⁺; 1149.3 [2N + K]⁺

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]DMSO, 300 K): $\delta = 7.88$ (d, $J = 7.52$ Hz, 2 H, Fmoc), 7.68 (m, 2H, Fmoc), 7.56 (m, 1H, H^N), 7.41 (m, 2H, Fmoc), 7.32 (m, 2H, Fmoc), 5.27 (t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.47$ Hz, 1H, H³), 5.01 (dd, $J_{3,4} = 9.47$ Hz, $J_{4,5} = 9.75$ Hz, 1H, H⁴), 4.79 (dd, $J_{1,2} = 9.61$ Hz, $J_{2,3} = 9.47$ Hz, 1H, H²), 4.27 – 4.20 (m, 4H, CH₂^{Fmoc}, H⁵, CH^{Fmoc}), 3.82 (m, 1H, H¹), 3.30 (m, 1H, H⁷), 3.17 (m, 1H, H⁷), 2.02 (s, 3H, CH₃^{Ac}), 1.96 (s, 3H, CH₃^{Ac}), 1.93 (s, 3H, CH₃^{Ac})

¹³C-NMR (125 MHz, [D₆]DMSO, 300 K): $\delta = 169.80$ (C=O), 169.45 (C=O), 169.16 (C=O), 144.12 (C^{Fmoc}), 140.87 (C^{Fmoc}), 127.56 (C^{Fmoc}), 127.02 (C^{Fmoc}), 125.11 (C^{Fmoc}), 120.03 (C^{Fmoc}), 75.45 (C¹), 74.85 (C⁵), 72.91 (C³), 69.30 (C²), 69.01 (C⁴), 65.48 (CH₂^{Fmoc}), 46.59 (CH^{Fmoc}), 41.46 (C⁷), 20.67 (CH₃^{Ac}), 20.31 (2 CH₃^{Ac})

5.5 HPLC-, ESI-MS- und NMR-Daten der linearen und zyklischen Oligomeren

5.5.1 HPLC- und ESI-MS-Daten

Tabelle 5.1: HPLC- und ESI-MS-Daten der linearen Oligomeren mit Gum(Bn)₃ in Kombination mit Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Phe oder D-Phe.

Oligomere	HPLC [min]	ESI-MS (+ 0.1 % HCOOH)
H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Gly-Gum(Bn) ₃ -Gly-OH 132	20.5 ^a	1051.6 [M + H] ⁺ 1052.5 [M _{13C} + H] ⁺ 1073.6 [M + Na] ⁺ 1089.4 [M + K] ⁺
H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-OH 133	21.5 ^a	1079.5 [M + H] ⁺ 1080.5 [M _{13C} + H] ⁺ 1101.5 [M + Na] ⁺ 1117.5 [M + K] ⁺
H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-OH 134	21.6 ^a	1079.6 [M + H] ⁺ 1080.6 [M _{13C} + H] ⁺ 1101.6 [M + Na] ⁺
H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-OH 135	22.5 ^a	1079.6 [M + H] ⁺ 1080.5 [M _{13C} + H] ⁺ 1101.6 [M + Na] ⁺
H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -Phe-OH 136	21.99 ^c	1212.9 [M - Boc + 2H] ⁺ 1312.8 [M + H] ⁺ 1313.8 [M _{13C} + H] ⁺ 1334.8 [M + Na] ⁺
H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -D-Phe-OH 137	22.09 ^c	1212.5 [M - Boc + 2H] ⁺ 1312.4 [M + H] ⁺ 1313.4 [M _{13C} + H] ⁺ 1334.4 [M + Na] ⁺

Tabelle 5.1: Teil II

Oligomere	HPLC [min]	ESI-MS (+ 0.1 % HCOOH)
H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -D-Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -Phe-OH 138	21.50 ^c	1212.6 [M - Boc + 2H] ⁺ 1312.5 [M + H] ⁺ 1313.5 [M _{13C} + H] ⁺ 1334.6 [M + Na] ⁺
H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -D-Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -D-Phe-OH 139	22.23 ^c	1212.8 [M - Boc + 2H] ⁺ 1312.7 [M + H] ⁺ 1313.7 [M _{13C} + H] ⁺ 1334.7 [M + Na] ⁺
H ₂ N-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-OH 140	22.5 ^b	1609.7 [M + H] ⁺ 1610.6 [M _{13C} + H] ⁺ 1631.7 [M + Na] ⁺ 1647.6 [M + K] ⁺

a): 5 µm ODS-A YMC 20 x 250 mm HPLC-Säule, 60 – 100 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

b): 5 µm ODS-A YMC 20 x 250 mm HPLC-Säule, 80 – 100 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

c): 5 µm ODS-A YMC 4.6 x 250 mm HPLC-Säule, 55 – 90 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

Tabelle 5.2: HPLC- und ESI-MS-Daten der linearen Oligomeren mit Gum(H)₃ in Kombination mit Gly, L-Lys, D-Lys, L-Phe oder D-Phe.

Oligomere	HPLC [min]	ESI-MS (+ 0.1 % HCOOH)
H ₂ N-Gum-Lys(Boc)-Gum-Phe-OH 126	22.85 ^a	672.5 [M - Boc + 2H] ⁺ 772.3 [M + H] ⁺ 794.4 [M + Na] ⁺
H ₂ N-Gum-Lys(Boc)-Gum-D-Phe-OH 127	22.42 ^a	672.4 [M - Boc + 2H] ⁺ 772.3 [M + H] ⁺ 773.2 [M _{13C} + H] ⁺
H ₂ N-Gum-D-Lys(Boc)-Gum-Phe-OH 128	21.84 ^a	672.5 [M - Boc + 2H] ⁺ 772.3 [M + H] ⁺ 773.3 [M _{13C} + H] ⁺ 794.4 [M + Na] ⁺
H ₂ N-Gum-D-Lys(Boc)-Gum-D-Phe-OH 129	22.24 ^a	672.4 [M - Boc + 2H] ⁺ 772.3 [M + H] ⁺ 773.3 [M _{13C} + H] ⁺ 794.3 [M + Na] ⁺
H ₂ N-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-OH 130	14.19 ^b	979.6 [M + H] ⁺ 980.6 [M _{13C} + H] ⁺ 1001.7 [M + Na] ⁺ 1017.5 [M + K] ⁺
H ₂ N-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-OH 131	11.83 ^b	1225.5 [M + H] ⁺ 1226.4 [M _{13C} + H] ⁺ 1247.6 [M + Na] ⁺ 1263.5 [M + K] ⁺

a): 5 µm ODS-A YMC 4.6 x 250 mm HPLC-Säule, 55 – 90 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

b): 5 µm ODS-A YMC 4.6 x 250 mm HPLC-Säule, 20 – 50 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

Tabelle 5.3: HPLC- und ESI-MS-Daten der linearen Homooligomeren mit Gum(Bn)₃

Oligomere	HPLC [min]	ESI-MS (+ 0.1 % HCOOH)
H ₂ N- {Gum(Bn) ₃ } ₂ -OH 142	7.95 ^a	937.5 [M + H] ⁺ 938.4 [M _{13C} + H] ⁺ 959.4 [M + Na] ⁺ 975.4 [M + K] ⁺
H ₂ N- {Gum(Bn) ₃ } ₃ -OH 143	15.97 ^a	1396.7 [M + H] ⁺ 1397.6 [M _{13C} + H] ⁺ 1418.7 [M + Na] ⁺ 1434.5 [M + K] ⁺
H ₂ N- {Gum(Bn) ₃ } ₄ -OH 144	23.45 ^a	1855.9 [M + H] ⁺ 1856.8 [M _{13C} + H] ⁺
H ₂ N- {Gum(Bn) ₃ } ₅ -OH 145	28.98 ^a	2314.9 [M + H] ⁺ 2315.5 [M _{13C} + H] ⁺ 2336.8 [M + Na] ⁺
H ₂ N- {Gum(Bn) ₃ } ₆ -OH 146	33.18 ^a	2774.3 [M + H] ⁺

a): 5 μm ODS-A YMC 4.6 x 250 mm HPLC-Säule, 70 – 100 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

Tabelle 5.4: HPLC- und ESI-MS-Daten der zyklischen Oligomeren mit Gum(Bn)₃ oder Gum(H)₃ in Kombination mit Gly, L-Ala, D-Ala, L-Lys, D-Lys, L-Phe oder D-Phe

Cyclopeptide	HPLC [min]	ESI-MS (+ 0.1 % HCOOH)
<i>cyclo</i> [-Gum-Gly-Gum-Gly-] 147	4.15 ^a	493.3 [M + H] ⁺ 515.4 [M + Na] ⁺ 531.3 [M + K] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum-Ala-Gum-Ala-] 148	4.15 ^a	521.1 [M + H] ⁺ 543.3 [M + Na] ⁺ 559.1 [M + K] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum-Ala-Gum-D-Ala-] 149	5.36 ^a	521.4 [M + H] ⁺ 543.5 [M + Na] ⁺ 559.4 [M + K] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum-D-Ala-Gum-D-Ala-] 150	6.26 ^a	521.4 [M + H] ⁺ 543.5 [M + Na] ⁺ 559.4 [M + K] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum-Lys-Gum-Phe-] 151	13.13 ^b	654.3 [M + H] ⁺ 676.4 [M + Na] ⁺ 692.3 [M + K] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum-Lys-Gum-D-Phe-] 152	14.70 ^b	654.3 [M + H] ⁺ 676.3 [M + Na] ⁺ 692.2 [M + K] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum-D-Lys-Gum-Phe-] 153	13.75 ^b	654.5 [M + H] ⁺ 676.6 [M + Na] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum-D-Lys-Gum-D-Phe-] 154	16.16 ^b	654.3 [M + H] ⁺ 676.4 [M + Na] ⁺ 692.3 [M + K] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Gly-Gum(Bn) ₃ -Gly-] 155	20.77 ^c	1033.4 [M + H] ⁺ 1034.4 [M _{13C} + H] ⁺ 1055.6 [M + Na] ⁺ 1071.4 [M + K] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-] 156	20.40 ^c	1061.7 [M + H] ⁺ 1062.7 [M _{13C} + H] ⁺ 1083.9 [M + Na] ⁺ 1099.4 [M + K] ⁺

Tabelle 5.4: Teil II

Cyclopeptide	HPLC [min]	ESI-MS (+ 0.1 % HCOOH)
<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-] 157	22.27 ^c	1061.4 [M + H] ⁺ 1062.4 [M _{13C} + H] ⁺ 1083.5 [M + Na] ⁺ 1099.3 [M + K] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-Gum(Bn) ₃ -D-Ala-] 158	23.68 ^c	1061.2 [M + H] ⁺ 1083.5 [M + Na] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -Phe-] 159	15.16 ^d	1194.9 [M – Boc + 2H] ⁺ 1294.6 [M + H] ⁺ 1316.8 [M + Na] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -D-Phe-] 160	16.53 ^d	1194.5 [M – Boc + 2H] ⁺ 1294.3 [M + H] ⁺ 1316.5 [M + Na] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -D-Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -Phe-] 161	17.27 ^d	1194.5 [M – Boc + 2H] ⁺ 1294.2 [M + H] ⁺ 1316.4 [M + Na] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -D-Lys(Boc)-Gum(Bn) ₃ -D-Phe-] 162	19.30 ^d	1194.5 [M – Boc + 2H] ⁺ 1294.2 [M + H] ⁺ 1316.4 [M + Na] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum-Ala-Gum-Ala-Gum-Ala-] 163	18.0 ^e	781.2 [M + H] ⁺ 803.4 [M + Na] ⁺
<i>cyclo</i> [-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-Gum(Bn) ₃ -Ala-] 164	24.0 ^f	1591.6 [M + H] ⁺ 1592.6 [M _{13C} + H] ⁺ 1613.7 [M + Na] ⁺

a): 5 µm ODS-A YMC 4.6 x 250 mm HPLC-Säule, 5 – 20 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

b): 5 µm ODS-A YMC 4.6 x 250 mm HPLC-Säule, 5 – 30 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

c): 5 µm ODS-A YMC 4.6 x 250 mm HPLC-Säule, 60 – 100 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

d): 5 µm ODS-A YMC 4.6 x 250 mm HPLC-Säule, 75 – 100 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

e): 5 µm ODS-A YMC 20 x 250 mm HPLC-Säule, 0 – 70 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

f): 5 µm ODS-A YMC 20 x 250 mm HPLC-Säule, 85 – 95 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

Tabelle 5.5: HPLC- und ESI-MS-Daten der zyklischen Homooligomeren mit Gum(Bn)₃

Oligomere	HPLC [min]	ESI-MS (+ 0.1 % HCOOH)
<i>cyclo</i> [-{Gum(Bn) ₃ } ₂ -] 165	6.38 ^a	919.3 [M + H] ⁺ 941.5 [M + Na] ⁺
<i>cyclo</i> [-{Gum(Bn) ₃ } ₃ -] 166	13.24 ^a	1378.4 [M + H] ⁺
<i>cyclo</i> [-{Gum(Bn) ₃ } ₄ -] 167	19.63 ^a	1837.6 [M + H] ⁺ 1859.8 [M + Na] ⁺ 1875.6 [M + K] ⁺
<i>cyclo</i> [-{Gum(Bn) ₃ } ₅ -] 168	32.03 ^a	2297.2 [M + H] ⁺
<i>cyclo</i> [-{Gum(Bn) ₃ } ₆ -] 169	23.7 ^b	1398.9 [(M+H+K)/2] ²⁺ 2755.4 [M + H] ⁺ 2778.0 [M + Na] ⁺

a): 5 μm ODS-A YMC 4.6 x 250 mm HPLC-Säule, 90 – 100 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

b): 5 μm C4 YMC 4.6 x 250 mm HPLC-Säule, 100 % B in 30 min; (B = CH₃CN + 0.1 % TFA)

5.5.2 NMR-Zuordnungstabellen

Die folgenden Tabellen enthalten ¹H/¹³C-Korrelationen, wie sie aus den ¹³C-HSQC-, HMQC- und HMQC-COSY-Spektren ermittelt wurden. Die Sequenzzuordnung erfolgte über HMBC-Spektren. Für die exakte Zuordnung der ¹H-Signale bei den Spektren mit mehreren Konformationen wurden TOCSY-Spektren herangezogen. DQF-COSY-Spektren dienten zur allgemeinen Zuordnung der Protonen.

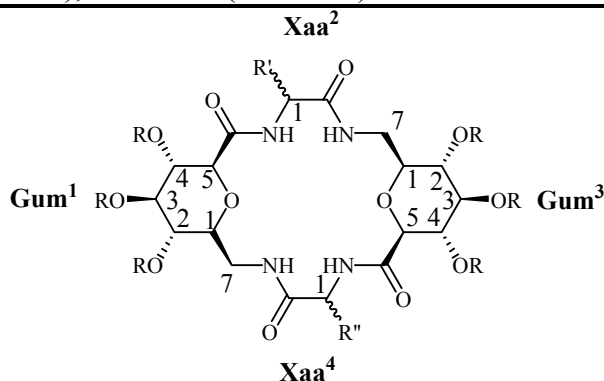
Tabelle 5.6: $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -Korrelationen der linearen Tetramere $\text{H}_2\text{N-Gum}^1 - \text{Xaa}^2 - \text{Gum}^3 - \text{Xaa}^4\text{-OH}$ ($\text{Xaa} = \text{L-Phe, D-Phe, L-Lys}$ oder D-Lys) in H_2O bei 293 K. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz)

Oligomer	Gum ¹		Xaa ²		Gum ³		Xaa ⁴	
	Konformer 1	Konformer 2	Konformer 1	Konformer 2	Konformer 1	Konformer 2	Konformer 1	Konformer 2
Xaa²:								
L-Lys(Boc)	NH: 7.90 1: 3.69 / 75.71 2: 3.39 / 71.14 3: 3.56 / 76.94 4: 3.52 / 71.95 5: 3.93 / 78.35 7: 3.48 / 40.96 7': 3.18 / 40.96	NH: 8.38 1: 4.37 / 54.03 2: 1.82 / 30.93 2': 1.78 / 30.93 3: 1.39 / 22.44 4: 1.66 / 26.67 5: 2.95 / 39.63 NH(Boc): 7.55 'Bu: 1.41 / 27.83	NH: 8.34 1: 4.34 / 54.03 2: 1.78 / 30.93 2': 1.75 / 30.93 3: 1.33 / 22.44 4: 1.46 / 28.93 5: 3.02 / 40.10 NH(Boc): 7.55 'Bu: 1.41 / 27.83	NH: 8.44 1: 3.26 / 70.89 2: 3.46 / 77.47 3: 3.47 / 77.09 4: 3.27 / 72.08 5: 3.76 / 77.98 7: 3.67 / 40.37 7': 3.44 / 40.37	NH: 8.40 1: 3.27 / 70.89 2: 3.46 / 77.47 3: 3.47 / 77.09 4: 3.27 / 72.08 5: 3.76 / 77.98 7: 3.66 / 40.37 7': 3.44 / 40.37	NH: 8.02 1: 4.67/54.38 2: 3.27/37.24 2': 3.08/37.24 3: 7.29/129.69 4: 7.39/129.01 5: 7.33/127.47	NH: 8.09 1: 4.70/54.38 2: 3.28/37.24 2': 3.09/37.24 3: 7.29/129.69 4: 7.39/129.01 5: 7.33/127.47	
Xaa²:								
L-Lys(Boc)	NH: 7.88 1: 3.69 / 75.52 2: 3.39 / 70.99 3: 3.57 / 76.80 4: 3.52 / 71.96 5: 3.94 / 78.20 7: 3.47 / 40.82 7': 3.18 / 40.82	NH: 8.41 1: 4.38 / 53.76 2: 1.83 / 30.82 2': 1.78 / 30.82 3: 1.39 / 22.29 4: 1.65 / 26.52 5: 2.97 / 39.46 5': 2.93 / 39.46 NH(Boc): 7.53 'Bu: 1.42 / 27.84	NH: 8.36 1: 4.34 / 54.20 2: 1.80 / 30.82 2': 1.75 / 30.82 3: 1.33 / 22.47 4: 1.47 / 28.50 5: 3.05 / 39.95 5': 3.02 / 39.95 NH(Boc): 7.53 'Bu: 1.42 / 27.84	NH: 8.29 1: 3.29 / 70.55 2: 3.47 / 77.24 3: 3.47 / 77.24 4: 3.46 / 71.61 5: 3.77 / 78.28 7: 3.62 / 40.22 7': 3.49 / 40.22	NH: 8.09 1: 4.60/55.65 2: 3.23/37.15 2': 3.07/37.15 3: 7.30/129.48 4: 7.37/128.82 5: 7.32/127.24	NH: 8.14 1: 4.53/55.08 2: 3.24/37.15 2': 3.09/37.15 3: 7.30/129.48 4: 7.37/128.82 5: 7.32/127.24		

Tabelle 5.6: Teil II

Oligomer	Gum ¹		Xaa ²		Gum ³		Xaa ⁴	
	Konformer 1	Konformer 2	Konformer 1	Konformer 2	Konformer 1	Konformer 2	Konformer 1	Konformer 2
Xaa²:								
D-Lys(Boc)	NH: 7.84 1: 3.68 / 75.66	NH: 8.53 1: 4.32 / 54.16	NH: 8.46 1: 4.28 / 54.55		NH: 8.39 1: 3.24 / 71.52		NH: 8.06 1: 4.68 / 54.90	NH: 8.09 1: 4.70 / 54.46
Xaa ⁴ : L-Phe	2: 3.36 / 71.07 3: 3.56 / 76.88 4: 3.55 / 71.26 5: 3.95 / 78.38 7: 3.45 / 40.94 7*: 3.16 / 40.94	2: 1.79 / 31.09 3: 1.41 / 22.41 4: 1.65 / 26.67 5: 2.95 / 39.61 NHoc: 7.52 'Bu: 1.41 / 27.65	2: 1.75 / 31.09 3: 1.34 / 22.61 4: 1.45 / 28.71 5: 3.02 / 40.15 NHoc: 7.52 'Bu: 1.41 / 27.65		2: 3.48 / 77.06 3: 3.44 / 77.95 4: 3.24 / 71.52 5: 3.78 / 78.02 7: 3.59 / 40.40 7*: 3.50 / 40.40		2: 3.27 / 37.24 2*: 3.06 / 37.24 3: 7.28 / 129.70 4: 7.38 / 128.91 5: 7.33 / 127.44	2: 3.28 / 37.24 2*: 3.07 / 37.24 3: 7.28 / 129.70 4: 7.38 / 128.91 5: 7.33 / 127.44
Xaa²:								
D-Lys(Boc)	NH: 7.87 1: 3.69 / 75.57	NH: 8.53 1: 4.32 / 54.27	NH: 8.46 1: 4.28 / 55.27		NH: 8.36 1: 3.27 / 70.59		NH: 8.22 1: 4.64 / 55.25	NH: 8.24 1: 4.67 / 54.92
Xaa ⁴ : D-Phe	2: 3.38 / 71.04 3: 3.57 / 76.74 4: 3.56 / 71.16 5: 3.96 / 78.38 7: 3.45 / 40.86 7*: 3.16 / 40.86	2: 1.81 / 31.00 3: 1.47 / 22.40 3*: 1.41 / 22.40 4: 1.67 / 22.62 5: 2.98 / 39.58 5*: 2.94 / 39.58 NHoc: 7.55 'Bu: 1.43 / 28.00	2: 1.78 / 31.00 3: 1.36 / 22.40 4: 1.47 / 28.58 5: 3.04 / 40.08 NHoc: 7.55 'Bu: 1.43 / 28.00		2: 3.49 / 77.29 3: 3.49 / 71.10 4: 3.44 / 70.29 5: 3.80 / 78.32 7: 3.59 / 40.30 7*: 3.52 / 40.30		2: 3.24 / 37.10 2*: 3.10 / 37.10 3: 7.31 / 129.51 4: 7.39 / 128.88 5: 7.34 / 127.35	2: 3.27 / 37.10 2*: 3.12 / 37.10 3: 7.31 / 129.51 4: 7.39 / 128.88 5: 7.34 / 127.35

Tabelle 5.7: $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -Korrelationen der zyklischen Tetramere $\text{cyclo}[-\text{Gum}^1(\text{R})_3 - \text{Xaa}^2 - \text{Gum}^3(\text{R})_3 - \text{Xaa}^4]$ ($\text{R} = \text{H}$ oder Bn ; $\text{Xaa} = \text{Gly}$, L-Ala , D-Ala , L-Phe , D-Phe , L-Lys oder D-Lys). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz)



Cyclopeptid	Lösungs- mittel	T [K]	$\text{Gum}^1(\text{R})_3$	Xaa^2	$\text{Gum}^3(\text{R})_3$	Xaa^4
147:	D_2O	300	1: 3.57 / 74.33	1: 4.10 / 45.11	1: 3.57 / 74.33	1: 4.10 / 45.11
R = H,			2: 3.34 / 73.01	1': 3.95 / 45.11	2: 3.34 / 73.01	1': 3.95 / 45.11
Xaa = Gly			3: 3.57 / 79.05		3: 3.57 / 79.05	
			4: 3.52 / 80.15		4: 3.52 / 80.15	
			5: 3.94 / 80.35		5: 3.94 / 80.35	
			7: 3.83 / 42.41		7: 3.83 / 42.41	
			7': 3.46 / 42.41		7': 3.46 / 42.41	
148:	D_2O	300	1: 3.28 / 81.52	1: 4.27 / 53.28	1: 3.28 / 81.52	1: 4.27 / 53.28
R = H,			2: 3.32 / 73.72	CH₃:	2: 3.32 / 73.72	CH₃:
Xaa = L-Ala			3: 3.50 / 75.03	1.42 / 18.66	3: 3.50 / 75.03	1.42 / 18.66
			4: 3.49 / 79.07		4: 3.49 / 79.07	
			5: 3.75 / 81.55		5: 3.75 / 81.55	
			7: 4.05 / 42.65		7: 4.05 / 42.65	
			7': 3.01 / 42.65		7': 3.01 / 42.65	
149:	D_2O	300	1: 3.50 / 74.19	1: 4.39 / 52.17	1: 3.50 / 74.19	1: 4.36 / 52.73
R = H,			2: 3.30 / 72.99	CH₃:	2: 3.30 / 72.99	CH₃:
Xaa = L-Ala,			3: 3.53 / 79.09	1.41 / 18.72	3: 3.53 / 79.09	1.44 / 19.14
D-Ala			4: 3.46 / 80.37		4: 3.46 / 80.37	
			5: 3.85 / 80.52		5: 3.90 / 80.29	
			7: 3.75 / 42.32		7: 3.81 / 42.53	
			7': 3.36 / 42.32		7': 3.33 / 42.53	
150:	D_2O	300	1: 3.50 / 74.98	1: 4.42 / 53.24	1: 3.50 / 74.98	1: 4.42 / 53.24
R = H,			2: 3.28 / 73.60	CH₃:	2: 3.28 / 73.60	CH₃:
Xaa = D-Ala			3: 3.54 / 79.93	1.43 / 19.83	3: 3.54 / 79.93	1.43 / 19.83
			4: 3.52 / 80.97		4: 3.52 / 80.97	
			5: 3.8 / 81.26		5: 3.8 / 81.26	
			7: 3.63 / 43.15		7: 3.63 / 43.15	
			7': 3.54 / 43.15		7': 3.54 / 43.15	

Tabelle 5.7: Teil II

Cyclopeptid	Lösungs- mittel	T [K]	Gum ¹ (R) ₃	Xaa ²	Gum ³ (R) ₃	Xaa ⁴
151:	H ₂ O	293	NH: 8.01	NH: 8.06	NH: 8.18	NH: 8.03
R = H,			1: 3.34 / 81.17	1: 4.31 / 56.51	1: 3.31 / 81.10	1: 4.62 / 57.53
Xaa ² = L-Lys,			2: 3.32 / 73.95	2: 1.88 / 32.93	2: 3.23 / 73.84	2: 3.21 / 39.39
Xaa ⁴ = L-Phe			3: 3.48 / 79.28	2': 1.80 / 32.93	3: 3.41 / 79.13	2': 3.02 / 39.39
			4: 3.45 / 75.38	3: 1.45 / 24.91	4: 2.98 / 74.99	3: 7.30 / 131.87
			5: 3.76 / 81.28	3': 1.37 / 24.91	5: 3.68 / 80.39	4: 7.39 / 131.35
			7: 3.72 / 43.01	4: 1.70 / 28.87	7: 3.81 / 43.01	5: 7.33 / 129.81
			7': 3.30 / 43.01	5: 3.00 / 41.84	7': 3.26 / 43.01	
				NH ₂ : 7.57		
152:	H ₂ O	293	NH: 7.88	NH: 8.24	NH: 7.84	NH: 8.35
R = H,			1: 3.45 / 78.08	1: 4.34 / 54.26	1: 3.46 / 78.08	1: 4.65 / 55.11
Xaa ² = L-Lys,			2: 3.31 / 71.14	2: 1.94 / 30.40	2: 3.19 / 70.55	2: 3.31 / 36.48
Xaa ⁴ = D-Phe			3: 3.55 / 77.06	2': 1.75 / 30.40	3: 3.48 / 76.95	2': 3.06 / 36.48
			4: 3.46 / 72.57	3: 1.48 / 22.60	4: 3.39 / 71.81	3: 7.29 / 129.04
			5: 3.89 / 78.05	3': 1.41 / 22.60	5: 3.73 / 77.79	4: 7.39 / 129.04
			7: 3.93 / 40.55	4: 1.71 / 26.52	7: 3.69 / 39.95	5: 7.34 / 127.53
			7': 3.25 / 40.55	5: 3.01 / 39.70	7': 3.48 / 39.95	
				NH ₂ : 7.57		
153:	H ₂ O	293	NH: 7.90	NH: 8.68	NH: 7.97	NH: 8.27
R = H,			1: 3.54 / 78.04	1: 4.43 / 53.60	1: 3.42 / 77.58	1: 4.71 / 55.06
Xaa ² = D-Lys,			2: 3.36 / 70.98	2: 2.02 / 30.37	2: 3.20 / 70.63	2: 3.38 / 36.90
Xaa ⁴ = L-Phe			3: 3.58 / 77.01	2': 1.75 / 30.37	3: 3.44 / 76.80	2': 3.03 / 36.90
			4: 3.57 / 71.69	3: 1.49 / 22.38	4: 2.89 / 72.00	3: 7.32 / 129.56
			5: 3.93 / 78.19	3': 1.44 / 22.38	5: 3.81 / 76.64	4: 7.44 / 129.13
			7: 3.72 / 40.18	4: 1.71 / 26.47	7: 3.87 / 40.44	5: 7.38 / 127.62
			7': 3.48 / 40.18	5: 3.02 / 39.70	7': 3.32 / 40.44	
				NH ₂ : 7.54		
154:	H ₂ O	293	NH: 7.83	NH: 8.56	NH: 7.94	NH: 8.37
R = H,			1: 3.55 / 77.31	1: 4.40 / 53.67	1: 3.50 / 77.34	1: 4.71 / 55.08
Xaa ² = D-Lys,			2: 3.30 / 70.82	2: 2.00 / 30.13	2: 3.24 / 70.00	2: 3.32 / 36.64
Xaa ⁴ = D-Phe			3: 3.56 / 77.08	2': 1.77 / 30.13	3: 3.49 / 76.83	2': 3.00 / 36.64
			4: 3.48 / 71.7	3: 1.52 / 22.43	4: 3.39 / 71.72	3: 7.32 / 129.43
			5: 3.89 / 78.25	3': 1.44 / 22.43	5: 3.71 / 77.52	4: 7.40 / 128.92
			7: 3.82 / 40.20	4: 1.71 / 26.41	7: 3.65 / 39.79	5: 7.35 / 127.32
			7': 3.32 / 40.20	5: 3.02 / 39.64	7': 3.60 / 39.79	
				NH ₂ : 7.60		

Tabelle 5.7: Teil III

Cyclopeptid	Lösungs- mittel	T [K]	Gum ¹ (R) ₃	Xaa ²	Gum ³ (R) ₃	Xaa ⁴
155:	[D6]DMSO	300	NH: 7.31	NH: 8.51	NH: 7.31	NH: 8.51
R = Bn,			1: 3.47 / 76.18	1: 3.99 / 42.60	1: 3.47 / 76.18	1: 3.99 / 42.60
Xaa = Gly			2: 3.32 / 77.50	1': 3.66 / 42.60	2: 3.32 / 77.50	1': 3.6 / 42.60
			3: 3.73 / 85.13		3: 3.73 / 85.13	
			4: 3.56 / 80.35		4: 3.56 / 80.35	
			5: 3.95 / 76.62		5: 3.95 / 76.62	
			7: 3.56 / 38.19		7: 3.56 / 38.19	
			7': 3.49 / 38.19		7': 3.49 / 38.19	
			CH₂^{Bn}:		CH₂^{Bn}:	
			4.80, 4.74 /		4.80, 4.74 /	
			74.70		74.70	
			4.66, 4.58 /		4.66, 4.58 /	
			73.85		73.85	
			4.65 – 4.61 /		4.65 – 4.61 /	
			74.00		74.00	
			Ph^{Bn}:		Ph^{Bn}:	
			7.30 / 128.05		7.30 / 128.05	
			7.26, 7.19 /		7.26, 7.19 /	
			127.80		127.80	
			7.23 / 127.34		7.23 / 127.34	
156:	[D6]DMSO	300	NH: 7.5	NH: 7.87	NH: 7.5	NH: 7.87
R = Bn,			1: 3.32 / 77.33	1: 4.19 / 48.77	1: 3.32 / 77.33	1: 4.19 / 48.77
Xaa = L-Ala			2: 3.34 / 79.01	CH₃:	2: 3.34 / 79.01	CH₃:
			3: 3.71 / 84.41	1.25 / 18.14	3: 3.71 / 84.41	1.25 / 18.14
			4: 3.61 / 80.28		4: 3.61 / 80.28	
			5: 3.78 / 77.85		5: 3.78 / 77.85	
			7: 3.54 / 39.57		7: 3.54 / 39.57	
			7': 3.30 / 39.57		7': 3.30 / 39.57	
			CH₂^{Bn}:		CH₂^{Bn}:	
			4.79, 4.74 /		4.79, 4.74 /	
			74.30		74.30	
			4.75, 4.62 /		4.75, 4.62 /	
			73.74		73.74	
			4.55 / 73.41		4.55 / 73.41	
			Ph^{Bn}:		Ph^{Bn}:	
			7.33 / 128.18		7.33 / 128.18	
			7.29 / 127.91		7.29 / 127.91	
			7.28 / 127.41		7.28 / 127.41	

Tabelle 5.7: Teil IV

Cyclopeptid	Lösungs- mittel	T [K]	Gum ¹ (R) ₃	Xaa ²	Gum ³ (R) ₃	Xaa ⁴
157:	[D6]DMSO	300	NH: 7.36	NH: 8.84	NH: 6.93	NH: 8.20
R = Bn,			1: 3.31 / 77.99	1: 4.29 / 48.56	1: 3.41 / 76.97	1: 4.28 / 49.08
Xaa = L-Ala,			2: 3.36 / 78.81	CH₃:	2: 3.32 / 78.64	CH₃:
D-Ala			3: 3.71 / 85.05	1.21 / 17.03	3: 3.75 / 84.00	1.26 / 17.98
			4: 3.70 / 79.64		4: 3.63 / 80.20	
			5: 3.80 / 77.48		5: 3.8 / 78.06	
			7: 3.80 / 39.38		7: 4.00 / 39.92	
			7': 3.15 / 39.38		7': 2.90 / 39.92	
			CH₂^{Bn}:		CH₂^{Bn}:	
			4.80 – 4.52 /		4.80 – 4.52 /	
			74.44 – 73.51		74.44 – 73.51	
			Ph^{Bn}:		Ph^{Bn}:	
			7.34 – 7.18 /		7.34 – 7.18 /	
			128.20 – 127.42		128.20 – 127.42	
159:	[D6]DMSO	293	NH: 7.54	NH: 7.82	NH: 7.65	NH: 7.90
R = Bn,			1: 3.37 / 77.13	1: 4.15 / 53.07	1: 3.29 / 77.39	1: 4.49 / 54.55
Xaa ² =			2: 3.37 / 79.00	2: 1.71 / 31.62	2: 3.29 / 78.83	2: 3.10 / 37.83
L-Lys(Boc),			3: 3.73 / 84.53	2': 1.62 / 31.62	3: 3.62 / 84.47	2': 2.89 / 37.83
Xaa ⁴ = L-Phe			4: 3.63 / 80.65	3: 1.33 / 22.87	4: 3.16 / 80.86	Ph:
			5: 3.82 / 77.87	3': 1.25 / 22.87	5: 3.71 / 77.30	7.36 – 7.08 /
			7: 3.62 / 39.70	4: 1.32 / 29.16	7: 3.57 / 39.70	138.74 – 127.71
			7': 3.28 / 39.70	5: 2.82 / 39.57	7': 3.27 / 39.70	
			CH₂^{Bn}:	NHBoc: 6.73	CH₂^{Bn}:	
			4.81 – 4.46 /	^tBu:	4.04 & 3.79	
			74.76 – 73.67	1.31 / 28.14	/73.43	
			Ph^{Bn}:		4.81 – 4.46 /	
			7.36 – 7.08 /		74.76 – 73.67	
			138.74 – 127.71		Ph^{Bn}:	
					7.36 – 7.08 /	
					138.74 – 127.71	

Tabelle 5.7: Teil V

Cyclopeptid	Lösungs- mittel	T [K]	Gum ¹ (R) ₃	Xaa ²	Gum ³ (R) ₃	Xaa ⁴
160:	[D6]DMSO	293	NH: 7.02	NH: 8.15	NH: 7.46	NH: 8.85
R = Bn,			1: 3.44 / 76.99	1: 4.24 / 53.33	1: 3.33 / 77.84	1: 4.52 / 54.78
Xaa ² =			2: 3.34 / 78.70	2: 1.74 / 31.66	2: 3.29 / 78.53	2: 3.16 / 36.71
L-Lys(Boc),			3: 3.78 / 84.25	2': 1.64 / 31.66	3: 3.69 / 84.91	2': 2.86 / 36.71
Xaa ⁴ = D-Phe			4: 3.59 / 80.77	3: 1.31 / 22.99	4: 3.60 / 78.92	Ph:
			5: 3.90 / 77.87	3': 1.21 / 22.99	5: 3.78 / 77.11	7.59 – 7.00 /
			7: 4.06 / 40.14	4: 1.32 / 28.97	7: 3.77 / 39.26	138.70 – 138.14
			7': 2.95 / 40.14	5: 2.82 / 39.56	7': 3.22 / 39.26	
			CH₂^{Bn}:	NHBoc: 6.72	CH₂^{Bn}:	
			4.81 – 4.56 /	^tBu:	4.33 & 4.27 /	
			74.58 – 73.69	1.31 / 28.13	73.16	
			Ph^{Bn}:		4.81 – 4.56 /	
			7.59 – 7.00 /		74.58 – 73.69	
			138.70 – 138.14		Ph^{Bn}:	
					7.59 – 7.00 /	
					138.70 – 138.14	
161:	[D6]DMSO	293	NH: 7.73	NH: 8.81	NH: 6.90	NH: 8.23
R = Bn,			1: 3.34 / 78.08	1: 4.23 / 53.05	1: 3.33 / 77.19	1: 4.49 / 55.48
Xaa ² =			2: 3.41 / 79.15	2: 1.76 / 30.87	2: 3.24 / 78.54	2: 3.15 / 37.90
D-Lys(Boc),			3: 3.76 / 85.17	2': 1.47 / 30.87	3: 3.60 / 84.33	2': 2.91 / 37.90
Xaa ⁴ = L-Phe			4: 3.73 / 79.19	3: 1.14 / 22.69	4: 2.8 / 81.15	Ph:
			5: 3.87 / 77.47	4: 1.22 / 29.06	5: 3.70 / 77.16	7.36 – 7.06 /
			7: 3.97 / 39.65	5: 2.73 / 39.37	7: 4.12 / 39.97	129.58 – 127.52
			7': 3.15 / 39.65	NHBoc: 6.69	7': 2.94 / 39.97	
			CH₂^{Bn}:	^tBu:	CH₂^{Bn}:	
			4.82 – 4.56 /	1.34 / 28.18	4.82 – 4.56 /	
			74.54 – 73.93		74.54 – 73.93	
			Ph^{Bn}:		3.78 & 3.46 /	
			7.36 – 7.06 /		73.48	
			129.58 – 127.52		Ph^{Bn}:	
					7.36 – 7.06 /	
					129.58 – 127.52	

Tabelle 5.7: Teil VI

Cyclopeptid	Lösungs- mittel	T [K]	Gum ¹ (R) ₃	Xaa ²	Gum ³ (R) ₃	Xaa ⁴
162:	[D6]DMSO	293	NH: 7.84	NH: 7.98	NH: 7.80	NH: 8.12
R = Bn,			1: 3.52 / 76.15	1: 4.35 / 52.72	1: 3.52 / 76.15	1: 4.66 / 53.74
Xaa ² =			2: 3.30 / 77.34	2: 1.78 / 30.91	2: 3.34 / 77.12	2: 3.13 / 36.80
D-Lys(Boc),			3: 3.69 / 85.61	2': 1.56 / 30.91	3: 3.69 / 85.61	2': 2.86 / 36.80
Xaa ⁴ = D-Phe			4: 3.49 / 80.60	3: 1.22 / 22.86	4: 3.49 / 80.60	Ph:
			5: 3.85 / 75.97	4: 1.35 / 29.24	5: 3.92 / 76.15	7.31 – 7.10 /
			7: 3.63 / 38.32	5: 2.87 / 39.59	7: 3.65 / 38.32	128.85 – 126.24
			7': 3.15 / 38.32	NHBoc: 6.78	7': 3.26 / 38.32	
			CH₂^{Bn}:	^tBu:	CH₂^{Bn}:	
			4.82 – 73.86 /	1.35 / 28.19	4.82 – 73.86 /	
			75.02 – 73.86		75.02 – 73.86	
			Ph^{Bn}:		Ph^{Bn}:	
			7.31 – 7.10 /		7.31 – 7.10 /	
			128.85 – 126.24		128.85 – 126.24	

Tabelle 5.8: $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -Korrelationen der zyklischen Hexamere *cyclo*[-Gum(R)₃-Ala-Gum(R)₃-Ala-Gum(R)₃-Ala-] (R = H oder Bn) in DMSO bei 300 K. ^1H -NMR (500 MHz), ^{13}C -NMR (125 MHz)

Hexamer	Gum(R) ₃	L-Ala
R = H	NH: 7.52 1: 3.19 / 77.67 2: 2.96 / 71.50 3: 3.16 / 77.01 4: 3.27 / 72.06 5: 3.54 / 77.77 7: 3.53 / 40.68 7': 3.01 / 40.68 OH²: 5.17 OH³: 5.13 OH⁴: 5.08	NH: 8.04 1: 4.27 / 48.61 CH₃: 1.31 / 16.76
R = Bn	NH: 7.52 1: 3.36 / 76.42 2: 3.34 / 78.47 3: 3.62 / 84.99 4: 3.74 / 79.75 5: 3.81 / 77.83 7: 3.45 / 39.16 7': 3.22 / 39.16 CH₂^{Bn}: 4.79 & 4.72 / 74.27 4.66 & 4.56 / 73.72 4.62 / 73.66 Phe^{Bn}: 7.30-7.15 / 128.83, 128.34, 128.28, 128.23, 128.11, 127.78, 127.50, 127.48	NH: 8.31 1: 4.21 / 49.14 CH₃: 1.26 / 17.47

Tabelle 5.9: $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -Korrelationen der zyklischen Homooligomeren $\text{cyclo}[-\{\text{Gum}(\text{Bn})_3\}_n-]$ ($n = 2$ bis 6) in CDCl_3 . ^1H -NMR (500 MHz), ^{13}C -NMR (125 MHz)

Homooligomer	Gum(Bn) ₃	
	277 K	293 K
n = 2	NH: 7.17	NH: 7.15
	1: 4.07 / 72.23	1: 4.05 / 72.41
	2: 3.65 / 75.84	2: 3.64 / 76.00
	3: 3.84 / 81.75	3: 3.83 / 82.15
	4: 4.55 / 74.67	4: 4.53 / 75.07
	5: 4.62 / 74.68	5: 4.59 / 74.81
	7: 4.42 / 37.79	7: 4.39 / 37.87
	7': 3.12 / 37.79	7': 3.11 / 37.87
	CH₂^{Bn}: 4.63 / 70.90	CH₂^{Bn}: 4.61 / 71.01
	4.58 & 4.40 / 74.21	4.57 & 4.40 / 74.26
	4.50 & 4.32 / 70.58	4.49 & 4.31 / 70.77
	Phe^{Bn}: 7.33 – 7.21, 7.12 – 7.08, 7.02 – 6.99 / 128.78, 128.53, 128.26, 128.18, 127.99, 127.70, 127.66	Phe^{Bn}: 7.34 – 7.19, 7.10 – 7.08, 7.02 – 7.00 / 128.81, 128.74, 128.53, 128.24, 128.19, 128.14, 127.99, 127.75, 127.72, 127.65
	n = 3	n = 3
	NH: 6.47	NH: 6.42
1: 3.53 / 76.92	1: 3.53 / 77.10	
2: 3.29 / 78.85	2: 3.29 / 78.93	
3: 3.73 / 85.35	3: 3.72 / 85.35	
4: 3.62 / 80.24	4: 3.63 / 80.40	
5: 3.83 / 78.01	5: 3.84 / 78.32	
7: 3.69 / 40.15	7: 3.34 / 40.18	
7': 3.30 / 40.15	7': 3.69 / 40.18	
CH₂^{Bn}: 4.90 & 4.78 / 75.60	CH₂^{Bn}: 4.87 & 4.76 / 75.51	
4.79 & 4.61 / 74.80	4.76 & 4.60 / 74.80	
4.69 / 75.14	4.70 & 4.65 / 75.09	
Phe^{Bn}: 7.32 – 7.22 / 128.49, 128.46, 128.41, 128.04, 127.95, 127.91, 127.81, 127.77	Phe^{Bn}: 7.30 – 7.20 / 128.47, 128.39, 128.04, 127.92, 127.86, 127.76	

Tabelle 5.9: Teil II

<i>Homooligomer</i>	<i>Gum(Bn)₃</i>	
	277 K	293 K
n = 4	NH: im Aromatenbereich	NH: 7.42
	1: 3.46 / 78.17	1: 3.37 / 77.03
	2: 3.46 / 78.17	2: 3.46 / 78.69
	3: 3.70 / 85.13	3: 3.69 / 85.26
	4: 3.89 / 78.55	4: 3.88 / 79.03
	5: 3.89 / 76.58	5: 3.88 / 77.12
	7: 3.35 / 38.78	7: 3.36 / 39.35
	7': 3.35 / 38.78	7': 3.57 / 39.35
	CH ₂ ^{Bn} : 4.91 / 74.52	CH ₂ ^{Bn} : 4.90 / 74.70
	4.80 / 74.66	4.78 & 4.56 / 74.82
	4.56 / 74.62	4.64 / 74.57
	Phe ^{Bn} : 7.72 – 6.81 / 128.49, 128.43, 128.41, 128.26, 128.07, 127.97, 128.35	Phe ^{Bn} : 7.59 – 7.00 / 128.89 – 128.35
	127.85	
n = 5	NH: 6.83	NH: 6.75
	1: 3.33 / 76.82	1: 3.35 / 76.97
	2: 3.31 / 78.40	2: 3.29 / 78.58
	3: 3.66 / 84.97	3: 3.65 / 84.94
	4: 3.64 / 79.91	4: 3.64 / 79.99
	5: 3.70 / 78.09	5: 3.70 / 78.28
	7: 3.55 / 40.08	7: 3.55 / 40.25
	7': 3.40 / 40.08	7': 3.37 / 40.25
	CH ₂ ^{Bn} : 4.85 & 4.75 / 75.11	CH ₂ ^{Bn} : 4.83 & 4.72 / 75.09
	4.71 & 4.51 / 74.47	4.69 & 4.50 / 74.42
	4.62 / 74.82	4.60 / 74.75
	Phe ^{Bn} : 7.28 – 7.18 / 128.53, 128.43, 128.19, 128.11, 128.01, 127.87, 127.79	Phe ^{Bn} : 7.26 – 7.14 / 128.53, 128.42, 128.17, 128.09, 127.97, 127.82, 127.74

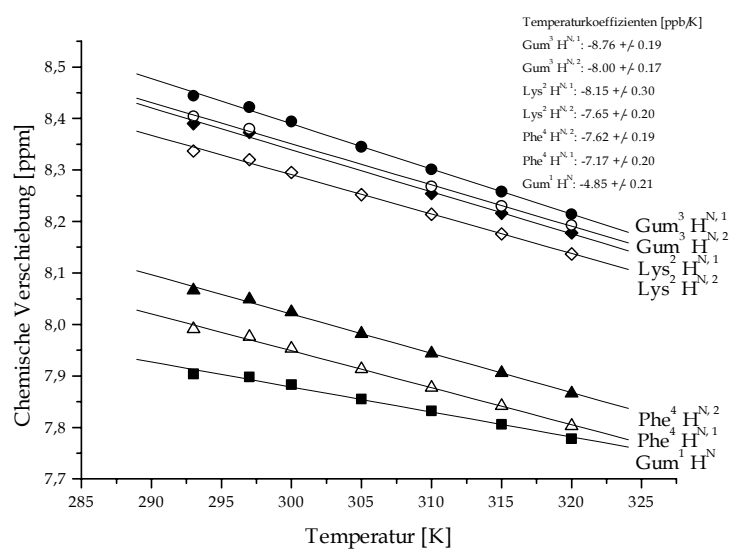
Tabelle 9: Teil III

Homooligomer	Gum(Bn) ₃	
	277 K	293 K
n = 6	NH: im Aromatenbereich	NH: im Aromatenbereich
	1: 3.40 / 76.33	1: 3.39 / 76.52
	2: 3.39 / 78.08	2: 3.39 / 78.17
	3: 3.65 / 84.82	3: 3.65 / 84.78
	4: 3.70 / 78.08	4: 3.74 / 79.19
	5: 3.73 / 77.72	5: 3.74 / 77.89
	7: im Rauschen	7: 3.47 / 40.00
	7': im Rauschen	7': 3.43 / 40.00
	CH₂^{Bn}: 4.83 & 4.72 / 74.65	CH₂^{Bn}: 4.83 & 4.72 / 74.67
	4.65 / 74.36	4.66 & 4.52 / 74.17
	4.60 & 4.48 / 74.22	4.66 / 74.33
	Phe^{Bn}: 7.31 – 7.15 / 128.75, 128.45, 128.41, 128.12, 127.92, 127.85,	Phe^{Bn}: 7.30 – 7.22 / 128.45, 128.44, 128.41, 128.10, 127.90, 127.85, 127.77, 127.72

5.5.3 Temperaturmessreihen

Die Spektren in Wasser wurden auf Tetramethylsilan (0 ppm) geeicht, die Spektren in DMSO auf das Lösungsmittelsignal. Mit Hilfe des Programms Microcal Origin 5.0 wurden aus den chemischen Verschiebungen der einzelnen Amidprotonen bei 293 K, 297 K, 300 K, 305 K, 310 K, 315 K und 320 K Regressionsgeraden erstellt. Aus deren jeweiliger Steigung wurden die Temperaturkoeffizient berechnet. In Fällen, in denen die Amidprotonensignale von Aromatensignalen überlagert sind, wurde auf die Angabe des jeweiligen Wertes verzichtet.

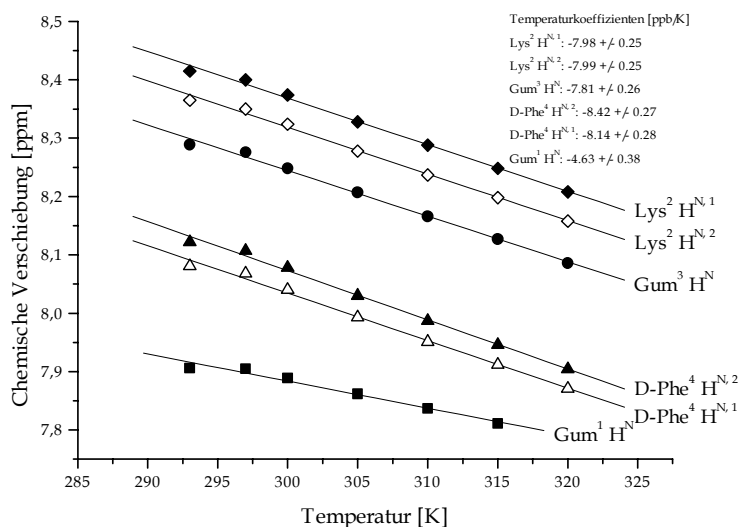
Temperaturmessreihe von H₂N-Gum¹-Lys²(Boc)-Gum³-Phe⁴-OH **126** in H₂O (+ 10 % D₂O)*



T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (Lys ² H ^{N,1}) [ppm]	δ (Lys ² H ^{N,2}) [ppm]	δ (Gum ³ H ^{N,1}) [ppm]	δ (Gum ³ H ^{N,2}) [ppm]	δ (Phe ⁴ H ^{N,1}) [ppm]	δ (Phe ⁴ H ^{N,2}) [ppm]
293	7.904	8.390	8.337	8.444	8.404	7.991	8.066
297	7.898	8.373	8.320	8.422	8.308	7.976	8.049
300	7.883		8.295	8.394		7.953	8.024
305	7.855		8.252	8.345		7.913	7.982
310	7.832	8.254	8.214	8.301	8.268	7.877	7.944
315	7.806	8.216	8.176	8.258	8.230	7.842	7.906
320	7.778	8.178	8.137	8.214	8.193	7.803	7.866

*: Temperaturmessreihe wurde ca. 11 Wochen nach dem Spektrensatz in Tabelle 5.6 aufgenommen. In dieser Zeit haben sich die chemischen Verschiebungen der Konformere geringfügig verändert.

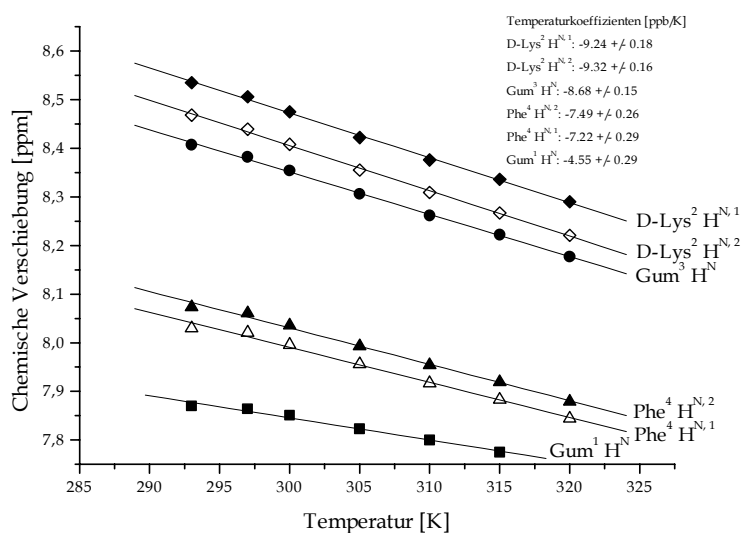
Temperaturmessreihe von H₂N-Gum¹-Lys²(Boc)-Gum³-D-Phe⁴-OH **127** in H₂O (+ 10 % D₂O)*



T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (Lys ² H ^{N,1}) [ppm]	δ (Lys ² H ^{N,2}) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (D-Phe ⁴ H ^{N,1}) [ppm]	δ (D-Phe ⁴ H ^{N,2}) [ppm]
293	7.906	8.415	8.365	8.289	8.081	8.122
297	7.905	8.400	8.350	8.276	8.068	8.107
300	7.889	8.374	8.324	8.248	8.040	8.078
305	7.862	8.328	8.278	8.207	7.993	8.030
310	7.837	8.288	8.237	8.166	7.951	7.987
315	7.811	8.248	8.198	8.127	7.912	7.946
320		8.208	8.158	8.086	7.871	7.904

*: Temperaturmessreihe wurde ca. 9 Wochen nach dem Spektrensatz in Tabelle 5.6 aufgenommen. In dieser Zeit haben sich die chemischen Verschiebungen der Konformere geringfügig verändert.

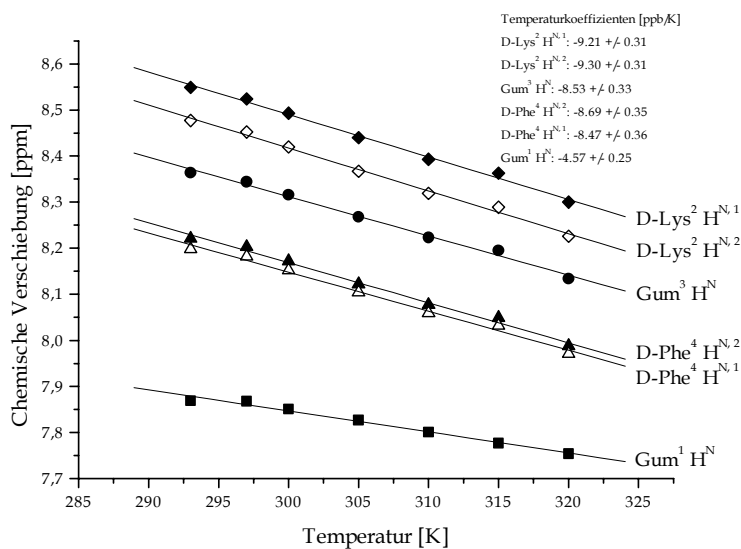
Temperaturmessreihe von $\text{H}_2\text{N-Gum}^1\text{-D-Lys}^2(\text{Boc})\text{-Gum}^3\text{-Phe}^4\text{-OH 128}$ in H_2O (+ 10 % D_2O)^{*}



T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (D-Lys ² H ^{N,1}) [ppm]	δ (D-Lys ² H ^{N,2}) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (Phe ⁴ H ^{N,1}) [ppm]	δ (Phe ⁴ H ^{N,2}) [ppm]
293	7.870	8.535	8.468	8.407	8.030	8.073
297	7.864	8.506	8.439	8.382	8.021	8.061
300	7.851	8.475	8.408	8.354	7.996	8.036
305	7.823	8.422	8.355	8.306	7.956	7.993
310	7.800	8.376	8.309	8.262	7.917	7.954
315	7.775	8.336	8.267	8.222	7.883	7.919
320		8.290	8.221	8.177	7.844	7.879

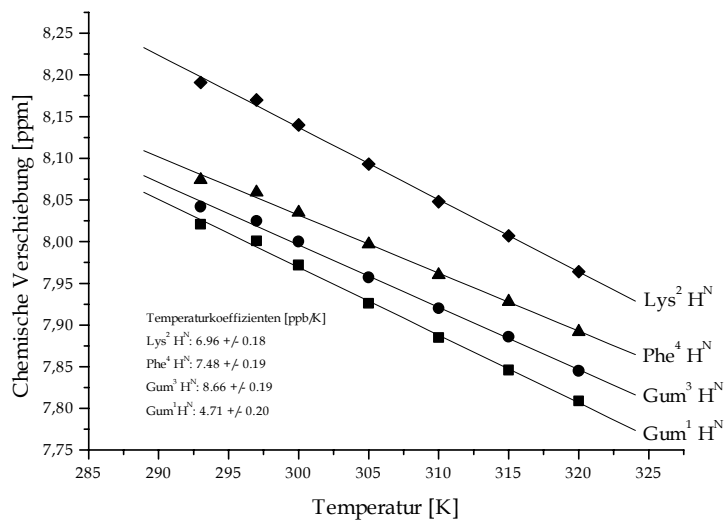
*: Temperaturmessreihe wurde ca. 11 Wochen nach dem Spektrensatz in Tabelle 5.6 aufgenommen. In dieser Zeit haben sich die chemischen Verschiebungen der Konformere geringfügig verändert.

Temperaturmessreihe von $\text{H}_2\text{N-Gum}^1\text{-D-Lys}^2(\text{Boc})\text{-Gum}^3\text{-D-Phe}^4\text{-OH 129}$ in H_2O (+ 10 % D_2O)^{*}

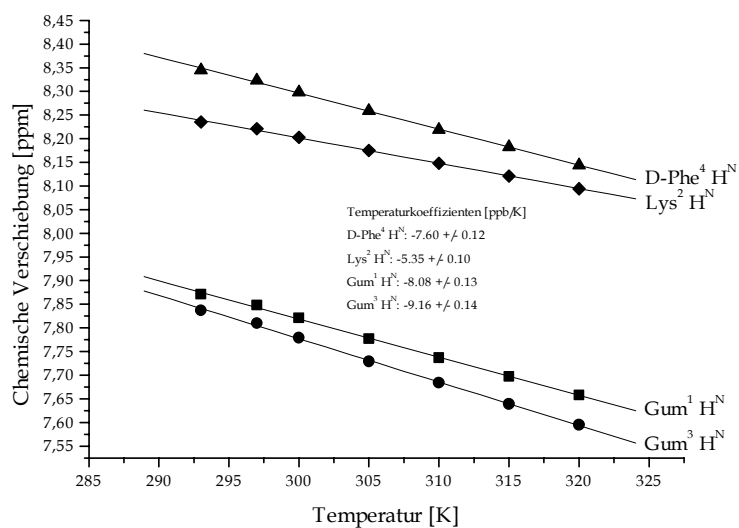


T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (D-Lys ² H ^{N,1}) [ppm]	δ (D-Lys ² H ^{N,2}) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (D-Phe ⁴ H ^{N,1}) [ppm]	δ (D-Phe ⁴ H ^{N,2}) [ppm]
293	7.869	8.549	8.477	8.364	8.198	8.221
297	7.868	8.524	8.452	8.344	8.182	8.203
300	7.851	8.493	8.420	8.316	8.152	8.172
305	7.827	8.440	8.367	8.268	8.104	8.122
310	7.801	8.393	8.319	8.223	8.059	8.077
315	7.777	8.363	8.289	8.195	8.032	8.049
320	7.754	8.300	8.226	8.134	7.971	7.988

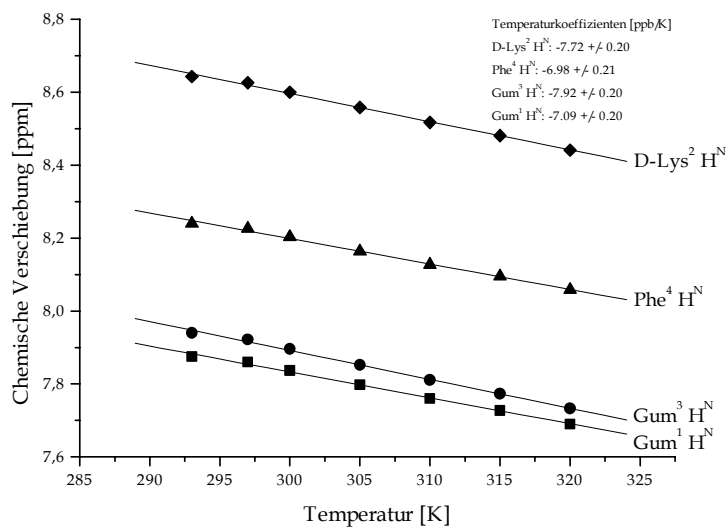
*: Temperaturmessreihe wurde ca. 11 Wochen nach dem Spektrensatz in Tabelle 5.6 aufgenommen. In dieser Zeit haben sich die chemischen Verschiebungen der Konformere geringfügig verändert.

Temperaturmessreihe von *cyclo*[-Gum¹-Lys²-Gum³-Phe⁴-] **151** in H₂O (+ 10 % D₂O)

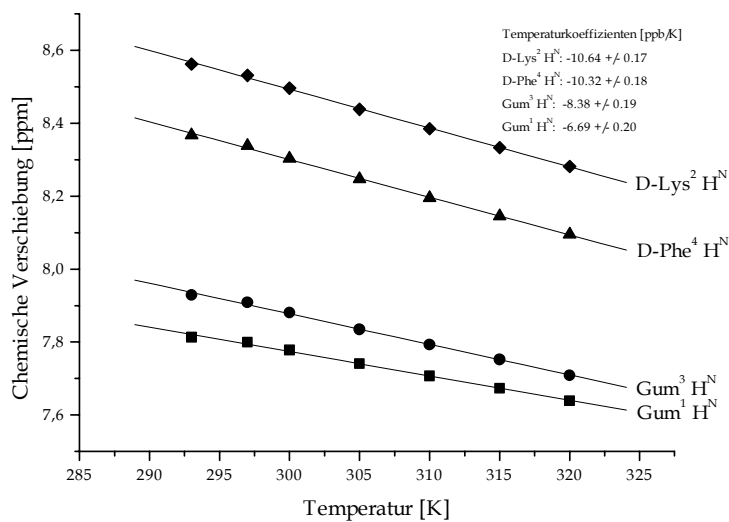
T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (Lys ² H ^N) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (Phe ⁴ H ^N) [ppm]
293	8.021	8.074	8.191	8.042
297	8.001	8.059	8.170	8.025
300	7.972	8.035	8.140	8.000
305	7.926	7.997	8.093	7.957
310	7.885	7.960	8.048	7.920
315	7.846	7.928	8.007	7.886
320	7.809	7.892	7.964	7.845

Temperaturmessreihe von *cyclo*[-Gum¹-Lys²-Gum³-D-Phe⁴-] **152** in H₂O (+ 10 % D₂O)

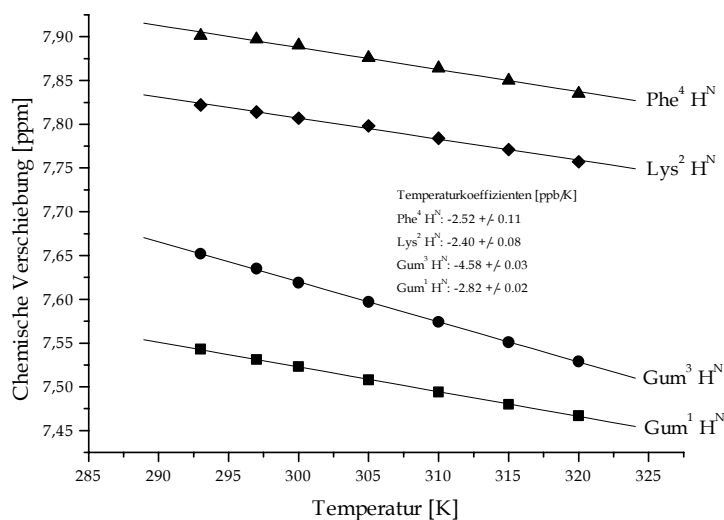
T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (Lys ² H ^N) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (D-Phe ⁴ H ^N) [ppm]
293	7.871	8.235	7.837	8.345
297	7.848	8.221	7.810	8.323
300	7.821	8.203	7.779	8.298
305	7.777	8.175	7.729	8.259
310	7.737	8.148	7.684	8.219
315	7.697	8.121	7.639	8.182
320	7.658	8.094	7.595	8.144

Temperaturmessreihe von *cyclo*[-Gum¹-D-Lys²-Gum³-Phe⁴-] **153** in H₂O (+ 10 % D₂O)

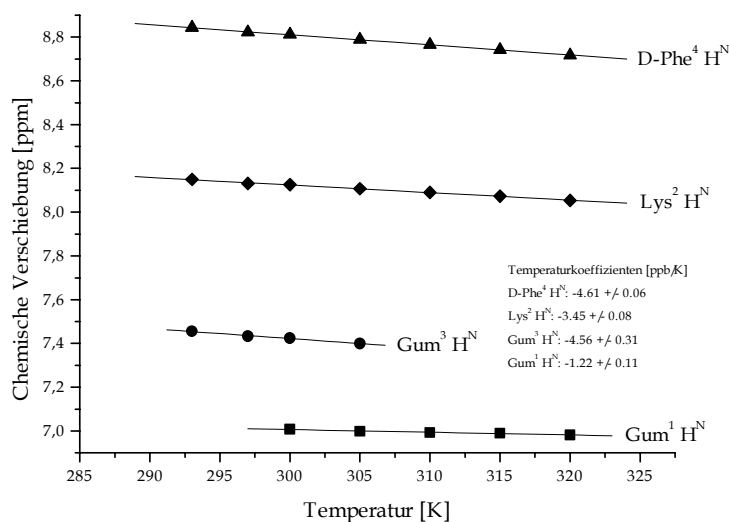
T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (D-Lys ² H ^N) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (Phe ⁴ H ^N) [ppm]
293	7.875	8.643	7.940	8.240
297	7.860	8.626	7.922	8.226
300	7.837	8.600	7.896	8.203
305	7.798	8.558	7.852	8.163
310	7.760	8.517	7.811	8.127
315	7.727	8.481	7.773	8.095
320	7.690	8.441	7.733	8.058

Temperaturmessreihe von *cyclo*[-Gum¹-D-Lys²-Gum³-D-Phe⁴-] **154** in H₂O (+ 10 % D₂O)

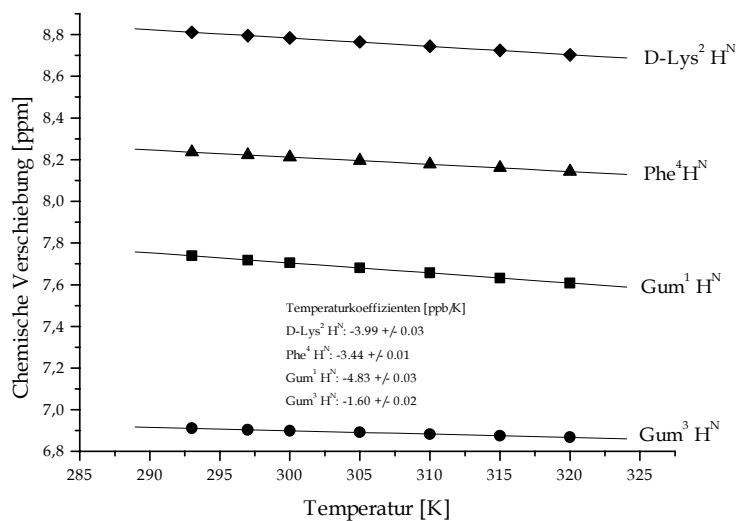
T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (D-Lys ² H ^N) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (D-Phe ⁴ H ^N) [ppm]
293	7.813	8.562	7.929	8.367
297	7.800	8.531	7.909	8.338
300	7.778	8.496	7.881	8.303
305	7.741	8.438	7.835	8.247
310	7.707	8.385	7.793	8.195
315	7.673	8.333	7.752	8.145
320	7.639	8.281	7.709	8.095

Temperaturmessreihe von *cyclo*[-Gum¹(Bn)₃-Lys²(Boc)-Gum³(Bn)₃-Phe⁴-] **159** in [D₆]DMSO

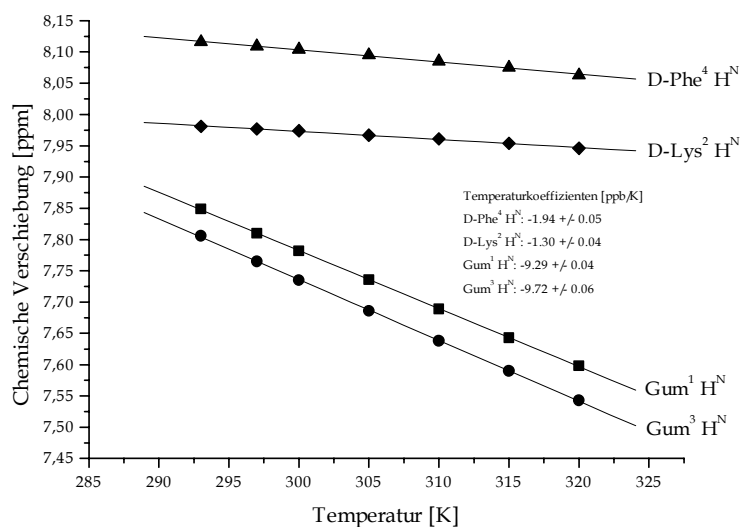
T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (Lys ² H ^N) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (Phe ⁴ H ^N) [ppm]
293	7.543	7.822	7.652	7.901
297	7.531	7.814	7.635	7.897
300	7.523	7.807	7.619	7.890
305	7.508	7.798	7.597	7.876
310	7.494	7.784	7.574	7.864
315	7.480	7.771	7.551	7.850
320	7.467	7.757	7.529	7.835

Temperaturmessreihe von *cyclo*[-Gum¹(Bn)₃-Lys²(Boc)-Gum³(Bn)₃-D-Phe⁴-] **160** in [D₆]DMSO

T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (Lys ² H ^N) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (D-Phe ⁴ H ^N) [ppm]
293		8.149	7.456	8.843
297		8.131	7.433	8.822
300	7.008	8.126	7.424	8.812
305	6.999	8.107	7.400	8.788
310	6.993	8.090		8.765
315	6.990	8.073		8.742
320	6.982	8.054		8.717

Temperaturmessreihe von *cyclo*[-Gum¹(Bn)₃-D-Lys²(Boc)-Gum³(Bn)₃-Phe⁴-] **161** in [D₆]DMSO

T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (D-Lys ² H ^N) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (Phe ⁴ H ^N) [ppm]
293	7.739	8.811	6.911	8.236
297	7.718	8.795	6.904	8.222
300	7.705	8.784	6.899	8.212
305	7.681	8.765	6.892	8.195
310	7.657	8.744	6.883	8.178
315	7.632	8.724	6.875	8.160
320	7.608	8.703	6.868	8.143

Temperaturmessreihe von *cyclo*[-Gum¹(Bn)₃-D-Lys²(Boc)-Gum³(Bn)₃-D-Phe⁴-] **162** in [D₆]DMSO

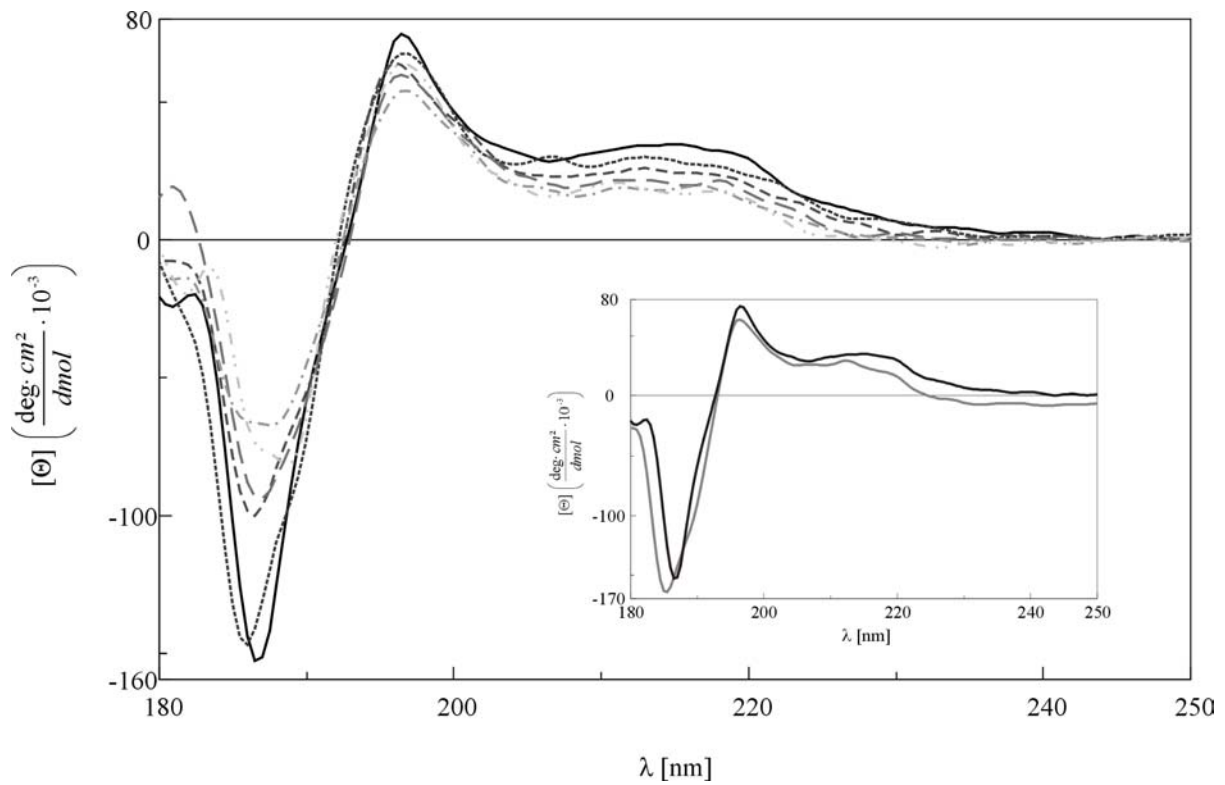
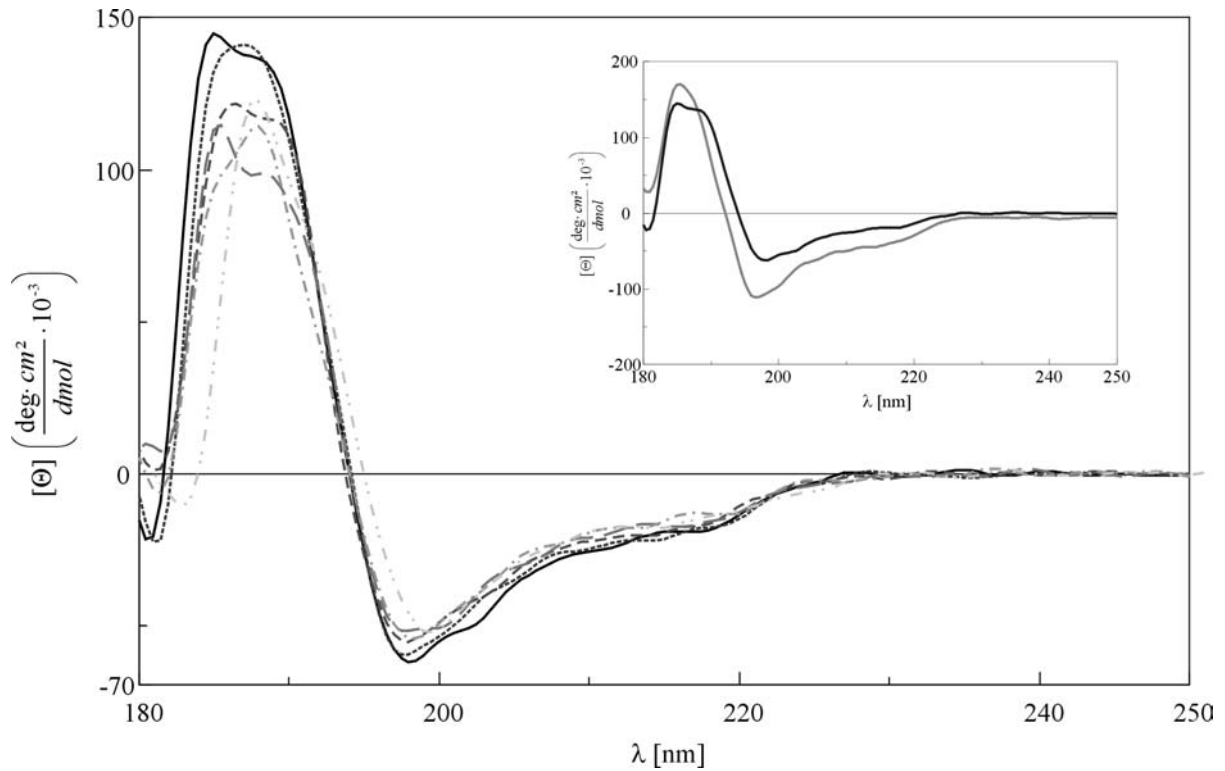
T [K]	δ (Gum ¹ H ^N) [ppm]	δ (D-Lys ² H ^N) [ppm]	δ (Gum ³ H ^N) [ppm]	δ (D-Phe ⁴ H ^N) [ppm]
293	7.849	7.981	7.806	8.116
297	7.810	7.977	7.765	8.109
300	7.782	7.974	7.735	8.104
305	7.736	7.967	7.686	8.095
310	7.689	7.961	7.638	8.085
315	7.643	7.954	7.590	8.075
320	7.598	7.946	7.543	8.063

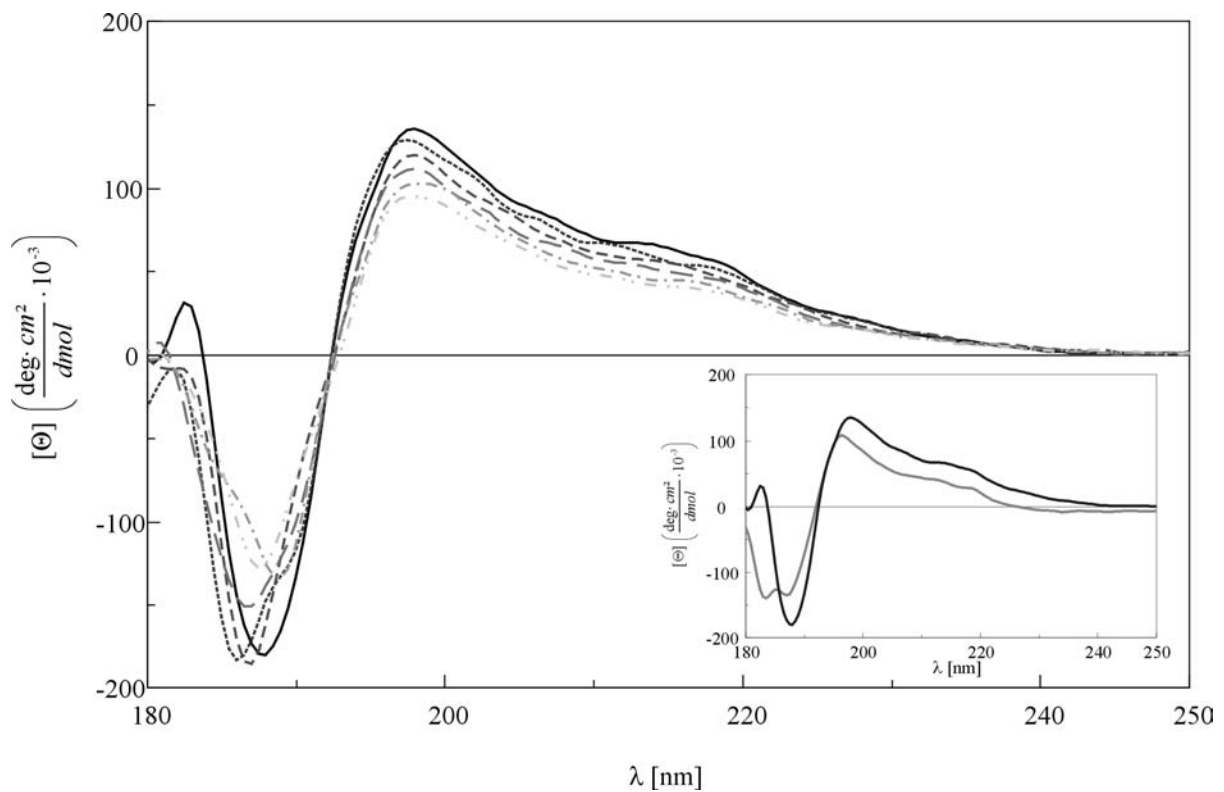
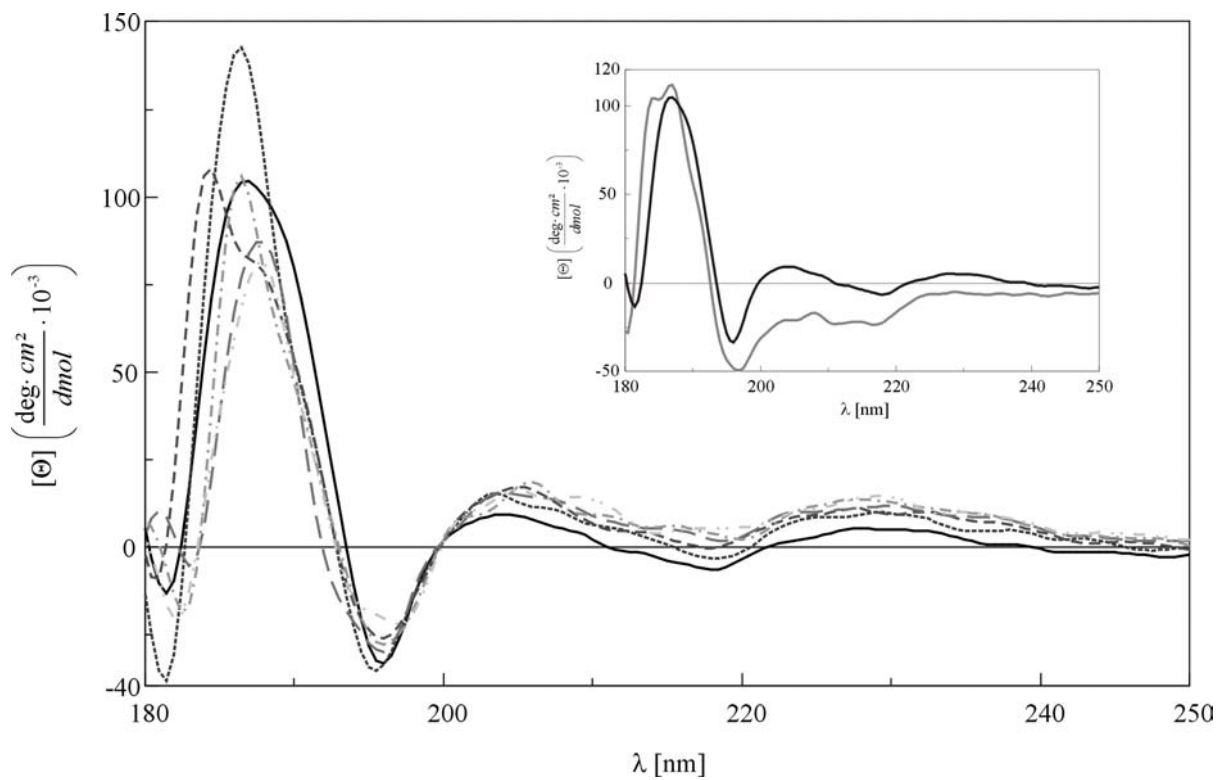
5.6 CD-Spektren

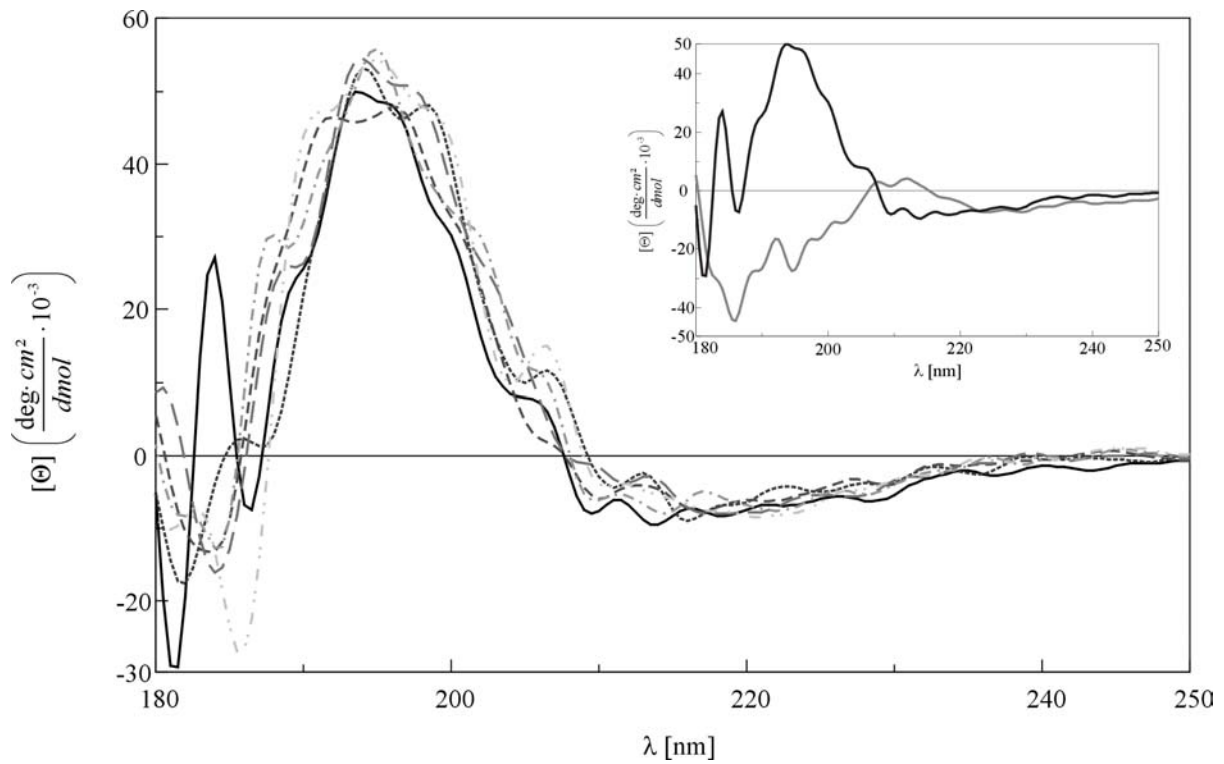
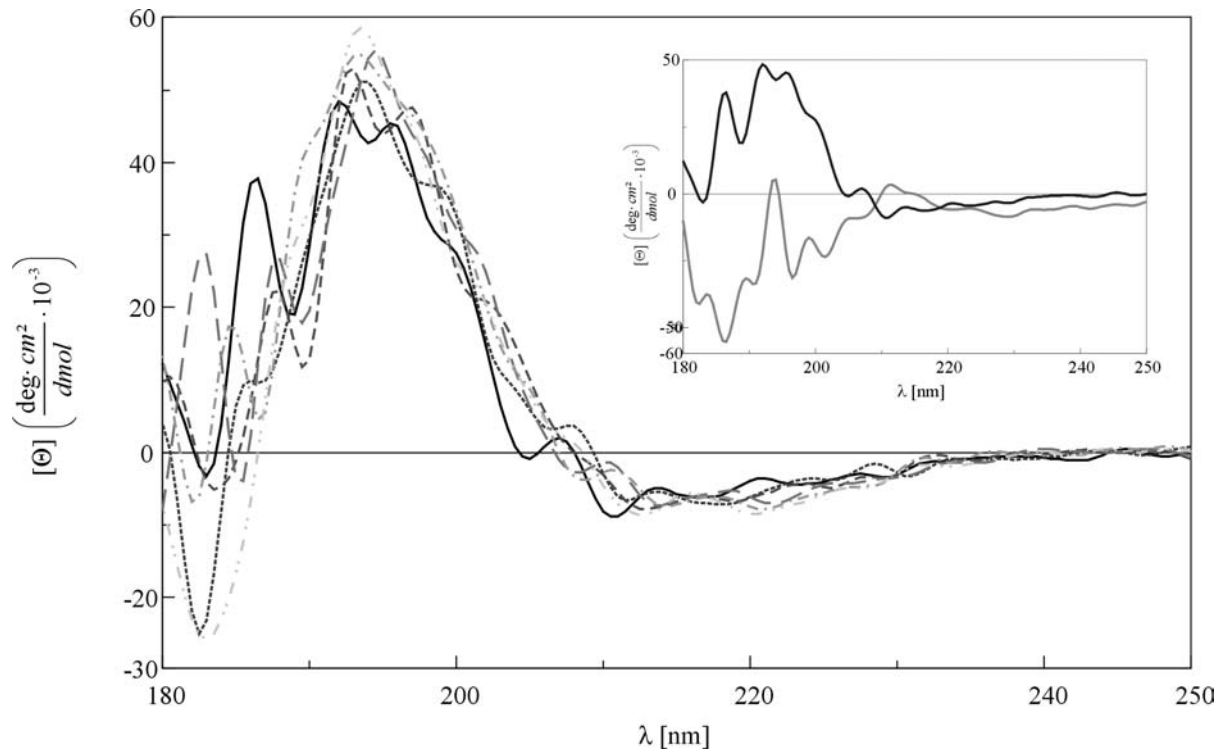
Die folgenden Tabellen zeigen Temperaturmessreihen von CD-Spektren, die durch Aufnahme im Wellenlängenbereich zwischen 180 nm und 250 nm bei 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C und 70 °C entstanden sind. Folgender Strich- und Graustufencode zur Kennzeichnung der einzelnen Temperaturkurven wurde verwendet:

20°C —————	50°C — — — — —
30°C ··········	60°C - · - · - · - · - ·
40°C - - - - -	70°C - · · - · · - · ·

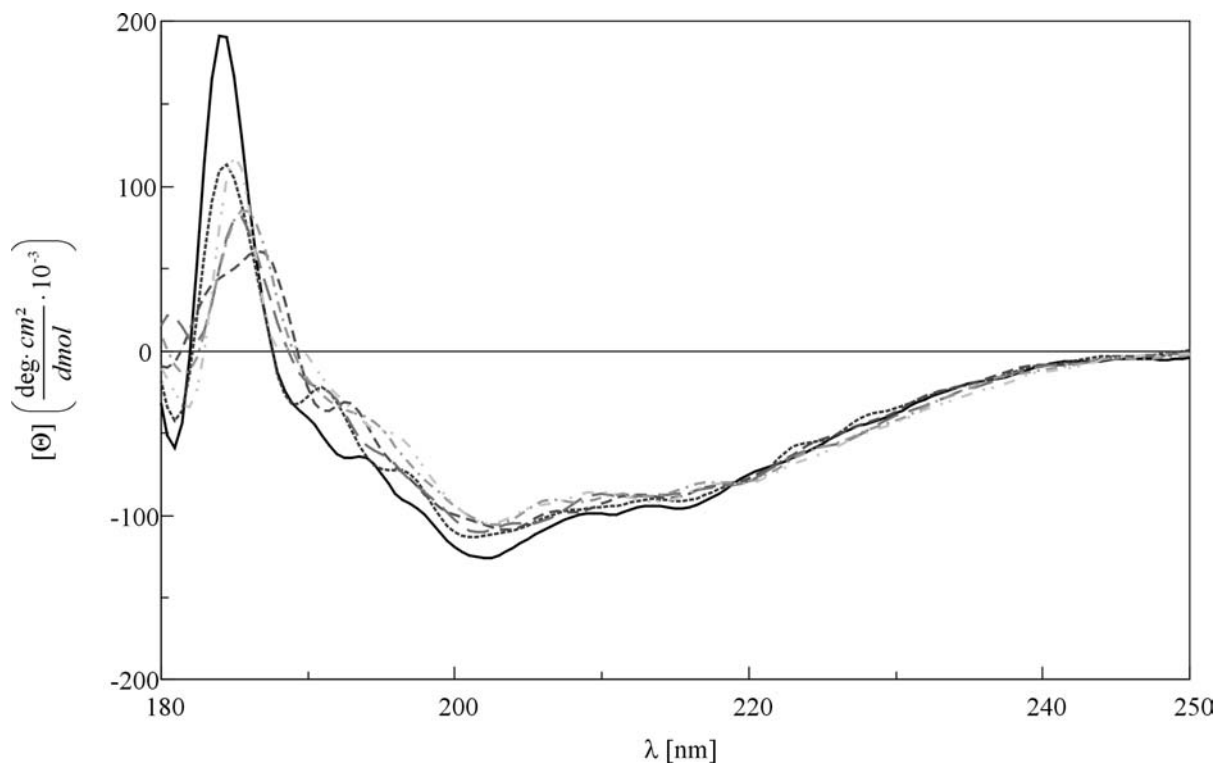
Alle Hauptspektren wurden in einem Lösungsmittelgemisch Acetonitril/Wasser im Verhältnis 4:1 aufgenommen. Im jeweils kleinen Kasten sind Spektren der linearen Oligomeren in reinem Wasser bei 20°C (grau) im Vergleich zu den entsprechenden Kurven im obigen Lösungsmittelgemisch (schwarz) gezeigt. Die jeweiligen Konzentrationen sind in Klammern hinter der Überschrift angegeben. Die Spektren werden in molarer Elliptizität in Abhängigkeit von der Wellenlänge angegeben. Diese wurde mit dem Programm J-700 für Windows, Version 1.50.01 der Firma *Jasco* gemäß der Gleichung 6.6 in Kapitel 6.1 berechnet.

CD-Spektren von H₂N-Gum-Lys(Boc)-Gum-Phe-OH **126** (c = 0.25 mM)CD-Spektren von H₂N-Gum-Lys(Boc)-Gum-D-Phe-OH **127** (c = 0.25 mM)

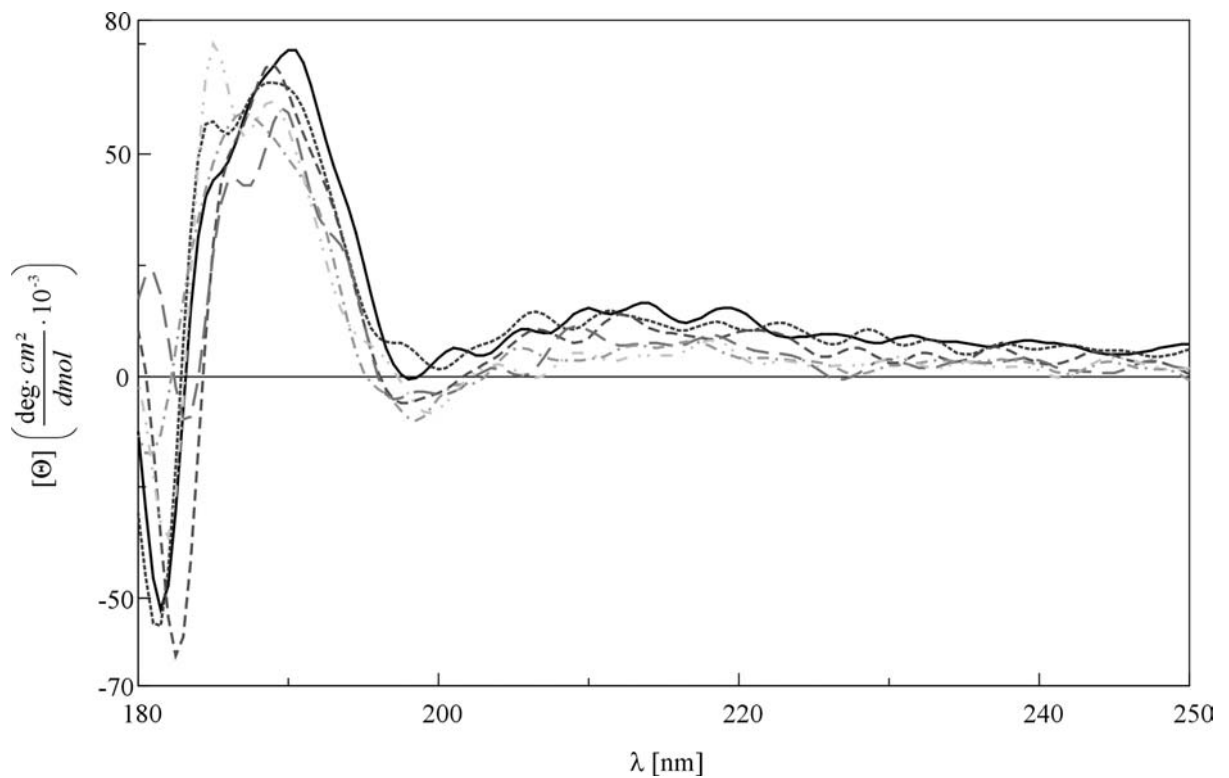
CD-Spektren von H₂N-Gum-D-Lys(Boc)-Gum-Phe-OH **128** (c = 0.25 mM)Spektren von H₂N-Gum-D-Lys(Boc)-Gum-D-Phe-OH **129** (c = 0.25 mM)

CD-Spektren von Fmoc-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-OH **130** ($c = 0.33 \text{ mM}$)CD-Spektren von Fmoc-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-Gum-Gly-OH **131** ($c = 0.33 \text{ mM}$)

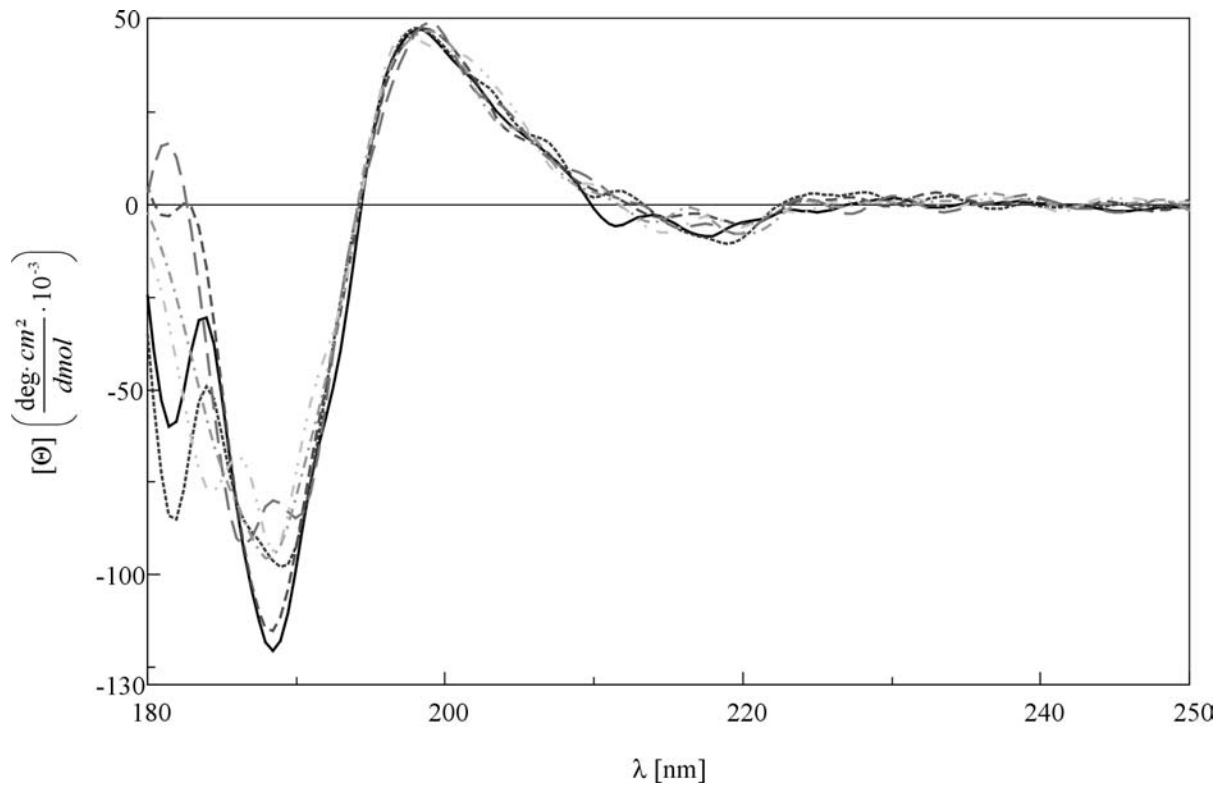
CD-Spektren von *cyclo*[-Gum-Lys-Gum-Phe-] **147** ($c = 0.14 \text{ mM}$)



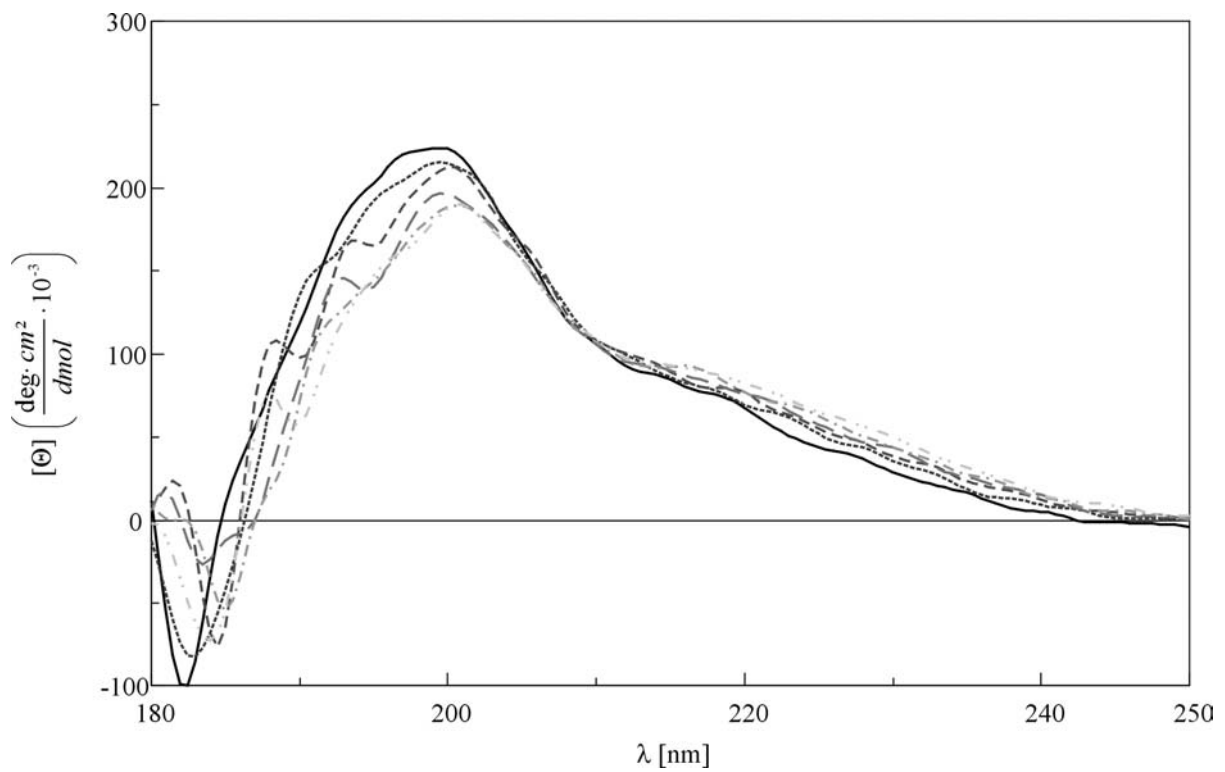
CD-Spektren von *cyclo*[-Gum-Lys-Gum-D-Phe-] **148** ($c = 0.14 \text{ mM}$)



CD-Spektren von *cyclo*[-Gum-D-Lys-Gum-Phe-] **149** ($c = 0.14$ mM)



CD-Spektren von *cyclo*[-Gum-D-Lys-Gum-D-Phe-] **150** ($c = 0.14$ mM)



5.7 Strukturrechnung

Kurz eine Anmerkung vorweg: Bei der Strukturrechnung von *cyclo*[-Gum-Lys-Gum-D-Phe-] **152** wurde entgegen der bisherigen Konvention folgende Sequenznummerierung vorgenommen: *cyclo*[-Gum³-Lys⁴-Gum¹-D-Phe²-]. Zur besseren Übersicht wurden die Originaldaten, sofern möglich, der in dieser Arbeit verwendeten Standardnummerierung *cyclo*[-Gum¹-Lys²-Gum³-D-Phe⁴-] angeglichen. Dies gilt auch für die in Abbildung 3.13 gezeigten Struktur. Lediglich bei den Daten der Tabelle 5.12 wurde auf eine Angleichung verzichtet. Hier ist also im Vergleich mit den anderen Daten in Bezug auf die Nummerierung Vorsicht geboten.

Zur stereochemischen Zuordnung der β -Protonen von Lys² und D-Phe⁴ werden die heteronuklearen Kopplungskonstanten ($^3J_{H\alpha, C'}$) qualitativ aus dem HMBC und die homonuklearen Kopplungskonstanten ($^3J_{H\alpha, H\beta}$) aus dem ¹H-NMR-Spektrum, welches am 750 MHz-Spektrometer der Firma *Bruker* aufgenommen wurde, bestimmt (siehe Tabelle 3.9). Die stereochemische Zuordnung von Gum¹ H^{C,proS} kann durch geometrische Betrachtungen unter Zuhilfenahme der ROESY-Korrelation mit Lys² H^N geklärt werden.

Aus dem ROESY-Spektrum (Abbildung 3.7), das in Wasser bei 293 K auf dem DMX500-NMR-Spektrometer der Firma *Bruker* aufgenommen wurde, lassen sich Interprotonenabstände bestimmen. Die Datenprozessierung sowie die Integration erfolgt mit XWIN-NMR (Version 3.0, Bruker, Karlsruhe). Nach der Offset-Korrektur^[196] werden die Integrale des ROESY-Spektrums in 18 Interatomabstände konvertiert. Hierzu dient das Integral der Gum¹ H3 – Gum¹ H5-Korrelation als Referenz. Der Abstand dieser beiden Atome beträgt 2.64 Å unter der Annahme, dass der Zuckerring in einer ⁴C₁-Sesselkonformation vorliegt, in der alle großen Reste äquatorial stehen. Es werden nur ROESY-Signale verwendet, die sehr gut separiert sind und eine vernünftige Intensität aufweisen, um so größere Fehler zu vermeiden. Da neben der Hauptkonformation noch eine zweite Nebenkonformation in Anteilen von 3-5 % zu beobachten ist, die im Rahmen der NMR-Zeitskala nur langsam mit der Hauptkonformation austauscht, wird die Fehlertoleranz bei der Distanzgeometrierechnung mit $\pm 15\%$ etwas höher angesetzt als üblich ($\pm 10\%$). Die Strukturrechnung wurde von Georg Voll durchgeführt^[109]. Tabelle 5.11 zeigt die tolerierten Abstände sowie die Abstandsverletzungen für die durch besagten Werte eingeschränkte Distanzgeometrierechnung bzw. 150 ps Moleküldynamik-Simulation.

Tabelle 5.11: Distanzverletzungen der 150 ps eingeschränkten Moleküldynamik-Simulation von *cyclo*[-Gum¹-Lys²-Gum³-D-Phe⁴-], gemittelt als $\langle r^{-3} \rangle^{1/3}$.

<i>Atom 1</i>		<i>Atom 2</i>		<i>Untere Fehlergrenze</i>	<i>Obere Fehlergrenze</i>	<i>Berechneter Abstand</i>	<i>Abstandsverletzung</i>
				[Å]	[Å]	[Å]	[Å]
Gum ¹	H ^N	Gum ³	H5	4.50	6.00	4.64	0.00
Gum ¹	H ^N	D-Phe ⁴	H ^α	2.86	3.87	3.61	0.00
Gum ¹	H ^N	Lys ²	H ^N	4.50	6.00	5.10	0.00
Lys ²	H ^N	Gum ¹	H5	2.84	3.84	3.50	0.00
Lys ²	H ^N	Gum ¹	H ^{C, pro S}	3.48	4.70	4.13	0.00
Lys ²	H ^N	Lys ²	H ^{β, pro S}	3.17	4.28	3.78	0.00
Lys ²	H ^N	Lys ²	H ^{β, pro R}	2.66	3.60	2.64	-0.02
Lys ²	H ^N	Lys ²	C ^γ	2.54	5.24	3.29	0.00
Lys ²	H ^{β, pro S}	Lys ²	C ^ε	3.06	5.95	4.18	0.00
Gum ³	H ^N	D-Phe ⁴	H ^N	4.50	6.00	4.96	0.00
Gum ³	H ^N	Lys ²	H ^N	2.72	3.68	3.07	0.00
Gum ³	H ^N	Lys ²	H ^α	2.80	3.79	2.98	0.00
Gum ³	H ^N	Lys ²	H ^{β, pro S}	3.61	4.89	4.21	0.00
Gum ³	H ^N	Lys ²	H ^{β, pro R}	3.54	4.79	3.81	0.00
D-Phe ⁴	H ^N	Gum ³	H4	3.30	4.46	4.32	0.00
D-Phe ⁴	H ^N	Gum ³	H5	2.37	3.21	2.24	-0.13
D-Phe ⁴	H ^N	D-Phe ⁴	H ^α	2.60	3.52	2.98	0.00
D-Phe ⁴	H ^N	Gum ¹	H ^N	2.64	3.57	2.86	0.00

Die PDB-Koordinaten der gemittelten und minimierten Struktur der 150 ps eingeschränkten MD-Simulation von *cyclo*[-Gum³-Lys⁴-Gum¹-D-Phe²-] (man beachte die Nummerierung!) sind in Tabelle 5.12 aufgeführt.

Tabelle 5.12: PDB-Koordinaten von *cyclo*[-Gum³-Lys⁴-Gum¹-D-Phe²-]^{a)}

ATOM	1	C5	GUM	1	3.513	-0.991	0.556	1.00	0.00	C
ATOM	2	O	GUM	1	3.193	0.249	-0.143	1.00	0.00	O
ATOM	3	C1	GUM	1	3.975	0.535	-1.342	1.00	0.00	C
ATOM	4	O3	GUM	1	5.356	-2.224	1.560	1.00	0.00	O
ATOM	5	C4	GUM	1	4.999	-0.960	1.006	1.00	0.00	C
ATOM	6	O2	GUM	1	7.247	-0.416	0.328	1.00	0.00	O
ATOM	7	C3	GUM	1	5.938	-0.647	-0.183	1.00	0.00	C
ATOM	8	O1	GUM	1	6.250	0.675	-2.190	1.00	0.00	O
ATOM	9	C2	GUM	1	5.487	0.593	-0.986	1.00	0.00	C
ATOM	10	O4	GUM	1	2.519	-0.411	2.693	1.00	0.00	O
ATOM	11	C6	GUM	1	2.545	-1.197	1.744	1.00	0.00	C
ATOM	12	N	GUM	1	2.087	1.923	-2.233	1.00	0.00	N
ATOM	13	C	GUM	1	3.529	1.884	-1.930	1.00	0.00	C
ATOM	14	HN	GUM	1	1.425	1.214	-1.896	1.00	0.00	H
ATOM	15	N	PHE	2	1.742	-2.268	1.683	1.00	0.00	N
ATOM	16	CA	PHE	2	0.788	-2.622	2.772	1.00	0.00	C
ATOM	17	O	PHE	2	-0.825	-1.093	3.775	1.00	0.00	O
ATOM	18	C	PHE	2	-0.525	-1.760	2.782	1.00	0.00	C
ATOM	19	CB	PHE	2	0.570	-4.161	2.666	1.00	0.00	C
ATOM	20	CG	PHE	2	-0.236	-4.765	3.824	1.00	0.00	C
ATOM	21	CD1	PHE	2	-1.604	-5.015	3.686	1.00	0.00	C
ATOM	22	CE1	PHE	2	-2.339	-5.515	4.757	1.00	0.00	C
ATOM	23	CZ	PHE	2	-1.708	-5.770	5.974	1.00	0.00	C
ATOM	24	CE2	PHE	2	-0.345	-5.524	6.118	1.00	0.00	C
ATOM	25	CD2	PHE	2	0.391	-5.024	5.048	1.00	0.00	C
ATOM	26	H	PHE	2	1.863	-2.836	0.843	1.00	0.00	H
ATOM	27	C5	GUM	3	-2.406	0.106	-2.039	1.00	0.00	C
ATOM	28	O	GUM	3	-2.122	-0.088	-0.611	1.00	0.00	O
ATOM	29	C1	GUM	3	-3.045	-0.952	0.132	1.00	0.00	C
ATOM	30	O3	GUM	3	-4.212	0.853	-3.544	1.00	0.00	O
ATOM	31	C4	GUM	3	-3.831	0.726	-2.179	1.00	0.00	C
ATOM	32	O2	GUM	3	-6.145	0.475	-1.520	1.00	0.00	O
ATOM	33	C3	GUM	3	-4.872	-0.156	-1.457	1.00	0.00	C
ATOM	34	O1	GUM	3	-5.418	-1.303	0.593	1.00	0.00	O
ATOM	35	C2	GUM	3	-4.489	-0.387	0.022	1.00	0.00	C
ATOM	36	O62	GUM	3	-0.938	0.622	-3.890	1.00	0.00	O
ATOM	37	C6	GUM	3	-1.327	0.943	-2.767	1.00	0.00	C
ATOM	38	N	GUM	3	-1.311	-1.804	1.696	1.00	0.00	N
ATOM	39	C	GUM	3	-2.577	-1.049	1.599	1.00	0.00	C
ATOM	40	HN	GUM	3	-0.893	-2.309	0.911	1.00	0.00	H
ATOM	41	N	LYS	4	-0.878	2.042	-2.151	1.00	0.00	N
ATOM	42	CA	LYS	4	-0.053	3.083	-2.850	1.00	0.00	C
ATOM	43	C	LYS	4	1.506	3.020	-2.720	1.00	0.00	C
ATOM	44	O	LYS	4	2.184	3.987	-3.087	1.00	0.00	O
ATOM	45	CB	LYS	4	-0.590	4.460	-2.370	1.00	0.00	C
ATOM	46	CG	LYS	4	-1.979	4.823	-2.928	1.00	0.00	C
ATOM	47	CD	LYS	4	-2.375	6.245	-2.509	1.00	0.00	C
ATOM	48	CE	LYS	4	-3.762	6.613	-3.041	1.00	0.00	C
ATOM	49	NZ	LYS	4	-4.057	7.997	-2.623	1.00	0.00	N
ATOM	50	H	LYS	4	-1.184	2.111	-1.175	1.00	0.00	H

a) Die Koordinaten dieser Tabelle wurden aus NMR-Daten in Lösung erzeugt. Die Proteindatenbank (PDB)-Konvention schreibt vor, kristallographische Daten mit in die Tabelle aufzunehmen. Da es sich hier um eine Lösungsstruktur handelt, sind die Daten in den beiden vorletzten Zeilen in diesem Fall bedeutungslos.

6. Anhang

6.1 Theoretische Betrachtungen zur CD-Spektroskopie^[215, 216]

Die in dieser Arbeit hergestellten und auf Strukturmerkmale zu untersuchenden Verbindungen sind chiral und somit optisch aktiv, d. h. sie besitzen die Fähigkeit, die Schwingungsebene von linear polarisiertem Licht zu drehen, sowie deren Polarisationsseigenschaften zu verändern. Linear polarisiertes Licht lässt sich als Resultante der Vektoraddition zweier entgegengesetzt zirkular polarisierter, phasengleicher Lichtstrahlen gleicher Wellenlänge und halber Schwingungsamplitude betrachten (Abbildung 6.1a).

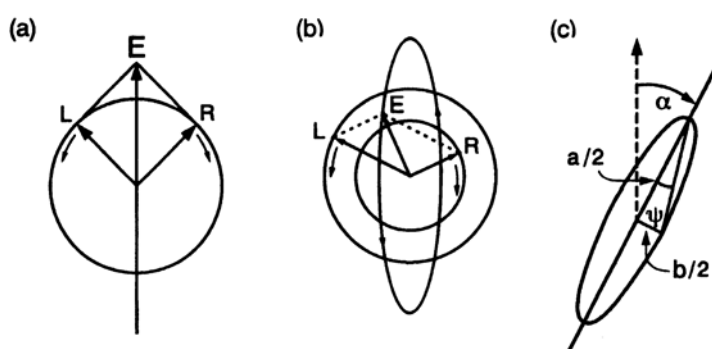


Abbildung 6.1: a) Linear bzw. planar polarisiertes Licht b) elliptisch polarisiertes Licht c) Trigonometrische Definition der Elliptizität Ψ durch die Halbachsen $a/2$ und $b/2$. Zusätzlich ist noch der Drehwinkel α eingezeichnet, um den die Ellipse gegenüber der ursprünglichen Schwingungsebene gedreht wurde. (Abbildung wurde aus der Literatur^[216] entnommen.)

Beim Durchtritt durch ein chirales Medium werden infolge unterschiedlicher Wechselwirkungen des elektrischen Lichtvektors mit der dissymmetrischen Verteilung der Elektronen in den chiralen Molekülen rechts- bzw. linkspolarisiertes Licht verschieden stark gebrochen und verschieden stark absorbiert. Im erstgenannten Fall spricht man von Zirkulardoppelbrechung, d. h. die Brechungsindizes für den rechts- bzw. linkszirkular polarisierten, aus der Probe austretenden Lichtstrahl sind verschieden. Dies führt zur Änderung der Polarisationssebene um den Winkel α (Abbildung 6.1c). Bei unterschiedlichen Extinktionskoeffizienten spricht man von Zirkulardichroismus. Der austretende Lichtstrahl ist

nun nicht mehr linear, sondern elliptisch polarisiert (Abbildung 6.1b). Die Elliptizität $\psi = \arctan \frac{b}{a}$ ist der mathematische Ausdruck für die Form dieser Ellipse (Abbildung 6.1c).

Der Zirkulardichroismus ist mathematisch als die Differenz der molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten $\Delta\varepsilon$ definiert. Unter Einbeziehung des Lambert-Beerschen Gesetzes (Gleichung 3.1 in Schema 3.7) ergibt sich somit:

$$\boxed{\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R = \frac{\Delta E}{c \cdot d}} \quad (\text{Gleichung 6.1})$$

Mit

$$\Delta E = E_L - E_R = \log_{10} \frac{I_0}{I_L} - \log_{10} \frac{I_0}{I_R} = \log_{10} \frac{I_R}{I_L} \quad (\text{Gleichung 6.2})$$

$\varepsilon_L, \varepsilon_R$ = molare, dekadische Extinktionskoeffizienten des links- bzw. rechtszirkular polarisierten Lichtstrahls in cm^2/mmol

c = Konzentration der Probe in mol/L

d = Dicke der Küvette in cm.

I_0 = Intensität des auf die Proben treffenden Lichtstrahls. Diese ist für den rechts und links zirkularpolarisierten Lichtstrahl gleich, weshalb auf eine unterschiedliche Indizierung verzichtet wird.

I_L, I_R = Intensität des aus der Probe austretenden links- bzw. rechts zirkularpolarisierten Lichtstrahls

Wie aus Gleichung 6.2 hervorgeht, hängt der beobachtete Zirkulardichroismus nicht von der Intensität des auftreffenden Lichtstrahles I_0 ab. Bei der Aufnahme von CD-Spektren ist also kein Referenzstrahl nötig. Die kommerziellen CD-Spektrometer, wie auch das in dieser Arbeit verwendete Gerät der Firma *Jasco* (Modell J-715), sind demnach Einstrahlinstrumente.

Die vom CD-Spektrometer J-715 der Firma *Jasco* gemessenen CD-Daten werden in Form der Elliptizität mit der Einheit [mdeg] angegeben. Der Zusammenhang zwischen der Elliptizität ψ und der vom CD-Spektrometer gemessenen Absorptionsdifferenz ΔE ist gegeben durch:

$$\psi = 33 \cdot \Delta E \quad (\text{Gleichung 6.3})$$

Um jedoch Moleküle mit gleicher Anzahl und Art an chiralen Gruppen aber unterschiedlichen Molekulargewichten besser vergleichen zu können, wird die molare Elliptizität $[\Theta]$ eingeführt:

$$[\Theta] = \frac{[\Psi] \cdot M}{100} \quad (\text{Gleichung 6.4})$$

Mit

$$[\Psi] = \frac{100 \cdot \Psi}{c \cdot d} \quad (\text{Gleichung 6.5})$$

Ψ = Elliptizität in deg; c = Konzentration in g pro 100 ml; d = Dicke der Küvette in dm ; M = Molekulargewicht in g/mol.

Die molare Elliptizität $[\Theta]$ ist, wie auch die anderen genannten Größen, von der Temperatur, der Konzentration der Probe, dem Lösungsmittel und der Wellenlänge des eingestrahltten Lichtes abhängig.

Konventionsgemäß werden CD-Kurven in der Literatur stets in der Form $[\Theta]$ in Abhängigkeit von der Wellenlänge λ abgebildet. $[\Theta]$ hat dabei die Einheit $\left[\frac{\text{deg} \cdot \text{cm}^2}{\text{dmol}} \right]$.

Unter Angabe der Konzentration \bar{c} in [mol/l] sowie der Dicke d der Küvette in cm lassen sich die vom Spektrometer gelieferten ψ -Werte mit dem Programm J-700 für Windows (Version 1.50.01) der Firma *Jasco* in die geforderten $[\Theta]$ -Werte umrechnen nach der Formel analog zu Gleichung 6.4

$$[\Theta] = \frac{\Psi}{100 \cdot \bar{c} \cdot d} \quad (\text{Gleichung 6.6})$$

$[\Theta]$: molare Elliptizität in $\left[\frac{\text{deg} \cdot \text{cm}^2}{\text{dmol}} \right]$

ψ : Elliptizität in mdeg,

\bar{c} : molare Konzentration in mol/l

d : Dicke der Küvette in cm

Ein quantitatives Maß für den Zirkulardichroismus einer gesamten Absorptionsbande ist die integrale zirkulardichroistische Absorption $\int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \frac{\Delta\varepsilon(\lambda)}{\lambda} d\lambda$ mit λ = Wellenlänge. Die Integration erstreckt sich hierbei über den Bereich der Absorptionsbande. Die zirkulardichroistische Absorption ist proportional zu der Rotationsstärke R :

$$R = \vec{\mu} \cdot \vec{m} = \frac{F}{4} \cdot \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \frac{\Delta\varepsilon(\lambda)}{\lambda} d\lambda \quad (\text{Gleichung 6.7})$$

$$F = 3hc10^3 \ln \frac{10}{8\pi^3 N_0} = 91.8 \cdot 10^{-40}$$

$\vec{\mu}$ = elektrisches Übergangsmoment

\vec{m} = magnetisches Übergangsmoment

Damit der Effekt des Zirkulardichroismus auftritt, dürfen also die beiden Übergangsmomentrichtungen nicht senkrecht zueinander stehen, da dann das Skalarprodukt obiger Gleichung null wird und somit kein CD-Effekt auftritt.

Eng mit dem Phänomen des Zirkulardichroismus verknüpft ist das Phänomen der optischen Rotationsdispersion (ORD). Hierunter versteht man die Tatsache, dass sich die optische Aktivität eines Moleküls mit der Frequenz des eingestrahnten Lichtes ändert. Die optische Rotation α beruht auf dem erwähnten Phänomen der Zirkulardoppelbrechung. Sie ist das Pendant zur Elliptizität beim Zirkulardichroismus und wie folgt definiert:

$$\alpha = \frac{[\alpha] \cdot c \cdot d}{100} \quad (\text{Gleichung 6.8})$$

$[\alpha]$ = spezifische Drehung in $\left[\frac{\text{deg} \cdot \text{cm}^2}{\text{g}} \cdot 10^{-1} \right]$

c = Konzentration der Probe in g pro 100 ml

d = Länge des Lichtweges durch die Probe in dm.

Die spezifische Drehung $[\alpha]$ und damit auch die optische Rotation hängt, analog zur spezifischen Elliptizität, neben der Wellenlänge λ des eingestrahlten Lichtes auch noch von der Temperatur, dem Lösungsmittel und der Konzentration der Probe ab.

Bei optisch nicht aktiven Verbindungen nimmt der Brechungsindex mit abnehmender Wellenlänge des Lichts stetig zu (Dispersion). Für den Drehwinkel α eines optisch aktiven Stoffes bedeutet dies hingegen, dass er zu oder abnehmen kann (Abbildung 6.2). Dieser sogenannte normale ORD wird im Bereich von Absorptionsbanden gestört. Man spricht dann von anomalem ORD. Zirkulardichroismus, Elliptizität und anomaler ORD sind eng miteinander verknüpft. Alle drei Effekte zusammen ergeben den „Cotton-Effekt“. Um Verwechslungen mit den Minima und Maxima von UV-Spektren zu vermeiden, werden beim Cotton Effekt die beobachteten Extrema Peak (= Gipfel, abgekürzt „p“) und Trough (= Tal, abgekürzt „t“) bezeichnet. Von einem positiven Cotton-Effekt spricht man, wenn α beim Fortschreiten von längeren zu kürzeren Wellenlängen zuerst einen Gipfel und danach ein Tal durchläuft. Für negative Cotton-Effekte gilt das Umgekehrte (siehe Abbildung 6.2).

Mit Hilfe der Kronig-Kramers-Transformation ist es möglich, anomale ORD-Kurven, wie sie in Abbildung 6.2 zu sehen sind, in CD-Kurven umzurechnen oder umgekehrt. Der Zusammenhang zwischen Cotton-Effekt, ORD und CD wird grafisch in Abbildung 6.3 noch einmal verdeutlicht. So hat die ORD-Kurve über der Absorptionsbande einer optisch aktiven Substanz eine S-Form, während die entsprechende CD-Kurve mehr konvex ist. Dieses Phänomen wird Cotton-Effekt genannt. Ein positiver Cotton Effekt gemäß der obigen Definition ergibt eine positive ORD-Kurve mit einem Peak am Beugungspunkt der S-förmigen ORD-Kurve. Beim negativen Cotton-Effekt ist es umgekehrt (Abbildung 6.3). Der Cotton-Effekt, der viele strukturelle Informationen enthält, ist durch seine Position, die Größe, das Vorzeichen und den Kurvenverlauf charakterisiert. Im Fall einer CD-Kurve wird der Cotton-Effekt durch $\Delta\varepsilon$ oder $[\Theta]$ beim Wellenlängenmaximum λ_{\max} dargestellt.

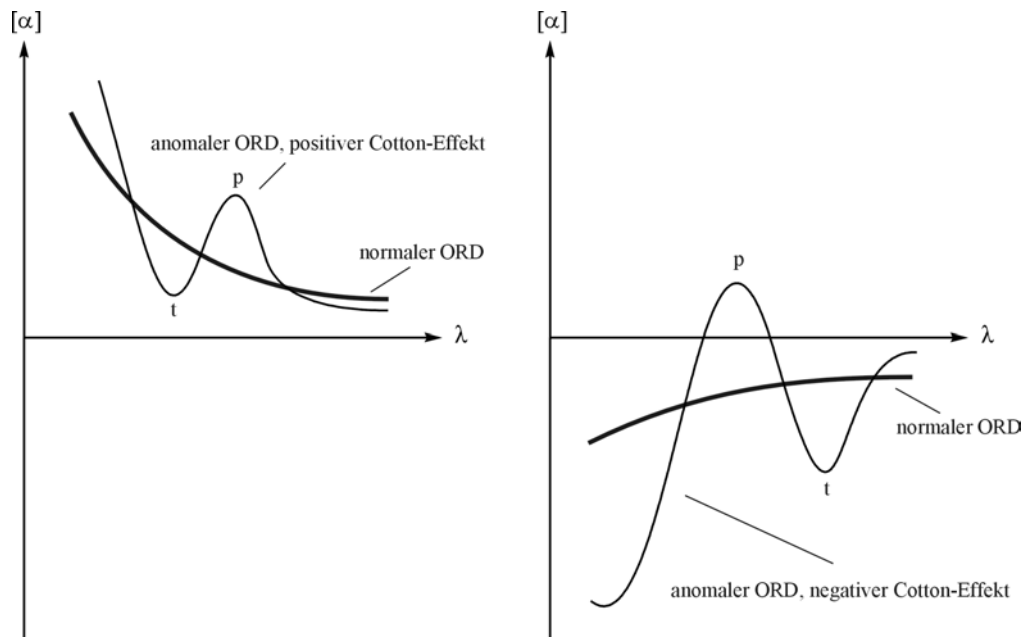


Abbildung 6.2: Positiver und negativer Cotton-Effekt, jeweils im Vergleich zum normalen ORD.

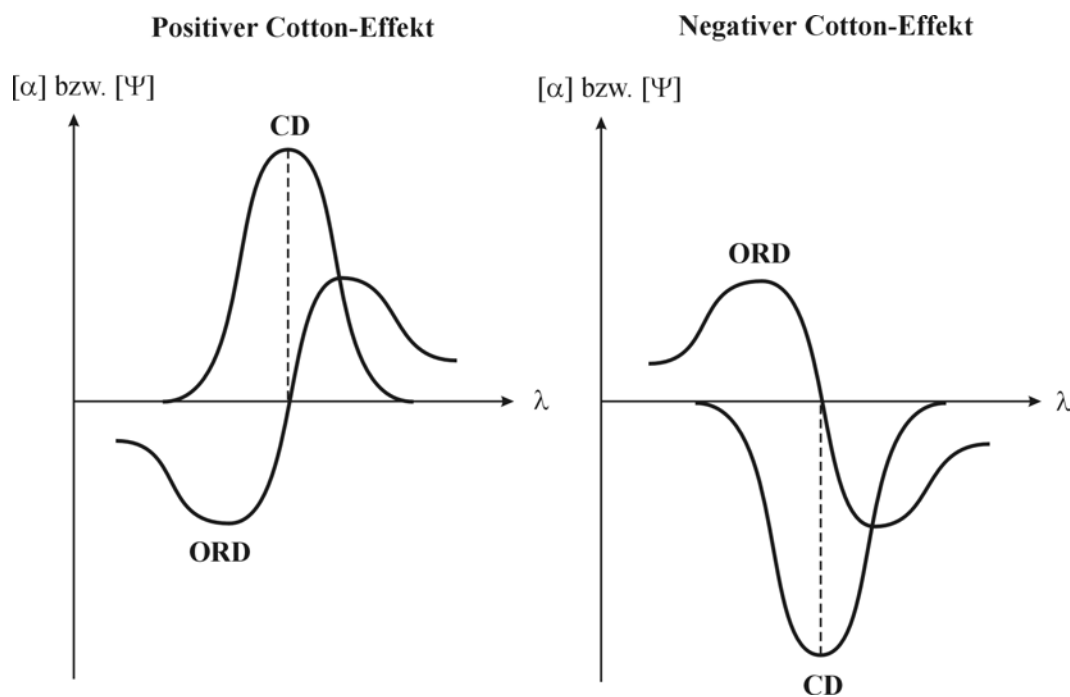


Abbildung 6.3: Zusammenhang zwischen ORD und CD. Ihr Verhalten zueinander bestimmt den Cotton-Effekt.

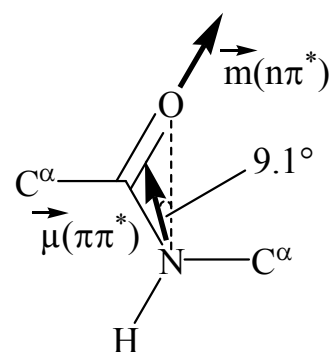
6.2 Das Amidchromophor und seine Elektronenübergänge in Sekundärstrukturen

In dieser Arbeit wird der CD-Effekt untersucht, der bei elektronischen Übergängen im UV-Bereich beobachtet wird. Da es sich bei den in dieser Arbeit hergestellten Verbindungen um Peptidmimetika handelt, sind in diesem Zusammenhang die Elektronenübergänge des Amid-Chromophors interessant.

UV-Spektren einfacher Amide in Lösung wurden schon Mitte der 60iger Jahre des letzten Jahrhunderts ausgiebig untersucht.^[217] Hiernach gibt es im Spektralbereich von 180 nm bis 250 nm zwei Elektronenübergänge in kondensierter Phase: der $n\text{-}\pi^*$ -Übergang bei 210-230 nm und der $\pi\text{-}\pi^*$ -Übergang bei 180-200 nm.

Der $n\text{-}\pi^*$ -Übergang entspricht dem auch bei Aldehyden und Ketonen zu beobachtenden Übergang. Aufgrund der niedrigen Symmetrie in der Peptidgruppe ist dieser Übergang nicht vollkommen elektrisch verboten, allerdings ist er mit $\epsilon_{\text{max}} < 100$ sehr schwach. Die Energie des $n\text{-}\pi^*$ -Übergangs hängt sehr stark von der Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen ab. In Abwesenheit von H-Bindungsdonoren ist der $n\text{-}\pi^*$ -Übergang bei ca. 230 nm zu beobachten, während er in wässrigem Medium nahe bei 210 nm erscheint. Der $n\text{-}\pi^*$ -Übergang ist magnetisch erlaubt. Er hat ein magnetisches Übergangsdipolmoment von ca. 1 Bohrmagneton, näherungsweise entlang der Carbonylbindung (Abbildung 6.4).

Abbildung 6.4: Richtungen des magnetischen Übergangsdipolmoments von $n\text{-}\pi^*$ und dem elektrischen Übergangsdipolmoment von $\pi\text{-}\pi^*$ in einer Amidgruppe.



Der $\pi\text{-}\pi^*$ -Übergang ist elektrisch erlaubt. In sekundären Amiden wird dieser Übergang bei 185 nm bis 190 nm beobachtet, während er in tertiären Amiden bei ca. 200 nm erscheint. Der Amid $\pi\text{-}\pi^*$ -Übergang ist näherungsweise entlang der $\text{N}-\text{O}$ -Richtung polarisiert, jedoch ist der Übergangsdipol um 9.1° in Richtung der $\text{C}-\text{N}$ -Bindung gedreht^[218] (Abbildung 6.4).

In Peptiden ist der Chromophor (Carbonylgruppe) nicht inhärent chiral, sondern nur benachbart zum Chiralitätszentrum (C^α). Damit sind weder Vorzeichen noch Intensität des CD-Spektrums berechenbar.^[219, 220] Alle folgenden Betrachtungen zu CD-Spektren von peptidischen Sekundärstrukturen sind daher von Experimenten abgeleitet.

Tabelle 6.1 gibt einen Überblick über die CD-Spektren der häufigsten Sekundärstrukturen von (Poly-)Peptiden. Sofern möglich werden den einzelnen Banden die Elektronenübergänge des Amidchromophors zugeordnet.

Tabelle 6.1: Die häufigsten Sekundärstrukturen von Peptiden und ihre CD-Spektren.

Sekundärstruktur	CD-Spektrum
<p>α-Helix:</p> <p>Von Pauling et al.^[221] vorgeschlagenes, dominantes Sekundärstrukturelement in vielen Proteinen. Globuläre Proteine bestehen aus rund 1/3 dieser Struktur. Kleine Peptide bilden in der Regel in Lösung keine stabile α-Helix aus.</p>	<p>222 nm: negative Bande ($n-\pi^*$)</p> <p>208 nm: negative Bande ($\pi-\pi^*$ nach <i>exciton splitting</i>)</p> <p>192 nm: starke, positive Bande ($\pi-\pi^*$ nach <i>exciton splitting</i>)</p> <p>175 nm: positive Schulter</p> <p>160 nm: negative Bande</p> <p>Anmerkung:</p> <p>$\pi-\pi^*$-Banden variieren stark mit der Helixlänge. Helices mit weniger als fünf Resten weisen in diesem Bereich starke Veränderungen auf. Sie tendieren in Lösung zur Instabilität.</p>
<p>β-Faltblatt:</p> <p>β-Faltblattstrukturen, können sowohl in der Länge als auch in der Breite variieren. Sie sind das zweite dominante Sekundärstrukturelement in Proteinen und Polypeptiden.</p>	<p>216 nm: starke negative Bande ($n-\pi^*$)</p> <p>195 nm: starke positive Bande ($\pi-\pi^*$)</p> <p>175 nm: negative Bande</p> <p>Anmerkung:</p> <p>Es gibt eine große Vielfalt an β-Faltblattstrukturen, die stark lösungsmittel- und seitenkettenabhängige CD-Spektren zeigen. Die Variationen sind deutlich stärker ausgeprägt als bei der α-Helix.</p> <p>Erhöhung der Kettenlänge führt zu stärkeren CD-Banden für den $n-\pi^*$-Übergang.</p> <p>Die $\pi-\pi^*$-Rotationsstärke R nimmt erst mit zunehmender Länge leicht ab, um dann zu steigen.</p> <p>Die Verbreiterung der β-Faltblattdomäne vermindert die Rotationsstärke des $n-\pi^*$-Überganges und erhöht die des $\pi-\pi^*$-Überganges.</p>

Tabelle 3.4: Teil II

Sekundärstruktur	CD-Spektrum
<p>β-Turns:</p> <p>Dieses Sekundärstrukturelement führt zu einer Richtungsumkehr des jeweiligen Peptidstranges. Es gibt zahlreiche Typen an β-Turns. Die wichtigsten sind wohl der βI-, βII- und βIII-Turn und deren jeweilige Spiegelbildkonformation βI', βII' und βIII'. Der βIII-Turn ist eine Variante des βI-Turns und entspricht einem Turn einer 3_{10}-Helix.</p> <p>Umfangreiche, experimentelle Studien von β-Turnmodellen wurden an Cyclopeptiden durchgeführt.^[222] In zyklischen Penta- und Hexapeptiden werden häufig β-Turns beobachtet.</p> <p>Über NMR-Studien konnten β-Turns auch in linearen Peptiden gefunden werden.^[223, 224]</p>	<p>Die CD-Spektren der β-Turns werden in drei Klassen unterteilt.</p> <p>Klasse A: Banden werden gegenüber den CD-Spektren der Klasse B um 5-10 nm zu niedrigeren Wellenlängen verschoben.</p> <p>Klasse B: (βII) 225 nm: schwache, negative Bande ($n-\pi^*$) 200-205 nm: starke, positive Bande ($\pi-\pi^*$) 180-190 nm: starke, negative Bande</p> <p>Klasse C: (βI, βIII und βII') 220 nm: negative Bande ($n-\pi^*$) 210 nm: negative Bande ($\pi-\pi^*$ nach <i>exciton splitting</i>) 190 nm: positive Bande ($\pi-\pi^*$ nach <i>exciton splitting</i>)</p> <p>Das Spektrum ähnelt dem einer α-Helix.</p>
<p>Ungeordnete Konformationen:</p> <p>Ungeordnete Strukturen müssen vor allem bei Peptiden nicht einem <i>random coil</i> entsprechen. Diese Bezeichnung besagt nur, dass ihnen keine der anderen bekannten Sekundärstrukturelemente zugeordnet werden kann.</p>	<p>235 nm: sehr schwache, negative Bande (häufig nicht zu sehen.) 218 nm: positive Bande ≤ 200 nm: starke, negative Bande 170 nm: schwache, negative Bande</p> <p>Anmerkung: Der CD-Spektrenbereich oberhalb von 200 nm variiert stark von System zu System. Lediglich die Banden unterhalb 200 nm sind charakteristisch für ungeordnete Strukturen.</p>

7. Literaturverzeichnis

- [1] E. Lohof, F. Burkhart, M. A. Born, E. Planker, H. Kessler, "Sugar Amino Acids and Carbohydrates as Scaffolds and Peptidomimetics", *Adv. Amino Acid Mimetics Peptidomimetics* **1999**, *2*, 263-292.
- [2] S. A. W. Gruner, E. Locardi, E. Lohof, H. Kessler, "Carbohydrate-Based Mimetics in Drug Design: Sugar Amino Acids and Carbohydrate Scaffolds", *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 491-514.
- [3] T. K. Chakraborty, S. Gosh, S. Jayaprakash, J. A. Sarma, V. Ravikanth, P. V. Diwan, R. Nagaraj, A. C. Kunwar, "Synthesis and Conformational Studies of Peptidomimetics Containing Furanoid Sugar Amino Acids and Sugar Diacid", *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6441-6457.
- [4] S. A. W. Gruner, G. Kéri, R. Schwab, A. Venetianer, H. Kessler, "Sugar Amino Acid Containing Somatostatin Analogues that Induce Apoptosis in Both Drug-Sensitive and Multidrug-Resistant Tumor Cells", *Org. Letters* **2001**, *3*, 3723-3725.
- [5] E. Lohof, E. Planker, C. Mang, F. Burkhart, M. A. Dechantsreiter, R. Haubner, H.-J. Wester, M. Schwaiger, G. Hölzemann, S. L. Goodman, H. Kessler, "Kohlenhydratderivate im Wirkstoffdesign am Beispiel von cyclischen α_v -selektiven RGD-Peptiden", *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2868-2871.
- [6] R. Haubner, H.-J. Wester, F. Burkhart, R. Senekowitsch-Schmidtke, W. Weber, S. L. Goodman, H. Kessler, M. Schwaiger, "Glycosylated RGD-Containing Peptides: Tracer for Tumor Targeting and Angiogenesis Imaging with Improve Biokinetics", *J. Nucl. Med.* **2001**, *42*, 326-336.
- [7] R. Haubner, H.-J. Wester, W. A. Weber, C. Mang, S. I. Ziegler, S. L. Goodman, R. Senekowitsch-Schmidtke, H. Kessler, M. Schwaiger, "Noninvasive Imaging of $\alpha_v\beta_3$ Integrin Expression Using ^{18}F -labeled RGD-Containing Glycopeptide and Positron Emission Tomography", *Cancer Res.* **2001**, *61*, 1781-1785.
- [8] M. Mutter, S. Vuilleumier, "Ein chemischer Weg zu neuen Proteinen - Templat-assoziierte synthetische Proteine. (TASP)", *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 551-571.
- [9] G. Tuchscherer, "Template Assembled Synthetic Proteins: Condensation of a Multifunctional Peptide to a Topological Template via Chemoselective Ligation", *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 8419-8422.
- [10] G. Tuchscherer, E. Grell, M. Mathieu, M. Mutter, "Extending the Concept of Template-assembled Synthetic Proteins", *J. Peptide Res.* **1998**, *54*, 185-194.
- [11] E. Graf von Roedern, E. Lohof, G. Hessler, M. Hoffmann, H. Kessler, "Synthesis and Conformational Analysis of Linear and Cyclic Peptides Containing Sugar Amino Acids", *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10156-10167.
- [12] E. Graf von Roedern, H. Kessler, "A Sugar Amino Acid as a Novel Peptidomimetic", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 687-689.
- [13] E. Locardi, M. Stöckle, S. Gruner, H. Kessler, "Cyclic Homo-Oligomers from Sugar Amino Acids: Synthesis, Conformational Analysis and Significance", *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8189-8196.
- [14] J. Gervay, T. M. Flaherty, C. Nguyen, "Solution Phase Synthesis of (1->5)-Amide Linked Sugar Amino Acid Dimers Derived from Sialic Acids", *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1493-1496.
- [15] L. Szabo, B. L. Smith, K. D. McReynolds, A. L. Parrill, E. R. Morris, J. Gervay, "Solid Phase Synthesis and Secondary Structural Studies of (1 -> 5) Amide-Linked Sialooligomers", *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1074-1078.

- [16] P. S. Ramamoorthy, J. Gervay, "Solution Phase Synthesis of Amide-linked N-Acetyl Neuraminic Acid, α -Amino Acid, and Sugar Amino Acid Conjugates", *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7801-7805.
- [17] B. Aguilera, G. Siegal, H. S. Overkleeft, N. J. Meeuwenoord, F. P. J. T. Rutjes, J. C. M. van Hest, H. E. Schoemaker, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, M. Overhand, "Synthesis and Structural Analysis of a β -Hairpin Peptide Containing a Sugar Amino Acid", *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1541-1547.
- [18] H. S. Overkleeft, S. H. L. Verhelst, E. Pieterman, N. J. Meeuwenoord, M. Overhand, L. H. Cohen, G. A. van der Marel, J. H. v. Boom, "Design and Synthesis of a Protein: Farnesyltransferase Inhibitor Based on Sugar Amino Acids", *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4103-4106.
- [19] R. M. van Well, H. S. Overkleeft, M. Overhand, E. V. Carstenen, G. A. van der Marel, J. H. v. Boom, "Parallel Synthesis of Cyclic Sugar Amino Acid/Amino Acid Hybrid Molecules", *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9331-9335.
- [20] A. Dondoni, A. Marra, "Methods for Anomeric Carbon-Linked and Fused Sugar Amino Acid Synthesis: The Gateway to Artificial Glycopeptides", *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4395-4421.
- [21] C. D. Apostolopoulos, E. A. Couladouros, M. P. Georgiadis, "Synthesis of Sugar Amino Acid Conjugates via 2,3-Dideoxy-hex-2-enopyranos-4-uloses", *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 781-784.
- [22] Fakhar-uz-Zaman, A. Fatima, A. Malik, W. Voelter, "A Novel Entry Into Cyclopropanated Sugar Amino Acids", *Z. Naturforsch.* **1994**, *49b*, 1434-1438.
- [23] A. Malik, W. Voelter, "New Synthetic Routes to Amino Sugars and Sugar Amino Acids", *Chem.-Ztg.* **1989**, *113*, 153-156.
- [24] K. C. Nicolaou, H. Flörke, M. G. Egan, T. Barth, V. A. Estevez, "Carbonucleotoids and Carbopeptoids: New Carbohydrate Oligomers", *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1775-1778.
- [25] Y. Suhara, J. E. K. Hildreth, Y. Ichikawa, "Synthesis of a New Carbohydrate Mimetics: "Carbopeptoid" Containing a C-1 Carboxylate and C-2 Amino Group", *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1575-1578.
- [26] D. D. Long, N. L. Hungerford, M. D. Smith, D. E. A. Brittain, D. G. Marquess, T. D. W. Claridge, G. W. J. Fleet, "From Sequencamers to Foldamers? Tetrameric Furanose Carbopeptoids From cis- and trans-5-Aminomethyl-tetrahydrofuran-2-carboxylates", *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2195-2198.
- [27] D. D. Long, M. D. Smith, D. G. Marquess, T. D. W. Claridge, G. W. J. Fleet, "A Solid Phase Approach to Oligomers of Carbohydrate Amino-Acids: Secondary Structure in a Trimeric Furanose Carbopeptoid", *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9293-9296.
- [28] D. E. A. Brittain, M. P. Watterson, T. D. W. Claridge, M. D. Smith, G. W. J. Fleet, "Tetrahydrofuran Amino Acids - Versatile Building Blocks for Unnatural Biopolymers: Lack of Secondary Structure in Oligomeric Carbopeptoids Derived From a D-Galacto-5-(aminomethyl)tetrahydrofuran-2-carboxylic Acid", *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I* **2000**, 3655-3665.
- [29] M. D. Smith, D. D. Long, A. Martín, D. G. Marquess, T. D. W. Claridge, G. W. J. Fleet, "Absence of Secondary Structure in a Carbopeptoid Tetramer of a trans-5-Aminomethyl-tetrahydrofuran-2-carboxylate", *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2191-2194.
- [30] T. D. W. Claridge, D. D. Long, N. L. Hungerford, R. T. Aplin, M. D. Smith, D. G. Marquess, G. W. J. Fleet, "An Octameric Carbopeptoid; Secondary Structure in Octameric and Tetrameric 5-Aminomethyl-tetrahydrofuran-2-carboxylates", *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2199-2202.

- [31] M. D. Smith, T. D. W. Claridge, G. E. Tranter, M. S. P. Sansom, G. W. J. Fleet, "Secondary Structure in Oligomers of Carbohydrate Amino Acids", *Chem. Commun.* **1998**, 2041-2042.
- [32] N. L. Hungerford, G. W. J. Fleet, "Tetrahydrofuran Amino Acids: β - and γ -Azidotetrahydrofuran-carboxylic Acid Monomers Derived From D-Glucoheptonolactone as Building Blocks for β - and γ -Oligopeptides", *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1* **2000**, 3680-3685.
- [33] N. L. Hungerford, T. D. W. Claridge, M. P. Watterson, R. T. Aplin, A. Moreno, G. W. J. Fleet, "Tetrahydrofuran Amino Acids: Secondary Structure in Tetrameric and Octameric Carbopeptoids Derived from a D-Allo 5-(aminomethyl)-tetrahydrofuran-2-carboxylic acid", *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1* **2000**, 3666-3679.
- [34] J. P. McDevitt, J. P. T. Lansbury, "Glycosamino Acids: New Building Blocks for Combinatorial Synthesis", *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3818-3828.
- [35] S. Sabesan, "Synthesis of Peptidosialosides and Peptidosaccharides", *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3127-3130.
- [36] P. Fügedi, C. Peto, "Synthesis of Saccharopeptides: A Novel type of Pseudooligosaccharides Having Amide Bonds, Part II", *8th European Carbohydrate Symposium* **1995**, Abstract A-75.
- [37] H. P. Wessel, C. Mitchell, C. M. Lobato, G. Schmid, "Saccharid-Peptid-Hybrid als neuartige Oligosacchridmimetica", *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2920-2921.
- [38] C. Petö, P. Fügedi, K. Wlasichuk, "Synthesis of Saccharopeptides: A Novel Type of Pseudooligosaccharides Having Amide Bonds, Part I", *8th European Carbohydrate Symposium* **1995**, Abstract A-74.
- [39] L. K. Mahal, C. R. Bertozzi, "Engineering Cell Surfaces: Fertile Ground for Molecular Landscaping", *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 415-422.
- [40] L. K. Mahal, K. J. Yamera, C. R. Bertozzi, "Engineering Chemical Reactivity on Cell Surfaces Through Oligosaccharide Biosynthesis", *Science* **1997**, *276*, 1125-1128.
- [41] S. Hase, Y. Matsushima, "Structural Studies on a Glucose-Containing Polysaccharide Obtained from *Micrococcus lysodeikticus* Cell Walls. II. Determination of the Linkage Points on N-Acetyl-Mannosaminuronic Acid and its Configuration", *J. Biochem.* **1971**, *69*, 559-565.
- [42] B. Lindberg, "Components of Bacterial Polysaccharides", *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, *48*, 279-318.
- [43] J. J. Fox, Y. Kuwasa, K. A. Watanabe, "Nucleosides LVI. On the Structure of the Nucleoside Antibiotic, Gougerotin", *Tetrahedron Lett.* **1968**, *2*, 6029-6032.
- [44] K. Isono, K. Asahi, S. Suzuki, "Studies on Polyoxins, Antifungal Antibiotics. XIII. The Structure of Polyoxins", *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 7490-7505.
- [45] J. P. Waltho, D. H. Williams, E. Selva, P. Ferrari, "Structure Elucidation of the Glycopeptide Antibiotic Complex A40926", *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1* **1987**, *9*, 2103-2107.
- [46] C. Coutsogeorgopoulos, A. Bloch, K. A. Watanabe, J. J. Fox, "Inhibitors of Protein Synthesis. 4. Studies on the Structure-Activity Relationship of Gougerotin and Some of its Analogs", *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 771-776.
- [47] F. W. Lichtenthaler, T. Morino, H. M. Mezel, "Nucleosides. XXV. Structure of Aspiculamycin. Its Identity with the Nucleoside Antibiotic Gougerotin", *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 665-668.
- [48] M. P. Kotick, R. S. Klein, K. A. Watanabe, J. J. Fox, "Nucleosides Part LXII. Synthetic Studies on Nucleoside Antibiotics. 2. Syntheses of Methyl 4-amino-4-deoxy-D-glucosiduronic Acid Derivatives Related to the Carbohydrate Moiety of Gougerotin", *Carbohydr. Res.* **1969**, *11*, 369-377.

- [49] K. A. Watanabe, E. A. Falco, J. J. Fox, "Total Synthesis of Gougerotin", *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 3272-3274.
- [50] S. Knapp, "Synthesis of Complex Nucleoside Antibiotics", *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1859-1876.
- [51] S. Knapp, C. Jaramillo, B. Freeman, "An Enzomycin Model Glycosylation", *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4800-4804.
- [52] N. Sakai, Y. Ohfuna, "Total Synthesis of Galantin I. Acid-Catalyzed Cyclization of Galantinic Acid", *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 998-1010.
- [53] H. Haruyama, T. Takayama, T. Kinoshita, M. Kondo, M. Nakajima, T. Haneishi, "Structural Elucidation and Solution Conformation of the Novel Herbicide Hydantocidin", *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1* **1991**, *7*, 1637-1640.
- [54] M. Nakajima, K. Itoi, Y. Takamatsu, T. Kinoshita, T. Okazaki, K. Kawakubo, M. Shindo, T. Honma, M. Tohjigamori, T. Haneishi, "Hydantocidin: A New Compound with Herbicidal Activity from *Streptomyces Hygroscopicus*", *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 293-300.
- [55] D. L. Siehl, M. V. Subramanian, E. W. Walters, S.-F. Lee, R. J. Anderson, A. G. Toschi, "Adenylosuccinate Synthetase: Site of Action of Hydantocidin, a Microbial Phytotoxin", *Plant Physiol.* **1996**, *110*, 753-758.
- [56] H. Umezawa, T. Aoyagi, T. Komiyama, H. Morishima, M. Hamada, T. Takeuchi, "Purification and Characterization of a Sialidase Inhibitor, Siastatin, Produced by *Streptomyces*", *J. Antibiot.* **1974**, *27*, 963-969.
- [57] K. Heyns, H. Paulsen, "Synthese der D-Glucosaminuronsäure (2-Amino-2-desoxy-D-glucuronsäure) und einige ihrer Derivate (IX. Mitteil. über oxydative Umwandlung an Kohlenhydraten)", *Chem. Ber.* **1955**, *88*, 188-195.
- [58] S. Gruner, "Carbohydrate-Based Mimetics in Drug Design: Sugar Amino Acids as Structural Templates and Key Residues of Bioactive Peptidomimetics", *Dissertation* **2001**, TU München.
- [59] S. A. W. Gruner, V. Truffault, G. Voll, E. Locardi, M. Stöckle, H. Kessler, "Design, Synthesis and NMR-Structure of Linear and Cyclic Oligomers Containing Novel Furanoid Sugar Amino Acids", *Eur. J. Chem.* **2002**, *8*, 4365-4376.
- [60] M. D. Smith, G. W. J. Fleet, "Designing Secondary Structures: 5-Azidomethyl Tetrahydrofuran-2-carboxylates as Carbohydrate-derived Dipeptide Isosteres", *J. Pept. Sci.* **1999**, *5*, 425-441.
- [61] T. K. Chakraborty, S. Jayaprakash, P. V. Diwan, R. Nagaraj, S. R. B. Jampani, A. C. Kunwar, "Folded Conformation in Peptides Containing Furanoid Sugar Amino Acids", *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12962-12963.
- [62] L. Poitout, Y. L. Merrer, J.-C. Depezay, "Synthesis of Sugar-Like Amino-Carboxylic Acids from D-Mannitol", *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6887-6890.
- [63] T. W. Brandstetter, C. de la Fuente, Y.-H. Kim, R. I. Cooper, D. J. Watkin, N. G. Oikonomakos, L. N. Johnson, G. W. J. Fleet, " α -Azido Esters as Divergent Intermediates for Combinatorial Generation of Glucofuranose Libraries of Novel N-Linked Glycopeptides", *Tetrahedron* **1996**, *54*, 10711-10720.
- [64] T. W. Brandstetter, M. R. Wormland, R. A. Dwek, T. D. Butters, F. M. Platt, K. E. Tsitsanou, S. E. Zographos, N. G. Oikonomakos, G. W. J. Fleet, "A Galactopyranose Analogue of Hydantocidin", *Tetrahedron Asymm.* **1996**, *7*, 157-170.
- [65] J. C. Estevez, J. W. Burton, R. J. Estevez, H. Ardron, M. R. Wormland, R. A. Dwek, D. Brown, G. W. J. Fleet, "Spirodiketopiperazines of Mannofuranose: Carbopeptoid α -Amino Acid Esters at the Anomeric Position of Mannofuranose", *Tetrahedron Asymm.* **1998**, *9*, 2137-2154.
- [66] J. C. Estevez, M. D. Smith, A. L. Lane, S. Crook, D. J. Watkin, G. S. Besra, P. J. Brennan, R. J. Nash, G. W. J. Fleet, "Mimics of L-Rhamnose: Anomeric

- Spirohydantoinen und Diketopiperazinen - Approaches to Novel N-Linked Glycopeptides of Rhamnofuranose", *Tetrahedron Asymm.* **1996**, *7*, 387-390.
- [67] M. P. Watterson, L. Pickering, M. D. Smith, S. J. Hudson, P. R. Marsh, J. E. Mordaunt, D. J. Watkin, C. J. Newman, G. W. J. Fleet, "3-Azidotetrahydrofuran-2-carboxylates: Monomers for Five-Ring Templated β -Amino Acid Foldamers?", *Tetrahedron Asymm.* **1999**, *10*, 1855-1859.
- [68] A. Gomtsyan, I. Savel'eva, S. Belyakov, I. Kalvin, "Synthesis of Methyl 3-amino-deoxy-D-alluronate", *Carbohydr. Res.* **1992**, 341-348.
- [69] M. D. Smith, D. D. Long, G. W. J. Fleet, "Synthesis of Oligomers of Tetrahydrofuran Amino Acids: Furanose Carbopeptoids", *Chem. Commun.* **1998**, *39*, 2039-2040.
- [70] A. Dondoni, M.-C. Scherrmann, "Thiazole-Based Synthesis of Formyl C-Glycosides", *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6404-6412.
- [71] A. Dondoni, M.-C. Scherrmann, A. Marra, J.-L. Delepin, "A General Synthetic Route to Anomeric α -Azido and α -Amino Acids and Formal Synthesis of (+)-Hidantocidin", *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7517-7520.
- [72] G. Casiraghi, L. Colombo, G. Rasso, P. Spanu, "Total Synthesis of 6-Deoxy-6-aminoheptopyranuronic Acid Derivatives", *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6523-6527.
- [73] M. A. Born, "Synthese von C-glycosidischen Zuckeraminosäuren und ihr Einsatz als Strukturtemplat", *Dissertation* **1999**, TU München.
- [74] M. Hoffmann, "Synthese von C-Glycosylaminosäuren und Zuckeraminosäuren für das Wirkstoffdesign-Einbau in Peptide und Proteine", *Dissertation* **1996**, TU München.
- [75] M. F. Semmelhack, Y. Jiang, D. Ho, "Synthesis of the Amino Sugar from C-1027", *Org. Letters* **2001**, *3*, 2403-2406.
- [76] C. Vogel, P. Gries, "Galacturonic Acid Derivatives. VII. Synthesis of a 4-Amino-4-deoxy-D-galacturonic Acid Derivative", *J. Carbohydr. Chem.* **1994**, *13*, 37-46.
- [77] G. N. Bollenback, J. W. Long, D. G. Benjamin, J. A. Lindquist, "The Synthesis of Aryl-D-glucopyranosiduronic Acids", *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 3310-3315.
- [78] Z. Györgydeak, L. Szilagy, H. Paulsen, "Synthesis, Structure, and Reactions of Glycosyl Azides", *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 139-163.
- [79] E. Lohof, "Synthese von Zuckeraminosäuren und deren Einbau in biologisch aktive Peptide-Beiträge zum konformationellen Wirkstoffdesign", *Dissertation* **1998**, TU München.
- [80] Y. Nitta, M. Kuranari, T. Kondo, "Synthesis and Infrared Adsorption Spectra of 1-Azido-1-deoxy-2,3,4-tri-O-acetyl-1-amino-1-deoxy- β -D-glucopyranuronate", *Yakugaku Zasshi* **1961**, *81*, 1189-1194.
- [81] E. Kallin, "Use of Glycosylamines in Preparation of Oligosaccharide Polyacrylamide Copolymers", *Meth. Enzymology* **1994**, *242*, 221-226.
- [82] L. G. Revel'skaya, A. N. Anikeeva, S. N. Danilov, "Amination of D-Mannuronic Acid", *Zh. Obshchei Khimii (Engl. Transl.)* **1973**, *43*, 1624-1630.
- [83] K.-I. Kim, R. I. Hollingsworth, "Synthesis of C-Glycosides of N-Acetylglucosamine by Direct Alkylation of 2-Amino-2-deoxy-2,3,4,6-tetra-O-acetyl Glucopyranosyl Chloride", *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1031-1032.
- [84] E. Graf von Roedern, "Zuckeraminosäuren als neue Peptidmimetika und deren Einfluß auf die Konformation und die pharmakologische Wirkung von Peptiden", *Dissertation* **1994**, TU München.
- [85] E.-F. Fuchs, J. Lehmann, "Synthese von 7-Amino-2,6-anhydro-7-desoxy-D-glycero-L-manno-heptonsäure und 7-Amino-2,6-anhydro-7-desoxy-D-glycero-D-gulo-heptonsäure", *Chem. Ber.* **1975**, *108*, 2254-2260.
- [86] C. P. Mang, "Synthese von Zuckeraminosäure/Peptid- und PNA/DNA-Hybriden zur NMR-spektroskopischen Strukturuntersuchung", *Dissertation* **2000**, TU München.

- [87] E.-F. Fuchs, J. Lehmann, "Selective Ring-Opening of 3,4,5-Tri-O-acetyl-2,6-anhydro-D-glycero-L-manno-heptaric Anhydride with Ammonia: the Synthesis of 7-Amino-2,6-anhydro-7-deoxy-L-glycero-L-galacto-heptonic acid", *Carbohydr. Res.* **1975**, *45*, 135-141.
- [88] E. Lohof, E. Planker, C. Mang, F. Burkhart, M. A. Dechantsreiter, R. Haubner, H.-J. Wester, M. Schwaiger, G. Hölzemann, S. Goodman, L. Simon, H. Kessler, "Carbohydrate Derivatives for Use in Drug Design: Cyclic α_v -Selective RGD Peptides", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 2761-2764.
- [89] T. K. Chakraborty, S. Jayaprakash, S. Ghosh, "Sugar Amino Acid Based Scaffolds- Novel Peptidomimetics and Their Potential in Combinatorial Synthesis", *Comb. Chem. High Throughput Sreen.* **2002**, *5*, 373-387.
- [90] F. Schweizer, O. Hindsgaul, "Combinatorial Synthesis of Carbohydrates", *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 291-298.
- [91] M. J. Sofia, "Carbohydrate-Based Combinatorial Libraries", *Molecular Diversity* **1998**, *3*, 75-94.
- [92] G. Heßler, "Konformationsanalysen zyklischer Peptide und Oligonukleotide mit Distanzgeometrie- und Kraftfeldmethoden unter Berücksichtigung von NMR-Daten", *Dissertation* **1997**, TU München.
- [93] C. Papageorgiou, R. Haltiner, C. Bruns, T. J. Petcher, "Design, Synthesis, and Binding Affinity of a Nonpeptide Mimic of Somatostatin", *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 135-140.
- [94] P. S. Farmer, "Bridging the Gap Between Bioactive Peptides and Nonpeptides: Some Perspectives in Design", in *Drug Design, Vol. 10 (Ed.: E. J. Ariëns)*, Academic Press, New York, **1980**, pp. 119-143.
- [95] R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoor, W. C. Shakespeare, P. A. Sprengeler, P. Hamley, A. B. Smith III, T. Reisine, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, "De Novo Design and Synthesis of Somatostatin Non-Peptide Peptidomimetics Utilizing β -D-Glucose as a Novel Scaffolding", *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12550-12568.
- [96] J. Boer, "Entwicklung neuartiger $\alpha_4\beta_1$ - und $\alpha_4\beta_7$ -Integrinantagonisten", *Dissertation* **2001**, TU München.
- [97] J. Boer, D. Gottschling, A. Schuster, B. Holzmann, H. Kessler, "Design, Synthesis, and Biological Evaluation of $\alpha_4\beta_1$ Integrin Antagonists Based on β -D-Mannose as Rigid Scaffold", *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3988-3991.
- [98] A. B. Smith, III, S. Sasho, B. A. Barwis, P. Sprengeler, J. Barbosa, R. Hirschmann, B. S. Cooperman, "Design and Synthesis of a Tetrahydropyran-Based Inhibitor of Mammalian Ribonucleotide Reductase", *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3133-3136.
- [99] M. J. Sofia, R. Hunter, T. Y. Chan, A. Vaughan, R. Dulina, H. Wang, D. Gange, "Carbohydrate-Based Small-Molecule Scaffolds for the Construction of Universal Pharmacophore Mapping Libraries", *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 2802-2803.
- [100] E.-F. Fuchs, J. Lehmann, "The Synthesis of 5-Amino-2,6-anhydro-5-deoxy-D-glycero-D-gulo-heptonic acid and its polycondensation to Oligomers", *Carbohydr. Res.* **1976**, *49*, 267-273.
- [101] C. Müller, E. Kitas, H. P. Wessel, "Novel Oligosaccharide Mimetics by Solid-Phase Synthesis", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 2425-2426.
- [102] J. R. A. Goodnow, A.-R. Richou, S. Tam, "Synthesis of Thymine, Cytosine, Adenine, and Guanine Containing N-Fmoc Protected Amino Acids: Building Blocks for Construction of Novel Oligonucleotide Backbone Analogs", *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3195-3198.

- [103] J. R. A. Goodnow, S. Tam, D. L. Pruess, W. W. McComas, "Oligomer Synthesis and DNA/RNA Recognition Properties of a Novel Oligonucleotide Backbone Analog: Glucopyranosyl Nucleic Amide (GNA)", *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3199-3202.
- [104] S.-I. Nishimura, S. Nomura, K. Yamada, "Amphiphilic Poly(Sugar Amino Acid)s: A Novel Class of Glycoclusters for Supramolecular Materials", *Chem. Commun.* **1998**, 617-618.
- [105] Y. Suhara, M. Ichikawa, J. E. K. Hildreth, Y. Ichikawa, "Synthesis of Sulfated β -1,6-Linked Oligosaccharide Mimetics: A Novel Potent Inhibitor of HIV Replication", *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2549-2552.
- [106] R. P. Cheng, S. H. Gellman, W. F. DeGrado, " β -Peptides: From Structure to Function", *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219-3232.
- [107] C. M. Timmers, J. J. Turner, C. M. Ward, G. A. van der Marel, M. L. C. E. Kouwijzer, P. D. J. Grootenhuis, J. H. v. Boom, "Synthesis and Biological Evaluation of a Backbone-Modified Phytoalexin Elicitor", *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 920-929.
- [108] Y. Suhara, M. Izumi, M. Ichikawa, M. B. Penno, Y. Ichikawa, "Peptide-Sugar Hybrids: Like Peptide, Like Oligosaccharide", *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7167-7170.
- [109] M. Stöckle, G. Voll, R. Günther, E. Lohof, E. Locardi, S. Gruner, H. Kessler, "Synthesis and NMR Studies of Cyclopeptides Containing a Sugar Amino Acid", *Org. Letters* **2002**, *4*, 2501-2504 [Erratum: *Org. Letters* **2002**, *4*, 3169].
- [110] A. R. Khan, P. Forgo, K. J. Stine, V. T. D'Souza, "Methods for Selective Modifications of Cyclodextrins", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1977-1996.
- [111] T. Loftsson, M. E. Brewster, "Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. 1. Drug Solubilization and Stabilization", *J. Pharm. Sci.* **1996**, *85*, 1017-1169.
- [112] M. V. Rekharsky, Y. Inoue, "Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1875-1917.
- [113] G. Schilling, "Cyclodextrine- industrielle Wirt-Gast-Chemie", *CHEManager* **1998**, *5*, 9.
- [114] H.-J. Schneider, F. Hacket, V. Rüdiger, "NMR Studies of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1755-1785.
- [115] J. Szejtli, "Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743-1753.
- [116] K. Uekama, F. Hirayama, T. Irie, "Cyclodextrin Drug Carrier Systems", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2045-2076.
- [117] D. F. Mierke, M. Kurz, H. Kessler, "Peptide Flexibility and Calculations of an Ensemble of Molecules", *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1042-1049.
- [118] G. Müller, M. Gurrath, H. Kessler, R. Timpl, "'Dynamischer Zwang', eine Hilfe für das Verständnis der Aktivität und Selektivität von RGD(Arg-Gly-Asp)-Peptiden", *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 341-343.
- [119] P. W. Schiller, *The Peptides*, Vol. 6, Academic Press, New York, **1984**.
- [120] J. Hughes, T. W. Smith, H. W. Kosterlitz, L. A. Fothergill, B. A. Morgan, H. R. Morris, "Identification of Two Related Pentapeptides from the Brain with Potent Opiate Agonist Activity", *Nature* **1975**, *258*, 577-579.
- [121] Y. Shimohigashi, C. H. Stammer, "Dehydro-enkephalins. VI. Dehydroalanine-enkephalin: A Potent Enkephalin Analog for the δ Opiate Receptor", *Int. J. Peptide Protein Res.* **1982**, *20*, 199-206.
- [122] W. Bauer, U. Briner, W. Doepfner, R. Haller, R. Huguenin, P. Marbach, T. J. Petcher, J. Pless, "SMS 201-995: A Very Potent and Selective Octapeptide Analog of Somatostatin with Prolonged Action", *Life Sci.* **1982**, *31*, 1133-1140.
- [123] D. F. Veber, R. M. Freidinger, D. S. Perlow, W. J. Paleveda, F. W. Holly, R. G. Strachan, R. F. Nutt, B. H. Arison, C. Homnick, W. C. Randall, M. S. Glitzer, R.

- Saperstein, R. Hirschmann, "A Potent Cyclic Hexapeptide Analog of Somatostatin", *Nature* **1981**, 292, 55-58.
- [124] E. Ruoslahti, M. D. Pierschbacher, "Cell Attachment Activity of Fibronectin can be Duplicated by Small Synthetic Fragments of the Molecule", *Nature* **1984**, 309, 30-33.
- [125] E. Ruoslahti, M. D. Pierschbacher, "Arg-Gly-Asp: A Versatile Cell Recognition Signal", *Cell* **1986**, 44, 517-518.
- [126] E. Ruoslahti, M. D. Pierschbacher, "New Perspectives in Cell Adhesion: RGD and Integrins", *Science* **1987**, 238, 491-497.
- [127] M. Aumailley, M. Gurrath, G. Müller, J. Calvete, R. Timpl, "Arg-Gly-Asp Constrained Within Cyclic Pentapeptides. Strong and Selective Inhibitors of Cell Adhesion to Vitronectin and Laminin Fragment P1", *FEBS Lett.* **1991**, 291, 50-54.
- [128] M. Gurrath, G. Müller, H. Kessler, M. Aumailley, R. Timpl, "Conformation/Activity Studies of Rationally Designed Potent anti-Adhesive RGD Peptides", *Eur. J. Biochem.* **1992**, 210, 911-921.
- [129] M. Pfaff, K. Tanglmann, B. Müller, M. Gurrath, G. Müller, H. Kessler, R. Timpl, J. Engel, "Selective Recognition of Cyclic RGD Peptides of NMR Defined Conformation by $\alpha_{IIb}\beta_3$, $\alpha_V\beta_3$, and $\alpha_5\beta_1$ Integrins", *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 20233-20238.
- [130] S. M. Albelda, S. A. Mette, D. E. Elder, R. M. Stewart, L. Damjanovich, M. Herlyn, C. A. Buck, "Integrin Distribution in Malignant Melanoma: Association of the β_3 Subunit with Tumor Progression", *Cancer Res.* **1990**, 50, 6757-6764.
- [131] R. Haubner, M. Gurrath, G. Müller, M. Aumailley, H. Kessler, *Prospects in Diagnoses and Treatment of Breast Cancer, Excerpta Medica International Congress Series*, Elsevier science publishers, Amsterdam, **1994**.
- [132] W. S. von Euler, J. H. Gaddum, "An Unidentified Depressor Substance in Certain Tissue Extracts", *J. Physiol.* **1931**, 72, 74-87.
- [133] L. Petrus, S. Bystricky, T. Sticzay, V. Bilik, "Preparation of Some Glycosyl Derivatives of Nitromethane", *Chem. Zvesti* **1982**, 36, 103-110.
- [134] K. Heyns, H. Paulsen, "Selective Catalytic Oxidations with Noble-Metal Catalysts", *Angew. Chem.* **1957**, 69, 600-608.
- [135] A. E. J. de Nooy, A. C. Besemer, H. van Bekkum, "Highly Selective Nitroxyl Radical-Mediated Oxidation of Primary Alcohol Groups in Water-Soluble Glucans", *Carbohydr. Chem.* **1995**, 269, 89-98.
- [136] A. E. J. de Nooy, A. C. Besemer, "Selective Oxidation of Primary Alcohols Mediated by Nitroxyl Radical in Aqueous Solution. Kinetics and Mechanism", *Tetrahedron* **1995**, 51, 8023-8032.
- [137] N. J. Davis, S. L. Flitsch, "Selective Oxidation of Monosaccharide Derivatives to Uronic Acids", *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 1181-1184.
- [138] A. E. J. d. Nooy, A. C. Besemer, H. van Bekkum, "On the Use of Stable Organic Nitroxyl Radicals for the Oxidation of Primary and Secondary Alcohols", *Synthesis* **1996**, 1153-1174.
- [139] H. Kessler, E. G. von Roedern, E. Lohof, R. Haubner, A. Geyer, V. Wittmann, "New Peptidomimetics and Conformational Consequences", *Proceedings of the 5 th Akabori Conference* **1994**, 110-115.
- [140] P. Köll, A. Förtsch, "Ein neuer effizienter Weg zur Darstellung von Glycopyranosylcyaniden (2,6-Anhydroaldononitrilen) ohne Nachbargruppenbeteiligung. Reduktion von 2,6-Anhydro-1-desoxy-1-nitroalditolen mit Phosphortrichlorid", *Carbohydr. Res.* **1987**, 171, 301-315.
- [141] B. Coxon, J. H. G. Fletscher, "Two Nitriles Derived from 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl Bromide. A 2-Cyano-2-methyl-1,3-dioxolane Derivative", *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2637-2642.

- [142] F. G. de las Heras, P. Fernández-Resa, "Synthesis of Ribosyl and Arabinosyl Cyanides by Reaction of 1-O-Acyl Sugars with Trimethylsilyl Cyanide", *J. Chem. Soc., Perkin I* **1982**, 903-907.
- [143] R. W. Myers, Y. C. Lee, "Improved Preparations of Some Per-O-acetylated Aldohexopyranosyl Cyanides", *Carbohydr. Res.* **1986**, *154*, 145-163.
- [144] L. Moroder, A. Hallett, E. Wunsch, O. Keller, G. Wersin, "Di-tert.-butyldicarbonat ein vorteilhaftes Reagenz zur Einführung der tert.-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe", *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1976**, *357*, 1651-1653.
- [145] G. B. Fields, R. L. Noble, "Solid Phase Peptide Synthesis Utilizing 9-Fluorenylmethoxycarbonyl Amino Acids", *Int. J. Peptide Protein Res.* **1990**, *35*, 161-214.
- [146] F. Albericio, J. M. Bofill, A. El-Faham, S. A. Kates, "Use of Onium Salt-Based Coupling Reagents in Peptide Synthesis", *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9678-9683.
- [147] L. A. Carpino, A. El-Faham, C. A. Minor, F. Albericio, "Advantageous Applications of Azabenzotriazole (Triazolopyridine)-based Coupling Reagents to Solid-phase Peptide Synthesis", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 201-203.
- [148] L. A. Carpino, "1-Hydroxy-7-azabenzotriazole. An Efficient Peptide Coupling Additive", *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.
- [149] L. A. Carpino, A. El-Faham, F. Albericio, "Racemization Studies During Solid-Phase Peptide Synthesis Using Azabenzotriazole-based Coupling Reagents", *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2279-2282.
- [150] E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook, "Color Test for Detection of Free Terminal Amino Groups in the Solid-Phase Synthesis of Peptides", *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.
- [151] W. Troll, R. K. Cannan, "A Modified Photometric Ninhydrin Method for the Analysis of Amino and Imino Acids", *J. Biol. Chem.* **1953**, *200*, 803-811.
- [152] J. Meienhofer, M. Waki, D. P. Heimer, T. J. Lambros, R. C. Makofske, C.-D. Chang, "Solid Phase Synthesis Without Repetitive Acidolysis", *Int. J. Peptide Protein Res.* **1979**, *13*, 35-42.
- [153] B. Blankemeyer-Menge, M. Nitz, R. Frank, "An Efficient Method for Anchoring Fmoc-Amino Acids to Hydroxyl-Functionalised Solid Supports", *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1701-1704.
- [154] S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger, *150 and More Basic NMR Experiments*, Wiley-VCH, Weinheim, **1998**.
- [155] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, 3. ed., Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [156] H. Günther, *NMR-Spektroskopie*, Wiley-VCH, Weinheim, **1995**.
- [157] K. K. M. Sanders, B. K. Hunter, *Modern NMR Spectroscopy*, Oxford University Press, Oxford, **1993**.
- [158] H.-O. Kalinowski, S. Berger, S. Braun, *¹³C-NMR-Spektroskopie*, Georg Thieme, Stuttgart and New York, **1984**.
- [159] H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, "Zweidimensionale NMR-Spektroskopie, Grundlagen und Übersicht über die Experimente", *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 507-554.
- [160] W. P. Aue, E. Bartholdi, R. R. Ernst, "Two-Dimensional Spectroscopy. Application to Nuclear Magnetic Resonance", *J. Chem. Phys.* **1976**, *64*, 2229-2246.
- [161] A. Kumar, G. Wagner, R. R. Ernst, K. Wüthrich, "Studies of J-Connectives and Selective 1H-1H Overhauser Effects in H₂O Solutions of Biological Macromolecules by Two-Dimensional NMR Experiments", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, *96*, 1156-1163.
- [162] N. Müller, R. R. Ernst, K. Wüthrich, "Multiple-Quantum-Filtered Two-Dimensional Correlated NMR Spectroscopy of Proteins", *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6482-6492.

- [163] U. Piantini, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, "Multiple Quantum Filters for Elucidating NMR Coupling Networks", *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6800-6801.
- [164] M. Rance, O. W. Sørensen, G. Bodenhausen, G. Wagner, R. R. Ernst, K. Wüthrich, "Improved Spectral Resolution in COSY Proton NMR Spectra of Proteins Via Double Quantum Filtering", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, *117*, 479-485.
- [165] A. J. Shaka, R. Freeman, "Simplification of NMR Spectra by Filtration Through Multiple-Quantum Coherence", *J. Magn. Reson.* **1983**, *51*, 169-173.
- [166] A. Bax, R. A. Byrd, A. Aszalos, "Spin Multiplet Enhancement in Two-Dimensional Correlated NMR Spectroscopy", *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 7632-7633.
- [167] A. Bax, D. G. Davis, "MLEV-17-Based Two-Dimensional Homonuclear Magnetization Transfer Spectroscopy", *J. Magn. Reson.* **1985**, *65*, 355-360.
- [168] L. Braunschweiler, R. R. Ernst, "Coherence Transfer by Isotropic Mixing: Application to Proton Correlation Spectroscopy", *J. Magn. Reson.* **1983**, *53*, 521-528.
- [169] A. Bax, S. Subramanian, "Sensitivity-Enhanced Two-Dimensional Heteronuclear Shift Correlation NMR Spectroscopy", *J. Magn. Reson.* **1986**, *67*, 565-569.
- [170] L. Müller, "Sensitivity Enhanced Detection of Weak Nuclei Using Heteronuclear Multiple Quantum Coherence", *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 4481-4484.
- [171] G. Bodenhausen, D. J. Ruben, "Natural Abundance Nitrogen-15 NMR by Enhanced Heteronuclear Spectroscopy", *Chem. Phys. Lett.* **1980**, *69*, 185-189.
- [172] S. W. Fesik, R. T. Gampe, E. R. P. Zuiderweg, "Heteronuclear Three-Dimensional NMR Spectroscopy. Natural Abundance ^{13}C Chemical Shift Editing of ^1H - ^1H COSY Spectra", *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 770-772.
- [173] C. Griesinger, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, "Three-Dimensional Fourier Spectroscopy: Application to High-Resolution NMR", *J. Magn. Reson.* **1989**, *84*, 14-63.
- [174] A. Bax, D. G. Davis, "Practical Aspects of Two-Dimensional Transverse NOE Spectroscopy", *J. Magn. Reson.* **1985**, *63*, 207-213.
- [175] A. A. Bothner-By, R. L. Stephens, J.-m. Lee, C. D. Warren, R. W. Jeanloz, "Structure Determination of a Tetrasaccharide: Transient Nuclear Overhauser Effects in the Rotating Frame", *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 811-813.
- [176] T. L. Hwang, M. Kadkhodaei, A. Mohebbi, A. J. Shaka, "Coherent and Incoherent Magnetization Transfer in the Rotating Frame", *Magn. Reson. Chem.* **1992**, *30*, S24-S34.
- [177] T. L. Hwang, A. J. Shaka, "Cross Relaxation without TOCSY: Transverse Rotating-Frame Overhauser Effect Spectroscopy", *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3157-3159.
- [178] A. Bax, M. F. Summers, " ^1H and ^{13}C Assignments from Sensitivity-Enhanced Detection of Heteronuclear Multiple-Bond Connectivity by 2D Multiple Quantum NMR", *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2093-2094.
- [179] M. F. Summers, L. G. Marzilli, A. Bax, "Complete ^1H and ^{13}C Assignments of Coenzyme B₁₂ through the Use of New Two-Dimensional NMR Experiments", *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 4285-4294.
- [180] M. Guéron, P. Plateau, M. Decors, "Solvent Signal Suppression in NMR", *Prog. NMR Spectrosc.* **1991**, *23*, 135-209.
- [181] P. J. Hore, "Nuclear Magnetic Resonance. Solvent Suppression", *Methods Enzymol.* **1989**, *176*, 64-77.
- [182] T.-L. Hwang, A. J. Shaka, "Water Suppression that Works. Excitation Sculpting Using Arbitrary Waveforms and Pulsed Field Gradients", *J. Magn. Reson. Ser. A* **1995**, *112*, 275-279.
- [183] M. Piotto, V. Saudek, V. Sklenar, "Gradient-Tailored Excitation for Single-Quantum NMR Spectroscopy of Aqueous Solutions", *J. Biomol. NMR* **1992**, *2*, 661-665.

- [184] V. Sklenar, M. Piotto, R. Leppik, V. Saudek, "Gradient-Tailored Water Suppression for Proton-Nitrogen-15 HSQC Experiments Optimized to Retain Full Sensitivity", *J. Magn. Reson., Ser. A* **1993**, *102*, 241-245.
- [185] L. A. Trimble, M. A. Bernstein, "Application of Gradients for Water Suppression in 2D Multiple-Quantum-Filtered COSY Spectra of Peptides", *J. Magn. Reson., Ser. B* **1994**, *105*, 67-72.
- [186] P. Plateau, M. Guéron, "Exchangeable Proton NMR without Base-Line Distortion, Using New Strong-Pulse Sequences", *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 7310-7311.
- [187] L. Moroder, R. Romano, W. Guba, D. F. Mierke, H. Kessler, C. Delporte, J. Winand, J. Christophe, "New Evidence for a Membrane-Bound Pathway in Hormone Receptor Binding", *Biochemistry* **1993**, *32*, 13551-13559.
- [188] H. Kessler, W. Bermel, A. Müller, K.-H. Pook, in *The Peptides: Modern NMR Spectroscopy on Peptides, Vol. 7* (Eds.: S. Udenfriend, J. Meienhofer, V. Hruby), Academic Press, New York, **1985**, pp. 437-473.
- [189] D. F. Mierke, H. Kessler, "Improved Molecular Dynamics Simulations for the Determination of Peptide Structures", *Biopolymers* **1993**, *33*, 1003-1017.
- [190] D. Neuhaus, M. P. Williamson, *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis*, 2nd ed., Wiley-VCH, New York, **2000**.
- [191] G. Bodenhausen, H. Kogler, R. R. Ernst, "Selection of Coherence-Transfer Pathways in NMR Pulse Experiments", *J. Magn. Reson.* **1984**, *58*, 370-388.
- [192] J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann, R. R. Ernst, "Investigation of Exchange Processes by Two-Dimensional NMR Spectroscopy", *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4546-4553.
- [193] S. Macura, Y. Huang, D. Suter, R. R. Ernst, "Two-Dimensional Chemical Exchange and Cross-Relaxation Spectroscopy of Coupled Nuclear Spins", *J. Magn. Reson.* **1981**, *43*, 259-281.
- [194] D. J. States, R. A. Haberkorn, D. J. Ruben, "A Two-Dimensional Nuclear Overhauser Experiment with Pure Absorption Phase in Four Quadrants", *J. Magn. Reson.* **1982**, *48*, 286-292.
- [195] J. N. S. Evans, *Biomolecular NMR-Spectroscopy*, Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo, **1995**.
- [196] C. Griesinger, R. R. Ernst, "Frequency Offset Effects and Their Elimination in NMR Rotating-Frame Cross-Relaxation Spectroscopy", *J. Magn. Reson.* **1987**, *75*, 261-271.
- [197] H. S. Gutowsky, D. W. McCall, "Nuclear Magnetic Resonance Fine Structure in Liquids", *Phys. Rev.* **1951**, *82*, 748-749.
- [198] E. L. Hahn, D. E. Maxwell, "Chemical Shift and Field Independent Frequency Modulation of the Spin Echo Envelope", *Phys. Rev.* **1951**, *84*, 1246-1247.
- [199] M. Karplus, "Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments", *J. Chem. Phys.* **1959**, *30*, 11-15.
- [200] M. Karplus, "Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance", *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2870-2871.
- [201] IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN), "Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides Recommendations 1983", *Eur. J. Biochem.* **1984**, *138*, 9-37.
- [202] C. Griesinger, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, "Two-Dimensional Correlation of Connected NMR Transitions", *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 6394-6396.
- [203] C. Griesinger, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, "Correlation of Connected Transitions by Two-Dimensional NMR Spectroscopy", *J. Chem. Phys.* **1986**, *85*, 6837-6852.
- [204] C. Griesinger, O. W. Sørensen, R. R. Ernst, "Practical Aspects of the E.COSY Technique. Measurement of Scalar Spin-Spin Coupling Constants in Peptides", *J. Magn. Reson.* **1987**, *75*, 474-492.

- [205] K. Wüthrich, M. Billeter, W. Braun, "Pseudostructures for the 20 Common Amino Acids for Use in Studies of Protein Conformations by Measurements of Intramolecular Proton-Proton Distance Constraints with Nuclear Magnetic Resonance", *J. Mol. Biol.* **1983**, *169*, 949-961.
- [206] K. G. R. Pachler, "Nuclear Magnetic Resonance (N.M.R.) Study of Some α -Amino Acids. I. Coupling Constants in Alkaline and Acidic Medium", *Spectrochim. Acta* **1963**, *19*, 2085-2092.
- [207] K. G. R. Pachler, "Nuclear Magnetic Resonance Study of Some α -Amino Acids. II. Rotational Isomerism", *Spectrochim. Acta* **1964**, *20*, 581-587.
- [208] T. F. Havel, "DISGEO, Quantum Chemistry Exchange Program", *Indiana University: Bloomington* **1988**, *Exchange No. 507*.
- [209] T. F. Havel, "An Evaluation of Computational Strategies for Use in the Determination of Protein Structure from Distance Constraints Obtained by Nuclear Magnetic Resonance", *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1991**, *56*, 43-78.
- [210] L. A. Kelley, S. P. Gardner, M. J. Sutcliffe, "An Automated Approach for Clustering an Ensemble of NMR-Derived Protein Structures into Conformationally-Related Subfamilies", *Protein Engineering* **1996**, *9*, 1063-1065.
- [211] Discover,, 2.98 ed., BIOSYM/Molecular Simulations, San Diego, CA, **1995**.
- [212] J. D. Dunitz, J. Waser, "Geometric Constraints in Six- and Eight-Membered Rings", *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 5645-5650.
- [213] H. Kessler, R. Gratias, G. Hessler, M. Gurrath, G. Müller, "Conformation of Cyclic Peptides. Principle Concepts and the Design of Selectivity and Superactivity in Bioactive Sequences by 'Spatial Screening'", *Pure & Appl. Chem.* **1996**, *68*, 1201-1205.
- [214] H. G. O. Becker, W. Berger, G. Domschke, E. Fanghänel, J. Faust, M. Fischer, F. Gentz, K. Gewalt, R. Gluch, R. Mayer, K. Müller, D. Pavel, H. Schmidt, K. Schollberg, K. Schwetlick, E. Seiler, *Organikum*, 20., bearbeitete und erweiterte Auflage ed., Johann Ambrosius Barth Verlag, Heidelberg, Leipzig, **1996**.
- [215] G. D. Fasman, *Circular Dichroism and the Conformational Analysis of Biomolecules*, Plenum Press, New York and London, **1996**.
- [216] K. Nakanishi, N. Berova, R. W. Woody, *Circular Dichroism - Principles and Applications*, VCH, New York, **1994**.
- [217] E. B. Nielsen, J. A. Schellman, "The Absorption Spectra of Simple Amides and Peptides", *J. Phys. Chem* **1967**, *71*, 2297-2304.
- [218] D. L. Peterson, W. T. Simpson, "Polarized Electronic Absorption Spectrum of Amides with Assignments to Transitions", *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 2375-2382.
- [219] G. Snatzke, "Chiroptische Methoden in der Stereochemie, Teil I.", *Chem. i. u. Z.* **1981**, *15*, 78-87.
- [220] G. Snatzke, "Chiroptische Methoden in der Stereochemie, Teil II.", *Chem. i. u. Z.* **1982**, *16*, 160-168.
- [221] L. Pauling, R. B. Corey, H. R. Branson, "The Structure of Proteins: Two Hydrogen-Bonded Helical Configurations of the Polypeptide Chain", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1951**, *37*, 205-211.
- [222] J. A. Smith, L. G. Pease, "Reverse Turns in Peptides and Proteins", *CRC Crit. Rev. Biochem.* **1980**, *8*, 315-399.
- [223] H. J. Dyson, M. Rance, R. A. Houghton, R. A. Lerner, P. E. Wright, "Folding of Immunogenic Peptide Fragments of Proteins in Water Solution. I. Sequence Requirements for the Formation of a Reverse Turn", *J. Mol. Biol.* **1988**, *201*, 161-200.
- [224] B. Imperiali, S. L. Fisher, R. A. Moats, T. J. Prins, "A Conformational Study of Peptides with the General Structure Ac-L-Xaa-Pro-D-Xaa-L-Xaa-NH₂: Spectroscopic Evidence for a Peptide with Significant β -Turn Character in Water and in Dimethyl Sulfoxide", *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3182-3188.