

Entwicklung anionenbindender molekularer Kapseln auf Basis verbrückter Bis(cyclopeptide)

Dissertation

genehmigt vom Fachbereich Chemie der Universität Kaiserslautern zur
Verleihung des akademischen Grades „Doktor der Naturwissenschaften“

D 386



vorgelegt von

Thomas Fiehn

Betreuer: Prof. Dr. S. Kubik

Kaiserslautern, 2011

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. S. Kubik im Fachbereich Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern in der Zeit von Dezember 2005 bis März 2009 angefertigt.

Dekan:

Prof. Dr.-Ing. J. Hartung

Vorsitzender der Prüfungskommission:

Prof. Dr.-Ing. S. Ernst

1. Gutachter:

Prof. Dr. S. Kubik

2. Gutachter:

Prof. Dr. L. Gooßen

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 05.05.2011

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit eigenständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet, sowie Literaturzitate kenntlich gemacht habe.

Ich erkläre außerdem, dass diese Arbeit weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Kaiserslautern, den _____

(Thomas Fiehn)

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

T. Fiehn, R. Goddard, R. W. Seidel, S. Kubik, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 7241 – 7255

Abkürzungsverzeichnis

All	Allyl
Alloc	Allyloxycarbonyl
APA	6-Aminopicolinsäure
Apro	2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> -Aminoprolin
Az	Azidopropansäure
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
Bu	Butyl
^t Bu	<i>tert</i> -Butyl
CM	Kreuzmetathese (cross metathesis)
CP	Cyclopeptid
CP*	Pentamethylcyclopentadienyl
CuAAC	Kupfer-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen einem Azid und Alkin
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dynamische kovalente Chemie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DIEA	Diisopropylethylamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDC	<i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethylcarbodiimid Hydrochlorid
ESI-MS	Elektrosprayionisationsmassenspektrometrie
Et	Ethyl
EXSY	Exchange spectroscopy
F _w	Molare Masse (formula weight)
ΔG	Freie Bildungsenthalpie
ΔG [‡]	Freie Aktivierungsenthalpie
Grubbs I	Benzyliden-bis(tricyclohexylphosphin)dichlorruthenium
Grubbs II	(1,3-Bis(2,4,6-trimethylphenyl)-2-imidazolidinyliden)dichlor(<i>o</i> -phenylmethylen)-tricyclohexylphosphin)ruthenium
h	Stunden
ΔH	Bildungsenthalpie
HBTU	<i>O</i> -(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumhexafluorophosphat
Hoveyda-Grubbs II	(1,3-Bis-(2,4,6-trimethylphenyl)-2-imidazolidinyliden)dichlor(<i>o</i> -isopropoxyphenylmethylen)ruthenium
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
IR	Infrarot
ITC	Isothermale Titrationskalorimetrie
K _a	Bindungskonstante
k ₁ , k ₋₁	Geschwindigkeitskonstanten
k _c	Geschwindigkeitskonstante bei Koaleszenztemperatur
MALDI-MS	Matrixunterstützte Laserdesorptions/Ionisationsmassenspektrometrie
Me	Methyl
Min	Minuten

MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
<i>m/z</i>	Masse/Ladungs-Verhältnis
<i>n</i>	Stöchiometrisches Verhältnis
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidon
NMR	Kernresonanz (nuclear magnetic resonance)
NOESY	Nuclear overhauser effekt spectroscopy
Ph	Phenyl
ⁱ Pr	Isopropyl
Pro	L-Prolin
Ps	4-Pentinsäure
PyCl ₆ P	Chlortripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
RCM	Ringschlussmetathese (ring closing metathesis)
ROMP	Ringöffnungsmetathesepolymerisation
RP	Reversed phase
RT	Raumtemperatur
RuAAC	Ruthenium-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen einem Azid und Alkin
ΔS	Bildungsentropie
T	Temperatur in K
TBTU	<i>O</i> -(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumtetrafluoroborat
T _c	Koaleszenztemperatur
THF	Tetrahydrofuran
τ _m	Mischzeit
TOF	Flugzeit (time of flight)
Ts	<i>p</i> -Toluolsulfonyl
UV	Ultraviolett
Z	Benzyloxycarbonyl

IR-Spektroskopie

<i>m</i>	mittel
<i>s</i>	stark
<i>w</i>	schwach

NMR-Spektroskopie

δ	chemische Verschiebung in ppm
br s	breites Singulett
d	Dublett
dd	Dublett von Dubletts
Hz	Hertz
<i>J</i>	Kopplungskonstante in Hz
<i>m</i>	Multiplett
<i>m_c</i>	Symmetrisches Multiplett
ppm	parts per million
<i>t</i>	Triplet

1	EINLEITUNG	1
2	STAND DER FORSCHUNG	11
2.1	Strategien in der Kapselsynthese.....	11
2.2	Kupplungsreaktionen in der Kapselsynthese	19
2.2.1	Grundlagen der Metathesereaktion	20
2.2.2	Beispiele für Metathesereaktionen	24
2.2.3	Nebenreaktionen bei Olefinmetathesen	26
2.2.4	Grundlagen der Click-Reaktionen.....	29
2.2.5	Anwendungen der Click-Reaktionen	32
3	AUFGABENSTELLUNG.....	34
4	EIGENE ERGEBNISSE.....	36
4.1	Synthese der Cyclopeptide	36
4.2	Verbrückung von Cyclopeptiden durch Olefinmetathese	43
4.2.1	Modellreaktionen	43
4.2.2	Synthese eines einfach verbrückten Bis(cyclopeptids) durch Olefinmetathese... 48	
4.2.3	Synthese eines dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) durch Olefinmetathese . 56	
4.3	Verbrückung von Cyclopeptiden durch Click-Chemie.....	63
4.3.1	Synthese der Cyclopeptidbausteine.....	63
4.3.2	Click-Reaktionen.....	70
4.4	Untersuchungen der Bis(cyclopeptide)	79
5	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	114
6	EXPERIMENTELLER TEIL.....	118
6.1	Apparatives.....	118
6.2	Messungen.....	119
6.2.1	Isotherme Titrationskalorimetrie.....	119
6.2.2	MALDI-MS.....	120
6.3	Chemikalien	121
6.4	Nomenklatur und Arbeitsweisen	124
6.4.1	Nomenklatur.....	124
6.4.2	Allgemeine Arbeitsweisen	126
6.5	Synthesen	128
6.5.1	Darstellung der Aminosäuren APA-OAll 21 und Boc-(Z-4S-Apro)-OH 20	128
6.5.2	Darstellung des Monoamins <i>cyclo</i> [(4S-Apro)-APA-(Pro-APA) ₂] 13	133
6.5.3	Darstellung des Triamins <i>cyclo</i> [(4S-Apro)-APA] ₃ 14	138
6.5.4	Metathesereaktionen und Darstellung der Vorstufen.....	142
6.5.5	Click-Reaktionen und Darstellung der Vorstufen.....	152

1 Einleitung

Der Begriff Kapsel leitet sich vom lateinischen *capsa* ab und bedeutet ‚Kästchen‘ oder ‚Behältnis‘.^[1] Im übertragenen Sinn versteht man darunter einen Behälter, der durch seine geschlossene Hülle einen im Inneren befindlichen Inhalt vor der äußeren Umgebung abschirmt.

Im alltäglichen Leben kennt man Kapseln in der Größenordnung von wenigen Millimetern bis zu einigen Metern als Verabreichungsform von Medikamenten, als Pflanzensamen umkleidende Schutzhüllen oder als in der Raumfahrt verwendete Landfahrzeuge.^[2]

In der Welt des Mikrokosmos, im Bereich von wenigen Mikrometern, findet man kugelförmige Gebilde, sogenannte Liposome. Ähnlich wie Zellmembranen sind sie aus Doppelschichten von amphiphilen Molekülen, in der Regel Phospholipiden wie Lecithin, aufgebaut und weisen einen polaren Hohlraum auf (Abbildung 1a).^[3] Künstliche Liposome werden unter anderem dazu verwendet, empfindliche Wirkstoffe wie Vitamine oder das Coenzym Q10 in kosmetischen Hautpflegeprodukten vor Zersetzung zu schützen, sowie deren Eindringen in die Haut zu unterstützen.^[4]

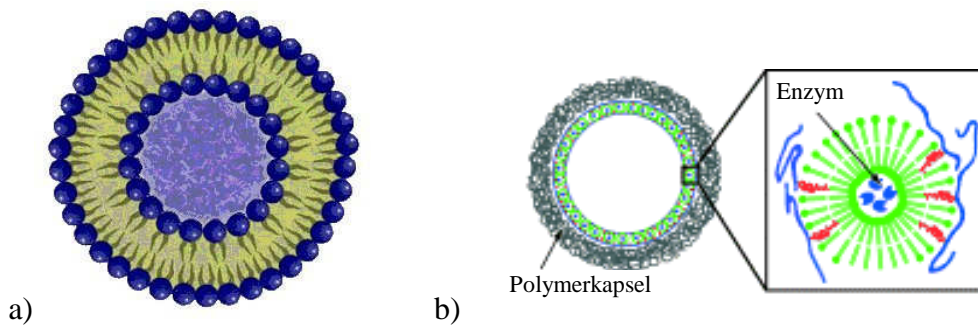


Abbildung 1: a) Schema eines Liposoms, b) von Caruso entwickelte Polymerkapsel.

Caruso verbesserte diese Idee des Wirkstofftransports, indem er enzybeladene Liposome in Polymerkapseln einbettete und damit die Vorteile beider Systeme verband (Abbildung 1b). Das Polymer besitzt eine hohe Strukturstabilität, ist aber durchlässig für kleine Moleküle. Die Struktur der Liposomen ist labiler, sie kapseln den Wirkstoff aber effektiv ein. Carusos gemischtes System setzt seinen Inhalt unter Einwirkung von Detergenzien frei und soll als Nanotransporter für pharmazeutische Wirkstoffe dienen.^[5]

Reduziert man die Größenordnung weiter auf mehrere Nanometer, gelangt man in den Bereich der molekularen Kapseln. Sie bestehen aus rigiden käfigartigen Molekülen oder Aggregaten mehrerer Moleküle und besitzen im Gegensatz zu Liposomen einen Hohlraum definierter Form und Größe, in den ein oder mehrere Gastmoleküle eingelagert werden können.

Molekulare Kapseln können aus verschiedenen Grundstrukturen aufgebaut sein.

Eine der ersten dieser Grundstrukturen wurde 1968 von Simmons und Park beschrieben. Ihre tripodalen Diazabicycloalkylammoniumionen (Abbildung 2a) lagern in wässrigen Lösungen Chloridanionen ein.^[6] Lehn et al. entwickelte daraufhin sogenannte Cryptanden, indem er tertiäre Amine mit Polyethern zu dreidimensionalen Molekülen verschiedener Größe verknüpfte (Abbildung 2b).^[7,8] Diese Verbindungen sind strukturell mit den zweidimensionalen Kronenethern verwandt und bilden, ebenso wie diese, Komplexe mit Alkali- und Erdalkaliionen. Durch die Einführung von weiteren Aminogruppen erhielt Lehn einen Azacryptand, der in protonierter Form lineare Anionen wie Azid in seinem Hohlraum bindet (Abbildung 2c).^[9] Noch heute verwenden viele Gruppen wie z.B. Bowman-James und García-España die tripodale auf Tris(2-aminoethyl)amin basierende tren-Einheit zum Aufbau käfigartiger Strukturen zur Bindung von Anionen.^[10-14]

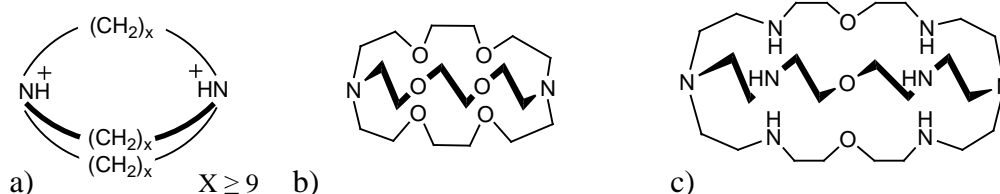


Abbildung 2: a) Erster Chloridrezeptor von Simmons und Park, b) Cryptand und c) Azacryptand von Lehn.

Eine weitere beliebte Untereinheit für den Aufbau von trigonalen Kapseln sind mehrfach substituierte Benzolderivate. Durch dreifache Verbrückung der aromatischen Ringe erhält man die in Abbildung 3 gezeigten Cyclophane.^[15,16]

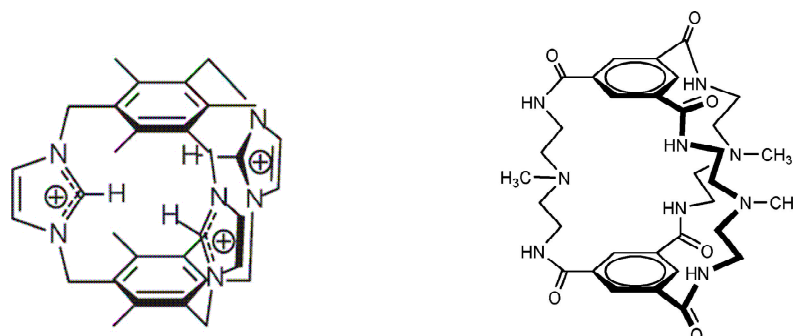


Abbildung 3: Beispiele für molekulare Kapseln mit Cyclophanstruktur.

Verbindet man nicht nur zwei, sondern vier geeignet substituierte Benzoluntereinheiten miteinander, bilden sich nahezu sphärische Moleküle mit einem tetraedrischen Hohlraum, bei dem in jeder Ecke eine aromatische Untereinheit zu liegen kommt.

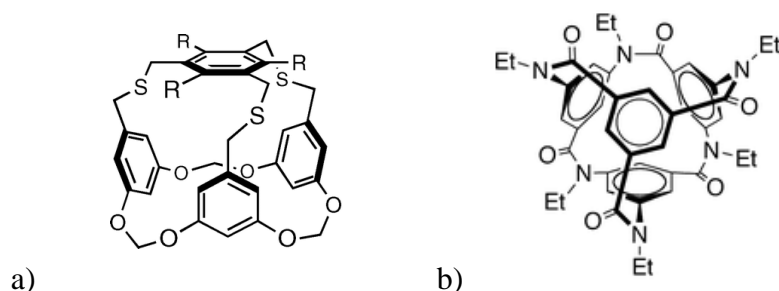


Abbildung 4: Sphärische Moleküle von a) Chambron, b) Azumaya.

In ESI-MS Studien wurde von Chambron gezeigt, dass das in Abbildung 4a dargestellte sphärische Molekül Ammoniumionen gegenüber den ähnlichen Kaliumionen bevorzugt bindet.^[17] Die chirale Verbindung von Azumaya (Abbildung 4b) wurde nicht auf ihre Komplexierungseigenschaften untersucht. Sie kristallisiert jedoch in kanalförmigen Netzwerken, die eine Verwendung als Clathrat ermöglichen könnten.^[18]

Eine weitere große Gruppe molekularer Kapseln leitet sich von schalenförmig vororganisierten Strukturen ab.^[19,20] Basierend auf den C_4 -symmetrischen Resorcarenen (Abbildung 5a) entwickelte Cram schon früh molekulare Container, indem er durch Verbrückung zweier benachbarter OH-Gruppen des Resorcarengrundgerüsts rigide Cavitanen mit strukturell definiertem Hohlraum herstellte und zwei dieser Schalen in einem weiteren Schritt über passende Linker verband (Abbildung 5b).^[21]

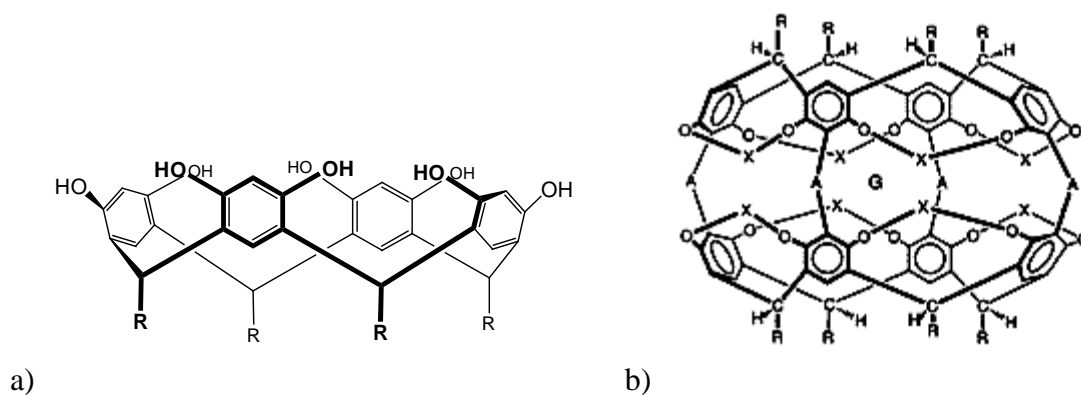


Abbildung 5: a) Resorcaren, b) aus zwei Resorcareneinheiten aufgebauter Carcerand.

Einige dieser molekularen Kapseln schlossen eingelagerte Gastmoleküle so kompakt von allen Seiten ein, dass diese irreversibel komplexiert und selbst bei höheren Temperaturen nicht freigesetzt wurden. Cram bezeichnete derartige Verbindungen als Carceranden. Bei Komplexen von Carceranden, sogenannten Carceplexen, muss demnach der Gast schon während der Synthese der Kapsel in den Hohlraum eingelagert werden. Hemicarceranden sind im Gegensatz dazu Verbindungen, die bei Raumtemperatur stabile isolierbare Komplexe bilden, aber einen Gastaustausch bei höheren Temperaturen erlauben.^[20] Sie enthalten oft ein definiertes Portal, durch das der Austausch erfolgt. Bei Crams Verbindungen ist dies durch eine unvollständige Verbrückung der beiden Cavitaniden gegeben.^[22] Aufgrund der hohen Rigidität der Hemicarceranden und der geringen Größe der Öffnungen wird eine hohe Aktivierungsenergie zur Komplexierung und Dekomplexierung benötigt. Diese sterische Hinderung wird auch *constrictive binding* genannt und ist Ursache für die hohe kinetische Stabilität der Hemicarceplexe.

Einen ähnlichen Aufbau wie Crams Carceranden besitzt die Gruppe der Cryptophane (Abbildung 6). Sie bestehen aus zwei über drei Brücken verbundene Einheiten von Tribenzo[*a,d,g*]cyclononatrien.^[23] Collet entwickelte in den frühen 80er Jahren mit Cryptophan A den ersten Vertreter.^[24] Cryptophane werden noch heute unter anderem von Dutasta auf ihre Fähigkeit zur Bindung neutraler Moleküle, wie Edelgase, untersucht.^[25]

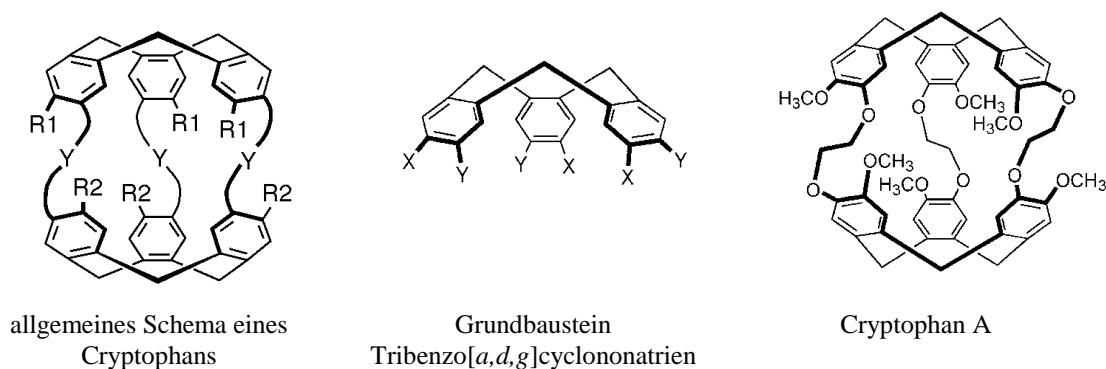


Abbildung 6: Cryptophane: Collet entwickelte 1981 ausgehend von Tribenzo[*a,d,g*]cyclononatrien den ersten Vertreter Cryptophan A.

Auch Calix[4]arene sind geeignete Ausgangsverbindungen für molekulare Kapseln. Ihr Gerüst ist zwar flexibel und kann verschiedene Konformationen einnehmen. Durch geeignete Modifikation der Reste kann die in Abbildung 7a gezeigte schalenförmige *cone*-Konformation jedoch stabilisiert werden. Die Verbrückung zweier gegenüberliegender Aromaten mit Alkyl- oder Ethylenglykolketten führte zu ersten käfigartigen Strukturen.^[26]

Nicht alle containerförmigen Moleküle sind jedoch aus einem vollständig kovalent verknüpften dreidimensionalen Netzwerk aufgebaut. Es existieren ebenso Strukturen, deren Untereinheiten durch nichtkovalente schwache Wechselwirkungen zusammengehalten werden. Rebek et al. und insbesondere Böhmer substituierten verschiedene Calix[4]arene am *upper-rim* genannten weiteren Rand des Makrocyclus mit Harnstoffgruppen, worauf zwei dieser Moleküle spontan dimerisierten (Abbildung 7b).^[27-29] Die beiden Calixarenuntereinheiten werden dabei durch intermolekulare Wasserstoffbrücken zwischen den Harnstoffgruppen zusammengehalten.

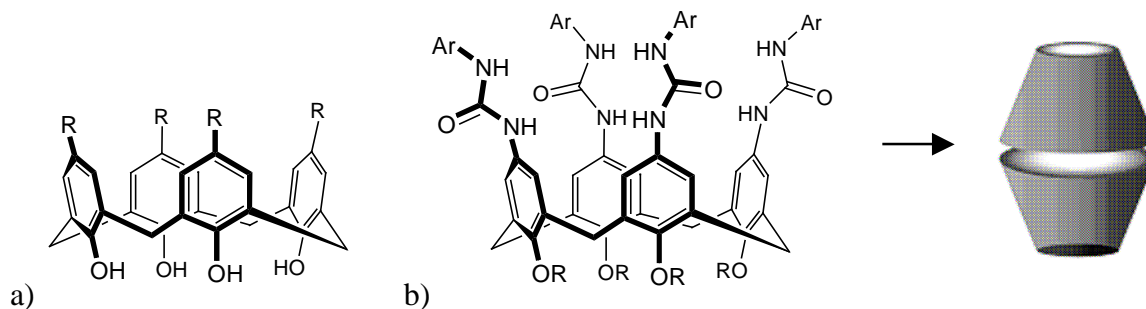


Abbildung 7: a) Calix[4]aren in cone – Konformation, b) mit Harnstoff substituierte Calix[4]arene dimerisieren in Lösung.

Wasserstoffbrücken sind in natürlichen selbstorganisierenden Systemen wie Enzymen oder der DNA weit verbreitet.^[30] Rebek et al. war jedoch 1993 der erste, der sie zur Bildung dreidimensionaler synthetischer Kapseln einsetzte.^[31] Seitdem entwickelte er ausgehend von Glycolurilen, Calixarenen oder Resorcinarenen eine Vielzahl vorwiegend dimerer Kapseln, für die z.B. die Bezeichnungen Tennisball, Softball oder Football in der Literatur zu finden sind.^[32] In Abbildung 8 sind zwei Vertreter seiner Kapseln vorgestellt, deren Monomere sowohl acyclisch als auch cyclisch sein können.

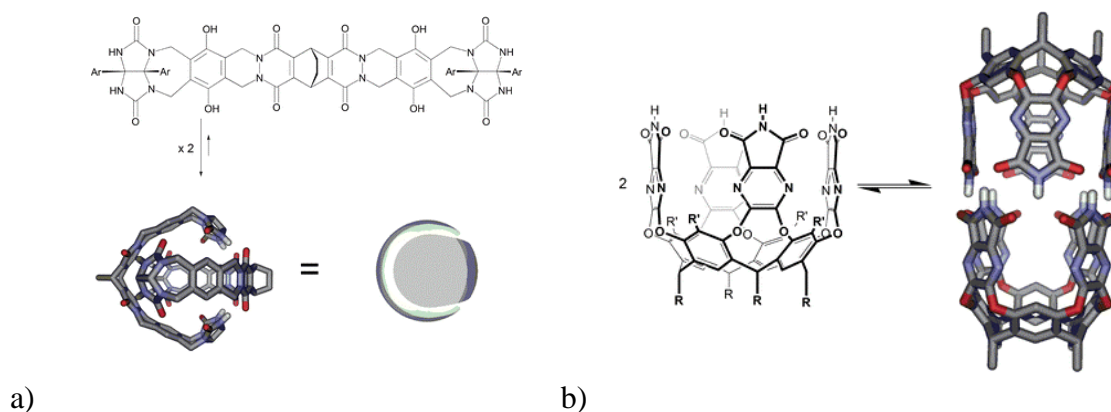


Abbildung 8: a) Softball und b) zylindrische Kapsel von Rebek.

Die beiden Cavitandenuntereinheiten in Abbildung 8b werden von 16 Wasserstoffbrücken zwischen den beiden Rändern zusammengehalten. Das Dimer besitzt einen hydrophoben Hohlraum, der ideal für die Komplexierung von unpolaren Kohlenwasserstoffen ist. Das längste eingeschlossene Alkan, *n*-Tetradecan, nimmt dabei eine helikale Konformation an.^[33] Neben den gerichteten starken Wechselwirkungen, wie Wasserstoffbrücken, können auch ungerichtete hydrophobe Wechselwirkungen die Bildung von molekularen Kapseln induzieren.^[34] Der von Gibb verwendete Cavitand (Abbildung 9) dimerisiert beispielsweise nur in wässriger Lösung bei Anwesenheit unpolarer Gastmoleküle aufgrund von hydrophoben Effekten.^[35]

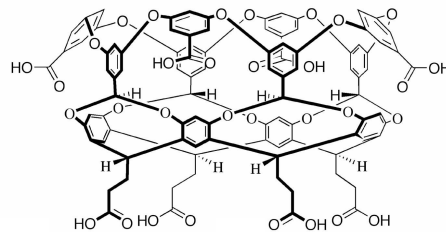


Abbildung 9: Cavitand von Gibb.

Eine weitere Möglichkeit zum Aufbau von molekularen Containern bietet die Metallkoordination. Diese ist in vielen Fällen reversibel und bei geeigneter Wahl der Koordinationsgeometrie des Metallions sowie Größe und Form der Liganden können durch Selbstorganisation verschiedenste Strukturen hergestellt werden. Bedeutende Vertreter sind die Käfige von Fujita, Raymond und Stang (Abbildung 10).^[36, 37]

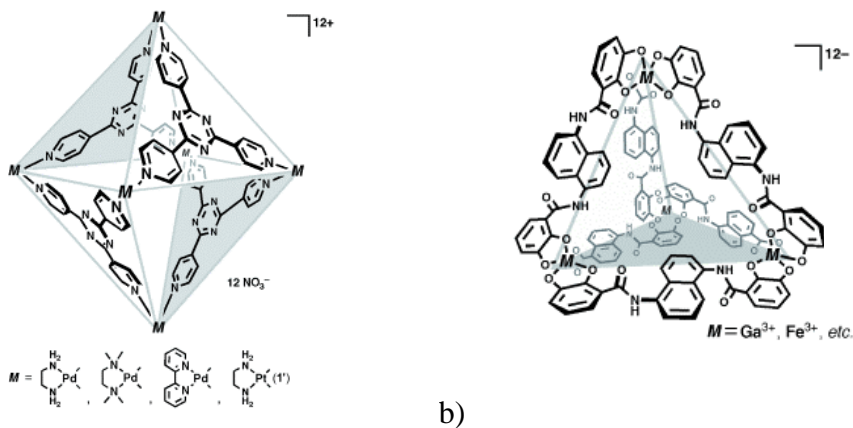


Abbildung 10: Koordinationskäfige von a) Fujita und b) Raymond.

Neben den bereits erwähnten, gibt es noch eine Reihe weiterer Bausteine, aus denen molekulare Kapseln aufgebaut sein können. So wurden ebenfalls Calixpyrrole, Porphyrine, Kronenether oder gemischte Verbindungen mit verschiedenen Untereinheiten eingesetzt.^[19]

Durch die kovalente sowie nichtkovalente Verknüpfung von mehr als zwei Cavitanden erhält man molekulare Container mit größeren Hohlräumen, die mehrere Gäste einschließen können. In der Literatur sind vor allem Tetramere, Hexamere und Octamere bekannt.^[38-40]

Aufgrund der Fähigkeit, Gastmoleküle in ihren Hohlraum einlagern zu können, finden Kapseln Anwendung als synthetische Rezeptoren. Oftmals weisen sie, wie z.B. die Systeme von Cram, Rebek oder Gibb, einen unpolaren Hohlraum auf, und eignen sich daher besonders zur Bindung von unpolaren Gästen über hydrophobe Wechselwirkungen. Durch die definierte Größe und Form des unflexiblen Hohlräume wird eine gewisse Selektivität bei der Einlagerung erreicht.

Ein nach diesem Prinzip funktionierender Vertreter ist der wasserlösliche Rezeptor von Rudkevich. Er kann mit seinem unpolaren Inneren kurzkettige Kohlenwasserstoffe aus Wasser extrahieren und zeigt dabei eine hohe Selektivität für Butan gegenüber den niederen Homologen Methan, Ethan und Propan (Abbildung 11a).^[41]

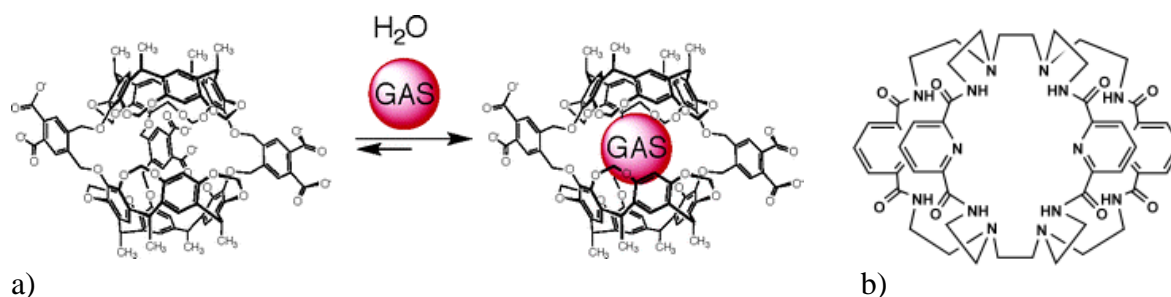


Abbildung 11: a) Rezeptor von Rudkevich und b) Bifluorid-Rezeptor von Bowman-Jones.

Polare und geladene Gäste wie Kationen und Anionen werden hingegen in polaren Hohlräumen über attraktive Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrücken, Ion-Dipol- oder Ion-Ion-Wechselwirkungen komplexiert. So bindet der Rezeptor von Bowman-James (Abbildung 11b) ein Bifluoridanion HF_2^- mit hoher Affinität über vier von Amidprotonen gebildete Wasserstoffbrücken, wie anhand der Kristallstruktur gezeigt werden konnte.^[42]

Bei der Analyse der Rezeptoreigenschaften ist es von Bedeutung, dass Gastkomplexierung und -dekomplexierung reversibel sind und mit ausreichender Geschwindigkeit ablaufen, um die thermodynamischen Parameter bestimmen zu können.

Bei kinetisch stabilisierten Komplexen, wie den Hemicarceranden, laufen diese Austauschprozesse deutlich langsamer ab, sei es bei kovalent verknüpften Kapseln durch Portale geringer Größe, oder bei dimeren Kapseln durch eine starke Wechselwirkung zwischen den beiden Halbschalen. Dadurch besitzen die Komplexe eine relativ lange Lebensdauer, die in Größenordnungen von Sekunden liegen kann.^[32] Dieses *constrictive binding*, das nicht unbedingt mit einer hohen Affinität der Gäste zum Hohlraum des Containers einhergeht, führt zu einer Reihe weiterer interessanter Effekte und Anwendungsmöglichkeiten.^[20, 35, 36, 43]

Die Kapsel, welche die Gäste umschließt, beeinflusst durch die Abschirmung vom umgebenden Lösungsmittel signifikant deren Reaktivität. Auf diese Weise können zum Beispiel hochreaktive Intermediate stabilisiert und untersucht werden, die in freier Lösung sofort abreagieren würden. Einige Beispiele sind in Abbildung 12 gezeigt.

Cram et al. erzeugte ausgehend von α -Pyrone in einem Hemicarcerand photochemisch Cyclobutadien,^[44] welches in der Chemie für die Theorie der Aromatizität eine entscheidende Bedeutung hat und vorher nur in Matrix bei tiefen Temperaturen generiert werden konnte. Auch das reaktive Didehydrobenzol konnte als Hemicarceplex hergestellt und untersucht werden.^[45] Ebenso gelang Raymond et al. die Synthese von diversen Iminiumionen in wässriger Lösung in Gegenwart der in Abbildung 10b gezeigten Kapsel.^[46]

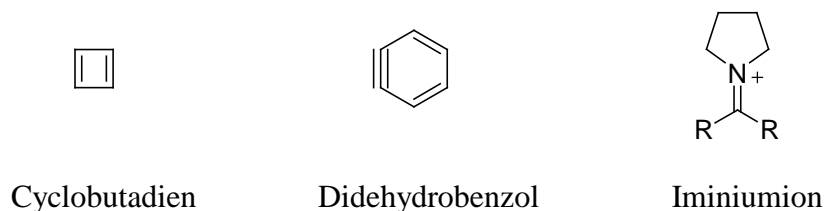


Abbildung 12: In Kapseln stabilisierte reaktive Verbindungen.

Werden mehrere Gäste gleichzeitig in einer Kapsel eingeschlossen, so kommen sich diese durch die geringe Größe des Hohlraumes sehr nahe und haben durch die lange Lebensdauer des Komplexes im Inneren ausreichend Zeit, miteinander zu wechselwirken oder zu reagieren. Durch die definierte Mikroumgebung erfolgt aufgrund ihrer eingeschränkten Orientierung im Hohlraum eine Präorganisation der Reaktanden, die zu Produkten mit ungewöhnlicher Regio- oder Stereoselektivität führt. Rebek und Chen erhielten bei der 1,3-dipolaren Cycloaddition von Phenylazid und Phenylacetylen in einer zylindrischen dimeren Kapsel (siehe Abbildung 8b) nach einigen Tagen als Produkt ausschließlich das 1,4-Triazol (Abbildung 13).^[47] Die hohe effektive Konzentration der Reaktanden in der Kapsel führte dabei zu einer erheblichen

Beschleunigung der Reaktion, die ansonsten mit einer Halbwertszeit von mehreren Jahren eine Mischung von 1,4- und 1,5-Regioisomeren liefert.

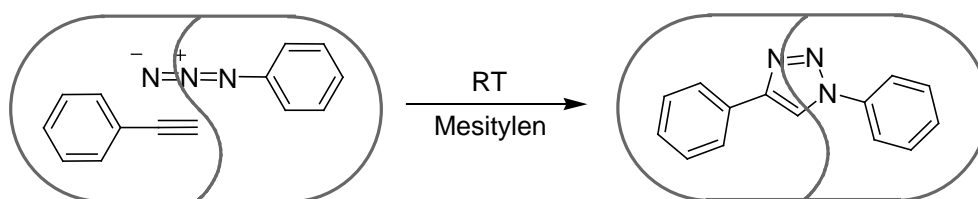


Abbildung 13: Durch Nanoreaktor beschleunigte regioselektive 1,3-dipolare Cycloaddition.

In dieser Funktion werden molekulare Kapseln auch als Nanoreaktoren bezeichnet. In den letzten Jahren lag das Interesse dabei vor allem bei nichtkovalent stabilisierten, aus selbstorganisierenden Bausteinen aufgebauten Systemen. Sie sind einfacher zu synthetisieren und erlauben im Allgemeinen einen besseren Gastaustausch, was insbesondere bei der Bildung höhermolekularer Produkte notwendig ist, da diese ansonsten irreversibel in der Kapsel gebunden wären und Carceplexe bilden würden.

Neben der Katalyse durch die Erhöhung der effektiven Konzentration, besteht die Möglichkeit, ein reaktives Zentrum in die Kapsel einzubauen oder einzulagern. Raymond et al. verkapselten den Übergangsmetallkomplex $[\text{Cp}^*(\text{PMe}_3)\text{Ir}(\text{Me})(\text{C}_2\text{H}_2)]^+$ (Abbildung 14), wonach dieser C-H Bindungen von Aldehyden und Ethern mit vorher nicht beobachteter Selektivität aktivierte.^[48] Die Reaktion fand dabei in der Kapsel statt, da größere Edukte, welche nicht ins Innere gelangen können, nicht umgesetzt wurden. Diese Umsetzung verläuft allerdings stöchiometrisch und nicht katalytisch.

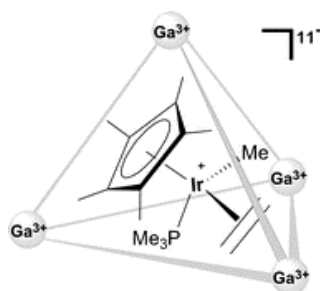


Abbildung 14: Verkapselter Iridiumkomplex.

Zu guter Letzt besitzen molekulare Kapseln einen hohen Stellenwert in der bioorganischen Chemie. Durch ihre Ähnlichkeit zu natürlichen Systemen, wie Rezeptoren und Enzymen, ermöglichen sie die Untersuchung biochemischer Vorgänge in synthetischen Analoga. Beide

bieten dem desolvatisierten Substrat in ihrem Hohlraum eine definierte Mikroumgebung, die für Selektivität und Effizienz katalysierter Reaktionen von entscheidender Bedeutung ist.^[36, 43]

Unter den Begriff „molekulare Kapsel“ fallen also eine Vielzahl verschiedenster Strukturen, die aufgrund ihrer ungewöhnlichen Eigenschaften, wie dem Aufspannen eines strukturell definierten Hohlraums, der Einlagerung von Gästen unter Abschirmung vom umgebenden Lösungsmittel und der Bildung kinetisch stabilisierter Komplexe interessante Anwendungsmöglichkeiten in Rezeptorentwicklung, Katalyse und Bioorganik bieten.

Diese Aspekte inspirierten mich, ausgehend von den in der Gruppe von S. Kubik als Anionenrezeptoren entwickelten Cyclopeptiden, neuartige molekulare Kapseln zu entwickeln.

2 Stand der Forschung

2.1 Strategien in der Kapselsynthese

In der Arbeitsgruppe von S. Kubik wurde 2001, inspiriert durch Arbeiten von Ishida et al.,^[49] das in Abbildung 15 dargestellte cyclische Hexapeptid **1** als Ionenrezeptor entwickelt. Es besteht aus alternierenden L-Prolin- und Aminopicolinsäureeinheiten, deren rigide cyclische Struktur eine Einschränkung der Ringflexibilität bewirkt. Aufgrund elektronischer Wechselwirkungen zwischen den Stickstoffatomen der Pyridinringe und der benachbarten Amid-NH-Gruppen liegt **1** bevorzugt in einer Konformation vor, in der die drei Amidprotonen ins Ringinnere weisen.^[50] Über diese komplexiert **1** in DMSO Anionen unter Bildung von 1:1 Komplexen.

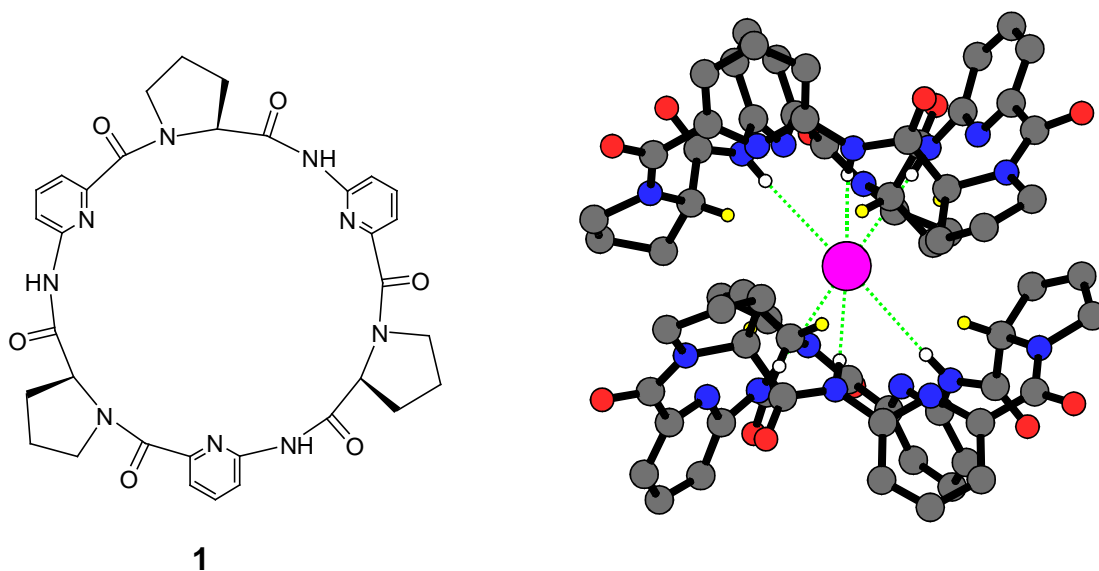


Abbildung 15: Struktur von Cyclohexapeptid **1** (links); Kristallstruktur des 2:1 Komplexes von **1** mit Iodid (rechts).

In wässrigen Lösungsmittelgemischen bildet **1** mit anorganischen Anionen, wie Sulfat oder Iodid, dagegen 2:1 Komplexe, indem es das jeweilige Anion in einen Hohlraum zwischen zwei Cyclopeptidringen einlagert. Das Anion bindet dabei über sechs Wasserstoffbrücken an die in den Hohlraum weisenden NH-Protonen (in Abbildung 15 grün gestrichelt dargestellt). Die beiden Cyclopeptide nähern sich dabei auf van-der-Waals-Abstand an, greifen Zahnrädern gleich ineinander und schirmen so das vollständig desolvatisierte Anion ab. Es handelt sich hier um eines der ersten neutralen Systeme, das Anionen in stark kompetitiven wässrigen Lösungen komplexieren kann. Die für wässrige Lösungsmittel außergewöhnlich hohe Komplexstabilität wird auf hydrophobe Effekte zwischen den Prolinringen der beiden

Cyclopeptidringe in dem 2:1 Komplex zurückgeführt. Darauf weist die im Gegensatz zur Bindungskonstante K_1 des 1:1 Komplexes bedeutend höhere Bindungskonstante K_2 bei Bildung des 2:1 Sandwichkomplexes hin.^[51, 52]

Gestützt wird diese Erklärung durch die Eigenschaften von Cyclopeptid **2**, das drei Hydroxyprolineinheiten besitzt (Abbildung 16) und in wässrigen Lösungsmitteln 1:1 Komplexe mit Anionen bildet. Ursache hierfür ist vermutlich die im Vergleich zu **1** höhere Energie, die zur Desolvatisierung der polarerer Hydroxyprolineinheiten notwendig ist, wodurch die Bildung eines zu den Sandwichkomplexen von **1** analogen Komplexes energetisch benachteiligt ist. Zusätzlich würde in einem Sandwichkomplex von **2** eine sterische Abstoßung zwischen den Hydroxygruppen der beiden Cyclopeptidringe auftreten.

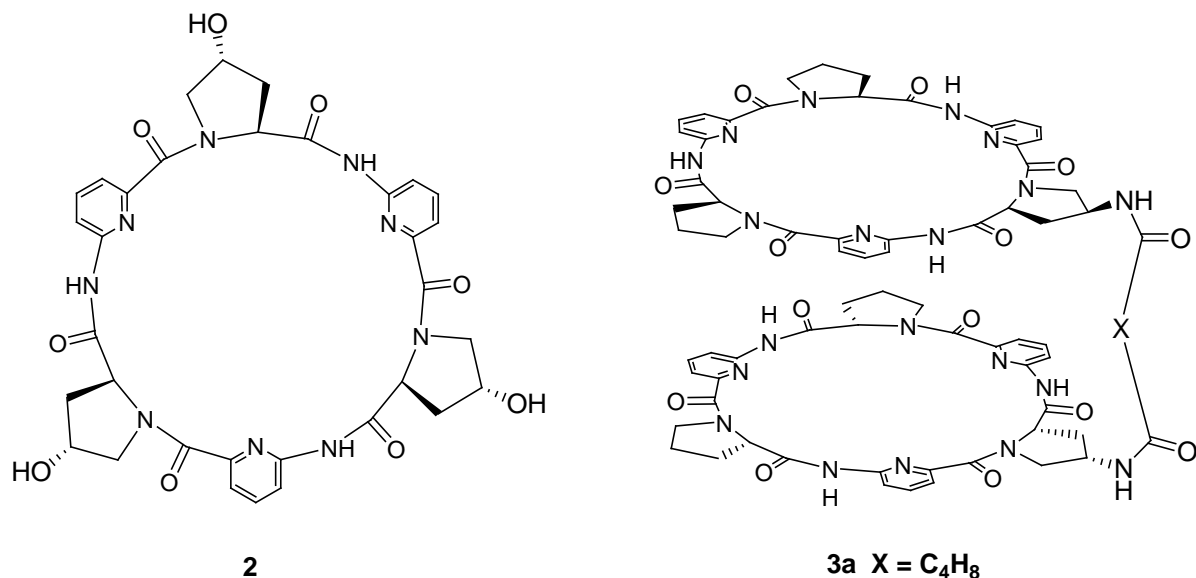


Abbildung 16: Cyclopeptid mit drei Hydroxyprolineinheiten **2** (links); einfach verbrücktes Bis(cyclopeptid) **3a** mit Adipinsäurelinker (rechts).

Bald nach dieser Entdeckung wurde das erste Bis(cyclopeptid) **3a** entwickelt, in dem zwei Cyclopeptide mit einem geeigneten Linker, in diesem Fall Adipinsäure, verbrückt wurden (Abbildung 16).^[52] Der Linker dient der Vororganisation der beiden Cyclopeptideinheiten und der entropischen Begünstigung des Sandwichkomplexes.

In dem betreffenden Rezeptor beteiligen sich beide Cyclopeptidringe kooperativ an der Anionenbindung. Aufgrund der strukturellen Analogie der 1:1 Komplexe von **3a**, in denen ein Anion wie eine Perle zwischen den beiden halbschalenförmigen Cyclopeptideinheiten gebunden wird, wurde diese Verbindung treffenderweise als molekulare Auster bezeichnet.^[52] Das strukturelle Design von **3a** basierte auf Molecular Modeling Studien, die zeigten, dass

sich die 4-Positionen der Prolinringe insbesondere für die kovalente Verbrückung eignen, wobei vorzugsweise 4-substituierte Prolinderivate mit einer *S*-Konfiguration am Substitutionsort verwendet werden sollten. Diese Prolinderivate sind auf einfache Weise aus dem natürlichen 4*R*-Hydroxyprolin durch Substitution der Hydroxygruppe unter Inversion (nach vorheriger Überführung in eine Abgangsgruppe) zugänglich. 4*S*-Aminoprolin besitzt in diesem Zusammenhang den Vorteil, dass die Aminogruppe unter den Standardbedingungen von Peptidkupplungsreaktionen mit geeigneten Carbonsäuren umgesetzt werden kann. Adipinsäure als Linker hat die geeignete Länge und Flexibilität, um die kooperative Wirkung zweier daran gebundener Cyclopeptideinheiten in der Anionenkomplexierung zu ermöglichen.

Wie erwartet übersteigt die Effizienz, mit der **3a** Anionen bindet, aufgrund des Wechsels der Komplexstöchiometrie, die von **1** signifikant. In folgenden Untersuchungen wurde systematisch der Einfluss der Linkerstruktur auf die Bindungseigenschaften solcher Bis(cyclopeptide) untersucht. Hierbei kamen zum einen Bis(cyclopeptid)derivate zum Einsatz, in denen zwei Cyclopeptide mit einer 4*S*-Aminoprolinuntereinheit mit Dicarbonsäuren unterschiedlicher Struktur und Flexibilität verbunden wurden (Abbildung 17).

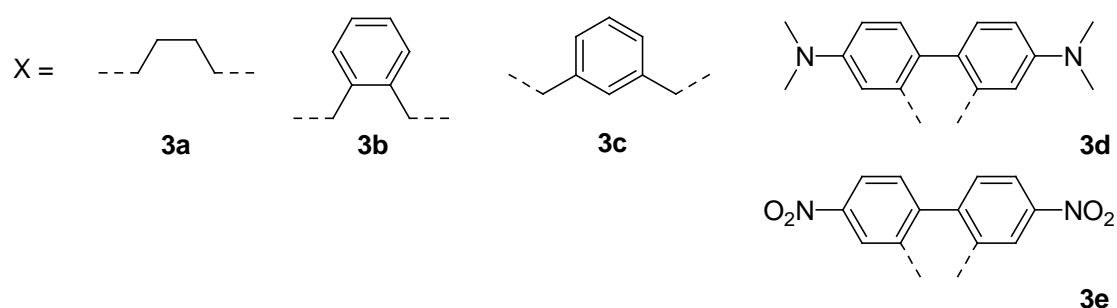
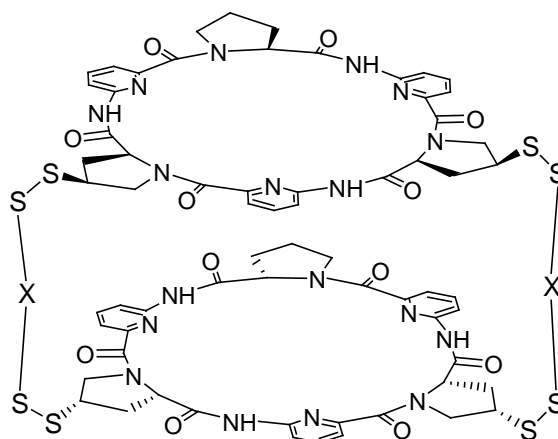


Abbildung 17: Beispiele für im einfach verbrückten Bis(cyclopeptid) **3** eingesetzte Linker.

Es zeigte sich, dass die Struktur der Linker zwar die enthalpischen und entropischen Beiträge zur Anionenbindung der jeweiligen Bis(cyclopeptide) signifikant beeinflusst, dass aber aufgrund von Enthalpie/Entropie-Kompensation die Bindungsaffinität bei Veränderung der Linkerstruktur insgesamt nur in relativ kleinen Bereichen (ca. eine Größenordnung) variiert.^[53, 54]

Für die Optimierung der Linkerstruktur wurde basierend auf einer anderen Bis(cyclopeptid)struktur auch die dynamische kombinatorische Chemie eingesetzt, die die

bisher effizientesten Anionenrezeptoren lieferte. In diesem Zusammenhang untersuchte Carsten Reyheller im Rahmen seiner Dissertation zusammen mit Zaida Rodriguez-Docampo in Cambridge auch den Einfluss der Anzahl der Linker auf die Bindungseigenschaften.^[53] Es zeigte sich, dass Bis(cyclopeptide) mit zwei Linkern der in Abbildung 18 gezeigten Struktur vermutlich aufgrund der besseren Vororganisation erheblich stabilere Anionenkomplexe bilden als einfach verbrückte Analoga.



4

Abbildung 18: Allgemeine Struktur eines zweifach über Disulfide verbrückten Bis(cyclopeptids).

Ausgehend von diesen Erfahrungen im Rezeptordesign entwickelte sich ein großes Interesse an einem symmetrischen, mit drei Linkern verbrückten Bis(cyclopeptid), idealerweise dem direkten Analogon von **3a**. Diese molekulare Kapsel könnte durch ihre rigide Struktur verbesserte Anionenaffinitäten und -selektivitäten im Vergleich zu dem einfach verbrückten Rezeptor aufweisen oder Anionen sogar permanent in ihrem Hohlraum einschließen.

Die Synthese von komplexen dreidimensionalen Strukturen, wie einer molekularen Kapsel, ist jedoch normalerweise nicht trivial. So führt die Umsetzung der für den Aufbau notwendigen polyvalenten Vorstufen meist zu einer Mischung verschiedener Produkte, darunter auch dreidimensional vernetzter Oligomere und Polymere, und das gewünschte Produkt fällt unter Umständen nur in geringen Mengen an. Dabei wird das Produktverhältnis unter anderem durch die Konzentrationen der Vorstufen beeinflusst. Je höher die Eduktkonzentration ist, desto mehr höhermolekulare Nebenprodukte entstehen.

In der Vergangenheit wurden allerdings eine Reihe leistungsfähiger Synthesestrategien für Containermoleküle entwickelt. Dabei unterscheidet man zwei prinzipielle Herangehensweisen:

Die erste Herangehensweise ist die Synthese unter thermodynamischer Kontrolle.

Diese Strategie basiert auf der Verwendung von reversiblen Reaktionen, die zur Bildung des gewünschten Produkts verwendet werden. Als Konsequenz befinden sich alle im Reaktionsgemisch vorhandenen Komponenten, sowohl Edukte als auch oligomerisierte und polymerisierte Produkte sowie Reagenzien, nach einer gewissen Zeit in einem thermodynamischen Gleichgewicht. Dieses ist schematisch in Abbildung 19a am Beispiel der Synthese einer Kapsel dargestellt.

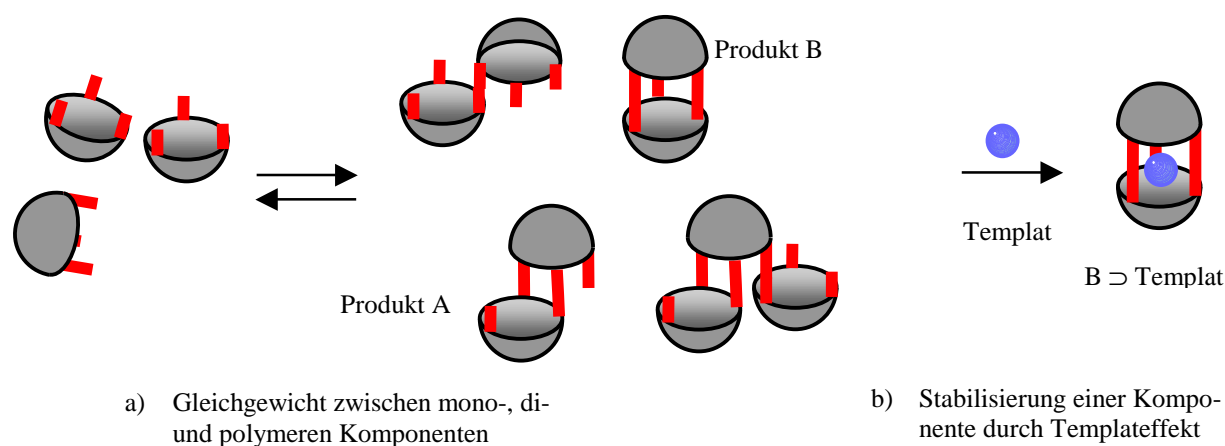


Abbildung 19: Synthese einer Kapsel unter thermodynamischer Kontrolle.

Für die Lage des Gleichgewichts ist die thermodynamische Stabilität aller in der Reaktionsmischung enthaltener Komponenten wichtig. Da das Gesamtsystem dazu strebt, seine freie Enthalpie ΔG zu minimieren, hängt die Produktverteilung direkt von der Stabilität der entstehenden Produkte ab. Im Idealfall handelt es sich bei dem gewünschten Produkt (in Abbildung 19 als B bezeichnet) um die stabilste Verbindung, wodurch es als Hauptprodukt gebildet wird. Das Reaktionsprofil einer solchen Reaktion ist in Abbildung 20a dargestellt.

Falls im Gleichgewicht eine Mischung von Produkten ähnlicher Stabilität vorliegt oder das Hauptprodukt nicht dem Zielprodukt entspricht, muss man durch äußere Einflüsse gezielt das Gleichgewicht zugunsten der gewünschten Verbindung verschieben. Reversible Reaktionen bieten die Möglichkeit, die Produktverteilung durch äußere Einflüsse zu verändern. So sind reversible Reaktionen im Allgemeinen sensitiv gegenüber pH-, Temperatur-, Druck-, Lösungsmittel- und Konzentrationsänderungen, sowie der Zugabe von Templaten.^[55]

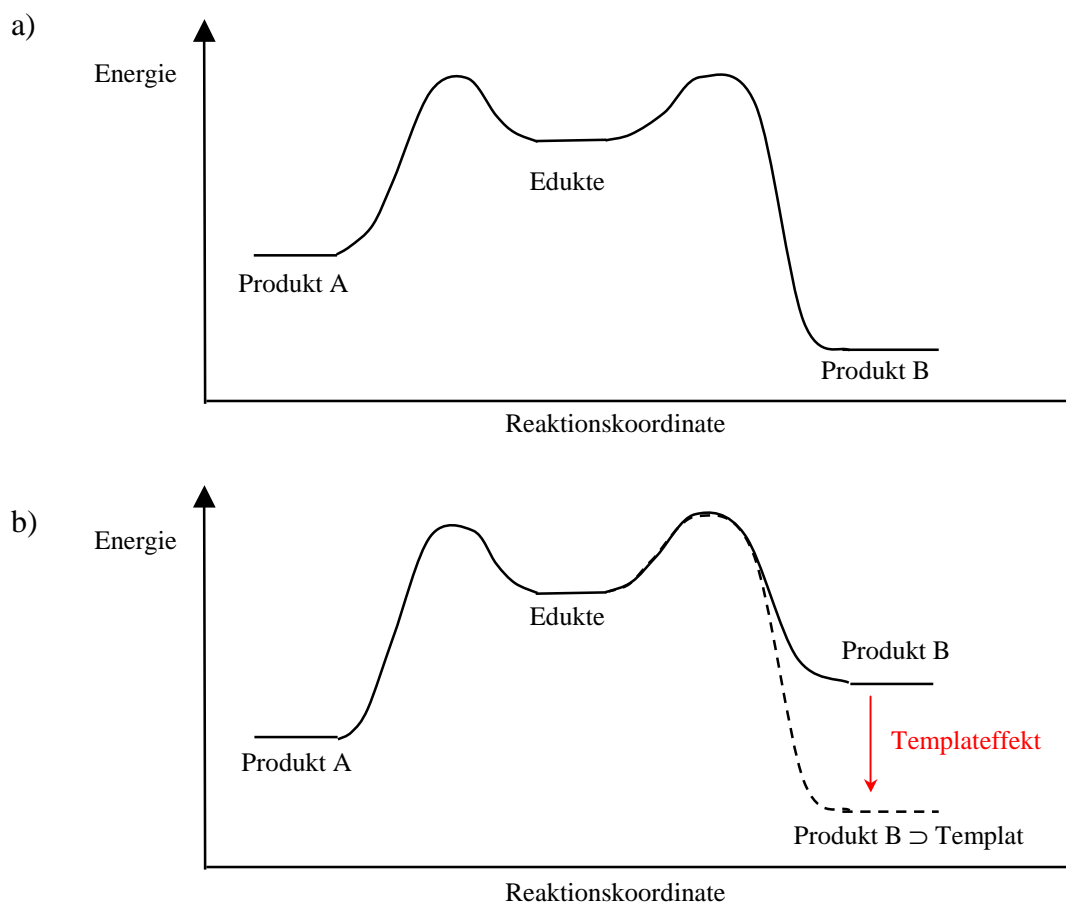


Abbildung 20: Thermodynamische Reaktionskontrolle: Energiediagramm a) ohne b) mit Templateffekt. Die Energie von Produkt B wird durch Bildung eines Komplexes mit dem Templat verringert.

Der Templateffekt kann angewendet werden, wenn eine der Komponenten, hier die gewünschte Verbindung B, mit dem Templat wechselwirkt. In diesem Fall bildet sich bei Zugabe des Templats der entsprechende Komplex $B \supset \text{Templat}$. Verbindung B wird also dem Gleichgewicht entzogen und muss gemäß dem Prinzip von Le Chatelier nachgebildet werden. Das Gleichgewicht verschiebt sich auf diese Weise zugunsten des gewünschten Produkts (Abbildung 20b).

Diese Vorgehensweise setzt allerdings voraus, dass die zum Aufbau der Produkte notwendigen reversiblen Reaktionen mit den für die nicht-kovalente Wechselwirkung mit dem Templat erforderlichen funktionellen Gruppen kompatibel sind. Ferner müssen die Reaktionen schnell genug ablaufen, um eine Einstellung des Gleichgewichts in akzeptabler Zeit zu gewährleisten. Es müssen milde Reaktionsbedingungen herrschen, da der

Templateffekt auf nichtkovalenten Wechselwirkungen beruht, die durch Temperaturerhöhung geschwächt werden.

Zudem muss darauf geachtet werden, dass im Verlaufe der Reaktion keine unerwünschten Nebenprodukte aus der Reaktionsmischung ausfallen, da hierdurch die Gleichgewichtslage ebenfalls beeinflusst wird und für die Produktbildung notwendige Edukte dem Gleichgewicht entzogen werden. Schließlich sollte man durch Veränderung der Reaktionsbedingungen (Änderung des pH-Wertes, Entfernen eines Katalysators, Senkung der Temperatur) erreichen können, dass die zugrundeliegende reversible Reaktion nach der Produktbildung zum Erliegen kommt, so dass man das gewünschte Produkt als stabile Verbindung aus der Reaktionsmischung abtrennen kann.^[56]

Dieses Konzept der Ausnutzung reversibler Reaktionen ist als dynamische kovalente Chemie (DCC) bekannt.^[55] Der große Vorteil dieses Prinzips besteht in der Möglichkeit, dass unerwünschte Nebenprodukte im Reaktionsverlauf in die gewünschten Produkte übergehen können. In der Literatur bezeichnet man dies als „*error-checking*“ oder „*proof-reading*“.^[55] Aufgrund ihrer Vorzüge bei der Synthese komplexer Verbindungen wurde die dynamische kovalente Chemie bereits zur Herstellung von Käfigmolekülen eingesetzt.^[57-59]

Die zweite Möglichkeit zum Aufbau komplexer Strukturen, wie molekularer Kapseln, ist die Synthese unter kinetischer Kontrolle.

Hierbei werden im Unterschied zur vorigen Strategie irreversible Reaktionen verwendet bzw. Reaktionen, deren Rückreaktionen unter den gegebenen Bedingungen so langsam verlaufen, dass sich kein Gleichgewicht einstellt. Bei Reaktionen unter kinetischer Kontrolle hängt die Produktverteilung nicht von der Stabilität der Produkte ab, sondern von den relativen Geschwindigkeiten, mit denen sie gebildet werden. Da Produkt- und Nebenproduktbildung bei solchen Reaktionen jedoch in der Regel auf derselben Reaktion basiert, sind beide Reaktionswege näherungsweise gleich schnell und die Produktverteilung ist von statistischen Faktoren abhängig und von der Wahrscheinlichkeit, mit der zwei funktionelle Gruppen reagieren. Wenn allerdings bei der Produkt- und Nebenproduktbildung Übergangszustände deutlich unterschiedlicher freier Enthalpie durchlaufen werden, z.B. weil der Übergangszustand, der zu einem Makrozyklus führt, deutlich gespannter ist, als der der zum linearen Produkt führenden Konkurrenzreaktion, können zwei Reaktionen mit unterschiedlicher Geschwindigkeit ablaufen. Ebenso spielen Unterschiede bei sterischen oder elektronischen Wechselwirkungen, sowohl inter- als auch intramolekular, eine Rolle.

Dies kann man am Beispiel der Synthese einer molekularen Kapsel veranschaulichen (Abbildung 19): Die erste Verbrückung zweier Monomere zum Dimer ist noch unabhängig davon, welche funktionellen Gruppen miteinander reagieren. Durch die erste Verbrückung in räumliche Nähe gebracht, ist die effektive Molarität der restlichen funktionellen Gruppen nun stark erhöht und die Wahrscheinlichkeit einer intramolekularen Reaktion größer.

Die Bildung der zweiten Brücke sollte also schneller erfolgen, als die der ersten. Bei korrekter Bildung der ersten beiden Brücken kann danach in einer weiteren intramolekularen Reaktion die fertige Kapsel gebildet werden. Erfolgte die Bildung der ersten beiden Brücken aber so, dass die beiden Kapselhälften nicht in der notwendigen übereinanderliegenden Anordnung, sondern versetzt verbrückt werden (Abbildung 19, Produkt A), können die verbleibenden funktionellen Gruppen nicht mehr intramolekular miteinander reagieren. Da dieser Fehler aufgrund der Irreversibilität der Reaktion nicht korrigiert werden kann, bleibt die entsprechende Verbindung als Nebenprodukt zurück oder stellt den Ausgangspunkt für weitere intermolekulare Reaktionen dar, die zu polymeren Nebenprodukten führen. Schließlich kann auch der Fall auftreten, dass die intramolekulare Reaktion zweier funktioneller Gruppen nach primärer Bildung des einfach verknüpften Intermediats aufgrund einer ungünstigen Anordnung langsam oder im schlechtesten Fall gar nicht erfolgt. Auch dann wird das gewünschte dreifach verbrückte Produkt nicht erhalten.

Bei der Nutzung irreversibler Reaktionen für Kapselsynthesen kann man ebenfalls Templateffekte ausnutzen, um die Produktausbeute zu verbessern. Die Template stabilisieren in diesem Fall die Anordnung der beiden Kapselhälften, die für die Kapselbildung notwendig ist (Abbildung 21). Hierdurch wird die Reaktionsgeschwindigkeit der Kapselbildung erhöht (bereits der erste Schritt ist quasi ein intramolekularer Prozess) und die Wahrscheinlichkeit der Bildung unerwünschter Nebenprodukte verringert. Die Beschleunigung der Bildung des gewünschten Produkts kann im Energieprofil der Reaktion mit der Absenkung der für die Reaktion notwendigen Aktivierungsenergie korreliert werden. Dies ist in Abbildung 22 am Beispiel einer Reaktion mit zwei konkurrierenden Reaktionswegen gezeigt.

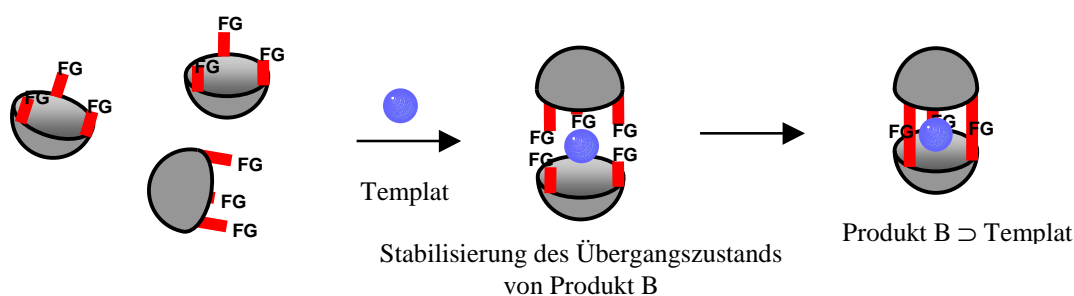


Abbildung 21: Synthese einer Kapsel unter kinetischer Kontrolle und Ausnutzung eines Templateffekts.

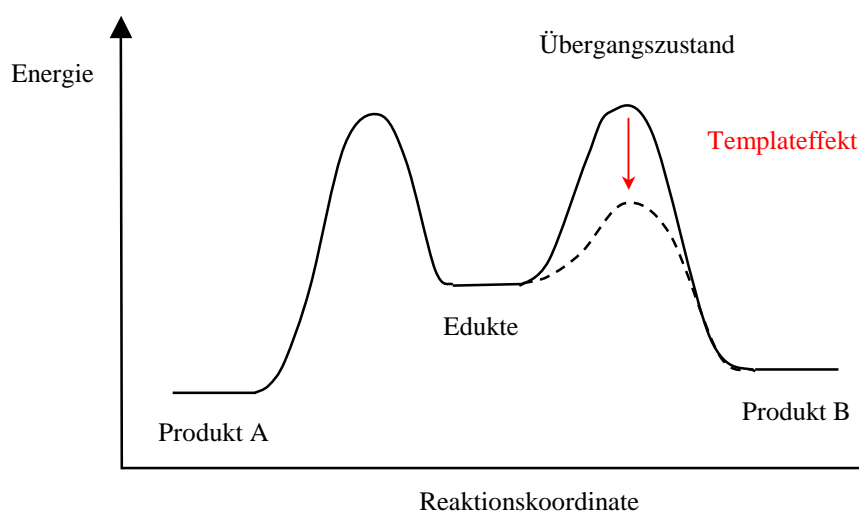


Abbildung 22: Kinetische Kontrolle: Das Templat stabilisiert einen Übergangszustand und verringert dadurch dessen Aktivierungsenergie.

2.2 Kupplungsreaktionen in der Kapselsynthese

Zwei typische Reaktionen, die zur Herstellung von Kapseln eingesetzt werden können, sind die Olefinmetathese und die 1,3-dipolare Cycloaddition von Alkinen und Aziden (Abbildung 23). Sie unterscheiden sich dadurch, dass es sich bei der Olefinmetathese um eine reversible Reaktion handelt, während die 1,3-dipolare Cycloaddition unter den konventionellen Reaktionsbedingungen irreversibel verläuft. Diese Reaktionen ermöglichen, wie im obigen Kapitel vorgestellt, Kapselsynthesen unter thermodynamischer bzw. unter kinetischer Kontrolle, und spielen für die im Rahmen meiner Arbeit durchgeführten Untersuchungen eine wichtige Rolle. Daher sollen sie und ihr Einsatz in der Synthese molekularer Container im Folgenden kurz vorgestellt werden.

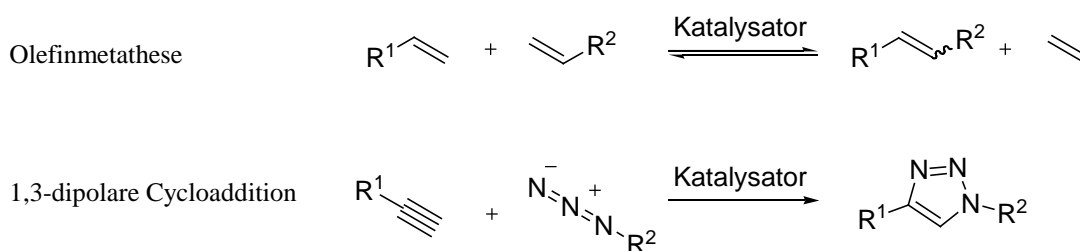


Abbildung 23: In der Kapselsynthese verwendete Kupplungsreaktionen.

2.2.1 Grundlagen der Metathesereaktion

Die Olefinmetathese hat als Methode zur C-C-Bindungsknüpfung einen sehr hohen Stellenwert in der Organischen Chemie erlangt.^[60-65] Nicht erst seit der Vergabe des Nobelpreises für Chemie im Jahre 2005 an die Forscher Chauvin, Schrock und Grubbs^[66-68] wurde der formal wechselseitige Austausch der Alkylidengruppen zweier Alkene zu einem unverzichtbaren Baustein der Synthesechemie. Durch die Entwicklung immer leistungsfähigerer Katalysatoren wuchs ebenso ihre Bedeutung in der dynamisch kovalenten Chemie.^[65] Die Olefinmetathese besitzt den Vorteil, dass in den Edukten keine speziellen funktionellen oder aktivierenden Gruppen vorhanden sein müssen, sondern direkt zwei Olefine miteinander umgesetzt werden. Darüber hinaus toleriert sie eine Vielzahl anderer funktioneller Gruppen und ermöglicht durch ihre milden Bedingungen die Reaktionsführung unter thermodynamischer Kontrolle.

Je nach verwendetem Edukt unterscheidet man bei der Olefinmetathese verschiedene Reaktionstypen (Abbildung 24). Die Ringschlussmetathese (RCM, *ring closing metathesis*) eines acyclischen Diens ist eine zuverlässige Methode, um Ringsysteme verschiedener Größe aufzubauen. Gerade bei kleinen und mittleren Ringen verläuft sie aufgrund der thermodynamischen Stabilität der gebildeten Ringe mit hohen Ausbeuten.

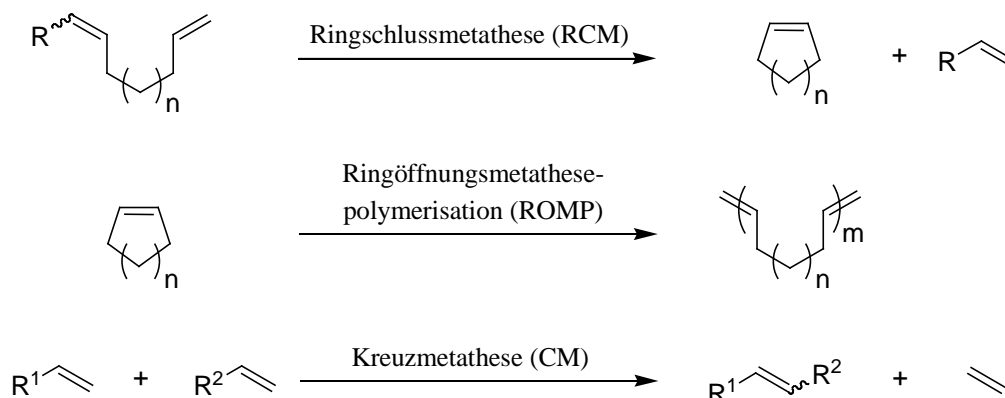


Abbildung 24: Grundlegende Typen der Metathesereaktion.

Bei großen Ringen kann es hingegen zur Bildung von Di- oder Oligomeren kommen.^[69, 70] In diesem Fall muss die Reaktion in stark verdünnter Lösung durchgeführt werden.

In der Ringöffnungsmetathesepolymerisation (ROMP, *ring opening metathesis polymerisation*) werden cyclische Olefine zu langkettigen Polymeren umgesetzt. Als

Substrate werden, wie beispielsweise im Norsorex-Prozess, häufig Derivate des Norbornens eingesetzt, da die freiwerdende Ringspannung die Haupttriebkraft für die Reaktion liefert.

Die Kreuzmetathese (CM, *cross metathesis*) zwischen zwei verschiedenen Olefinen eignet sich dagegen weniger gut zur gezielten Synthese. Sie hat das grundlegende Problem, dass neben dem heterodimeren Produkt ebenso Homodimere mit in der Regel statistischer Verteilung gebildet werden.^[71] Chatterjee gelang es, Olefine aufgrund sterischer und elektronischer Effekte zu klassifizieren und ein empirisches Modell für die Vorhersage der Selektivität von Kreuzmetathesereaktionen zu entwickeln.^[72]

Wie viele metallkatalysierte Reaktionen, wurde die Metathesereaktion durch Zufall entdeckt. So fand man heraus, dass Ziegler-Katalysatoren nicht nur die bekannte Additionspolymerisation ermöglichen, sondern auch Propen zu Ethen und 2-Buten umsetzen können. Ebenso bekannt war die noch heute verwendete katalysierte Polymerisation von cyclischen Alkenen, wie Norbornen.

Nach vielen, in den fünfziger und sechziger Jahren postulierten Mechanismen, stellten Yves Chauvin und sein Student Hérisson 1971 den noch heute gültigen Mechanismus der Alkenmetathese auf, der die verschiedenen Reaktionen erklären konnte.^[73] Der katalytische Zyklus ist in Abbildung 25 gezeigt.

Die Kettenreaktion beginnt demnach in einem vorgelagerten Initiierungsschritt durch Umsetzung des Präkatalysators mit einem Alken. Da die eingesetzten Präkatalysatoren in der Literatur zumeist als Katalysator bezeichnet werden, habe ich diese Bezeichnung der Verständlichkeit halber übernommen. Die im Initiierungsschritt gebildete aktive Spezies reagiert dann in einer [2+2]-Cycloaddition mit einem Alken zu einem Metallacyclobutan, welches anschließend in einer [2+2]-Cycloreversion unter Abspaltung von Ethen in ein weiteres Carben zerfällt. In einem zweiten Schritt des Kettenmechanismus erfolgt unter Verbrauch eines weiteren Eduktmoleküls die Bildung des Produkts sowie die Wiederherstellung des ursprünglichen Katalysators. Die intermediär gebildeten Metallacyclobutane können sowohl wie dargestellt produktiv, als auch unproduktiv zurück zu ihren Edukten zerfallen. Darin liegt die Reversibilität der Teilschritte und somit auch des gesamten Zyklus begründet. Da alle in der Reaktionsmischung enthaltenen Olefine, also unter Einschränkung auch bereits gebildete Produkte, in den Katalysezyklus eintreten können, ist die Ausbeute der Metathese durch die Lage des thermodynamischen Gleichgewichts limitiert. Bei der in Abbildung 25 gezeigten Umsetzung terminaler Olefine, die am häufigsten als Substrate Verwendung finden, entsteht als Nebenprodukt Ethen, ein leicht flüchtiges Gas.

Durch das Entfernen dieses Nebenprodukts aus der Reaktionsmischung wird das Gleichgewicht auf die rechte Seite verschoben.

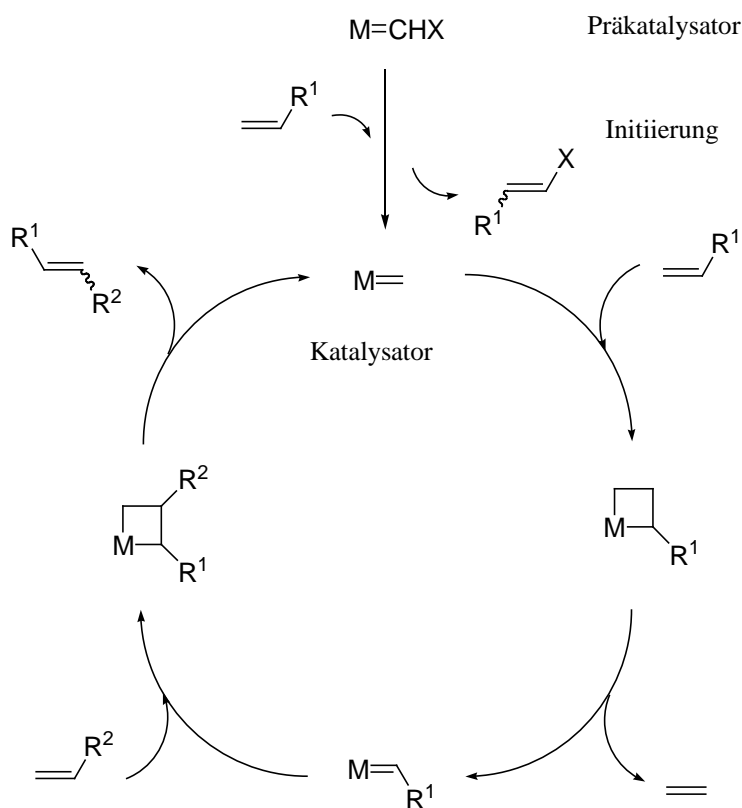


Abbildung 25: Katalysezyklus der Olefinmetathese.

Den Wiedereintritt eines Produkts in den Katalysezyklus bezeichnet man als sekundäre Metathese. Da die Metathese terminaler Olefine zu höhersubstituierten Produkten führt, wird das Auftreten der sekundären Metathese vor allem von der Reaktivität des Katalysators bestimmt. Während neuere Katalysatoren in der Lage sind, sogar tetrasubstituierte Doppelbindungen umzusetzen,^[74] kann die eingeschränkte Reaktivität mancher Katalysatorsysteme von synthetischem Vorteil sein. Beispielsweise nutzt man unreaktivere Katalysatoren für Ringschlussmetathesen, bei denen eine weitere Reaktion des Produkts zu höher substituierten Olefinen nicht wünschenswert ist. In diesem Fall verläuft die Reaktion irreversibel und unter kinetischer Kontrolle. Generell darf der kinetische Einfluss bei der Metathese niemals ganz vernachlässigt werden.^[60] Zusätzlich wirkt sich eine sekundäre Metathese und die damit einhergehende Reversibilität der Gesamtreaktion auf die Selektivität und die Produktverteilung der Reaktion aus. Dabei gilt; je reaktiver ein Katalysator ist, desto größer ist die Menge des sich bildenden, thermodynamisch stabileren E-Isomers, da zwischenzeitlich entstandenes Z-Isomer zurückreagieren kann.^[71] Im Allgemeinen hat das

Edukt jedoch einen viel größeren Einfluss auf die Stereoselektivität der Reaktion, als der verwendete Katalysator. Das Einbringen von sterisch anspruchsvollen Gruppen in die Allylposition des Edukts macht es zum Beispiel möglich, das Gleichgewicht stark in Richtung E-Isomer zu verschieben.

Die Entdeckung, dass Metallalkylidenkomplexe die katalytisch aktive Spezies der Olefinmetathese sind, leitete ab den 70er Jahren die Entwicklung neuer definierter Carben-basierter Katalysatoren ein. Die von Schrock entwickelten Systeme mit Molybdän oder Wolfram als Metallzentrum besitzen eine hohe Reaktivität, haben aber den großen Nachteil der hohen Empfindlichkeit gegenüber Feuchtigkeit und Sauerstoff, sowie der nur mäßigen Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen im Substrat.

Die ersten von Grubbs auf Basis von Ruthenium entwickelten Katalysatoren sind bedeutend stabiler und tolerieren mehr funktionelle Gruppen, besitzen aber eine geringere Aktivität als die Systeme von Schrock.

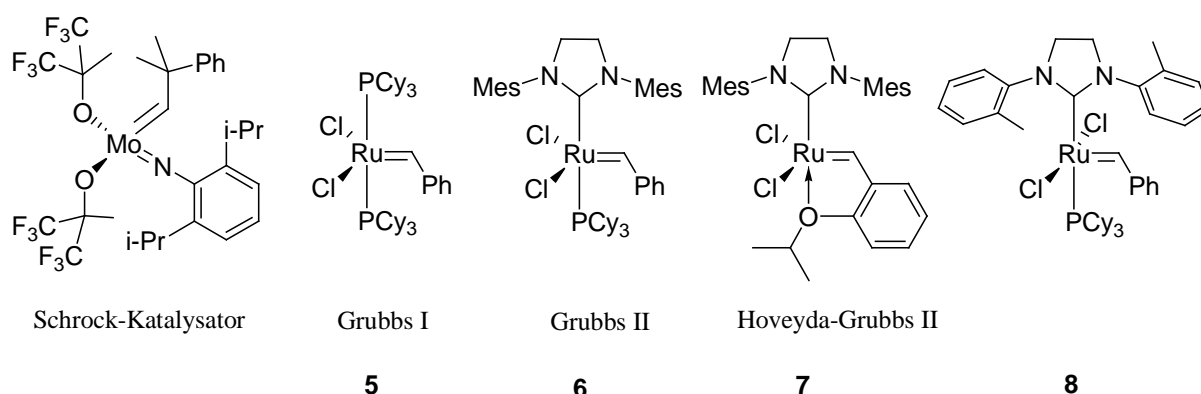


Abbildung 26: Metathesekatalysatoren.

Die Gruppen von Nolan, Grubbs^[75], Brückner, Fürstner^[76] und Herrmann^[77] arbeiteten daraufhin zeitgleich an einer Optimierung des Grubbs Katalysators der ersten Generation **5** durch strukturelle Variation der Liganden.^[78] Der Austausch eines labilen Phosphinliganden gegen den stabileren und sterisch anspruchsvolleren N-heterocyclischen-Carben-Liganden (NHC-Liganden) führte zum Grubbs Katalysator der zweiten Generation **6** (Abbildung 26).^[75] Die deutlich höhere Reaktivität, thermische Stabilität und Resistenz gegenüber äußeren Einflüssen wie Sauerstoff und Feuchtigkeit im Vergleich zum ursprünglichen Katalysator **5** führte zu einer breiten Anwendbarkeit, die auch Metathesen in polaren Lösungsmitteln, wie Methanol oder sogar Wasser, ermöglichen.^[79]

Eine Weiterentwicklung zu noch stabileren Katalysatoren stellt die Arbeit von Hoveyda et al. dar.^[80] Durch die Substitution des Phenylcarbenliganden mit einer koordinierenden OⁱPr-Gruppe reagiert dieser nach Abspaltung und Umsatz des Substrates mit der aktiven Rutheniumspezies zurück zum Präkatalysator **7**. Der Hoveyda-Grubbs Katalysator der zweiten Generation **7** ist daher so stabil, dass er nach der Reaktion sogar chromatographisch zurückgewonnen werden kann.^[64]

Im Regelfall verbrauchen sich die Katalysatoren allerdings während der Reaktion und können nicht unverändert zurückgewonnen werden, weswegen sie eher als Initiatoren bezeichnet werden sollten.^[65]

Neuere Arbeiten befassen sich vor allem mit der Verbesserung der Katalysatorsysteme in Bezug auf Reaktivität (besonders für sterisch stark gehinderte Substrate), Stereoselektivität, Stabilität und Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen.^[60,78,81,82] Ein weiterer Ansatz ist die Immobilisierung an Festphasen, um durch die heterogene Katalyse Anwendung und Aufarbeitung zu erleichtern.^[83-85]

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die kommerziell erhältlichen Katalysatoren der zweiten Generation schon in einer Vielzahl von Synthesen erfolgreich eingesetzt wurden, jedoch nicht immer die optimale Lösung darstellen. Viele der neueren Systeme haben sich in speziellen Anwendungen als die bessere Option erwiesen. Letztendlich lässt sich nur schwer vorhersagen, welcher Katalysator in einer gegebenen Reaktion die beste Wahl ist.

2.2.2 Beispiele für Metathesereaktionen

Aufgrund ihrer Vielseitigkeit wurde die Olefinmetathese in der Totalsynthese verschiedenster Naturstoffe^[65] und dabei vor allem in der Ringschlussreaktion von Makrozyklen eingesetzt.^[69]

Auch im Aufbau molekularer Kapseln fand sie mehrfach Verwendung.^[86,87]

Ein für meine Arbeiten wichtiges Beispiel ist die in Abbildung 27 dargestellte dimere Kapsel von Ghadiri.^[88,89] Er verband zwei Cyclooctapeptide, die mit jeweils zwei Olefinseitenketten funktionalisiert waren, über zwei Brücken zu einem Zylinder, und zeigt damit die Kompatibilität der Metathesereaktion mit den verwendeten cyclischen Peptiden. Die Umsetzung gelang jedoch nur in unpolaren Lösungsmitteln, in denen die beiden cyclischen Peptide durch intermolekulare Wasserstoffbrücken zwischen den Amidgruppen der Peptidgerüste eine vororganisierte, dimere Struktur einnahmen, welche die Reaktion begünstigte.

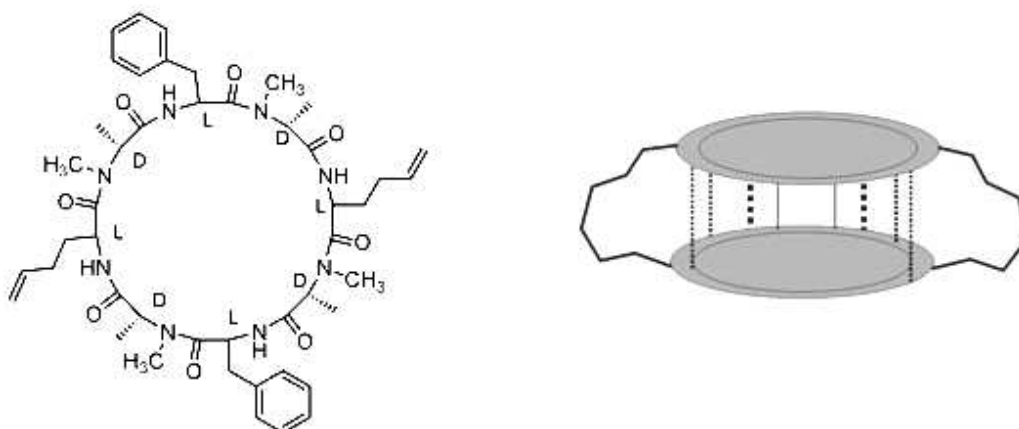


Abbildung 27: Molekulare Kapsel von Ghadiri: Monomer (links) und Schema des Dimers (rechts).

Dieses Zusammenspiel von nichtkovalenten Wechselwirkungen (in diesem Fall der Assoziation zweier Moleküle) und anschließender Bildung kovalenter Bindungen wird „*Covalent Capture*“ genannt.^[90]

Ein weiteres Beispiel stellt die interessante Arbeit von Martinez und Astruz dar, die in einer zweistufigen Metathesereaktion eine dreifach verbrückte Kapsel synthetisierten (Abbildung 28).^[91] Im ersten Schritt erfolgte die intramolekulare Reaktion zweier Allylseitenketten mit **5**. Dann wurden die verbliebenen Allylseitenketten mit dem aktiveren Katalysator **6** intermolekular zur Kapsel umgesetzt. Anschließend wurden die Doppelbindungen wegen einer uneinheitlichen Stereoisomerie zu einem symmetrischen Produkt hydriert.

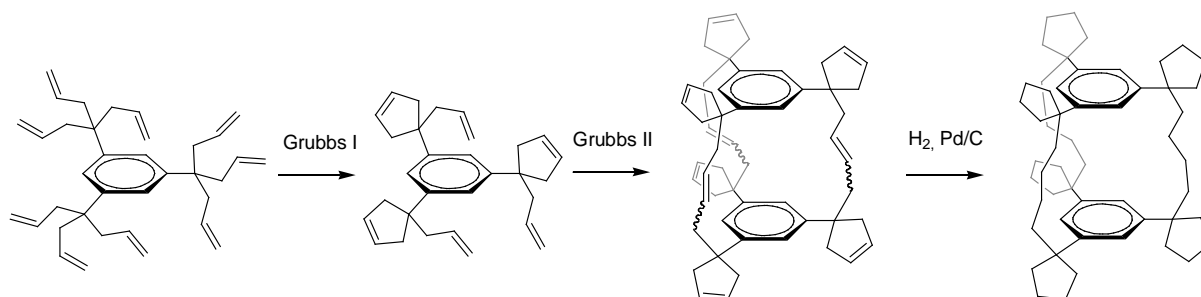


Abbildung 28: Bildung einer Kapsel mittels zweistufiger Metathesereaktion.

2.2.3 Nebenreaktionen bei Olefinmetathesen

Nebenreaktionen, die bei der Umsetzung von Olefinen mit Metathesekatalysatoren auftreten, wurden bereits in einigen Fällen beschrieben. Zumeist handelt es sich dabei um Isomerisierungsreaktionen terminaler Olefine zu internen Olefinen. In der nachfolgenden Metathesereaktion führen diese dann unter Abspaltung von Propen statt Ethen zu kürzerkettigen Produkten^[92] oder im Falle einer Ringschlussreaktion zu Ringkontraktionen^[93,94] (Abbildung 29). Zusätzlich zur Verringerung der Bruttoausbeute besteht ein weiteres Problem darin, dass die entstehenden Nebenprodukte oft nur schwer von den strukturell sehr ähnlichen Zielprodukten abzutrennen sind.

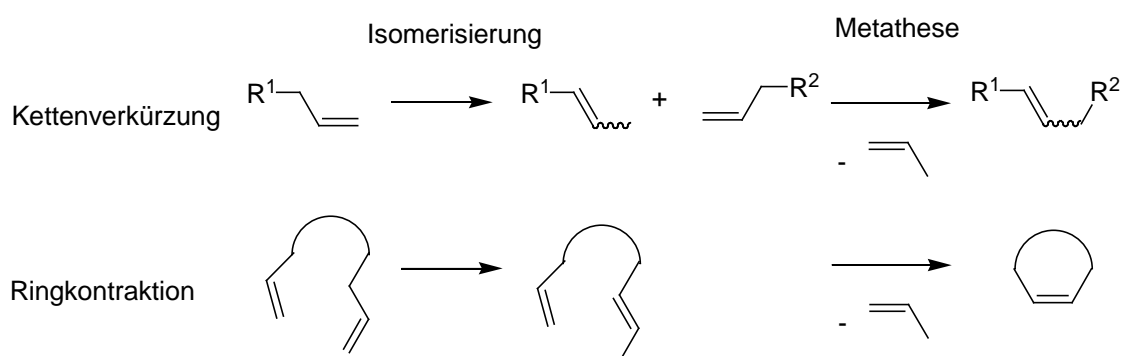


Abbildung 29: Doppelbindungsisomerisierung als Nebenreaktionen bei der Metathese.

Bei der Vielzahl von Anwendungen der Olefinmetathese und entsprechend zahlreicher Publikationen sind dokumentierte Nebenreaktionen jedoch nur eine Randerscheinung. Die genaue Ursache der Nebenreaktionen ist noch nicht hinreichend aufgeklärt, tritt sie doch bei verschiedensten Substraten, Reaktionstypen und Katalysatoren auf. Vermutlich werden sie durch Rutheniumhydrid-Komplexe verursacht, die bei Abbaureaktionen der Grubbs-Katalysatoren entstehen, oder bereits als Verunreinigung enthalten sind.^[95-97] Metallhydrid-katalysierte Isomerisierungsreaktionen anderer Übergangsmetalle sind bekannt und werden auch in Synthesen eingesetzt. Die Triebkraft der Umlagerung besteht dabei in der höheren Stabilität der gebildeten internen Olefine (Abbildung 30).

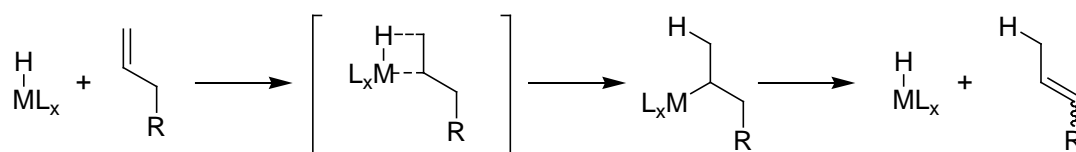


Abbildung 30: Möglicher Mechanismus der Metallhydrid-katalysierten Doppelbindungsisomerisierung.

Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass die Katalysatoren selbst unter bestimmten Bedingungen Nebenreaktionen hervorrufen. Isomerisierungsreaktionen wurden mit allen gebräuchlichen Katalysatoren wie **5**, **6** und **7** beobachtet, wobei die Nebenreaktionen bei Temperaturerhöhung zunehmen.^[92,98,99] Auch die Anwesenheit von Alkoholen oder Sauerstoff verursacht Isomerisierungsreaktionen durch Begünstigung von Abbaureaktionen der Katalysatoren.^[98,100,101]

Diese Beobachtungen führten zur Entwicklung von Tandem Metathese-Doppelbindungsisomerisierungs-Sequenzen,^[102] in welchen die Metathesekatalysatoren nach erfolgter Substratumsetzung in situ durch Temperaturerhöhung,^[103] Zugabe von Methanol,^[104] oder Verwendung einer Wasserstoffatmosphäre bzw. anorganischer Hydride^[105] gezielt zu Rutheniumhydridverbindungen umgesetzt werden und anschließend in einer Eintopfreaktion eine Doppelbindungsisomerisierung katalysieren.

Im gleichem Maße wurde nach Methoden gesucht, die Nebenreaktionen der Metathese zu unterdrücken. Eine Möglichkeit ist die Zugabe von Additiven, welche die Rutheniumhydride abfangen, oder deren Entstehung verhindern sollen. Dazu wurden bei der Umsetzung verschiedener Substrate eine Reihe von Additiven getestet.^[106-108] Den größten Effekt zeigten Abfangreagenzien für Hydride, wie Benzochinon oder Derivate davon, sowie der Zusatz von Essigsäure. In einigen Reaktionen wurden damit die Nebenreaktionen ohne Verringerung des Umsatzes vollständig unterdrückt. Allerdings zeigte sich auch, dass es keine universell anwendbaren Additive gibt, da die Unterdrückung der Nebenreaktion stark vom verwendeten Substrat abhängt und in anderen Fällen eine hohe Reduzierung der Produktausbeute zur Folge haben kann. Ebenso hat das verwendete Lösungsmittel einen Einfluss auf die Reaktion. So zeigt sich bei Reaktionen in Dichlormethan zumeist eine nur geringe Tendenz zu Nebenreaktionen.^[93]

Eine weitere Möglichkeit zur Unterdrückung von Nebenreaktionen besteht in der Zugabe von Lewis Säuren, wie z.B. $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$. Diese sollen als Konkurrenzligand die Koordination von weiteren, im Substratmolekül vorhandenen, funktionellen Gruppen an das Rutheniumzentrum verhindern.^[109,110] In diesem Zusammenhang wird vermutet, dass manche Substrate mit dem Katalysator Chelatkomplexe bilden, die ihn in einer unreaktiven Form binden und somit die Metatheseaktivität gegenüber der Isomerisierungsaktivität verringern bzw. den Abbau des Katalysators beschleunigen.^[99,110]

Von besonderem Interesse für meine Arbeit sind die Untersuchungen von Steinke et al., der verschiedene Harnstoff-, Thioharnstoff- oder Amidsubstituierte terminale Olefine in

Metathesereaktionen einsetzte.^[111,112] In Gegenwart von Phenylphosphorsäure konnten die in Abwesenheit der Säure auftretenden Isomerisierungen vollständig unterdrückt werden.

In meiner Diplomarbeit habe ich mich bereits mit der Synthese einfach verbrückter Bis(cyclopeptide) ausgehend von den beiden Cyclopeptiden **9a** sowie **9b** (Abbildung 31) beschäftigt.^[113] Das Metatheseprodukt von **9a** entspricht dabei dem verbrückten Bis(cyclopeptid) **3a**, nur dass sein Linker im Vergleich zu diesem eine Doppelbindung enthält.

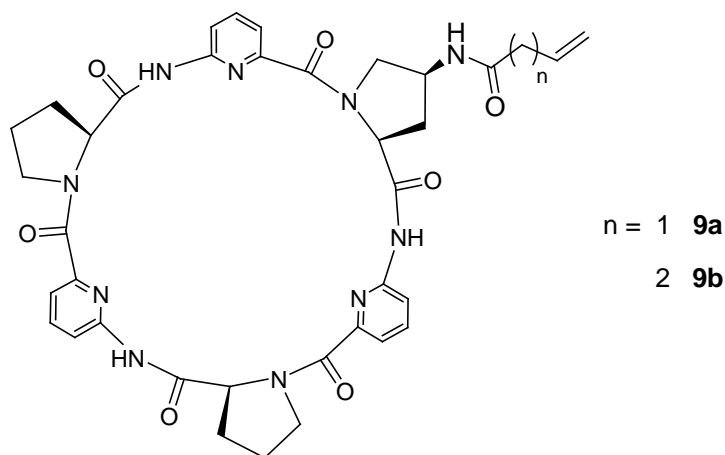


Abbildung 31: In meiner Diplomarbeit in Metathesereaktionen verwendete Cyclopeptide.

Bei der Umsetzung mit Katalysator **6** in Dichlormethan wurde neben dem Produkt ein dazu homologes Nebenprodukt mit einem um eine CH₂-Einheit verlängerten Linker gefunden, dessen Bildung auf Doppelbindungsisomerisierung des Produkts gefolgt von sekundärer Metathese zurückgeführt wurde. Dies ist schematisch in Abbildung 32 dargestellt.

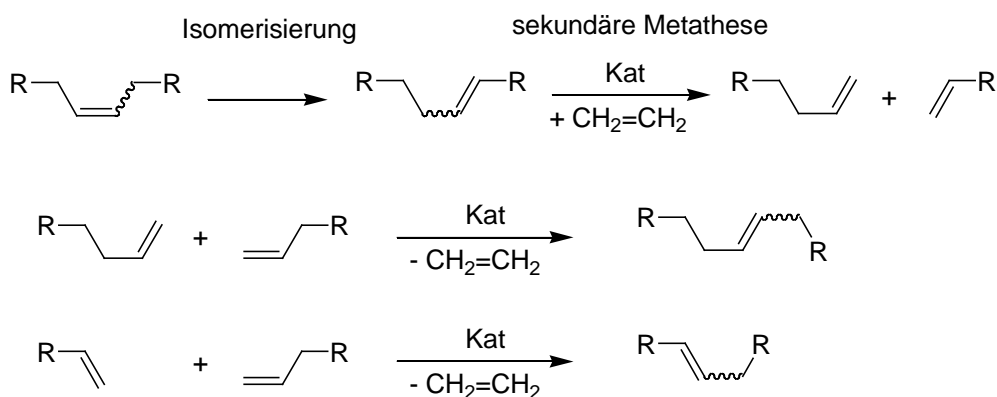


Abbildung 32: Isomerisierungs-Metathese-Sequenz führt zu Produkthomologen.

2.2.4 Grundlagen der Click-Reaktionen

Die Wahl der irreversiblen Reaktion zur Bildung des dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) fiel auf die Kupfer-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen einem Alkin und einem Azid (CuAAC), die als der Prototyp einer Click-Reaktion gilt. Sharpless, Finn und Kolb definierten das Konzept der Click-Reaktionen im Jahr 2001 als den Aufbau von Molekülen durch modulare Verknüpfung kleiner Bausteine über Heteroatome.^[114] Dabei stellten sie einige Bedingungen auf, die derartige Reaktionen erfüllen müssen: Sie sollten schnell sein, in sehr hohen Ausbeuten stereoselektiv ohne Bildung störender Nebenprodukte verlaufen, die Durchführung unter milden Bedingungen in ungefährlichen Lösungsmitteln wie Wasser erlauben, eine hohe Substrattoleranz zeigen, und die Isolierung der Produkte ohne chromatographische Verfahren ermöglichen. Ein Ziel war es, solche Reaktionen zur schnellen und effektiven Suche nach pharmazeutischen Wirkstoffen einzusetzen.^[114]

In den letzten Jahren kristallisierte sich die von R. Huisgen maßgeblich untersuchte 1,3-dipolare Cycloaddition von Alkinen und Aziden unter Bildung von 1,2,3-Triazolen als der bedeutendste Vertreter unter den Click-Reaktionen heraus, sodass der Begriff Click-Reaktion oft als Synonym für diese Reaktion verwendet wird. Aufgrund ihrer hohen Stabilität und Toleranz gegenüber anderen funktionellen Gruppen können Alkin- und Azidgruppen schon auf einer frühen Stufe in Moleküle eingeführt werden und bleiben in folgenden Transformationen unter den meisten Reaktionsbedingungen inert, was die Notwendigkeit von Schutzgruppen verringert. Allerdings reagieren sie unter thermischen Bedingungen nur langsam im Sinne einer Cycloaddition, und man erhält zumeist eine 1:1-Mischung des entsprechenden 1,4- und 1,5-disubstituierten 1,2,3-Triazols (Abbildung 33). Unabhängig voneinander fanden die Gruppen von Sharpless^[115] und Meldal^[116] 2002 heraus, dass die Reaktion in Gegenwart von Cu^I-Ionen schon bei Raumtemperatur schnell und regioselektiv zum 1,4-Isomer führt. Die Umsetzungen wurden dabei in wässrigen Lösungsmitteln oder sogar reinem Wasser durchgeführt und die ausgefallenen Produkte durch einfache Filtration isoliert.^[115]

Nachteile hat die Reaktion beim Einsatz von niedermolekularen Aziden, die thermisch wenig stabil und explosiv sein können, und entsprechende Vorsichtsmaßnahmen beim Arbeiten mit ihnen erforderlich machen.^[117]

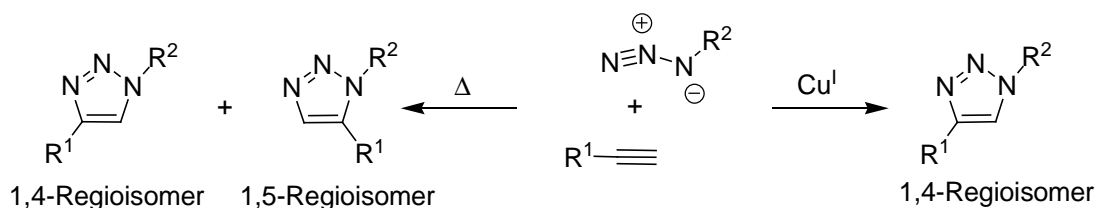


Abbildung 33: Huisgen 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen einem Alkin und einem Azid.

Neben Kupfer(I) werden in jüngerer Zeit auch Ruthenium(II)komplexe in der Cycloaddition von Alkinen mit Aziden eingesetzt.^[118,119] Diese sogenannte RuAAC führt im Gegensatz zur CuAAC allerdings zum 1,5-disubstituierten Triazol als Hauptprodukt.

Der Verlauf einer CuAAC ist vereinfacht in Abbildung 34 dargestellt.^[120] Zuerst bildet das Cu^I mit dem Alkin einen π -Komplex (I). Dadurch wird der pKa-Wert des terminalen Alkinprotons so stark abgesenkt, dass eine Deprotonierung im wässrigen Medium stattfinden kann (II). Durch Koordinierung des Azids durch das Metall wird dieses ebenfalls aktiviert (III) und es bildet sich im Folgeschritt ein 6-gliedriger Metallazyklus aus (IV). Dies ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt, der mit einer erheblich geringeren Aktivierungsenergie im Vergleich zur unkatalysierten Reaktion verbunden ist. Nach der annähernd energieneutralen Ringkontraktion (V) führt die Protonierung des Liganden zum Produkt unter Freisetzung des aktiven Katalysators (VI).

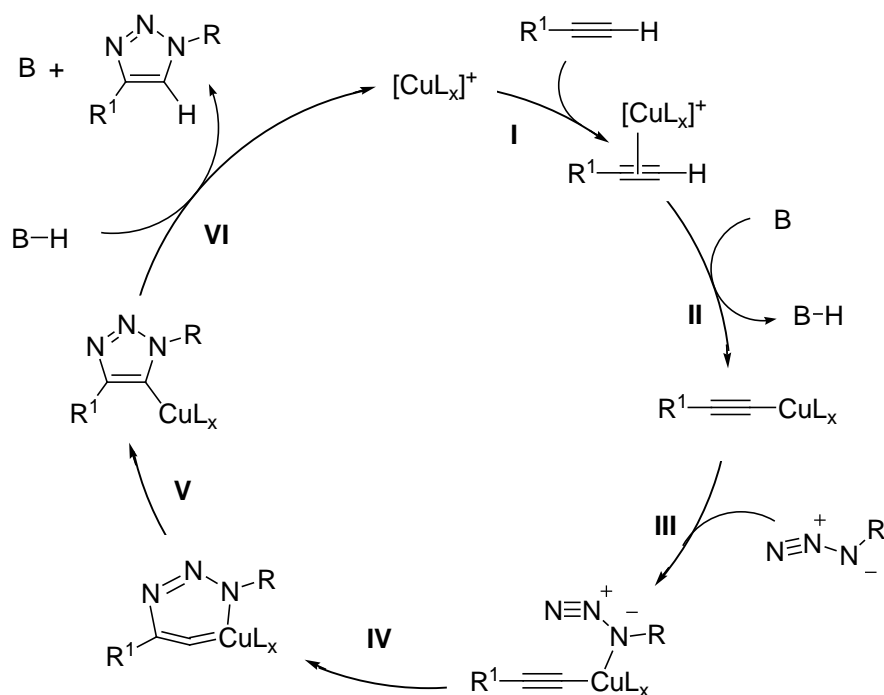


Abbildung 34: Katalysezyklus der CuAAC.

Es wird diskutiert, dass der Katalysezyklus statt eines monomeren einen dimeren Kupferkomplex beinhaltet, da die Reaktion zweiter Ordnung bezüglich der Cu^{I} -Konzentration abläuft. Die exakte Natur der aktiven Kupferacetylidspezies ist allerdings noch nicht im Detail geklärt, eine dynamische Mischung verschiedener Spezies wird vermutet.^[120, 121]

Als Quelle für Cu^{I} -Ionen finden eine Vielzahl von Verbindungen Verwendung. Am naheliegendsten ist der direkte Einsatz von Cu^{I} -Salzen wie CuI oder CuBr . Diese sind jedoch in den verwendeten Lösungsmitteln zumeist nur schwer löslich, wodurch die Konzentration an aktiven Ionen gering ist. Außerdem sind solvatisierte Cu^{I} -Ionen ohne stabilisierende Liganden nur bedingt stabil. Sie werden leicht zu Cu^{II} oxidiert, weshalb die Reaktion unter sauerstofffreien Bedingungen durchgeführt werden sollte.^[121] Der Zusatz komplexierender Liganden, meist in Form von Aminen oder chelatisierenden Polyaminen, stabilisiert Cu^{I} -Ionen in Lösung und erhöht damit die Geschwindigkeit der Reaktion. Erfolgt die Umsetzung in nichtwässrigen Lösungsmitteln, ist darüber hinaus der Zusatz einer Base wie Triethylamin, DIEA, 2,6-Lutidin oder DBU zur Deprotonierung des Alkins notwendig. In organischen Lösungsmitteln finden ebenso darin löslichere Komplexe, wie z.B. $(\text{EtO})_3\cdot\text{CuI}$, $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$,^[122] $(\text{EtO})_3\text{P}\cdot\text{CuI}$ ^[123] oder $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_3]\text{Br}$ ^[124] Verwendung. Eine Alternative zum Einsatz von Cu^{I} -Salzen ist die *in situ* Reduktion von Cu^{II} mit geeigneten Reduktionsmitteln. Eine weit verbreitete Methode ist die Kombination von Kupfer(II)sulfat mit Natriumascorbat. Sie bietet den Vorteil der vollständigen Löslichkeit aller Reagenzien im wässrigen Medium und somit eine genaue Kontrolle über die Konzentration der aktiven Spezies. Katalytische Mengen an Cu^{I} erhält man auch durch Synproportionierung von Cu^{II} und Cu^0 . Dazu versetzt man die Reaktionslösung mit Kupferdraht oder -spänen, deren Patina als Cu^{II} -Quelle ausreicht.^[120] Der Nachteil der längeren Reaktionszeiten unter diesen Bedingungen durch die geringe Cu^{I} -Konzentration, wird durch die einfache Aufarbeitung und geringe Verunreinigung der Produkte mit Kupfer wieder aufgewogen und findet deswegen oft bei Screenings Anwendung. Eine Weiterentwicklung dieser Methode stellen Kupfernanocluster und -nanopartikel dar.^[125]

Die 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen Alkinen und Aziden ist aus verschiedenen Gründen eine für die Synthese eines dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) sehr gut geeignete Reaktion. So ist sie in wässrigen Lösungsmittelgemischen möglich, in denen Cyclopeptid **1** bekanntermaßen in Anwesenheit geeigneter Anionen sandwichartige 2:1 Komplexe bildet.^[50] Durch diesen Templateffekt der Anionen können zwei Cyclopeptiduntereinheiten, von denen eine drei Azidgruppen und die andere drei Alkingruppen in den Seitenketten trägt, für die

intermolekulare Verbrückung optimal vororganisiert werden. Im Einklang mit den in Kapitel 0 beschriebenen Prinzipien kinetischer Templateffekte sollte dadurch die Geschwindigkeit der Kupplung beschleunigt werden (aus einer Reaktion zweiter Ordnung wird eine quasi-erster Ordnung). Darüber hinaus gelingt die Reaktion schon bei Raumtemperatur, also unter Bedingungen, unter denen das Gleichgewicht der Komplexbildung aufgrund der Stabilität der Komplexe auf der rechten Seite liegt. Schließlich erleichtert die hohe Stabilität der gebildeten Triazole die Aufarbeitung der Produkte.

Inwiefern sich die Triazoleinheiten im gebildeten Produkt an der Anionenkomplexierung beteiligen können, kann nicht vorhergesehen werden. Anionenrezeptoren, in denen C-H...Anionenwechselwirkungen zwischen Triazolprotonen und den Substraten für die Komplexstabilität verantwortlich sind, sind bekannt.^[126-128] Solche Wechselwirkungen können die Anionenkomplexe der Zielverbindung durch Bindung der Anionen an die Triazoleinheiten in den Bis(cyclopeptid)linkern gegebenenfalls zusätzlich stabilisieren.

2.2.5 Anwendungen der Click-Reaktionen

Die CuAAC hat in den letzten Jahren vielfach Anwendung in biologischen Systemen und in der pharmazeutischen Forschung gefunden. So diente sie zum Markieren und spezifischen Derivatisieren von biogenen Molekülen wie Proteinen, Viren und DNA,^[129, 130] der Synthese modifizierter Nucleoside und Oligonucleotide^[131] und dem Screening nach biologisch aktiven Verbindungen.^[132]

In der Supramolekularen Chemie wurde die CuAAC zum Aufbau komplexer makromolekularer Verbindungen, z.B. von Polymeren^[133] oder Dendrimeren^[124] verwendet. Sie diente ebenso zur Darstellung verschiedener Makrocyclen, darunter auch cyclischer Peptide, wobei die Cyclisierung durch CuAAC in Lösung oder an Festphase erfolgen kann.^[134-137]

Für den Aufbau von molekularen Kapseln durch die Click-Reaktion existieren bisher aber relativ wenige Beispiele.

Die Gruppe um Santoyo-Gonzalez kuppelte zwei mit Alkin- und Azidseitenketten trisubstituierte Areneinheiten in hohen Ausbeuten zum Bis(aren) (Abbildung 35a).^[138] Die Synthese erfolgte in Toluol, welches gleichzeitig durch π -stacking mit den beiden aromatischen Edukten als Templat fungierte und nach der Reaktion im gebildeten Hemicarcerand eingeschlossen wurde. Wurde die Reaktion in Lösungsmitteln ohne Templateigenschaft wie DMF durchgeführt, unterblieb die Produktbildung.

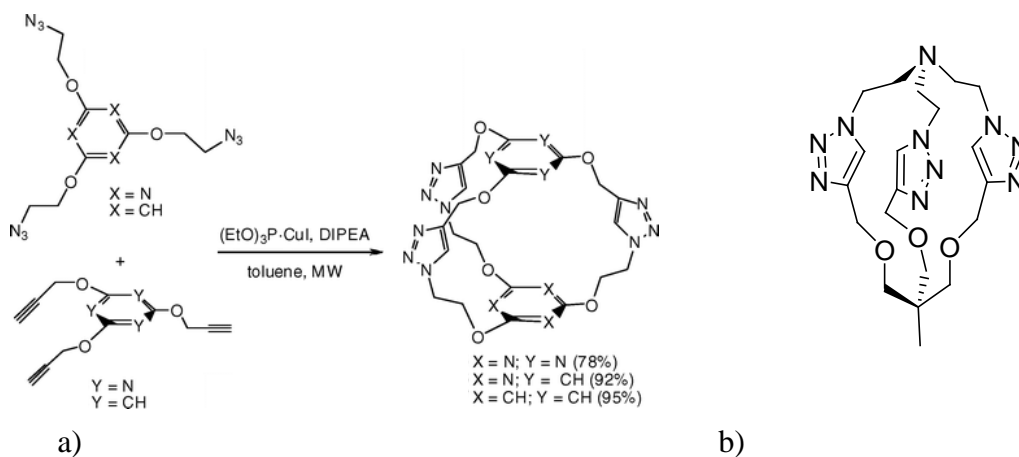


Abbildung 35: Über Click-Reaktionen aufgebaute molekulare Kapseln von a) Santoyo-Gonzalez und b) Banert.

Eine andere molekulare Kapsel wurde von Banert et al. beschrieben (Abbildung 35b).^[139] Die Darstellung gelang nur in geringer Ausbeute in einem mehrstufigen Verfahren, in dem in einer ersten Stufe gebildete Produkte mit einem und zwei gebildeten Triazolinkern isoliert und mit höherer Katalysatormenge erneut in der Reaktion eingesetzt wurden. Ein Problem bei der Bildung der Käfigmoleküle könnte in diesem Fall die koordinative Sättigung von Cu^{I} durch die flexiblen Polyalkyne sein.^[121] Ebenso müssen die zu kuppelnden Seitenketten flexibel und lang genug sein, um eine intramolekulare Cycloaddition zu ermöglichen.

Beer et al. nutzten die Wechselwirkung zwischen Sulfat und Harnstoffgruppen zum Aufbau einer dreifach verzahnten Kapsel. In Gegenwart eines Sulfations bildeten zwei der in Abbildung 36 dargestellten TREN-basierten tris-Azide mit dem Templat einen 2:1 Komplex, welcher anschließend mit Trialkinen zur Kapsel umgesetzt wurde. Die Synthese in Abwesenheit des Templats war mit deutlich geringeren Ausbeuten verbunden.^[140]

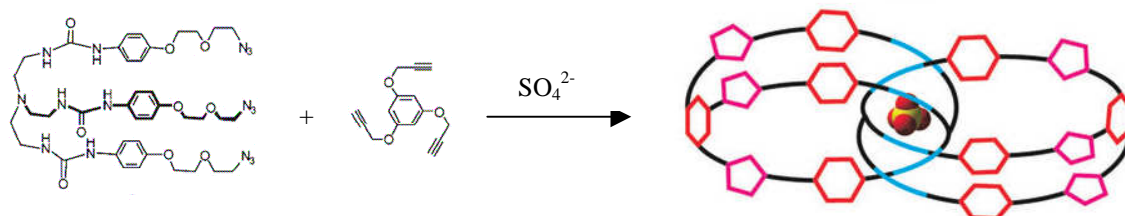


Abbildung 36: Sulfatunterstützte Synthese einer dreifach verzahnten Kapsel von Beer.

3 Aufgabenstellung

Ziel meiner Doktorarbeit war es, dreifach verbrückte Bis(cyclopeptide) der allgemeinen Struktur **10** herzustellen, in denen zwei Untereinheiten des Cyclopeptids **1** über drei Linker verknüpft sind. Solche Bis(cyclopeptide) weisen im Gegensatz zu vielen anderen literaturbekannten molekularen Kapseln aufgrund der im Inneren lokalisierten NH-Gruppen einen hydrophilen Hohlraum auf, in dem geeignete Anionen über spezifische Wechselwirkungen gebunden werden können. Neben der Entwicklung von Synthesen zum Aufbau solcher Strukturen, bestand ein wichtiger Aspekt der Arbeit in der detaillierten Charakterisierung ihrer Bindungseigenschaften.

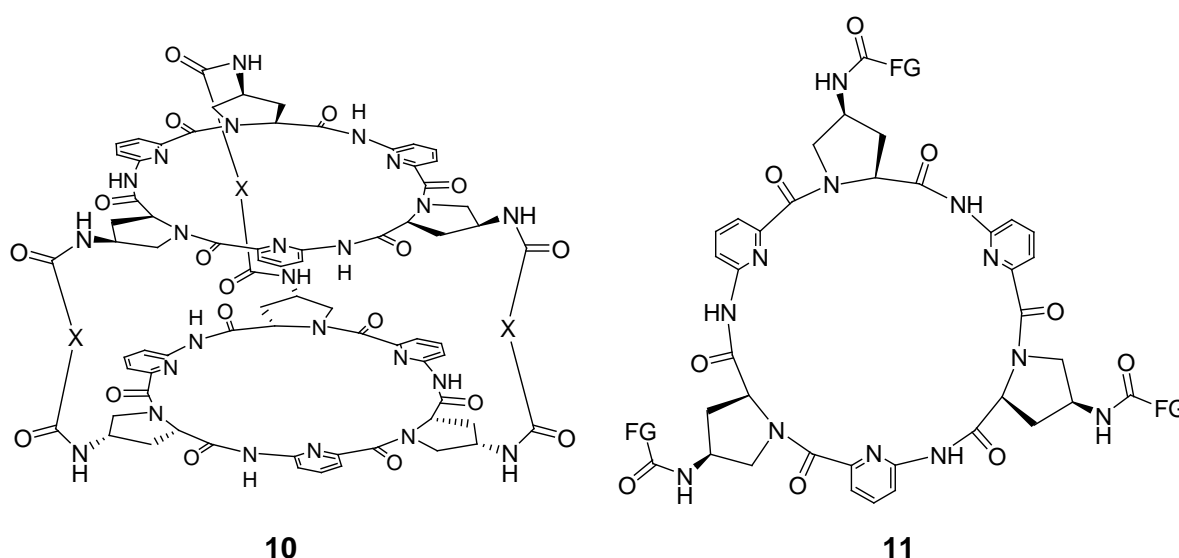


Abbildung 37: Dreifach verbrücktes Bis(cyclopeptid) **10**; dreifach substituiertes Cyclopeptid **11** als Synthesevorstufe.

Als Ausgangspunkt für die Synthese von **10** wurden Cyclopeptide der allgemeinen Struktur **11** benötigt, in denen sich geeignete funktionelle Gruppen an den drei Prolinuntereinheiten befinden, die eine intermolekulare Kupplung erlauben (Abbildung 37). Die eigentliche Kupplungsreaktion zwischen den beiden Cyclopeptiden sollte im letzten Schritt der Synthese erfolgen. Hierfür wurden zwei Kupplungsmethoden gewählt. Die erste Methode ist die Olefinmetathese, die aufgrund ihrer Reversibilität eine thermodynamische Reaktionsführung gestattet. Wenn man von entsprechend substituierten Vorstufen ausgeht, kann auf diesem Weg eine zum einfach verbrückten Bis(cyclopeptid) **3a** analoge Kapsel erhalten werden. Dies erlaubt einen interessanten Vergleich der Bindungseigenschaften einfach und dreifach verbrückter Bis(cyclopeptide). Als zweite Reaktion zum Aufbau dieser Bis(cyclopeptide)

wurde die 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen Alkinen und Aziden ausgewählt, bei der es sich um eine irreversible Reaktion handelt.

Um den Einfluss der Linkerzahl und der damit zusammenhängenden Rigidität der jeweiligen Verbindungen auf die Rezeptoreigenschaften charakterisieren zu können, sollten die entsprechenden einfach verbrückten Derivate **3** als Vergleich verwendet werden (Abbildung 38). Deren Synthese aus den einfach funktionalisierten Cyclopeptiden **12** ermöglicht zudem die Identifizierung der Reaktionsbedingungen, die die Synthese der strukturell aufwendigeren dreifach verbrückten Derivate gestatten sollten: Da beim Aufbau der einfach verbrückten Bis(cyclopeptide) aus monofunktionalisierten Cyclopeptiden keine falsch verknüpften Nebenprodukte entstehen können und der Einsatz geeigneter Template nicht zwingend notwendig ist, kann man sich bei der Untersuchung der Synthese dieser Verbindungen allein auf die Optimierung der eigentlichen Kupplungsreaktionen konzentrieren.

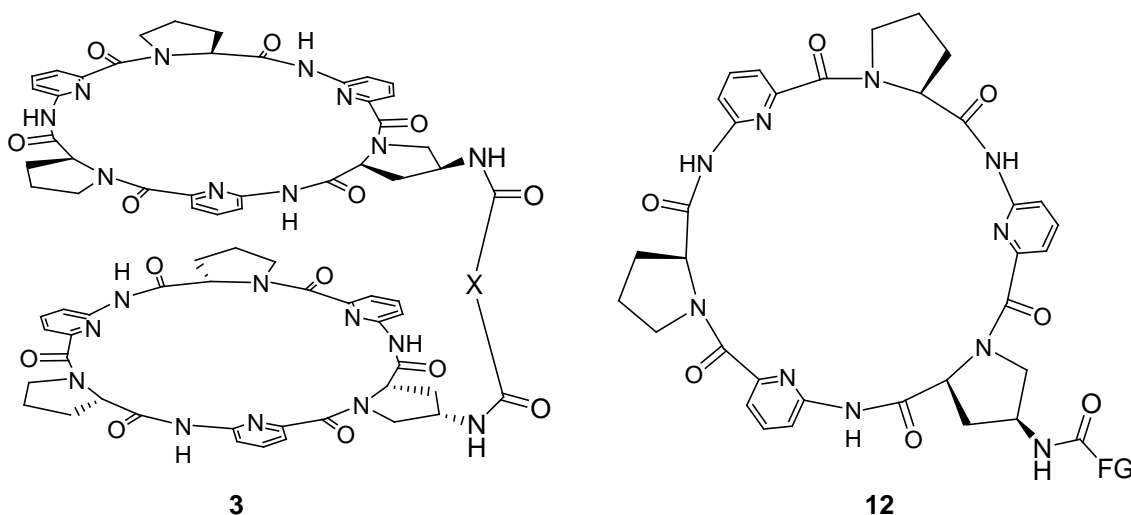


Abbildung 38: Einfach verbrücktes Bis(cyclopeptid) **3**; einfach substituiertes Cyclopeptid **12** als Synthesevorstufe.

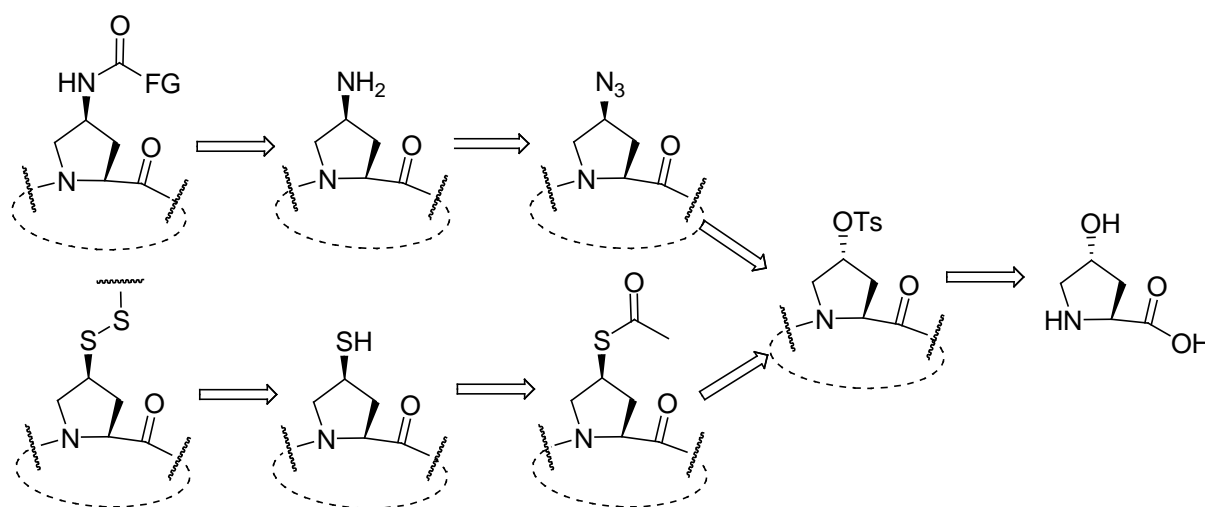
4 Eigene Ergebnisse

4.1 Synthese der Cyclopeptide

Der erste Teil meiner Arbeit beschäftigt sich mit der Darstellung der ein- und dreifach substituierten cyclischen Hexapeptide **11** und **12**.

Es gibt verschiedene Herangehensweisen, um solche cyclischen Peptide aufzubauen, die aber auf einem gemeinsamen Konzept basieren. Nach diesem Konzept werden die beiden Aminosäuren L-Prolin und 6-Aminopicolinsäure zuerst zu einem Dipeptid gekuppelt. Dieses wird dann stufenweise zum linearen Tetrapeptid und Hexapeptid verlängert, welches anschließend cyclisiert wird. Diese Synthesefolge ist deswegen sinnvoll, da 6-Aminopicolinsäure ein reaktionsträges Amin ist und auf diesem Weg nur die Bildung der Amidbindung der Dipeptideinheit lange Reaktionszeiten benötigt. Alle folgenden Peptidkupplungen finden mit dem reaktiveren Amin des Prolins in kürzerer Zeit statt.

Um die zur Verbrückung notwendige Funktionalisierung des Grundgerüsts zu erhalten, muss eine Prolineinheit im Cyclopeptidring durch 4*S*-Aminoprolin ersetzt werden. Auf dem ursprünglich von S. Kubik entwickelten Weg erfolgt die Einführung der funktionellen Gruppe auf der Stufe des Cyclopeptids. Dazu wird ausgehend von 4*R*-Hydroxyprolin ein Cyclopeptid mit 4*R*-tosylierter Prolineinheit aufgebaut. Dieses wird anschließend in mehreren Schritten zum Amin oder Thiol umgesetzt, bevor im letzten Schritt die Einführung der gewünschten Linker oder Seitenketten erfolgt (Schema 1).^[50, 141]



Schema 1: Ursprünglicher Syntheseweg für einfach substituierte Cyclopeptide.

Obwohl hier auf der Stufe des Cyclopeptids zur Umwandlung der Hydroxy- in eine Aminogruppe drei Reaktionsschritte notwendig sind, wurde dieser Syntheseweg für einfach substituierte Cyclopeptide lange Zeit erfolgreich angewandt. Für mehrfach substituierte Verbindungen ist dieser Weg jedoch ungünstig, da die hohe Zahl von Reaktionen auf der Stufe des Cyclopeptids das Risiko geringer Ausbeuten mit sich bringt.

Daher wurden Alternativen zur ursprünglichen Synthese entwickelt. Die endgültige funktionelle Gruppe kann beispielsweise bereits auf Stufe des Dipeptids eingeführt werden, sofern sie unter den nachfolgenden Peptidkupplungen stabil ist. Dieser unter anderem von Sabine Stüwe in ihrer Dissertation verwendete Weg^[142] besitzt den Vorteil, dass die Cyclisierung den letzten Schritt in der Synthese des geschützten, funktionalisierten Cyclopeptids darstellt.

Da in meiner Arbeit eine Reihe verschieden substituierter Cyclopeptide dargestellt werden soll, wurde eine analoge Strategie gewählt. Diese sieht die Einführung der Aminogruppen bereits zu Beginn der Syntheseroute auf der Stufe des Prolins vor. Anschließend wird die Aminogruppe mit einer geeigneten Schutzgruppe versehen, welche erst nach dem Aufbau der Cyclopeptide wieder entfernt wird. Die dabei erhaltenen Vorstufen, das Mono- **13** bzw. **14** (Abbildung 39), werden dann in nur einem Schritt zu den gewünschten substituierten Cyclopeptiden **11** und **12** umgesetzt. Die Verwendung einheitlicher Synthesen bis zu den beiden Vorstufen **13** und **14** macht diesen Weg bedeutend universeller und effizienter für die Darstellung mehrerer Cyclopeptide als den zuvor erwähnten. Er bedingt jedoch die Verwendung einer weiteren Schutzgruppe für die neu eingeführte Aminofunktion des Prolins, die zu den beiden zur Schützung des N- und C- terminalen Endes der jeweiligen Peptideinheit verwendeten orthogonal sein muss.

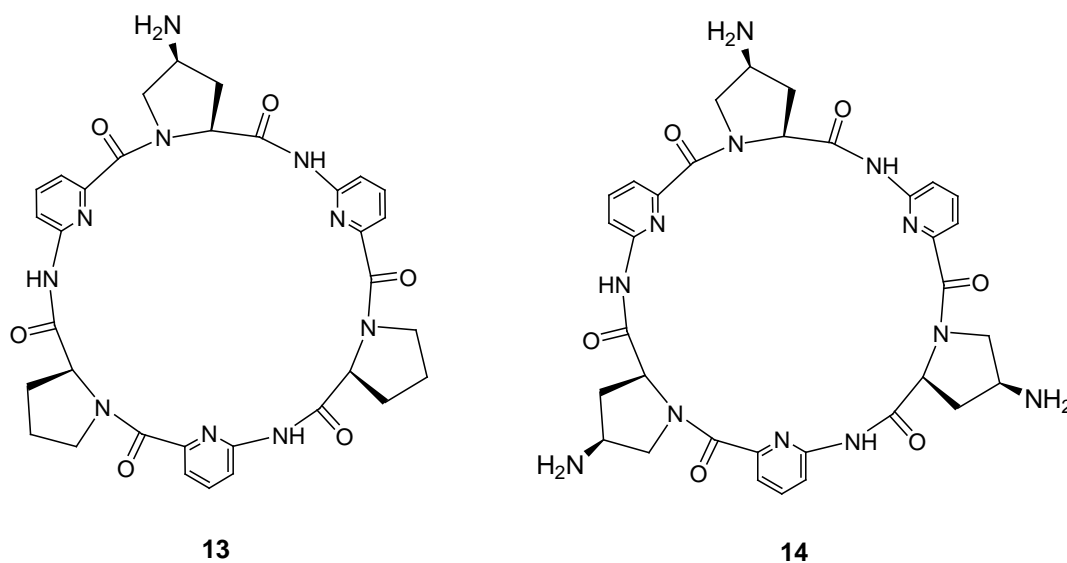
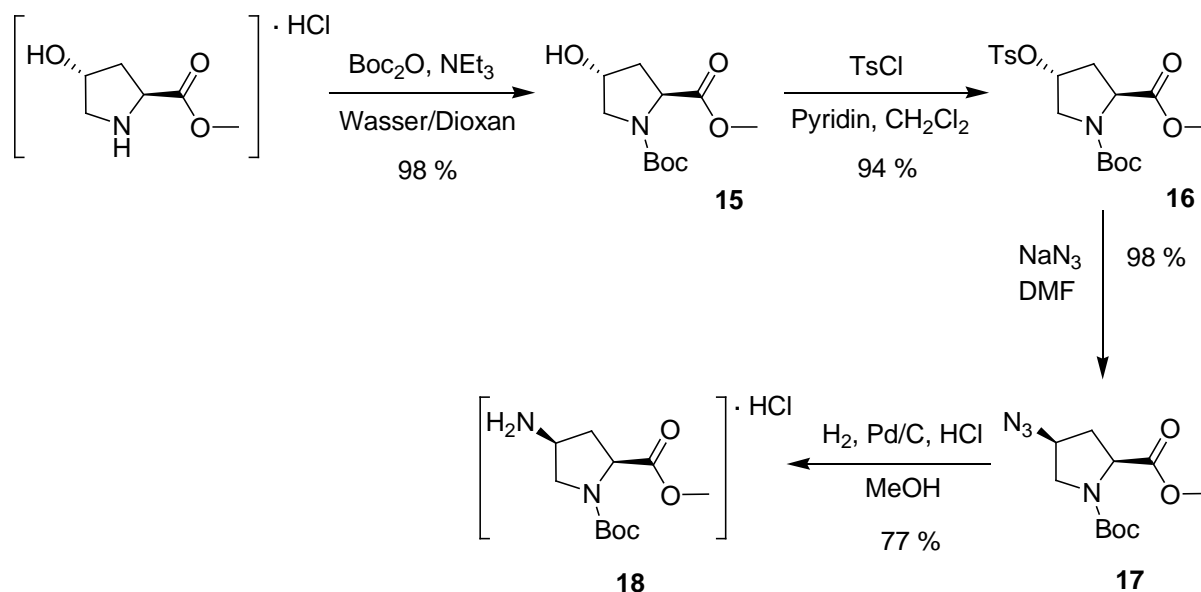


Abbildung 39: Mono- **13** und Triamin **14** als Vorstufen der substituierten Cyclopeptide.

Als unter den Synthesebedingungen stabil wurde die Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe (Z-Gruppe) identifiziert. Sie wird ebenso wie der bislang zum Schutz der C-terminalen Säuregruppe verwendete Benzylester hydrogenolytisch abgespalten. Dies machte den Wechsel zum Allylester (-OAll) an dieser Position notwendig. Dieser kann ebenso wie die zum Schutz der Aminofunktion eingesetzte *tert*-Butyloxycarbonylgruppe (Boc-) selektiv unter Bewahrung der Z-Gruppe entfernt werden.

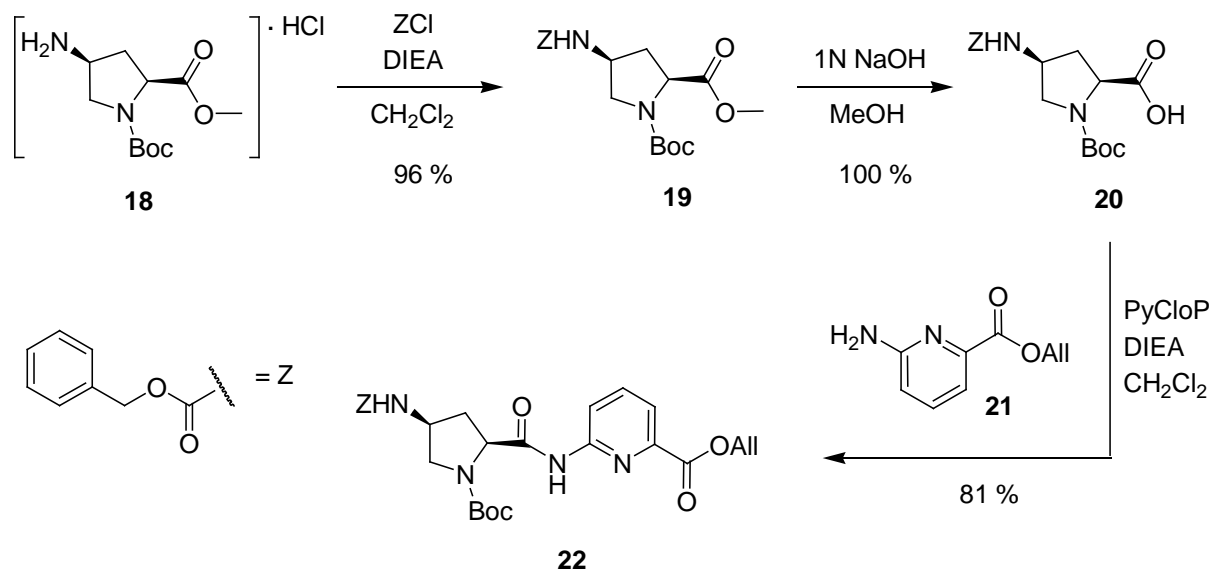
Die Synthese des Z-geschützten Aminoprolins ist literaturbekannt und wurde von mir stellenweise optimiert.^[143,144] Im ersten Schritt wurde dazu 4*R*-Hydroxy-L-prolin-methylester Hydrochlorid an der Aminofunktion Boc-geschützt (Schema 2). Anschließend erfolgte mit Toluolsulfonsäurechlorid die Einführung einer Abgangsgruppe. Unter Inversion der Konfiguration am C4 Atom wurde diese durch Azid substituiert. Die Hydrierung des Azids **17** gelang mit nicht ganz zufriedenstellender Ausbeute. Der Grund lag in der aufwendigeren Reinigung des Amins, um Verunreinigungen vollständig abzutrennen, die zu Problemen im Folgeschritt führten.



Schema 2: Darstellung des Aminoprolins **18**.

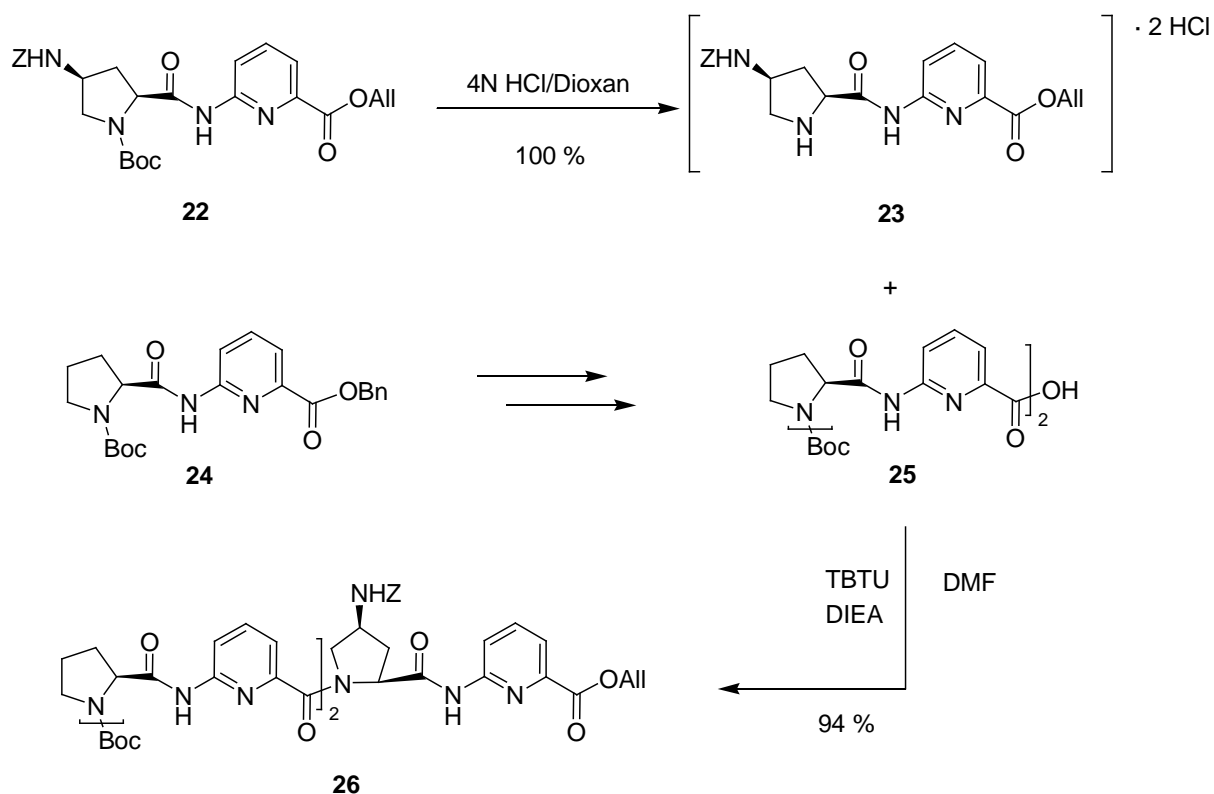
Zur Einführung der Z-Gruppe wurde das Aminoprolin **18** mit Benzylchloroformiat in Gegenwart von Base zum Boc-(Z-4*S*-Amino-L-prolin)-methylester **19** umgesetzt (Schema 3). Die Prolinkomponente lag nun in der für den Aufbau des Cyclopeptids nötigen geschützten Form vor. Um das Dipeptid aufzubauen zu können, musste der Methylester zuerst mit Natronlauge zur freien Säure verseift werden. Die zweite Aminosäurekomponente, 6-Aminopicolinsäure **21**, wurde nach einer literaturbekannten Vorschrift in mehreren Stufen aus

2-Amino-6-methylpyridin hergestellt^[145] und als Allylester eingesetzt.^[142] Die Kupplung der beiden Aminosäuren zum Z-geschützten Dipeptid **22** erfolgte nach dem für Dipeptide verwendeten Standardverfahren.



Schema 3: Synthese des Z-geschützten Dipeptids **22**.

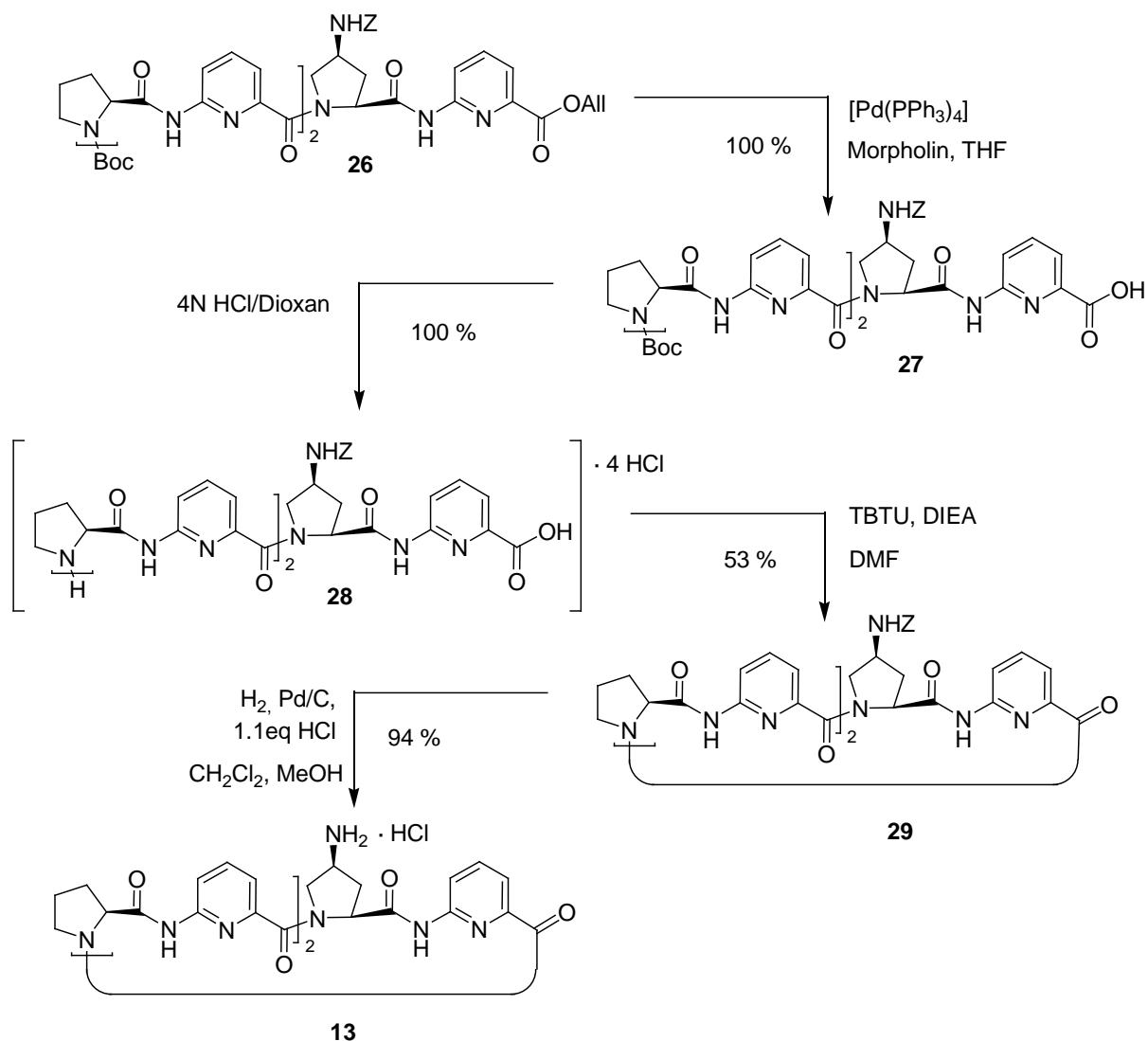
Für die Synthese des Monoamins **13** wurde das Z-geschützte Dipeptid **22** mit 4N HCl in 1,4-Dioxan am N-terminalen Ende Boc-entschützt (Schema 4).



Schema 4: Synthese des linearen Hexapeptids mit einer Z-Schutzgruppe **26**.

Das unsubstituierte Tetrapeptid **25** wurde ausgehend von Dipeptid **24** nach einem bekannten Verfahren dargestellt.^[50] Die Kupplung der beiden teilentschützten Komponenten zum Hexapeptid **26** erfolgte anschließend in DMF mit dem Kupplungsreagenz TBTU.

Vor der Cyclisierung wurde das lineare Hexapeptid **26** zuerst in Gegenwart katalytischer Mengen Tetrakis[triphenylphosphin]-palladium(0) und drei Äquivalenten Morpholin Allyl-entschützt und anschließend die Boc-Gruppe sauer abgespalten (Schema 5). Die Cyclisierung erfolgte unter dem Prinzip der Pseudohochverdünnung in DMF mit TBTU als Kupplungsreagenz.

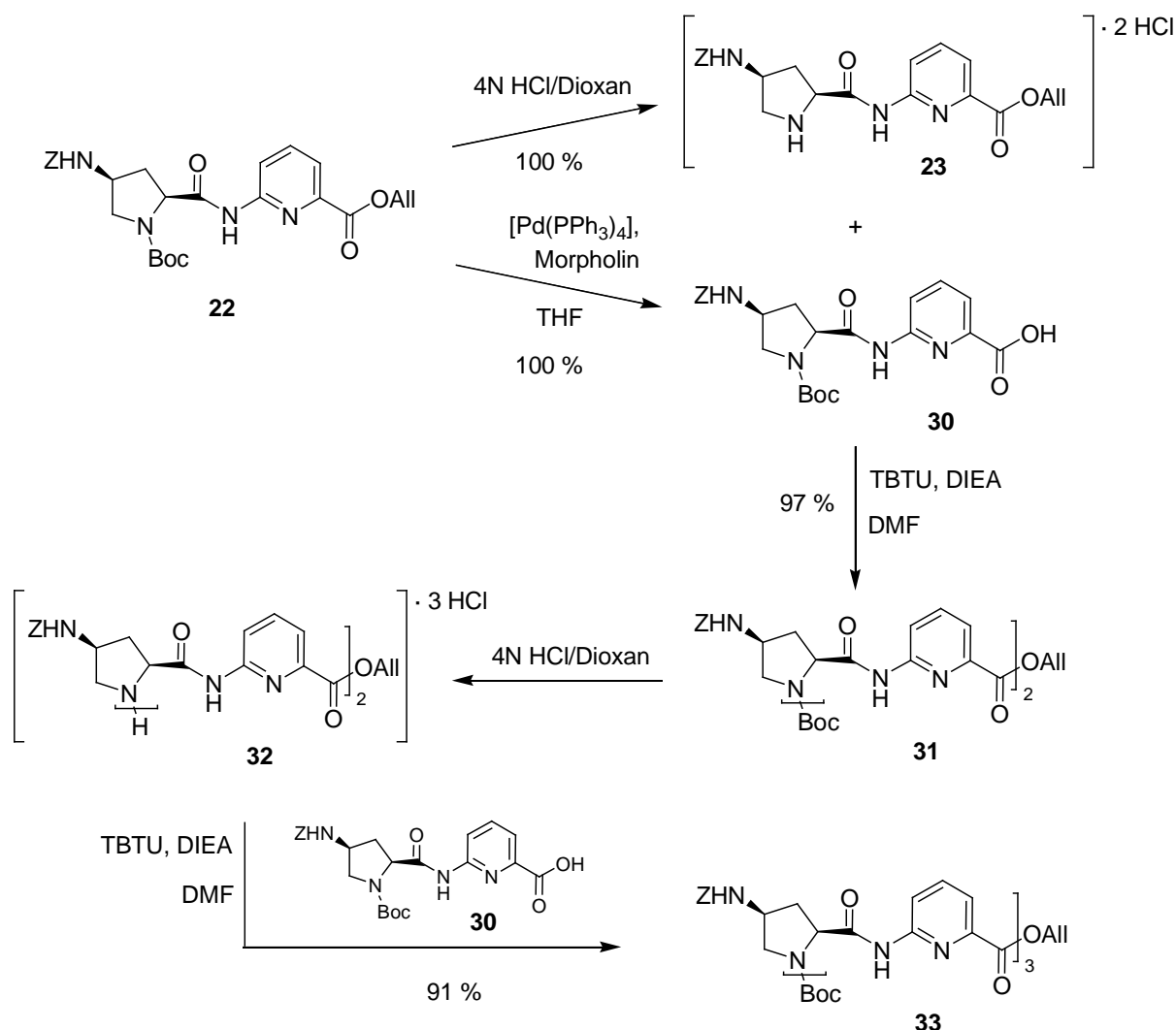


Schema 5: Synthese des Cyclopeptids mit einer freien Aminogruppe **13**.

Das Cyclopeptid **29** wurde nach zweistufiger chromatographischer Aufreinigung sowie anschließendem Ausfällen in Diethylether analysenrein erhalten. Zur weiteren Umsetzung

wurde die Z-Schutzgruppe hydrogenolytisch abgespalten und das Amin als Hydrochlorid **13** isoliert.

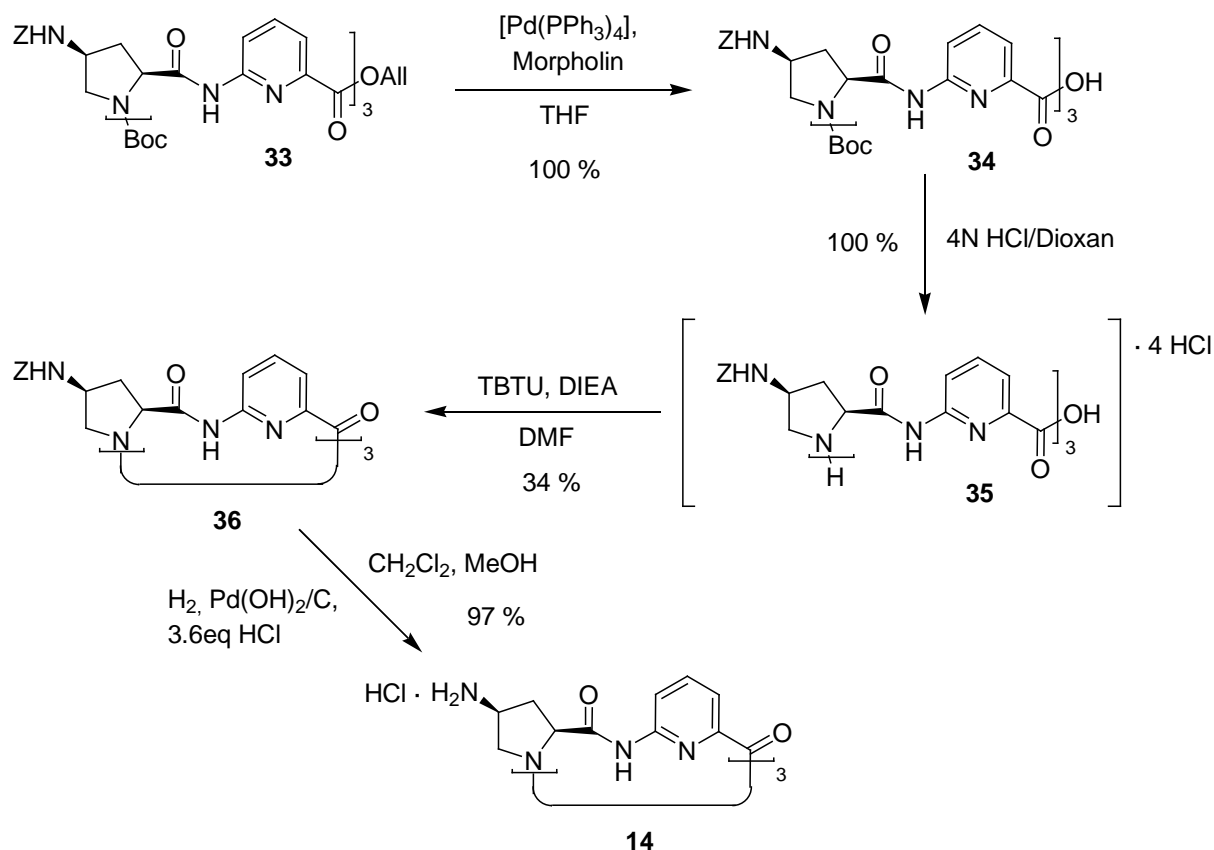
Das symmetrische Triamin **14**, welches für den Aufbau der dreifach verbrückten Bis(cyclopeptide) benötigt wird, kann auf ähnlichem Wege ausgehend von **22** hergestellt werden. Im Gegensatz zur Synthese von **29** müssen drei identische Dipeptidbausteine **22** miteinander verknüpft werden (Schema 6). Zunächst wurden hierfür jeweils ein Äquivalent von **22** am C- und am N-Terminus entschützt. Die so erhaltenen teilentschützten Dipeptide wurden zum Tetrapeptid **31** gekuppelt. Nach dem Entfernen der Boc-Schutzgruppe erfolgte mit einer weiteren Dipeptideinheit **30** die Kupplung zum Hexapeptid **33**.



Schema 6: Synthese des mit drei Z-Gruppen substituierten linearen Hexapeptids **33**.

Für die Cyclisierung wurde das lineare Hexapeptid **33** nacheinander am C- und N-terminalen Ende entschützt und unter Pseudohochverdünnung cyclisiert (Schema 7). Die

Reaktionsmischung wurde chromatographisch gereinigt und das Produkt **36** nach Ausfällen in Diethylether und Umkristallisieren aus einem Ethanol/Wasser Gemisch in analysenreiner Form erhalten. Versuche, **36** allein chromatographisch über Kieselgel mit einem Dichlormethan/Isopropanol-Gemisch als Eluens zu reinigen, führten nicht zu analysenreinem Produkt.



Schema 7: Synthese des Cyclopeptids mit drei freien Aminogruppen **14**.

Zur Hydrierung wurde **36** in einem Dichlormethan/Methanol-Gemisch mit Pd/C (10 %) sowie 3.6 Äquivalenten Salzsäure unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt (Schema 7). Die Kontrolle der Entschützung erfolgte massenspektrometrisch mittels MALDI-MS. Während nach einem Tag die erste Z-Gruppe schon fast vollständig abgespalten war, blieb die komplette Entschützung aller drei Schutzgruppen nach sieben Tagen noch unvollständig. Auch die Verwendung einer Hydrierapparatur mit 4 bar Wasserstoffdruck verkürzte die Reaktionszeit nicht merklich. Durch Verwendung einer Mischung von Pd/C und Pd(OH)₂/C sowie Erhöhung der Katalysatormenge konnte die Reaktionszeit auf 7 Tage reduziert werden. Das Hydrochloridsalz **14** wurde nach Abfiltrieren und Trocknen ohne weitere Aufreinigung in den folgenden Kupplungsreaktionen eingesetzt.

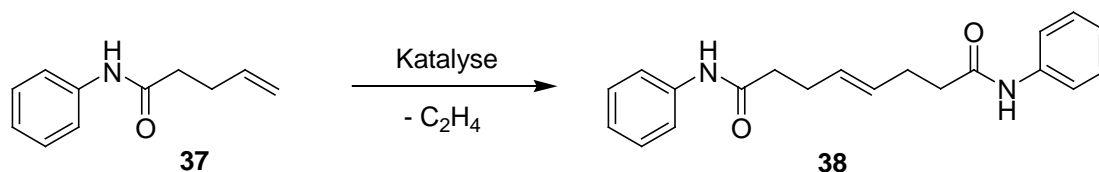
Ausgehend von den Cyclopeptiden mit einer und drei Aminogruppen konnte nun die Darstellung der für die Bis(cyclopeptid)synthese notwendigen funktionalisierten Cyclopeptide erfolgen und diese mittels Olefinmetathese sowie Click-Reaktion zu einfach verbrückten Bis(cyclopeptiden) und dreifach verbrückten Kapseln umgesetzt werden.

4.2 Verbrückung von Cyclopeptiden durch Olefinmetathese

4.2.1 Modellreaktionen

Mit Hilfe geeigneter Testverbindungen sollte zuerst untersucht werden, inwieweit bei der Umsetzung von mit Olefinseitenketten substituierten Cyclopeptiden Isomerisierungen als Nebenreaktionen zur Metathese auftreten und wie sie gegebenenfalls durch Optimierung der Reaktionsbedingungen unterdrückt werden können.

Als Modellverbindung für die Testreaktionen wurde 4-Pentensäurephenylamid **37** ausgesucht (Schema 8). Wie die substituierten Cyclopeptide, die als Vorstufe der Kapsel dienen, enthält es ein kurzgekettiges terminales Olefin, welches über eine Amidbindung an ein primäres Amin geknüpft ist. Im Gegensatz zu den Prolineinheiten der Cyclopeptide wurde hier jedoch ein Phenylrest als Substituent gewählt, um eine einfache Detektion der Produkte mittels UV zu ermöglichen. **37** wurde durch Kupplung von 4-Pentensäure und Anilin mit PyCloP als Kupplungsreagenz hergestellt.



Schema 8: Testreaktion zur Optimierung der Metathesebedingungen.

Die Olefinmetathese zweier Moleküle **37** wurde in entgasten Lösungsmitteln unter einer Stickstoffatmosphäre in Gegenwart von 3-5 Mol% verschiedener Katalysatoren durchgeführt und mittels HPLC und Massenspektrometrie verfolgt.

Als Beispiel ist das Chromatogramm einer Reaktion in Dichlormethan bei 25 °C nach zwei Tagen dargestellt, bei der als Katalysator der Grubbs-Katalysator der 2. Generation **6** eingesetzt wurde (Abbildung 40).

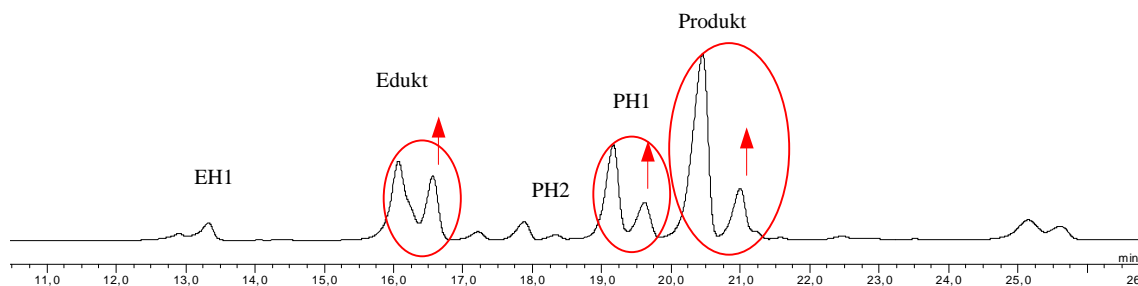


Abbildung 40: Chromatogramm der Reaktion von **37** nach zwei Tagen. Zugeordnet sind die Signale von Edukt und Produkt sowie des Edukthomolog (EH1) und der Produkthomologe (PH1, PH2). Die mit roten Pfeilen markierten Peaks nehmen mit längerer Reaktionszeit zu und sind vermutlich isomere Verbindungen.

In diesem Chromatogramm sind neben dem Edukt- und dem Produktpeak verschiedene weitere Signale sichtbar, von denen einige massenspektrometrisch den zum Produkt homologen Verbindungen PH1 und PH2 sowie dem Edukthomolog 1 zugeordnet werden konnten (Abbildung 41).

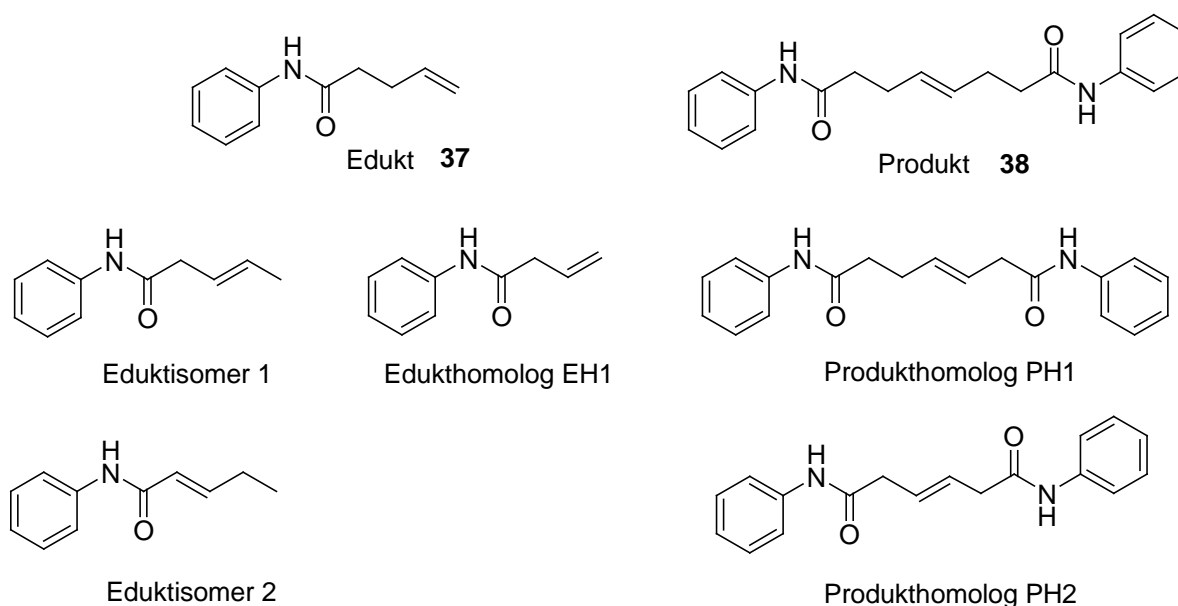


Abbildung 41: Bei der Metathese von **37** auftretende Nebenprodukte.

Das Edukthomolog 1 wurde durch Umsetzung von Anilin mit 3-Butensäure, analog zur Synthese von **37**, synthetisiert und seine Entstehung bei der Umsetzung von **37** durch Vergleichsmessungen mit der Reinsubstanz bestätigt. Sein Auftreten kann nur durch die bereits im Kapitel 2.2.3 erwähnte sekundäre Metathese erklärt werden. Auffällig im Chromatogramm ist das Auftreten charakteristischer Doppelsignale (in Abbildung 40 rot eingekreist), die sich vermutlich auf cis/trans-Isomere der nicht stereoselektiven Metathese

bzw. durch Doppelbindungsisomerisierung entstehende interne Olefine zurückführen lassen, was sich durch die verwendeten Analyseverfahren allerdings nicht eindeutig klären ließ. Die Beobachtung, dass jeweils das zweite Signal des Doppelpeaks mit der Zeit gegenüber dem ersten, früher eluierenden Produkt- bzw. Eduktsignal zunimmt, stützt die These der Isomerisierung, da sie durch Abbauprodukte des Katalysators verursacht werden, die im Verlauf der Reaktion ebenso zunehmen.

Wurde das um eine CH₂-Einheit kürzere Edukthomolog 1, 3-Butensäurephenylamid, als Substrat in einer Metathesereaktion eingesetzt, traten ebenfalls entsprechende Nebenprodukte auf und man erhielt ein zu der Umsetzung von **37** vergleichbares Isomerisierungsmuster. Die bei dieser Reaktion beobachtete deutliche Isomerisierungstendenz, die zu einer Vielzahl an Nebenprodukten führt, lässt den Einsatz analoger Reaktionsbedingungen für eine Verbrückung von Cyclopeptidderivaten als sehr ungünstig erscheinen. Deswegen mussten Bedingungen gefunden werden, unter denen die Nebenproduktbildung verhindert werden konnte.

Zuerst wurde der Katalysator portionsweise zugegeben, um dessen Konzentration konstanter, und die Menge an Abbauprodukten gering zu halten. Dies ergab jedoch ebenso wie die Verwendung des stabileren Hoveyda-Grubbs Katalysators **7** keine Verbesserung. Die Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 40 °C führt bei Verwendung von **7** zu einem schnelleren Umsatz. Nach 90 min waren schon 90 % des Edukts abreagiert, im Vergleich zu nur 50% igem Umsatz bei 25 °C, aber wie erwartet stieg auch die Menge an Nebenprodukten stark an. Diese Tatsache spricht für die Annahme von Grubbs, dass Nebenreaktionen durch Abbauprodukte des Katalysators verursacht werden.^[106] Durch die gesteigerte Umsatzrate nimmt die Katalysatorbelastung und daraus resultierend dessen Abbau zu, was zu einer Zunahme von Katalysatorderivaten führt, die die Nebenproduktbildung verursachen.

In weiteren Reaktionen wurden der Einfluss von Additiven auf die Umsetzung von **37** mit den Katalysatoren **6** und **7** untersucht. Als Additive kamen neben Benzochinon, Essigsäure und Phosphorsäure auch die Lewis-Säuren Ti(OⁱPr)₄ und Harnstoff zum Einsatz. Die Isomerisierungsrate wurde dadurch in den meisten Fällen verringert, aber nicht vollständig verhindert. Leider reduzierte sich in Gegenwart der wirksamen Additive auch der Eduktumsatz deutlich. So konnte in der Reaktion von **37** mit 5 Mol% **6** durch Zusatz von 10 Mol% Benzochinon die Menge an Produkthomolog 1 von 22 % auf 7 % gesenkt werden. Auch die Menge an Eduktisomer 1 sank deutlich von 34 % auf 2 %. Gleichzeitig reduzierte sich aber auch der Umsatz des Edukts von 56 % auf 17 % (Abbildung 42).

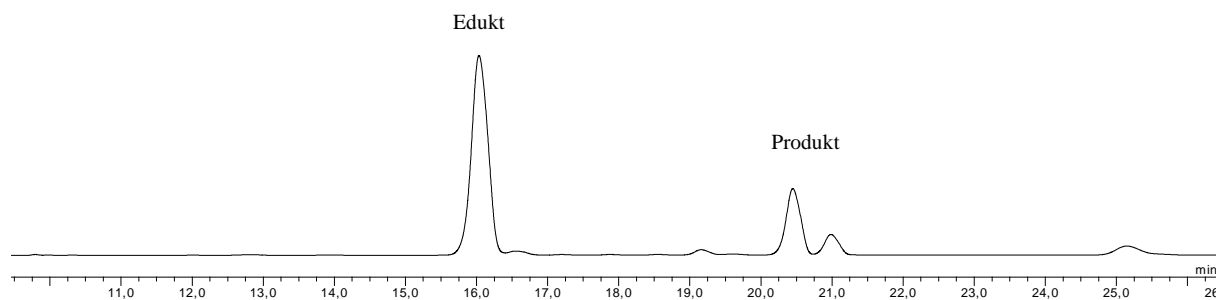


Abbildung 42: Chromatogramm der Reaktion von **37** in Gegenwart von 10 Mol% Benzochinon nach zwei Tagen.

Eine Kombination verschiedener Reaktionsbedingungen, wie der Verwendung von Phosphorsäure als Additiv unter gleichzeitiger Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 65 °C zur Beschleunigung der Reaktion, was den Wechsel des Lösungsmittels zu THF bedingte, führte ebenfalls nicht zu einer erfolgreichen Unterdrückung der Nebenreaktionen.

Zusammenfassend gesagt, stellten sich die verschiedenen in der Literatur vorgeschlagenen Lösungsansätze zur Verhinderung von Isomerisierungsnebenreaktionen bei Verwendung von 4-Pentensäurephenylamid **37** als Testverbindung als nicht effektiv heraus.

Infolge dieser unzufriedenstellenden Ergebnisse wurde die Struktur der Seitenkette verändert. Anstelle des verwendeten Pentensäureamids **37** wurde nun der strukturell verwandte Phenylcarbamidsäureallylester **39** eingesetzt (Abbildung 43). Die Carbamatfunktion ist wie die Amidfunktion eine prinzipiell mit der Olefinmetathese kompatible funktionelle Gruppe und wird oft im Zusammenhang mit der Schützung von Aminosäuren verwendet. **39** wurde aus Anilin und Allylchloroformiat hergestellt und nach Umkristallisieren analysenrein isoliert.

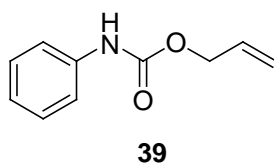


Abbildung 43: Neue Testverbindung auf Basis eines Phenylcarbamats.

Die Umsetzung des Carbamats **39** in Dichlormethan mit 3.7 Mol% **7** zeigte deutliche Unterschiede zum bislang verwendeten Amid **37**. So waren im HPLC-Chromatogramm neben Edukt und Produkt nur wenig andere Peaks zu beobachten, und das bei der Umsetzung von **7** auftretende charakteristische Peakmuster der Nebenprodukte fehlte (Abbildung 44). Auch die

Analyse der Reaktion mit MALDI-MS zeigte keine Anzeichen der Bildung homologer Verbindungen.

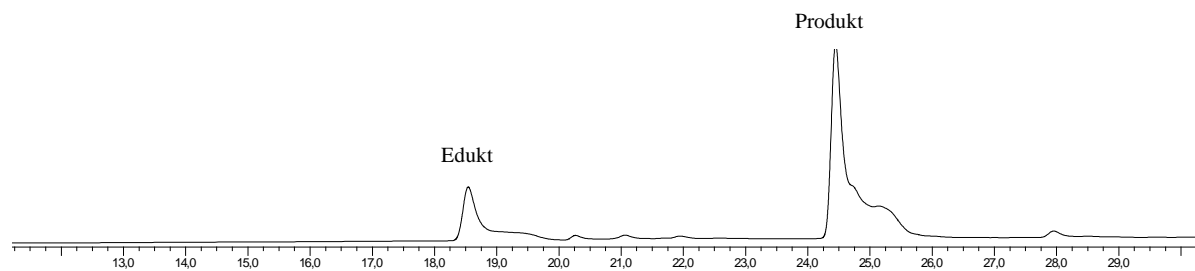
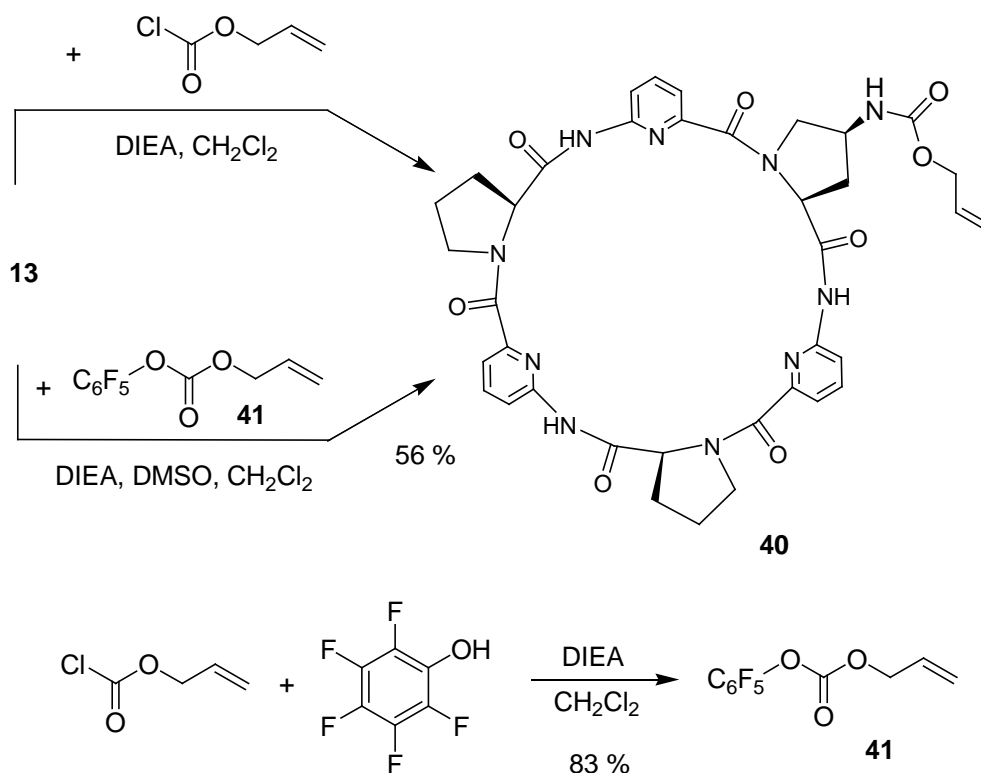


Abbildung 44: Chromatogramm der Reaktion von **39** mit **7** nach zwei Stunden.

Mit der Allyloxycarbonylgruppe (Alloc) war nun im Gegensatz zu den Alkensäureamidgruppen ein Substituent gefunden, der in Testreaktionen keine Hinweise auf eine Isomerisierung der Doppelbindung bei der Umsetzung in der Olefinmetathese zeigte. Daher sollte die nun folgende Kopplung der Cyclopeptide auf Basis dieser Seitenkette erfolgen.

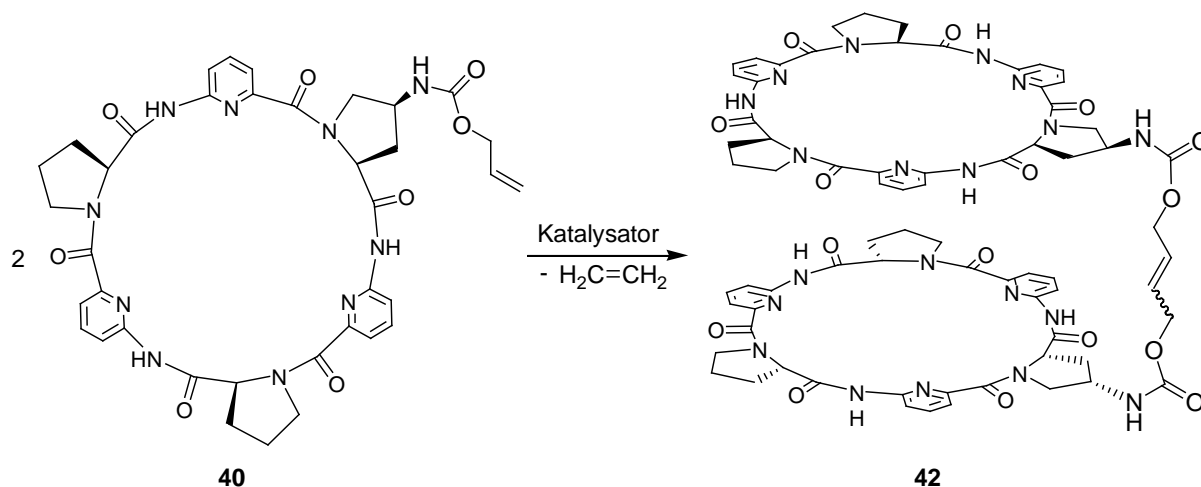
4.2.2 Synthese eines einfach verbrückten Bis(cyclopeptids) durch Olefinmetathese

In den vorangegangenen Studien wurde die Allyloxycarbonylgruppe als geeigneter Substituent identifiziert, der durch Olefinmetathese die Kopplung zweier entsprechender Cyclopeptidderivate ohne umfangreiche Nebenproduktbildung erlauben sollte. Das für diese Reaktion benötigte Cyclopeptidderivat **40** kann durch Umsetzung des Cyclopeptidmonoaminhydrochlorids **13** mit Allylchloroformiat unter Zusatz von DIEA zur Freisetzung der Aminogruppe und Abfangen des entstehenden HCl erhalten werden (Schema 9). Auf diesem Weg konnte allerdings kein analysenreines Produkt erhalten werden. Günstiger erwies sich die Umsetzung von **13** mit Allylpentafluorphenylcarbonat **41**. Verbindung **41** wurde durch Umsetzung von Allylchloroformiat mit Pentafluorphenol erhalten. Neben dem Wechsel des Reagenzes wurde auf dem neuen Reaktionsweg auch DMSO als Cosolvens zugesetzt. Dies hatte den Vorteil, dass das Hydrochlorid **13** schon bei der Zugabe von **41** vollständig gelöst war. Unter den optimierten Bedingungen wurde das gewünschte substituierte Cyclopeptid **40** mit 70%iger Ausbeute in einer Reinheit nach HPLC von 95 % erhalten. In einer Ausbeute von 56 % wurde **40** nach weiteren chromatographischen Reinigungsschritten auch in analysenreiner Form isoliert.



Schema 9: Synthese des einfach Alloc-substituierten Cyclopeptids **40** und des dazu benötigten Aktivesters **41**.

Das Cyclopeptid **40** wurde nun in der Metathesereaktion zur Synthese des einfach verbrückten Bis(cyclopeptids) **42** eingesetzt (Schema 10).



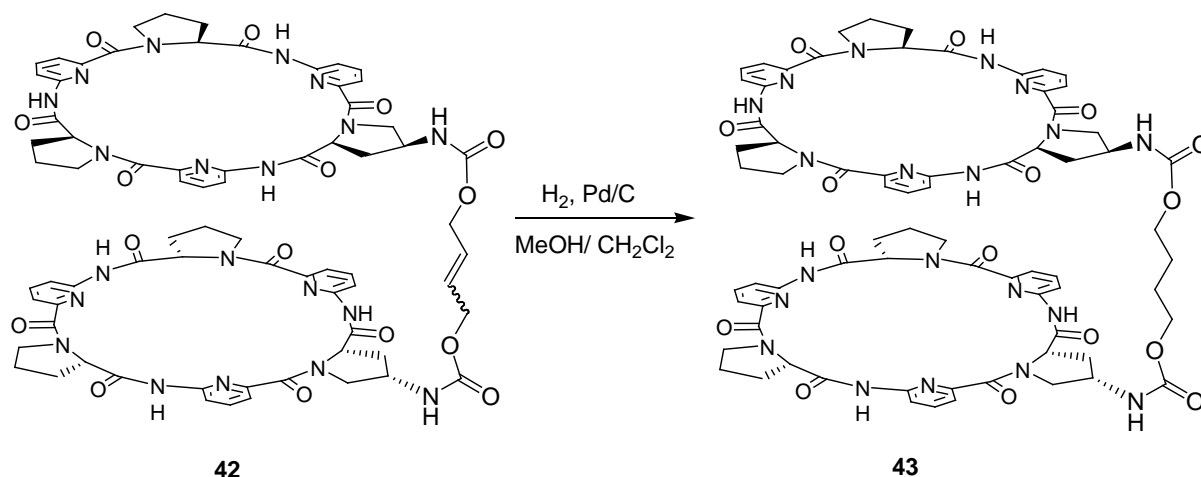
Schema 10: Synthese des einfach verbrückten Bis(cyclopeptids) **42**.

Dazu wurde **40** in Dichlormethan unter einer Stickstoffatmosphäre mit 50 Mol% **7** umgesetzt. Die Notwendigkeit, solch hohe Katalysatormengen einzusetzen, um gute Umsätze zu erreichen, wurde bereits bei der in meiner Diplomarbeit untersuchten Metathesereaktion der strukturell ähnlichen Verbindungen **36a** und **36b** deutlich. Die Ursache dafür dürfte in der größeren sterischen Hinderung der Cyclopeptidringe im Vergleich zu den deutlich einfacheren Testverbindungen liegen, sowie eventuell auch in deren Fähigkeit mit ihren Pyridineinheiten und Amidgruppen an das Metallzentrum des Katalysators zu koordinieren.^[113]

Die Reaktion von **40** wurde massenspektrometrisch mittels MALDI-MS verfolgt. Auf diese Weise wurden neben der Bildung einer Verbindung mit der Produktmasse von **42** in der Reaktionsmischung noch Edukt, Katalysator, sowie weitere nicht zugeordnete Verbindungen nachgewiesen. In einem nach 6 Tagen aufgenommenem HPLC-Chromatogramm konnten die beiden Hauptpeaks des Chromatogramms Edukt und Produkt zugeordnet und deren Flächen zur Berechnung des Umsatzes herangezogen werden. Der Umsatz bezogen auf das Verhältnis von Edukt- zu Produktsignal belief sich trotz der großen Katalysatormenge und langer Reaktionszeit nur auf 65 %.

Daraufhin wurde **40** unter ansonsten gleichen Bedingungen mit 25 Mol% des reaktiveren Katalysators **6** umgesetzt. Aufgrund unvollständigen Umsatzes erfolgte nach 18 h und 48 h die Zugabe von weiteren 25 Mol% sowie 15 Mol% Katalysator.

Die Reaktion wurde nach 3 Tagen, nachdem keine weitere Produktbildung mehr beobachtet werden konnte, beendet und chromatographisch aufgearbeitet. Eine Schwierigkeit lag in der Abtrennung der dunkel gefärbten Abbauprodukte des Katalysators, die sowohl mit Normalphasen Kieselgel als auch RP-18 Kieselgel zum Großteil, aber nicht vollständig entfernt werden konnten. Bei der Aufarbeitung wurden neben einer Fraktion, die vorwiegend Produkt enthielt, ebenso Verbindungen eluiert, deren Massenspektren auf eine Nebenreaktion des Katalysators bzw. dessen Liganden mit Edukt und Produkt hindeuteten. Die Produktfraktion war laut HPLC-Analyse noch mit einer geringen Menge weiterer Verbindungen verunreinigt. $^1\text{H-NMR}$ -Spektren zeigten neben diesen Verunreinigungen charakteristische Signale des Cyclopeptids, die jedoch breit und schlecht aufgelöst waren. Die Erhöhung der Messtemperatur von $25\text{ }^\circ\text{C}$ auf $100\text{ }^\circ\text{C}$ führte nicht zu einer Verbesserung der Qualität des Spektrums, wodurch ausgeschlossen wurde, dass die Signalverbreiterung auf ein langsames Konformerengleichgewicht zurückzuführen ist. Allerdings ist die Stereoselektivität der Olefinmetathese stark substratabhängig. Ein komplexes $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum kann daher auch auf das Vorliegen einer Mischung aus E- und Z-Produkt hinweisen. Deshalb wurde das Rohprodukt in Methanol/Dichlormethan gelöst und mit Wasserstoff über Pd/C hydriert (Schema 11). Die Signale im $^1\text{H-NMR}$ waren nun besser aufgelöst, doch die Menge an Rohprodukt reichte für die Isolierung von **43** nicht aus.



Schema 11: Hydrierung des Bis(cyclopeptids) **42**.

Deshalb wurde nun **40** in einem größeren Ansatz mit 25 Mol% **6** umgesetzt. Nach 15 Stunden wurden weitere 15 Mol% Katalysator zugegeben, und die Reaktion eine Stunde auf $40\text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt. Zusätzlich wurden diese und die folgenden Reaktionen unter Argon anstelle von Stickstoff durchgeführt. Wiederum wurden nach kurzer Zeit im MALDI-MS Spektrum der

Reaktion Massenpeaks von Nebenprodukten detektiert. Das HPLC-Chromatogramm der Reaktion zeigt nach 1.5 Tagen einen fast vollständigen Umsatz des Eduktes, aber auch mehrere weitere Verbindungen (Abbildung 45).

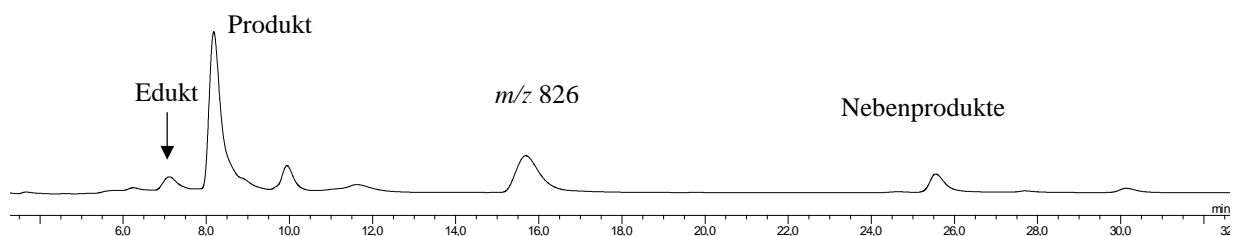


Abbildung 45: Chromatogramm der Umsetzung von **40** mit dem Metathesekatalysator **6**.

Durch fraktionierte HPLC mit anschließender MALDI-MS-Analyse der Fraktionen konnten neben den Edukt- und Produktpeaks, der Peak bei 15.7 Minuten eindeutig einer Verbindungen mit der Masse m/z 826 zugeordnet werden. Die vermutete Verbindung ist in Abbildung 46 dargestellt und ihre Bildung kann anhand des Katalysezyklus (Abbildung 25) erklärt werden. Sie entsteht durch einfache Metathese des Edukts mit dem Olefin welches aus dem Katalysator im Initiierungsschritt freigesetzt wird. Je größer die Katalysatormenge, in desto größerem Umfang kann **44** gebildet werden. Der bei 25.5 Minuten eluierte Peak enthielt die bereits im Massenspektrum der Reaktion beobachteten Nebenprodukte, die vermutlich durch Reaktion von Katalysatorfragmenten mit Edukt und Produkt entstehen.

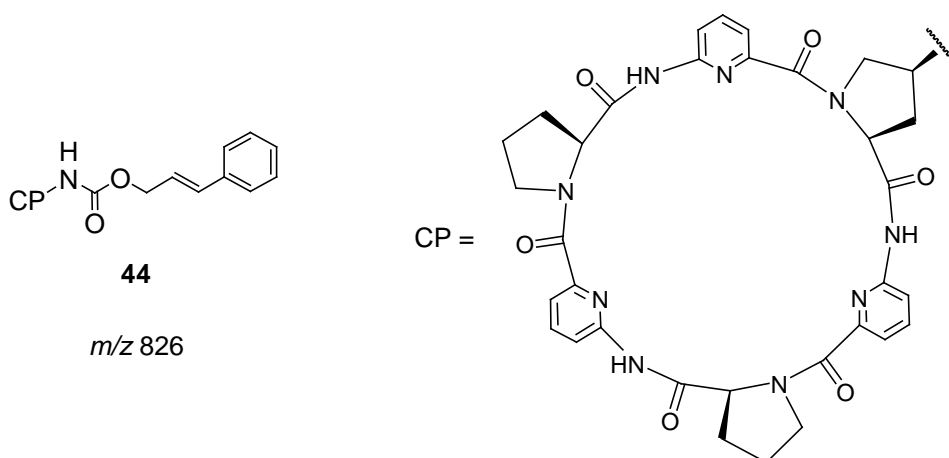


Abbildung 46: Bei der Metathese von **40** entstehendes Nebenprodukt **44**.

Dieser Ansatz wurde chromatographisch mittels RP-18 Kieselgel aufgearbeitet. Eine vollständige Reinigung des Produkts gelang auf diese Weise allerdings nicht. Es wurde laut

HPLC-Analyse in 94 % Reinheit erhalten, allerdings war die Ausbeute mit 20 mg ausgehend von 48 mg Edukt nur gering. Im MALDI-MS zeigten sich zudem Massen, die eindeutig einer zum Edukt homologen Verbindung mit einer um eine CH₂-Einheit verlängerten Kette zuzuordnen waren. Unter den gegebenen Bedingungen findet also auch bei der Alloc-Seitenkette eine Isomerisierung der Doppelbindung statt. Das Nebenprodukt entsteht dabei vermutlich durch Doppelbindungsisomerisierung des Produkts mit nachfolgender sekundärer Metathese. Diese Nebenreaktion findet jedoch in so geringem Ausmaß statt, dass das Homologe in den Analysen der Reaktionsmischung nicht zu erkennen war. Des Weiteren wurden bei der Aufarbeitung zwei weitere Fraktionen abgetrennt, die laut Massenspektren Verbindung **44** und ein nicht näher identifiziertes Nebenprodukt enthielten. Die ¹H-NMR-Spektren der beiden Fraktionen enthielten für das Cyclopeptidgerüst typische Signale, aber aufgrund ihrer Komplexität und der Vielzahl der Signale konnten sie nicht für eine eindeutige Strukturanalyse verwendet werden.

Aufgrund der bereits erwähnten Problematik, dass bei der Metathese ein E- und ein Z-konfiguriertes Produkt anfallen kann, wurde das Rohprodukt hydriert, um diese Stereoisomere zusammenzuführen. Die anschließende Isolierung des Produkts wurde mittels präparativer HPLC durchgeführt. Nach Optimierung der chromatographischen Trennung wurde genug sauberes Produkt erhalten, um seine Identität NMR-spektroskopisch zweifelsfrei zu belegen. Bei der Aufreinigung wurde neben dem Produkt eine weitere Fraktion erhalten, die laut ESI-MS die zu Edukt und Produkt homologen, um jeweils eine CH₂-Einheit verlängerten hydrierten Verbindungen **45** und **46** enthielt (Abbildung 47).

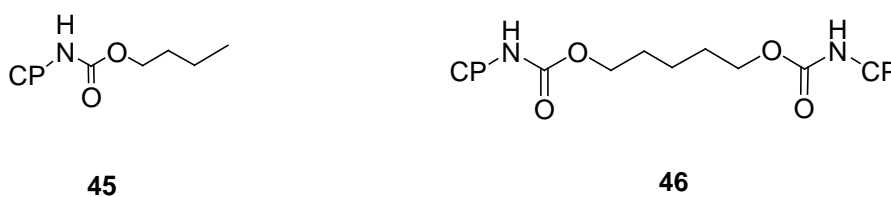


Abbildung 47: Während der präparativen HPLC abgetrennte, zu Edukt und Produkt homologe Verbindungen.

Prinzipiell war es nun auf diesem Weg möglich, das einfach verbrückte Bis(cyclopepid) **43** zu erhalten. Allerdings führt die aufwendige chromatographische Abtrennung der entstehenden Nebenprodukte und Katalysatorrückstände zu hohen Ausbeuteverlusten. Ich entschied mich daher, die Reaktionsbedingungen für die Metathese des Cyclopeptids **40** nochmals zu untersuchen, mit dem Ziel, die bisher verwendete große Menge an Katalysator zu reduzieren,

die für einen akzeptablen Umsatz nötig ist, aber vermutlich auch die Ursache für die Bildung der auftretenden Nebenprodukte darstellt.

In Testreaktionen wurde **40** mit 20 Mol% bzw. 50 Mol% verschiedener Katalysatoren umgesetzt, wobei zusätzlich das Lösungsmittel und die Reaktionstemperatur variiert wurde. In Tabelle 1 ist der chromatographisch mit HPLC bestimmte Umsatz bei diesen Reaktionen nach zwei Tagen zusammengefasst. Die Tabelle enthält außerdem Angaben zum Umsatz der Reaktionen nach einem Zeitraum, nach dem keine Veränderung mehr zu beobachten war.

Eintrag	Katalysator	Temperatur	Umsatz nach 2d	Umsatz nach Ende
1 ^{a)}	5 (50 Mol%)	RT	nicht bestimmt	31 % (3d)
2 ^{a)}	5 (20 Mol%)	RT ^{c)}	17 %	21 % (3d)
3 ^{a)}	5 (20 Mol%)	40 °C	50 %	50 % (6d)
4 ^{a)}	7 (20 Mol%)	RT	15 %	41 % (4.5d)
5 ^{a)}	7 (50 Mol%)	40 °C	65 %	95 % (4d)
6 ^{a)}	6 (20 Mol%)	40 °C	60 %	64 % (7d)
7 ^{a)}	8 (50 Mol%)	RT	50 %	72 % (6d)
8 ^{b)}	8 (20 Mol%)	80 °C	26 %	39 % (4d)

a) Dichlormethan, b) Toluol, c) kurz zum Sieden erhitzt

Tabelle 1: Ergebnisse der Metathesereaktionen von 40.

Die Tabelle zeigt, dass der Grubbs Katalysator der ersten Generation **5** (Ansätze 1-3) eine geringere Aktivität besitzt als **6**. Bei Raumtemperatur wird mit 50 Mol% Katalysator nur ein Umsatz von 31 % erreicht. In Eintrag 2 wurde die Reaktion kurz zum Sieden erhitzt um den Präkatalysator zu aktivieren^[146] und anschließend bei Raumtemperatur gerührt. Der Umsatz liegt mit 20 Mol% **5** nur bei 21 %. Unter Rückfluss erhöht sich der Umsatz auf 50 % nach zwei Tagen, nimmt aber nicht weiter zu, da der Katalysator wahrscheinlich nach dieser Zeit bereits inaktiv ist. Katalysator **7** ist stabiler und zeigt nach 2 Tagen noch deutliche Aktivität. Der Umsatz bei Raumtemperatur beträgt aber mit 20 Mol% **7** auch nach über vier Tagen nur 41 % (Eintrag 4). Unter Rückfluss in Gegenwart von 50 Mol% Katalysator ist der Umsatz zwar maximal, in der HPLC treten aber eine Vielzahl weiterer Peaks auf, die auf umfangreiche Nebenreaktionen hinweisen. Die Reaktion mit 20 Mol% **6** unter Rückfluss

verläuft zwar mit 64 %, führt aber ebenso zu mehreren Nebenprodukten, unter anderem wurde das Edukthomologe im MALDI-MS detektiert.

Als vierten Katalysator testete ich Verbindung **8**, die in der Literatur als geeigneter für die Umsetzung sterisch anspruchsvoller Olefine beschrieben wird.^[147] Doch auch diese zeigte nur bei höherer Katalysatorbeladung von 50 Mol% vergleichbar hohe Umsatzraten wie **6**. Die Reaktion in Toluol bei 80 °C führte nur zu wenig Produkt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass keiner der anderen getesteten Katalysatoren bei Raumtemperatur höhere Aktivität besitzt als **6**. Die Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 40 °C wirkt sich zwar positiv auf den Umsatz auf, führt aber auch zur verstärkten Bildung von Nebenprodukten. Deswegen entschloss ich mich, die Reaktion in größerem Maßstab bei Raumtemperatur mit dem bereits verwendeten Katalysator **6** durchzuführen, und niedrigere Ausbeuten durch anschließende chromatographische Abtrennung der auftretenden Nebenprodukte in Kauf zu nehmen.

Entsprechend wurde **40** in einem größeren Ansatz mit insgesamt 35 Mol% **6** umgesetzt, und die Reaktion nach drei Tagen bei einem Umsatz von 67 % beendet. Nach einer Vorreinigung über RP-18 Kieselgel wurde das Rohprodukt mit Wasserstoff über Pd(OH)₂/C hydriert. Die weitere Isolierung erfolgte durch semipräparative HPLC, gefolgt von sorgfältigem Waschen des so erhaltenen Produkts mit Diethylether. Das gewünschte Bis(cyclopeptid) **43** konnte auf diese Weise in einer Ausbeute von 25 % erhalten werden. Diese Menge war ausreichend für die weitere Charakterisierung.

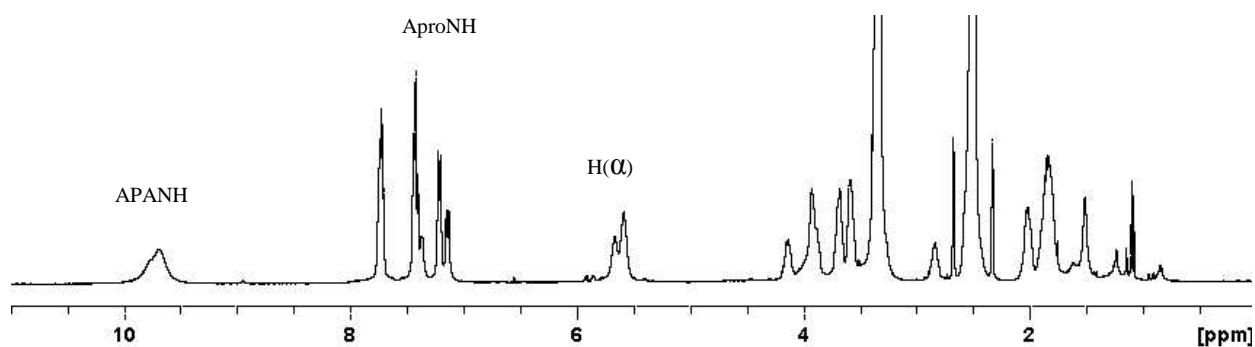


Abbildung 48: ¹H-NMR von **43** in DMSO (400 MHz, 22 °C).

Das ¹H-NMR-Spektrum von **43** in DMSO zeigt im aromatischen Bereich die Signale der drei Protonen der Pyridinringe sowie der Amidprotonen (Abbildung 48). Wegen der fehlenden Symmetrie innerhalb der Cyclopeptidringe - nur eine der drei Prolineinheiten ist substituiert - werden für analoge Protonen mehrere Signale beobachtet. Deutlich ist dies z.B. für die Signale der H(α)-Protonen des Prolins bei 5.6 ppm zu erkennen. Die Signale im Bereich von

1-4 ppm stammen von den restlichen Prolinprotonen sowie dem Linker. Die Ergebnisse der Untersuchung der Bindungseigenschaften von **43** mit Anionen werden im Kapitel 4.4 vorgestellt.

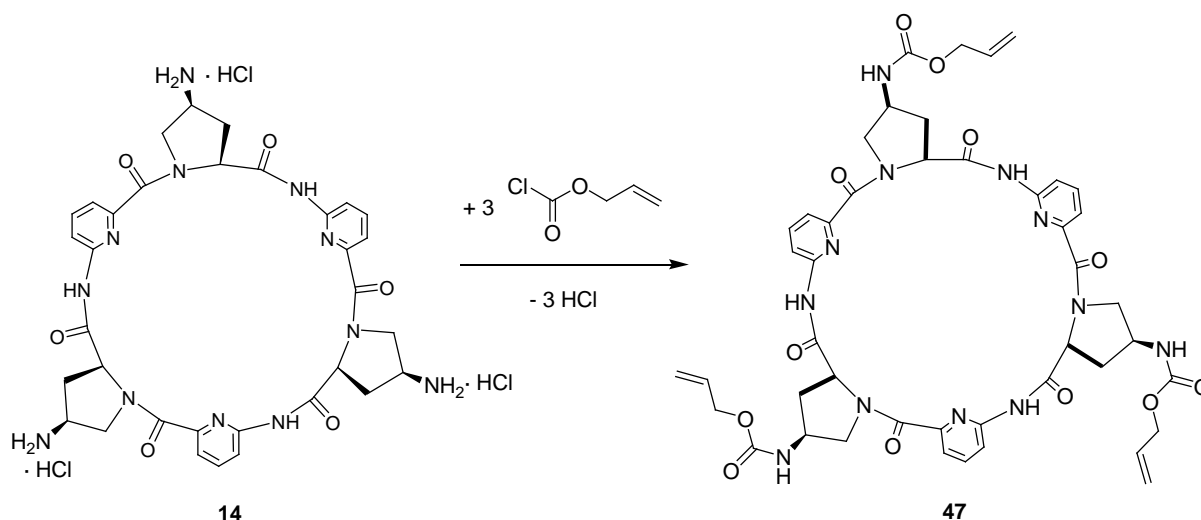
Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die einfache Verbrückung zweier mit Allyloxycarbonylseitenketten substituierten Moleküle **40** mittels Olefinmetathese möglich ist. Allerdings verläuft die Reaktion mit schlechtem Umsatz, weswegen Katalysatormengen von bis zu 50 Mol% eingesetzt werden mussten. Auch durch Variation der Reaktionsbedingungen und die Verwendung verschiedener Katalysatoren konnte die Katalysatormenge nicht reduziert werden. Anhand der Untersuchung geeigneter Testverbindungen wurde mit dem Allylcarbammat eine Seitenkette gewählt, die vergleichsweise unempfindlich gegen die als Nebenreaktion auftretende Doppelbindungsisomerisierung ist. Dennoch wurden bei der Umsetzung von **40** die Bildung von Verbindungen beobachtet, die zu Produkt und Edukt homolog sind, was vermutlich auf sekundäre Metathesen zurückzuführen ist. Die Abtrennung dieser Nebenprodukte, sowie des Katalysators und seiner Abbauprodukte gestaltete sich schwierig, konnte aber in mehreren chromatographischen Schritten erreicht werden. Durch Hydrieren wurde das Bis(cyclopeptid) **42** in das einheitliche Produkt **43** überführt.

Die Darstellung von **42** bzw. **43** gelang trotz Optimierung nicht in idealer Weise. Eventuell könnte durch neuere Katalysatoren die Katalysatormenge weiter reduziert werden, oder unerwünschte Nebenreaktionen könnten durch Zusatz von Additiven zurückgedrängt werden. Hierzu wurden aber keine weiteren Arbeiten durchgeführt.

Aufgrund der geschilderten Probleme bei der Umsetzung einfach substituierter Cyclopeptide dürfte sich die Synthese eines dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) als noch schwieriger gestalten. Dennoch wurden Versuche zu deren Synthese unternommen.

4.2.3 Synthese eines dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) durch Olefinmetathese

Die einfachste Möglichkeit, das für die Synthese des dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) benötigte Cyclopeptid **47** zu erhalten, ist die direkte Umsetzung des vollständig entschützten Cyclopeptids **14** mit Allylchloroformiat (Schema 12).

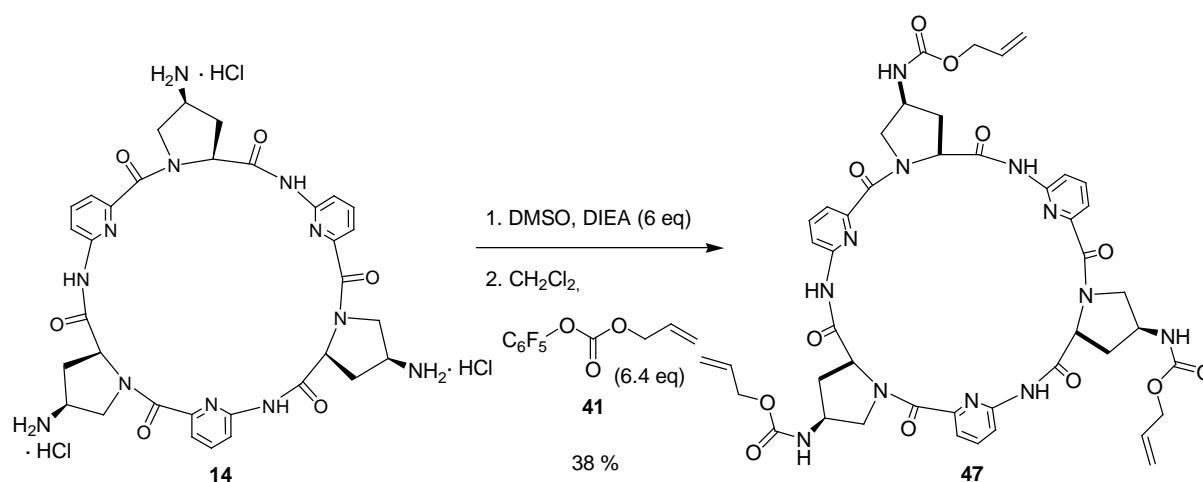


Schema 12: Synthese des dreifach Alloc-substituierten Cyclopeptids **47**.

Es wurden verschiedene Ansätze durchgeführt, um geeignete Bedingungen für die Reaktion zu finden. Das Problem bei dieser Reaktion bestand darin, dass **14** in organischen Lösungsmitteln nur schwer löslich ist, was auf den salzartigen Charakter der Verbindung zurückzuführen ist. Trotz dieses Umstandes wurde wegen der hohen Reaktivität der freien Aminogruppen nicht auf die Isolierung von **14** als Hydrochlorid verzichtet. Es ist zwar denkbar, dass **14** bei Freisetzung der Ammoniumgruppen mit der bei der Reaktion im Überschuss vorhandenen Base und sequentiellen Abreaktion der Aminogruppen mit Allylchloroformiat besser löslich wird und die anfangs heterogene Reaktion nach und nach in eine homogene übergeht. Jedoch waren auch nach vier Tagen Reaktionszeit in Dichlormethan erhebliche Mengen ungelöstes Edukt in der Reaktionsmischung vorhanden, die nicht abreagierten. In polaren Lösungsmitteln wie DMSO, DMF, NMP oder Mischungen aus Methanol oder THF mit Dichlormethan konnte das Edukt zwar gelöst werden, die Reaktion verlief aber nicht einheitlich und es konnte unter diesen Bedingungen nach chromatographischer Aufreinigung nur verunreinigtes Produkt in geringen Ausbeuten erhalten werden. Auch der Versuch, **14** zunächst in einem Methanol/Dichlormethan-Gemisch

mit DIEA zu deprotonieren, das Lösungsmittel zu entfernen und die Kupplung anschließend in einem Gemisch aus THF und Dichlormethan durchzuführen scheiterte. Erst der Wechsel des Reagenzes von Allylchloroformiat zu Allylpentafluorphenylcarbonat **41** brachte eine entscheidende Verbesserung.

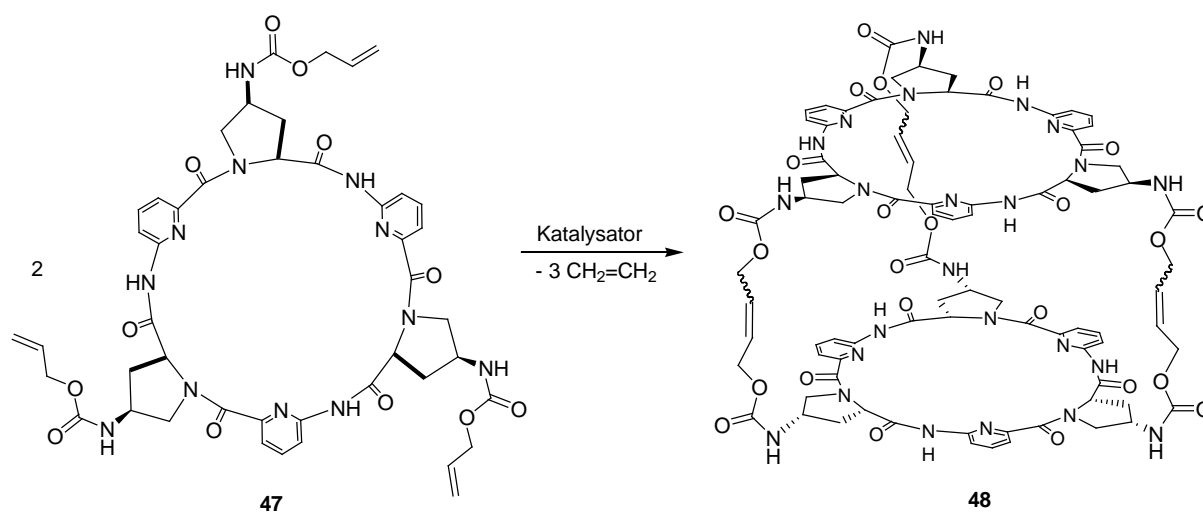
Mit diesem Reagenz konnte **14** nach Deprotonierung mit DIEA in einem DMSO/Dichlormethan-Gemisch umgesetzt werden (Schema 13). In Anwesenheit von 6.4 Äquivalenten **41** war der Umsatz bei Raumtemperatur bereits in weniger als einer Stunde vollständig, und es wurden keine Nebenprodukte detektiert. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung und Ausfällen in Wasser wurde das gewünschte Produkt **47** in einer Ausbeute von 38 % erhalten. Die niedrige Ausbeute ist vor allem durch Verluste beim Ausfällen des Produkts zu erklären. Die Verwendung von Cs_2CO_3 anstelle von DIEA als Base, dessen Salze bei der Aufarbeitung unter Umständen besser abtrennbar sein sollten, brachte keine Verbesserung, da unter diesen Bedingungen Nebenprodukte auftraten, die nicht chromatographisch abgetrennt werden konnten.



Schema 13: Synthese des dreifach Alloc-substituierten Cyclopeptids **47**.

Im Folgeschritt wurde versucht, **47** in einer Metathesereaktion zur dreifach verbrückten Kapsel umzusetzen (Schema 14). Neben den Schwierigkeiten durch bei der Olefinmetathese auftretende Nebenreaktionen, die schon zu Problemen bei der Herstellung des einfach verbrückten Derivats **42** geführt haben, können bei der Herstellung der gewünschten Kapsel **48** zusätzliche Probleme auftreten. So kann es zu einer Oligomerisierung der Cyclopeptide kommen, wenn die Reaktion über die Dimerisierung hinausgeht. Zudem ist nicht bekannt, ob die Bildung aller drei Brücken durch Olefinmetathese überhaupt gelingt oder ob z.B. aus

sterischen Gründen die letzte Brücke nicht geschlossen werden kann. Diese prinzipiellen Fragen sollten zunächst in Voruntersuchungen beantwortet werden.



Schema 14: Synthese des durch dreifache Metathese verbrückten Bis(cyclopeptids) **48**.

Hierzu wurde **47** in Dichlormethan mit 1 eq **6** umgesetzt. Im MALDI-MS Spektrum konnte nach 1 h ein Peak mit dem m/z Verhältnis 1815 detektiert werden (Abbildung 49). Das Isotopenmuster war eindeutig dem einfach protonierten Bis(cyclopeptid) mit drei geschlossenen Linkern zuzuordnen, wodurch bewiesen war, dass mit der verwendeten Seitenkette die Bildung einer dreifach verbrückten Kapsel prinzipiell möglich ist. Weitere Peaks des Spektrums stammen von den Produktvorstufen mit nur einer bzw. zwei geschlossenen Brücken, die neben der protonierten Spezies noch als Addukt mit Na^+ bzw. K^+ auftreten, sowie Fragmenten des Katalysators. Zusätzlich wurden Peaks bei m/z Verhältnissen beobachtet, die anzeigen, dass bei dieser Reaktion analoge Nebenreaktionen ablaufen wie bei der Umsetzung des einfach substituierten Cyclopeptids **40**.

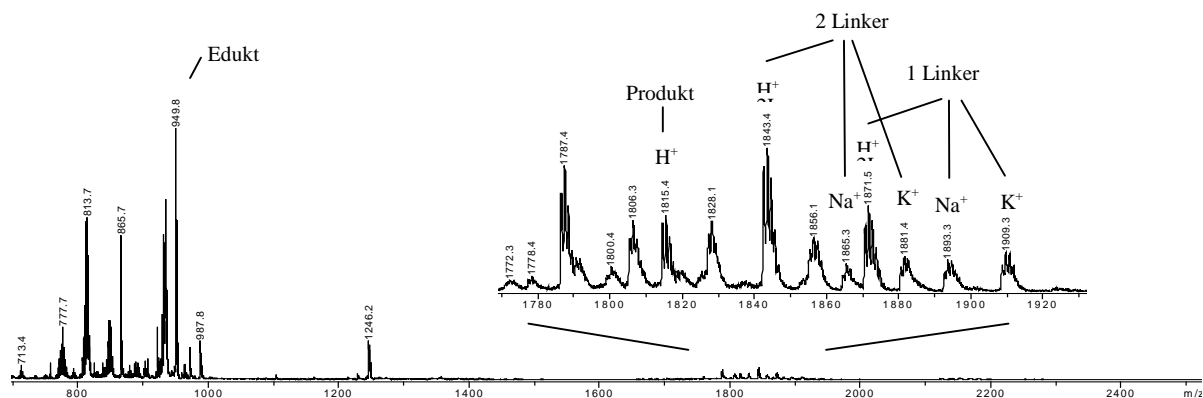


Abbildung 49: MALDI-MS Spektrum der Reaktionsmischung von **47** mit **6** nach 1 h.

Die Reaktion wurde nun in größerem Maßstab in Gegenwart von 25 Mol% **6** umgesetzt. Das HPLC-Chromatogramm der Reaktion nach 24 Stunden ist in Abbildung 50 dargestellt. Um die Signale zuzuordnen, erfolgte eine fraktionierte Sammlung des Eluats, welches anschließend mittels MALDI-MS untersucht wurde. Auf diese Weise konnte der Peak bei 14.2 min dem Edukt und der bei 7.7 min dem Produkt zugeordnet werden. Daneben waren in geringen Mengen auch Peaks des einfach (19 min) und zweifach verbrückten Bis(cyclopeptids) (15 min) sichtbar.

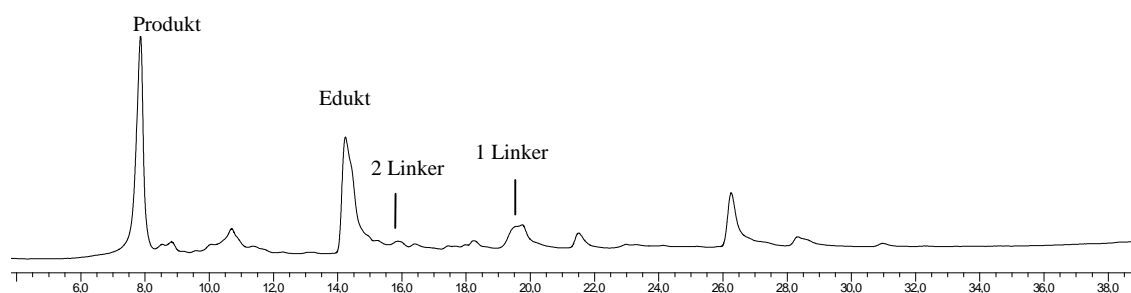


Abbildung 50: HPLC-Chromatogramm der Reaktion von **47** mit **6** nach 24 h.

Da der Umsatz nach 24 h laut HPLC Analyse noch unvollständig war, wurde nochmals 25 Mol% Katalysator nachdosiert und die Reaktion nach weiteren 24 h aufgearbeitet. Zu diesem Zeitpunkt war das Edukt fast vollständig abreagiert. Laut MALDI-MS waren nun auch vermehrt Nebenprodukte entstanden.

Nach chromatographischer Reinigung wurde ein Rohprodukt in 9.8 % Ausbeute erhalten, welches laut HPLC und MALDI-MS aber noch verunreinigt war. Von diesem Rohprodukt wurden $^1\text{H-NMR}$ -Spektren bei Raumtemperatur sowie bei 100 °C aufgenommen (Abbildung 51). Während die Signale in dem Spektrum bei Raumtemperatur breit und schlecht aufgelöst sind, was die Zuordnung erschwert, ist das Spektrum bei 100 °C bedeutend klarer. Die Signale des Produkts sind rot markiert und konnten durch zweidimensionale Spektroskopie größtenteils zugeordnet werden. Anzumerken ist, dass die olefinischen Protonen der Linker bei 5.4 ppm ein einzelnes, leicht verbreitertes Signal liefern und Signale weiterer, z.B. terminaler olefinischer Protonen fehlen. Dies deutet zum Einen darauf hin, dass, wie bereits massenspektrometrisch belegt, alle drei Linker des Bis(cyclopeptids) geschlossen sind. Zum Anderen ist es zusammen mit den Signalen der $\text{H}(\alpha)$ -Protonen und Amidprotonen der Prolinringe bei 5.8 und 6.5 ppm, die ebenso als verbreiterte nicht aufgelöste Signale auftreten, sowie den drei Multipletts der Pyridinprotonen zwischen 7 und 8 ppm ein Indiz dafür, dass das Bis(cyclopeptid) **48** als einheitliche und symmetrische Verbindung vorliegt. Es legt den Schluss nahe, dass alle Linker entweder die E- oder Z-Konfiguration besitzen.

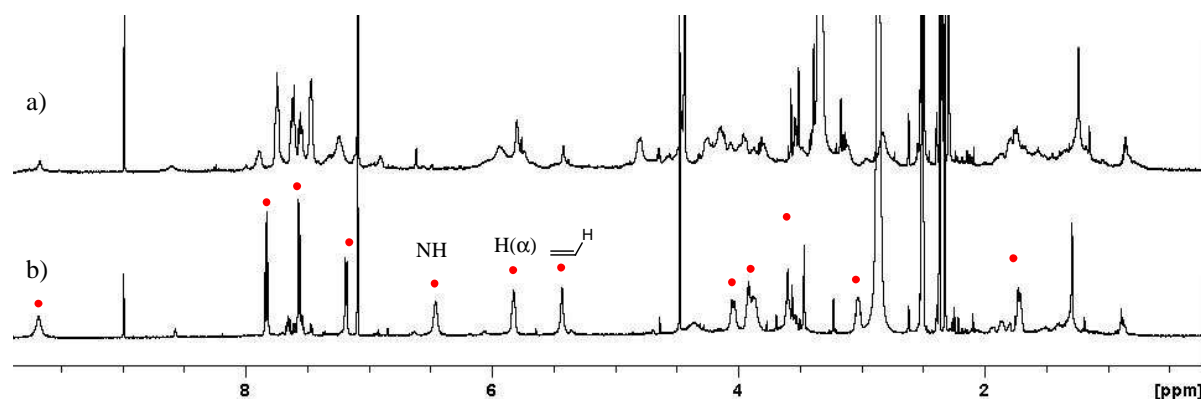


Abbildung 51: ^1H -NMR-Spektren von **48** in DMSO bei a) Raumtemperatur sowie b) $100\text{ }^\circ\text{C}$.

Daraufhin wurden weitere Ansätze, unter anderem auch mit den Katalysatoren **7** und **8**, mit portionsweiser Zugabe sowie kürzerer bzw. längerer Reaktionszeit durchgeführt. Wie bei dem einfach verbrückten Bis(cyclopeptid) konnte auch hier keine signifikante Erhöhung der Produktausbeute unter gleichzeitiger Verringerung der Katalysatormenge erreicht werden.

Da eine weitere Aufreinigung dieser Verbindung sowohl durch Normalphasen bzw. RP-Kieselgel-Chromatographie, als auch durch semipräparative HPLC scheiterte, wurde sie in Gegenwart von $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ mit Wasserstoff hydriert. Die Verfolgung der Reaktion mittels MALDI-MS zeigte die sukzessive Hydrierung der drei Linker bis zur vollständig gesättigten Kapsel **49** (Abbildung 52).

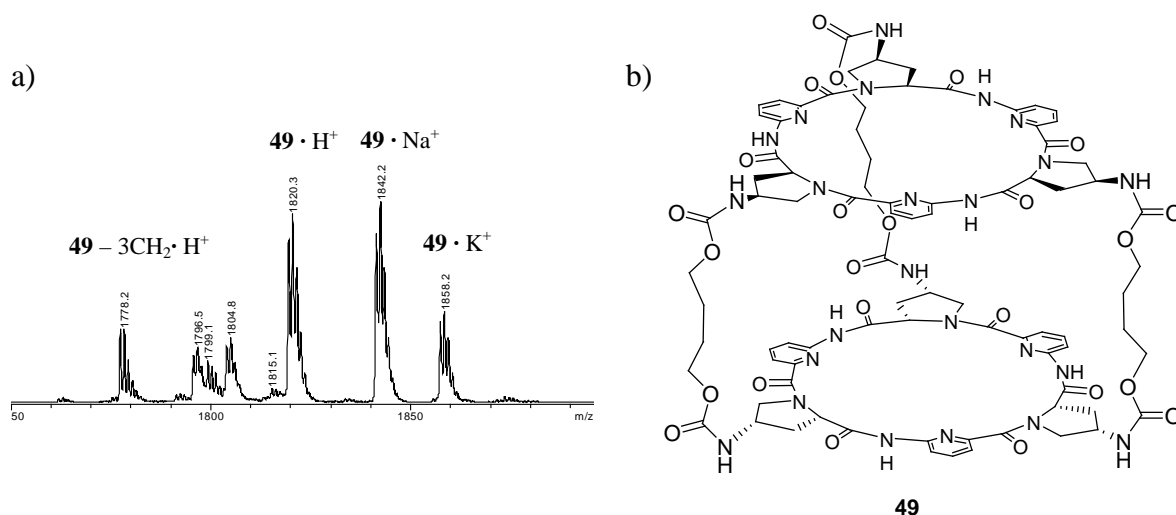


Abbildung 52: Hydrierung von **48** zur gesättigten Kapsel **49**: a) MALDI-MS-Spektrum nach vollständiger Hydrierung des Rohprodukts und b) Struktur von **49**.

Dabei tauchten im Massenspektrum neben den Signalen der hydrierten Kapsel **49** auch Signale auf, die einer um drei CH₂-Einheiten reduzierten Kapsel entsprechen (Abbildung 52). Die könnte darauf hindeuten, dass eine Verunreinigung des Rohprodukts von **48** aus Kapseln bestand, in denen einzelne oder alle drei Linker verkürzte Alkylketten enthalten, deren Bildung möglicherweise auf Isomerisierungsreaktionen während der Olefinmetathese zurückzuführen ist. Laut dem in Abbildung 51 abgebildeten ¹H-NMR-Spektrum treten diese Verbindungen aber nicht in großem Umfang auf. Das durch Hydrierung erhaltene Rohprodukt **49** wurde durch semi-präparative HPLC weiter gereinigt. Dabei konnte der Umstand ausgenutzt werden, dass sich das Elutionsverhalten der Kapsel durch die Hydrierung geringfügig änderte. Ein analysenreines Produkt konnte auf diese Weise aber nicht erhalten werden. Aufgrund der bedeutenden Schwierigkeiten bei der Aufreinigung des Produkts und der großen Verluste bei den einzelnen Reinigungsschritten, weswegen eine Isolierung durch z.B. Umkristallisation nicht mehr möglich war, wurden die Arbeiten zu diesem Themengebiet zu diesem Zeitpunkt eingestellt.

Festzuhalten bleibt, dass in ¹H-NMR-Spektren und Massenspektren eindeutige Hinweise auf die Bildung eines dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) bei der Umsetzung von **47** in der Olefinmetathese erhalten wurden. Die Spektren weisen darauf hin, dass es als C₃-symmetrische Verbindung vorliegt, in der die Linker entweder alle die E- oder Z-Konfiguration besitzen. Die analysenreine Darstellung dieser Kapsel **48** oder ihres gesättigten Derivates **49** zur weiteren Untersuchung, z.B. ihrer Bindungseigenschaften, gelang jedoch nicht. Neben der unvollständigen Abtrennung aller Katalysatorreste - die Katalysatormenge musste aufgrund des schlechten Umsatzes der Reaktion bis zu 50 Mol% betragen - traten als weitere Verunreinigung Nebenprodukte auf, die auf Doppelbindungsisomerisierungen zurückzuführen sind. Diese schon beim einfach verbrückten Bis(cyclopeptid) **42** aufgetretene Problematik sollte sich beim Bis(cyclopeptid) mit drei Linkern durch die potentiell größere Zahl und Entstehungswahrscheinlichkeit von Nebenprodukten noch stärker auswirken. Trotz Variation des Katalysators, der Reaktionsbedingungen und der Methoden zur Aufarbeitung ist eine analysenreine Darstellung der Kapsel nicht gelungen. Eventuell könnte der Einsatz neuerer Katalysatoren oder geeigneter Additive die Aufreinigung ermöglichen. Alternativ könnte eine weitere Veränderung der Seitenkettenstruktur Nebenreaktionen vermeiden, allerdings ist dabei zu abwägen, inwieweit sich eine Änderung der Seitenketten auf die Struktur der Kapsel auswirkt und ob die so erhaltene Kapsel für die Untersuchung der Bindungseigenschaften von Anionen noch geeignet ist. Die Verwendung von auf Festphasen

immobilisierten Katalysatoren könnte einen interessanten Ansatzpunkt darstellen, um die Aufarbeitung der Metathesereaktionen zu vereinfachen.^[85]

4.3 Verbrückung von Cyclopeptiden durch Click-Chemie

Die zweite von mir gewählte Reaktion zur Verbrückung zweier Cyclopeptide ist die sogenannte Click-Reaktion. Wie schon in Kapitel 2.2.4 vorgestellt, versteht man darunter explizit die kinetisch kontrollierte 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen einem Alkin und einem Azid.

4.3.1 Synthese der Cyclopeptidbausteine

Für die dreifache Verbrückung zweier Cyclopeptide durch Click-Reaktion werden zwei Cyclopeptidbausteine benötigt, einer mit drei Alkin- und einer mit drei Azidsubstituenten in der Peripherie. Da sich in vorangegangenen Untersuchungen Adipinsäure als geeigneter Linker zur einfachen Verbrückung zweier Cyclopeptide herausgestellt hat, sollte der Linker in den durch die Click-Reaktion hergestellten Bis(cyclopeptiden) in seiner Länge der des Adipinsäurelinkers möglichst ähnlich sein. Aus diesem Grund wurden zunächst die Bis(cyclopeptide) **50** und **51** mit von 3-Butinsäure **52** bzw. Azidoessigsäure **53** abgeleiteten Substituenten als Zielstrukturen gewählt (Abbildung 53).

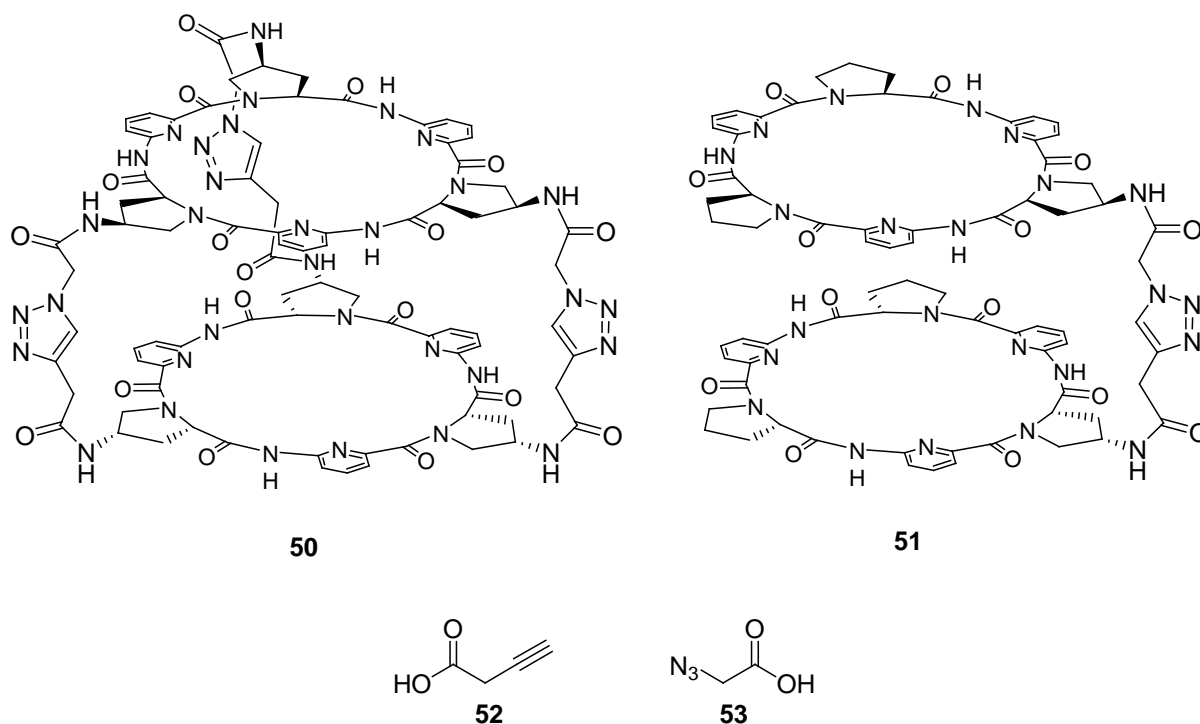


Abbildung 53: Struktur der Zielverbindungen und der für die Seitenketten benötigten Bausteine.

Die strukturelle Verwandtschaft des gebildeten Linkers mit Adipinsäure ergibt sich durch Substitution der Methylengruppen in Adipinsäure durch eine 1,4-disubstituierte 1,2,3-Triazoleinheit.

Die zur Herstellung der Cyclopeptide **50** und **51** aus dem Triamin **14** benötigten Carbonsäuren sind nicht kommerziell erhältlich und mussten zunächst synthetisiert werden. Der Versuch, 3-Butinsäure **52** in Anlehnung an eine Vorschrift von Prévost et al.^[148] durch Umsetzung eines aus Propargylbromid zugänglichen Grignard-Reagenzes mit Trockeneis zu erhalten, schlug zunächst fehl (Abbildung 54).

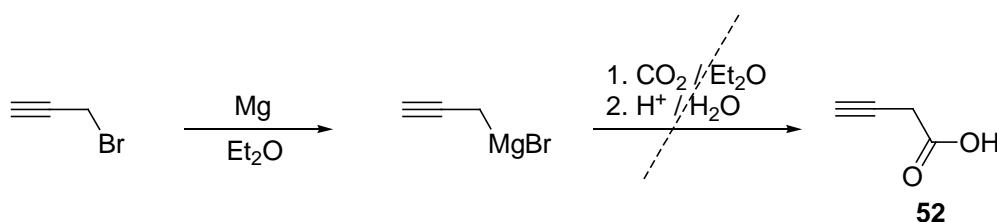


Abbildung 54: Synthese von 3-Butinsäure über Grignard-Reaktion.

Allerdings gelang die Darstellung von **52** nach einem von Heilbron^[149] bzw. Holland^[150] entwickelten Verfahren durch Oxidation von Alkinolen mit Chromsäure. Ich verwendete ein von Alsters optimiertes Verfahren mit einem Katalysatorsystem aus Natriumdichromat und Salpetersäure, bei dem Natriumperiodat als stöchiometrisches Oxidationsmittel verwendet wird (Abbildung 55).^[151] Die Isolierung der 3-Butinsäure **52** gelang auf diese Weise in 33 % Ausbeute.

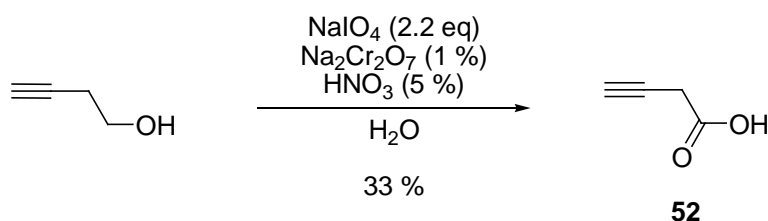


Abbildung 55: Synthese von 3-Butinsäure durch Oxidation von 3-Butinol.

Azidoessigsäure **53** wurde durch Umsetzung von Chloressigsäure mit Natriumazid und Natriumhydroxid in einem Zwei-Phasen-Gemisch aus Wasser und Diethylether in einer Ausbeute von 60 % erhalten (Abbildung 56).^[152, 153]

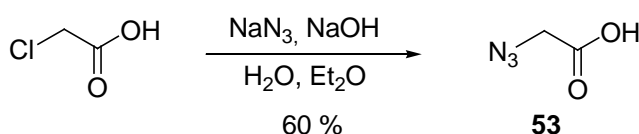


Abbildung 56: Synthese von Azidoessigsäure ausgehend von Chloressigsäure.

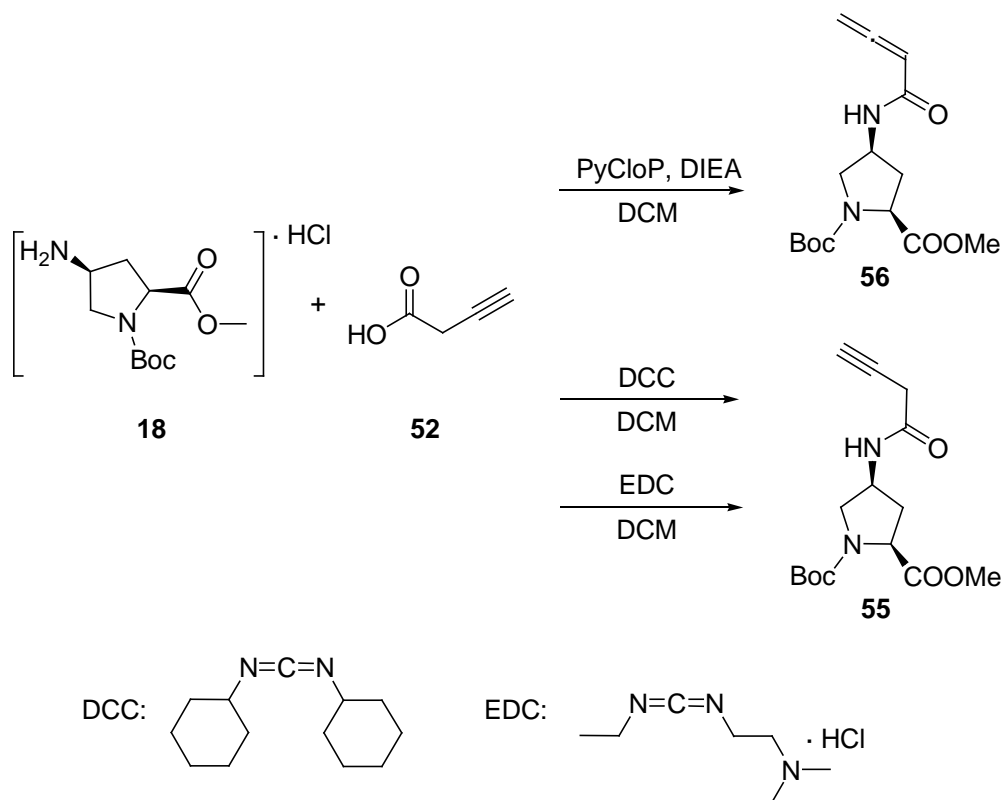


Abbildung 58: Testkupplungen von 3-Butinsäure und Boc-Aminoprolinmethyl ester mit verschiedenen Kupplungsreagenzien.

Tatsächlich konnte bei Verwendung dieser Reagenzien in beiden Fällen die Bildung von **55** beobachtet werden. Während sich die Abtrennung des bei Einsatz von DCC als Nebenprodukt anfallenden Dicyclohexylharnstoffs als schwierig erwies, konnte mit EDC sauberes Produkt in einer Ausbeute von 72 % isoliert werden.

Aufgrund der potentiellen Gefahr der Umlagerung der von 3-Butinsäure abgeleiteten Substituenten während der Synthese (im Falle des Cyclopeptids müssen drei solcher Substituenten ohne Umlagerung an den Makrocyclus gekuppelt werden) oder während der sich anschließenden Click-Reaktion erschien deren Verwendung nicht optimal.

Ich entschied mich daher, beide Seitenketten um jeweils eine CH₂-Einheit zu verlängern und anstelle von **52** und **53** das Alkin 4-Pentinsäure **57** und das Azid 3-Azidopropansäure **58** als Ausgangsmaterialien zur Herstellung der entsprechenden funktionalisierten Cyclopeptide zu verwenden (Abbildung 59).

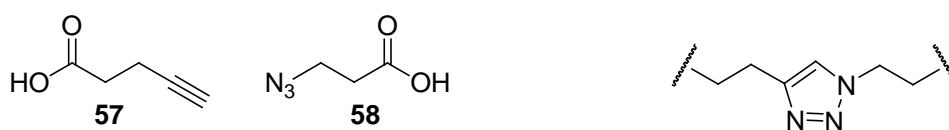


Abbildung 59: Neue Seitenketten **57** und **58** und daraus resultierende Linkerstruktur.

Die Gefahr von Umlagerungsreaktionen in den Linkern sollte auf diese Weise minimiert werden. Die Struktur eines Linkers, der ausgehend von diesen beiden Seitenketten in einer CuAAC generiert wird, ist ebenfalls in Abbildung 59 dargestellt. Dieser Linker ist um zwei CH₂-Einheiten länger als der ursprünglich geplante. Aus vorangegangenen Arbeiten ist aber bekannt, dass die Fähigkeit einfach verbrückter Bis(cyclopeptide) zur Bildung von Komplexen mit Anionen durch kleinere strukturelle Veränderungen im Linker nur wenig beeinflusst wird.^[154] Es war daher zu erwarten, dass auch der in Abbildung 59 dargestellte Linker die Überbrückung zweier Cyclopeptide und deren kooperative Wirkung an der Anionenbindung erlauben sollte.

Die für die Synthese der entsprechenden trifunktionalisierten Cyclopeptide erforderliche Carbonsäure 4-Pentinsäure **57** ist kommerziell verfügbar. 3-Azidopropansäure **58** wurde nach einer Vorschrift von Boyer synthetisiert.^[155] Man erhält sie in 46 % Ausbeute durch formale Addition von Stickstoffwasserstoffsäure an Acrylsäure (Abbildung 60).

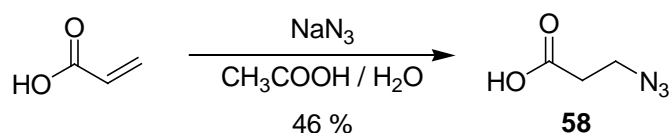


Abbildung 60: Synthese von 3-Azidopropansäure.

Neben der Umstellung der Substituentenstruktur wurde zu diesem Zeitpunkt zusätzlich ein Problem adressiert, welches bei der Kupplung von Carbonsäuren an Cyclopeptide, wie dem Monoamin **13** oder dem Triamin **14**, unter Verwendung in der Peptidsynthese gebräuchlicher Kupplungsreagenzien üblicherweise anfällt: Die Notwendigkeit, die Nebenprodukte aus den Kupplungsreagenzien nach der Reaktion vom gebildeten Produkt abzutrennen. Als günstige Alternative zu den bislang eingesetzten Kupplungsreagenzien auf Basis von Phosphonium- und Uroniumsalzen oder Carbodiimiden bietet sich die Verwendung von Aktivestern an, welche sich bereits bei der Synthese der Metathesevorstufen bewährt hat. Aktivester müssen zwar zunächst in einem vorgelagerten Schritt synthetisiert werden, doch können sie anschließend ohne Zusatz weiterer Reagenzien mit Nucleophilen wie Aminen umgesetzt werden. Neben dem Produkt entsteht dabei als Nebenprodukt nur die Alkoholkomponente, z.B. Pentafluorphenol, die extraktiv abgetrennt werden kann (Abbildung 61).

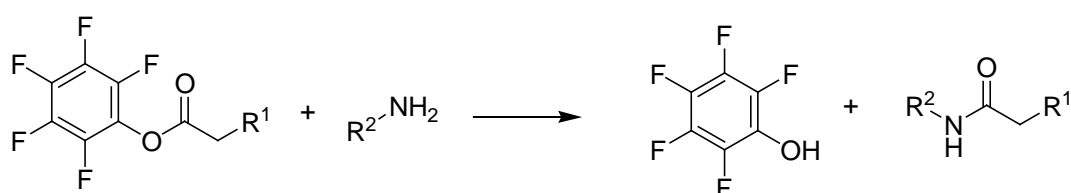


Abbildung 61: Kupplungsmethode durch Umsetzung von Pentafluorphenolestern mit Aminen.

Die von **57** und **58** abgeleiteten Pentafluorphenolester konnten in sehr guten Ausbeuten über 90 % durch Reaktion der Carbonsäuren mit Pentafluorphenol in Gegenwart des Kupplungsreagenzes EDC erhalten werden (Abbildung 62).

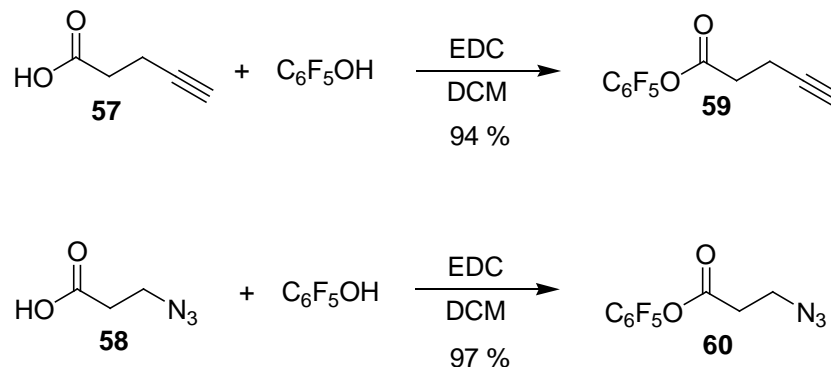


Abbildung 62: Synthese der Aktivester **59** und **60**.

Ausgehend von Cyclopeptidtriamin **14** und den beiden Aktivestern **59** und **60** wurden nun die für die Herstellung des dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) benötigten Vorstufen, Trisalkin **61** und Trisazid **62** synthetisiert (Abbildung 63). Die schlechte Löslichkeit von **14** in vielen Lösungsmitteln erschwerte ähnlich wie schon bei der Herstellung des Trisolefins **48** die Umsetzung. Als beste Methode zur Synthese erwies sich nach sorgfältiger Optimierung der Reaktionsbedingungen schließlich, **14** in DMSO unter Zusatz von 6 Äquivalenten DIEA zu lösen und diese Lösung mit einer Lösung von 9 Äquivalenten des Aktivesters in Dichlormethan zu versetzen. Auf diese Weise konnten **61** und **62** nach chromatographischer Reinigung in befriedigenden Ausbeuten analysenrein erhalten werden.

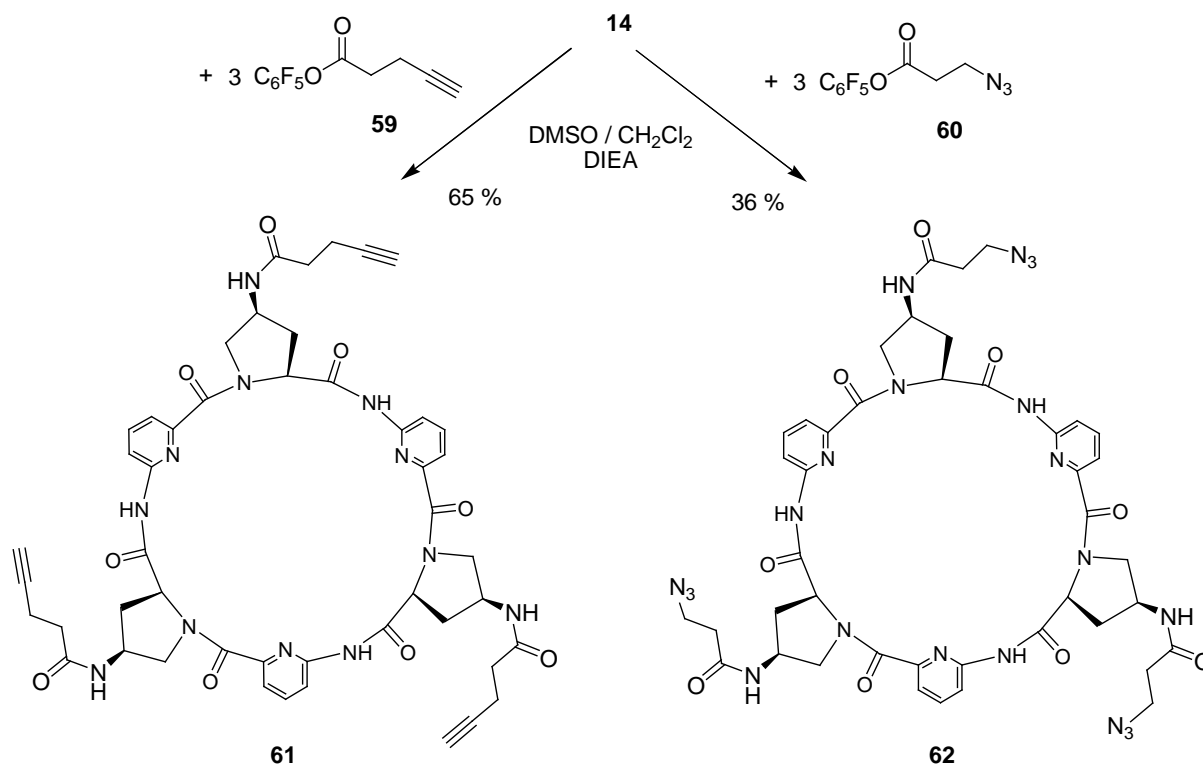
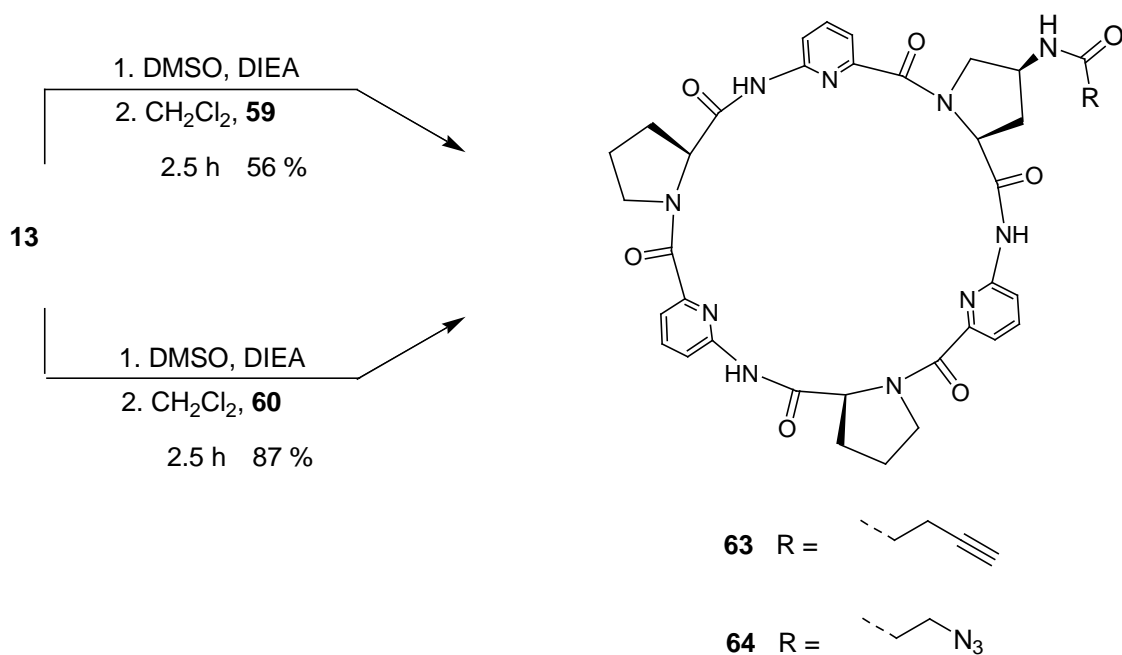


Abbildung 63: Synthese von Trisalkin **61** und Trisazid **62**.

Zu Vergleichszwecken für die späteren Bindungsstudien sollte außerdem das einfach verbrückte Bis(cyclopeptid) ausgehend von dem Alkin **63** und dem Azid **64** synthetisiert werden. Diese monosubstituierten Derivate wurden durch Umsetzung des Cyclopeptidmonoamins **13** mit den Aktivestern **59** und **60** erhalten. Aufgrund der etwas besseren Löslichkeit von **13** nach Deprotonierung im Vergleich zum trisubstituierten Derivat **14** konnten die Reaktionen in diesem Fall auch in Dichlormethan durchgeführt werden (Abbildung 64).

Die Reaktionszeit ist mit 4 bis 5 Tagen allerdings in beiden Fällen relativ lang. Bedeutend schneller verläuft sie, wenn das Cyclopeptid, wie bei der Herstellung der trisubstituierten Derivate, in DMSO gelöst wird. So ist die Bildung von **63** unter diesen Bedingungen bereits nach 2.5 h abgeschlossen. Aufgrund von größeren Problemen bei der Aufreinigung konnte ich unter diesen Bedingungen bei der Synthese von **63** aber nur eine Ausbeute von 56 % erzielen, während **64** in einer Ausbeute von 87 % erhalten wurde.

Abbildung 64: Synthese von Alkin **63** und Azid **64**.

4.3.2 Click-Reaktionen

Um zu überprüfen, ob mit den gewählten Seitenketten eine 1,3-dipolare Cycloaddition möglich ist, wurden zwei einfache Testverbindungen synthetisiert. Eine vergleichbare Reaktivität zum Aminoprolin wurde durch Kupplung der beiden Säuren mit den zwei cyclischen Aminen Cyclohexylamin und Anilin gewährleistet (Abbildung 65). Der aromatische Rest des Anilins dient als Chromophor zur besseren Detektierbarkeit des Produkts und vereinfacht die Zuordnung der Signale im ¹H-NMR.

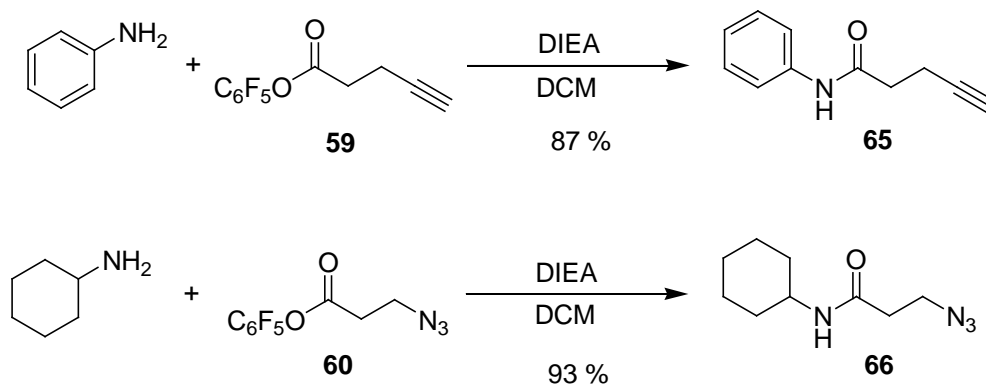


Abbildung 65: Synthese der zwei Testverbindungen für die Click-Reaktionen.

Alkin **65** und Azid **66** wurden durch Kupplung von Anilin bzw. Cyclohexylamin mit den entsprechenden Pentafluorphenolestern **59** und **60** in Dichlormethan in guten Ausbeuten erhalten. Dabei wurde im Gegensatz zu Literaturvorschriften^[156, 157] noch die Base DIEA zugegeben, um zu verhindern, dass das während der Reaktion entstehende azide Pentafluorphenol das freie Amin protoniert und dadurch einen vollständigen Umsatz verhindert.

Die Umsetzung von **65** mit **66** in der Click-Reaktion wurde sowohl mit CuI, elementarem Kupfer als auch mit einem System aus CuSO₄ / Natriumascorbat in einem Gemisch aus Wasser/Methanol 40:60 (v/v) durchgeführt, um die Löslichkeit aller organischen und ionischen Komponenten zu gewährleisten. Die Reaktionen wurden in entgasten Lösungsmitteln unter einer Stickstoffatmosphäre durchgeführt, um die Oxidation des katalytisch aktiven Cu^I zu Cu^{II} zu verhindern.

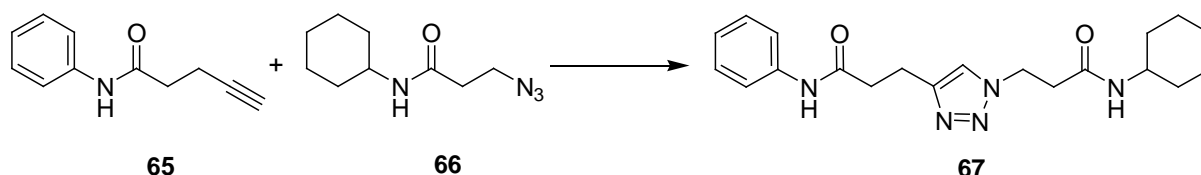


Abbildung 66: Click-Reaktion der Testverbindungen.

In allen drei Fällen erfolgte die Umsetzung der Testverbindungen **65** und **66** zum Triazol **67** in nur wenigen Stunden. Die Reaktionsbedingungen zeigten bei den gewählten einfachen Substraten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Umsatz oder Reaktionsgeschwindigkeit. Das Triazol wurde vollständig charakterisiert, wobei die Protonen der Etheneinheiten in 2D-NMR-Spektren über Kopplungssignale zu den cyclischen Resten eindeutig zugeordnet werden konnten.

Nach diesen Voruntersuchungen sollten nun zunächst geeignete Reaktionsbedingungen identifiziert werden, unter denen die beiden monofunktionalisierten Cyclopeptide **63** und **64** in das einfach verbrückte Bis(cyclopeptid) **68** überführt werden können (Abbildung 67). Diese Synthese ist weit weniger komplex als die des dreifach verbrückten Derivats, da nur eine Triazoleinheit gebildet werden muss und eine Vororganisation der beiden Cyclopeptidringe nicht notwendig ist. Die Suche nach geeigneten Reaktionsbedingungen sollte allerdings bereits Aspekte, die für die Synthese des dreifach verbrückten Derivats relevant sind, berücksichtigen. So soll die Reaktion möglichst in wässriger Umgebung stattfinden, in der die Cyclopeptide mit geeigneten Templatanionen bekanntermaßen

sandwich-artige 2:1 Komplexe bilden. Darüber hinaus sollte die Umsetzung möglichst bei Raumtemperatur erfolgen, da eine Temperaturerhöhung das Gleichgewicht der Bildung der Anionenkomplexe auf die Seite der dissoziierten Bindungspartner verschiebt.

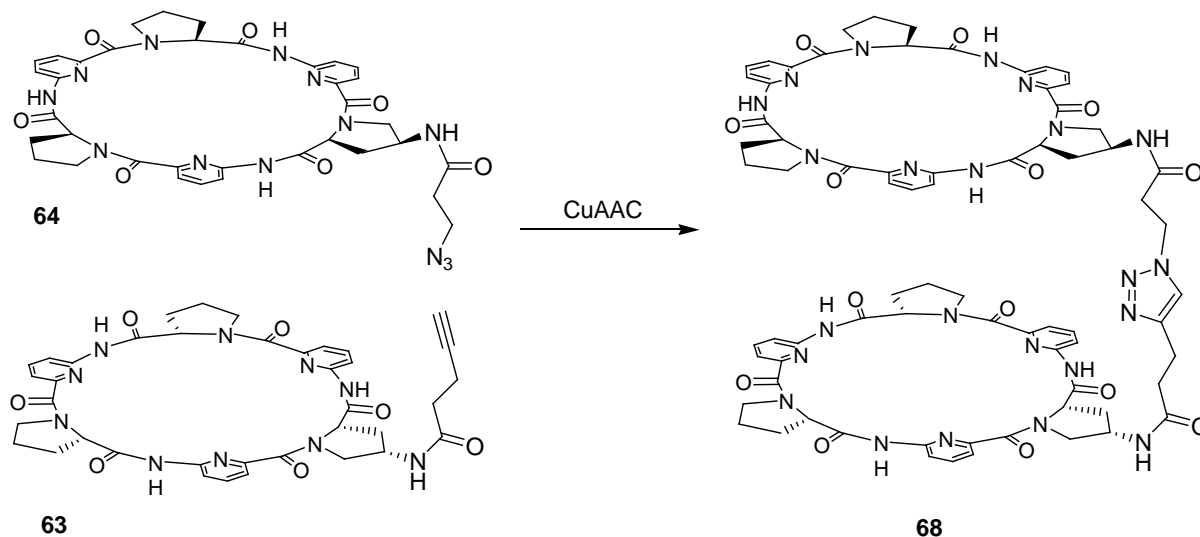


Abbildung 67: Synthese des einfach verbrückten Bis(cyclopeptids) 68.

Das einfachste katalytische System für die CuAAC basiert auf der Verwendung von elementarem Kupfer. Dazu wurden die beiden Edukte in einem Gemisch aus Wasser/Methanol 40:60 (v/v) gelöst und mit etwas Kupferdraht versetzt. Die Reaktion verlief langsam, wobei das Produkt erst nach zwei Tagen massenspektrometrisch detektiert wurde und die Edukte nach einer Woche noch nicht vollständig umgesetzt waren. Daraufhin wurde das Kupfer als Pulver eingesetzt, da dies eine größere aktive Oberfläche besitzt und zusätzlich Lutidin zur Stabilisierung der Cu^I-Ionen zugegeben. Dies führte zu einer erkennbaren Beschleunigung der Reaktion, die jedoch immer noch im Rahmen von mehreren Tagen lag. Dass die Kupplung durch den katalytischen Effekt des Kupfers hervorgerufen wurde, konnte durch eine Vergleichsreaktion ohne Kupfer gezeigt werden, bei der sich kein Triazol bildete. Damit war auszuschließen, dass eine thermische Cycloaddition, die teilweise zum unerwünschten 1,5-Regioisomer führen würde, bei längerer Reaktionsdauer als Konkurrenzreaktion auftritt.

Eine erheblich schnellere Reaktion war zu beobachten, wenn direkt Cu^I-Salze eingesetzt wurden. So war mit CuI in Gegenwart von 2 Äquivalenten der Base DIEA nach 18 h schon 93 % Edukt umgesetzt.

Allerdings entstand in Spuren ein Nebenprodukt, das aus einer Cu^{II}-katalysierten Glaser-Kupplung zweier Moleküle **63** hervorgeht, obwohl unter einer N₂-Atmosphäre gearbeitet wurde, um die Oxidation von Cu^I zu Cu^{II} zu verhindern. Dieses ist jedoch oft schon als Verunreinigung der Cu^I-Salze enthalten. Durch Zusatz von Ascorbat zur Reaktionsmischung konnte diese Nebenreaktion unterdrückt werden. Um eine gute Übertragung der Reaktionsbedingungen auf die Synthese der dreifach verbrückten Kapsel zu gewährleisten, wurde die Konzentration der Edukte auf 4 mM reduziert.

Auch wenn auf diesem Weg das Triazol **68** mittels direkter Zugabe von 20 Mol% Cu^I in Form seiner Bromid- und Iodidsalze nach chromatographischer Reinigung erhalten werden konnte, lag ein Schwachpunkt dieser Reaktionen in der unvollständigen Löslichkeit der Katalysatoren, gepaart mit einer längeren Reaktionszeit.

Als bestes Verfahren erwies sich der Einsatz von Kupfer(II)-sulfat und Ascorbat. So führte schließlich im optimierten Verfahren der Zusatz von zwei Äquivalenten CuSO₄, sechs Äquivalenten Ascorbat und sechs Äquivalenten Lutidin zu einer Mischung von Wasser/Methanol 40:60 (v/v), die beide Cyclopeptidkomponenten in einer Konzentration von 4 mM enthielt, zu einem fast vollständigen Umsatz nach 24 h. Die Verwendung geringerer Konzentrationen der Cyclopeptide oder katalytischer Mengen CuSO₄ (5 Mol %) verlängerte die Reaktionszeit signifikant, weswegen **68** schließlich in präparativem Maßstab durch Verwendung eines Überschusses der Reagenzien hergestellt wurde. Durch chromatographische Reinigung über eine RP-18 Phase wurde auf diese Weise analysenreines Produkt in einer Ausbeute von 40 % erhalten.

Auf Basis der bei der Synthese von **68** erhaltenen Ergebnisse wurde nun die Kupplung des Trisalkins **61** und des Trisazids **62** zum dreifach verbrückten Bis(cyclopeptid) versucht.

Im Unterschied zur Verbrückung mit nur einem Linker gelten für die dreifache Verbrückung einige Besonderheiten. So spielt bei der Reaktion die Konzentration der beiden Cyclopeptide eine größere Rolle, da eine zu hohe Konzentration vermehrt zu oligomeren und polymeren Nebenprodukten führen kann. Darüber hinaus sollten die beiden Cyclopeptidkomponenten durch Verwendung eines anionischen Templates unter Bildung des 2:1 Komplexes bereits in einer für die gegenseitige Verbrückung geeigneten Anordnung vororganisiert werden. Nach der Bildung der ersten Triazoleinheit ist der Schluss jeder weiteren Brücke zwischen den Cyclopeptidringen eine intramolekulare Reaktion, die schnell verlaufen und dadurch effizient zur gewünschten Kapsel mit drei geschlossenen Brücken führen sollte. Es ist allerdings auch denkbar, dass sterische Effekte oder für die Bildung der zweiten oder dritten Brücke ungünstige Linkerkonformationen die vollständige Verbrückung erschweren oder sogar verhindern. Dies würde dazu führen, dass Produkte mit offenen Brücken anfallen oder diese Produkte durch intermolekulare Reaktionen der verbleibenden Alkin- und Azidfunktionen zu polymeren Nebenprodukten abreagieren.

Bezogen auf die Reaktionskontrolle ergibt sich bei der Kapselsynthese das Problem, dass die Kapselbildung eine Additionsreaktion ist und somit das gewünschte Produkt sowie Bis(cyclopeptide) mit noch offenen Brücken dieselbe Masse besitzen. Das Auftreten eines Signals im Massenspektrum bei dem m/z Verhältnis des Produkts belegt also nicht eindeutig, dass die dreifache Verbrückung wirklich gelungen ist.

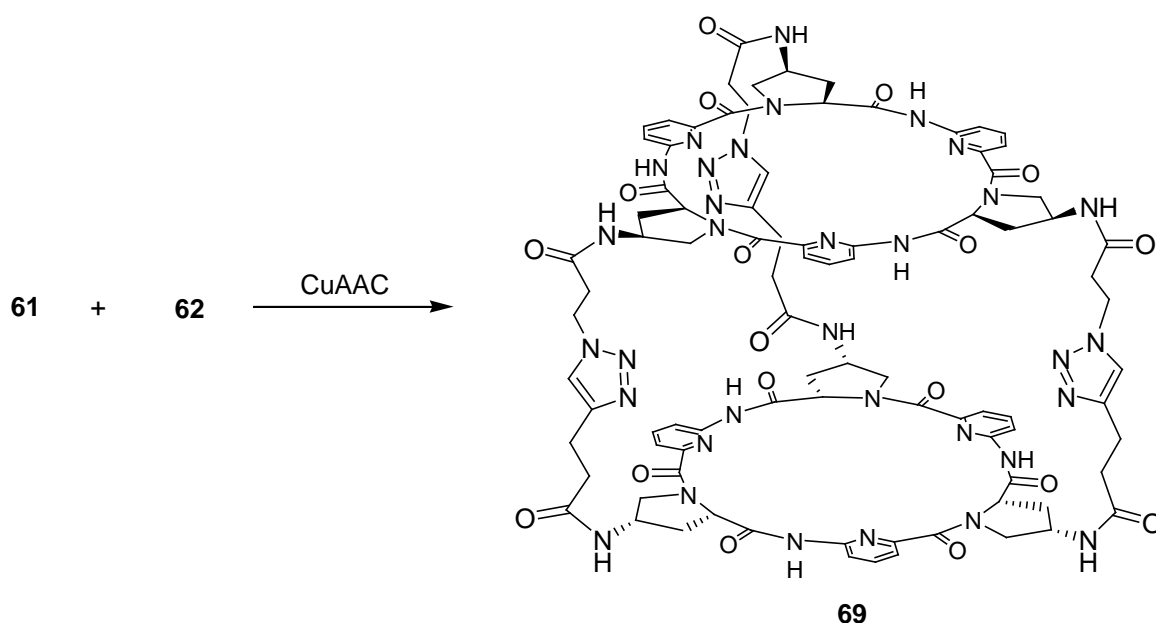


Abbildung 68: Allgemeine Synthese der Kapsel **69**.

Auch wenn das verwendete Kupfer(II)sulfat bei der Synthese des einfach verbrückten Derivats **68** den Katalysatorsystemen auf Basis von Cu^0 oder Cu^I in Bezug auf die Reaktionsgeschwindigkeit überlegen war, wurden letztere aufgrund der einfacheren Abtrennung des Katalysators auch in der Verbrückung zur Kapsel **69** untersucht. Neben der Kupferquelle wurden als Reagenzien Lutidin als Ligand sowie ein Äquivalent Natriumsulfat als Templat eingesetzt. Es zeigte sich, dass die Reaktion ebenso wie bei **68** nur sehr langsam verlief. So waren in Gegenwart des Kupferpulvers nach fünf Tagen nur 50 % der Edukte umgesetzt. Bedeutsamer war, dass sich, wenn die Cyclopeptide in ähnlichen Konzentrationen vorlagen, wie sie zur Synthese von **68** verwendet wurden (4.4 mM), Niederschläge bildeten. Diese waren in gängigen Lösungsmitteln völlig unlöslich, aber ihre IR Spektren zeigten die für Cyclopeptide typischen Signale. Außerdem wurden in den Reaktionsmischungen massenspektrometrisch auch höhermolekulare Nebenprodukte, z.B. ein Cyclopeptidtrimer, detektiert. Dies spricht dafür, dass es bei der Reaktion zu einer unerwünschten Polymerisation der Cyclopeptide gekommen war.

Um diese Probleme zu vermeiden wurden die Eduktkonzentrationen in den weiteren Untersuchungen, welche mit Kupfer(II)sulfat durchgeführt wurden, auf bis zu 0.1 mmol verringert. Außerdem wurde das Alkin **61** mittels eines Perfusors sehr langsam zu einer Lösung des Azids **62**, CuSO_4 , Natriumascorbat und Lutidin in Wasser/Methanol 40:60 (v/v) zugetropft. Hierdurch konnte die Bildung eines Niederschlags praktisch völlig zurückgedrängt werden. Schon bei der Synthese des einfach verbrückten Bis(cyclopeptids) hatte sich gezeigt, dass Reaktionen in Gegenwart katalytischer Mengen Kupfersulfat und geringer Cyclopeptidkonzentrationen sehr langsam verlaufen. Die Kupfersulfatmenge wurde darum sukzessive von 20 Mol% bis auf 30 Äquivalente erhöht. Parallel dazu musste die Natriumascorbat- und Lutidinmenge auf 90 Äquivalente gesteigert werden.

Auf diese Weise konnte eine signifikante Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit erreicht werden. Diese Reaktionen wurden mittels HPLC verfolgt, wobei in den jeweiligen Chromatogrammen die Bildung mehrerer Verbindungen beobachtet wurde. Nach Optimierung der chromatographischen Auftrennung konnten diese getrennt und im analytischen Maßstab isoliert werden. Durch Charakterisierung mittels MALDI-MS wurden mehrere Peaks identifiziert, die alle die Masse des gewünschten Produkts besaßen. Vermutlich handelte es sich bei zweien davon um Bis(cyclopeptide) mit einer oder zwei offenen Brücken. Der dritte Peak, dessen Intensität im Verlaufe der Reaktion zunahm, wurde dem gewünschten vollständig verbrückten Bis(cyclopeptid) **69** zugeordnet. Ein weiterer Hinweis auf das Vorhandensein von unvollständig verbrückten Bis(cyclopeptiden) lieferte die

Untersuchung der Reaktionslösung mittels ESI-MS. Neben dem Produktpeak bei 1923.8 m/z war noch mit geringer Intensität ein Peak mit der Masse 1894.8 m/z zu sehen, der durch N_2 -Verlust eines Bis(cyclopeptids) entstanden sein könnte (Abbildung 69). Dies deutete darauf hin, dass noch nicht umgesetzte Azidgruppen im Molekül vorhanden waren.

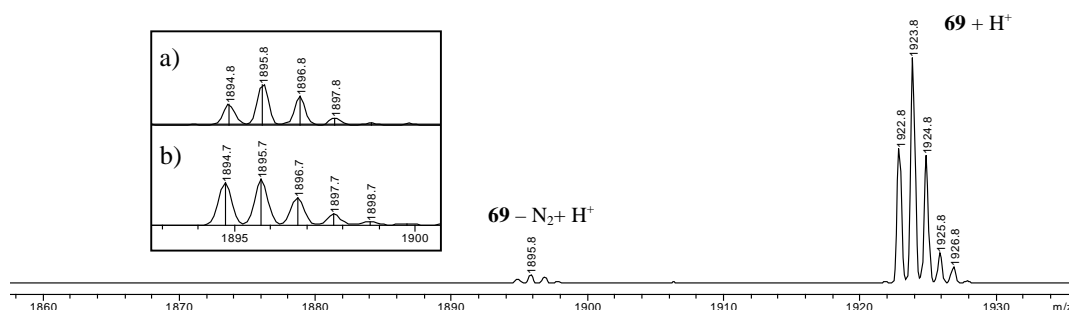


Abbildung 69: ESI-MS der Kupplungsreaktion; Auftreten von Fragmenten durch unvollständige Verbrückung. a) gemessenes Isotopenmuster und c) Simulation.

Eine Verbesserung des Reaktionsverlaufs wurde schließlich durch die Optimierung der Reihenfolge, in der die Reagenzien zugegeben wurden, erreicht. Die besten Ergebnisse wurden erzielt, wenn man zunächst $CuSO_4$ im Lösungsmittelgemisch löste und nacheinander erst Lutidin und dann Natriumascorbat zugab wobei sich die vormals blaue Reaktionslösung durch Reduktion des Cu^{II} zu Cu^I entfärbte. Nun erst wurde **62** zugegeben und **61** über einen Zeitraum von 8 h langsam zugetropft. Auf diese Weise verlief die Reaktion relativ schnell und einheitlich, vollständiger Umsatz war nach einem Tag erreicht. Diese Bedingungen wurden schließlich auf die präparative Darstellung von **69** übertragen. Die hierfür verwendeten Bedingungen sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Eduktmenge	Konzentration	Zugabedauer	Katalysator / Reagenzien	Lösungsmittel
		69		
30 μ mol	0.2 mM	8 h	1. $CuSO_4$ (20 eq) 2. Lutidin (60 eq) 3. Ascorbat (60 eq)	Wasser/ Methanol 60:40 (v/v)

Tabelle 2: Reaktionsbedingungen zur Synthese von **69**.

Das Produkt wurde isoliert, indem zunächst der bei der Reaktion gebildete Feststoff, bei dem es sich aufgrund seiner rotbraunen Farbe vermutlich um CuO handelte, abfiltriert wurde. Dann wurde überschüssiges Sulfat durch Zugabe von $BaCl_2$ gefällt. Mit Hilfe einer kurzen RP-18 Säule wurden nun alle noch vorhandenen anorganischen Salze abgetrennt. Das Produkt wurde schließlich durch semipräparative HPLC gereinigt und in einer Ausbeute von 28 % analysenrein erhalten.

Das ^1H -NMR-Spektrum der isolierten Verbindung **69** in DMSO-d_6 ist relativ einfach und entspricht dem einer C_3 -symmetrischen Verbindung mit drei intakten Linkern (Abbildung 70). Trotz der Direktionalität der Linker sind die beiden Cyclopeptidringe, wie am Beispiel der drei Protonen der Pyridinringe erkennbar, ^1H -NMR spektroskopisch nicht unterscheidbar und bilden nur einen Signalsatz, wahrscheinlich weil die Orientierung der Triazolringe keinen großen Einfluss auf die chemische Verschiebung der Cyclopeptidprotonen ausübt. Nur die Amid-NH-Protonen der Prolinuntereinheiten bei 8.2 ppm unterscheiden sich um 0.1 ppm voneinander. Das Signal der $\text{H}(\alpha)$ -Protonen ist relativ scharf, was entweder auf eine geringe Flexibilität oder schnelle Konformationsänderung hindeutet, bei der die Protonen zu einem schmalen gemittelten Signal zusammenfallen.

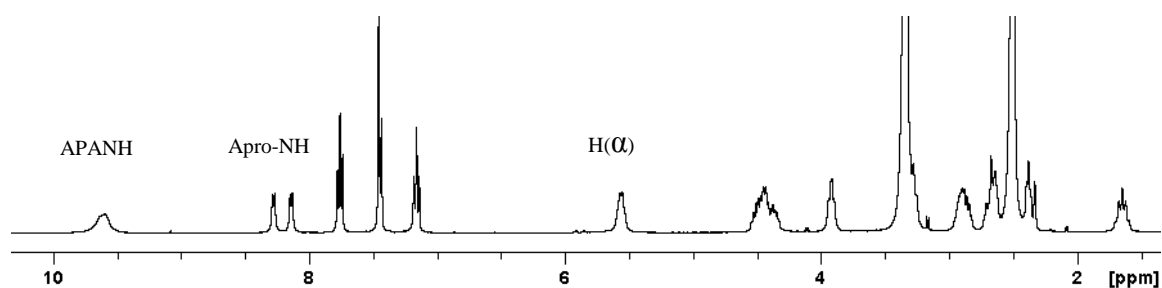


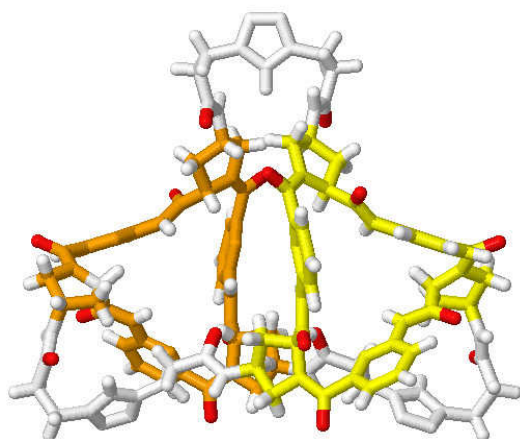
Abbildung 70: ^1H -NMR-Spektrum von **69** in DMSO-d_6 .

Weitere Hinweise auf die vollständige Verbrückung aller drei Linker zeigt die Abwesenheit von Azid- und Alkinbanden im FT-IR Spektrum, sowie das Fehlen charakteristischer Fragmentierungsmuster im ESI-MS, wie dem bei freien Azidgruppen auftretenden Verlust von Stickstoff.

Durch langsames Verdunsten einer Lösung von **69** in Wasser/Methanol und Wasser/Acetonitril in Gegenwart und Abwesenheit von Natriumsulfat wurden Kristalle von **69** mit einer für eine Kristallstrukturanalyse ausreichend guten Qualität erhalten. Die Zugabe von Sulfat führte zu einer besseren Kristallisation von **69**, vermutlich aufgrund von Aussalzungseffekten. Die Anwesenheit von gelöstem Sulfat wirkte sich aber nicht auf die Struktur des gebildeten Kristalls aus. Die aus den verschiedenen Lösungen erhaltenen Kristalle wiesen alle eine innerhalb der Unsicherheit identische Kristallstruktur auf. Diese zeigt deutlich die vollständig verbrückte Kapsel mit drei Triazoleinheiten, die alle in der gewünschten 1,4-disubstituierten Konfiguration vorliegen (Abbildung 71). Bis(cyclopeptid) **69** nimmt im Kristall allerdings nicht wie erwartet eine C_3 -symmetrische, sondern eine C_2 -

symmetrische Konformation an, bei der die Achse durch einen der Triazollinker führt. Da diese Konformation nicht mit der Orientierung der drei Triazollinker zu den Cyclopeptiden kompatibel ist, liegt die Kapsel im Kristall vermutlich fehlgeordnet vor, wobei die N1 und C4 Atome des Linkers identische Positionen besetzen. Die beiden Cyclopeptidringe besitzen beinahe eine ideale C_3 -symmetrische Konformation und sind im Winkel von $19(0)^\circ$ zueinander geneigt. Dies führt zu einer stärkeren Stauchung des Linkers durch den die Symmetrieachse läuft. Der Rezeptor kristallisiert mit 21 Wassermolekülen, die hochgeordnet vorliegen (Abbildung 71b). Bis auf ein O-Atom eines Wassermoleküls, das sich außerhalb des Hohlraums befindet und über zwei Positionen fehlgeordnet ist, konnten alle Wassermoleküle mitsamt ihrer Protonen mittels Differenz Fourier Synthese lokalisiert werden, was auf eine starke Bindung des Wassers hindeutet. Alle sechs Amid-NH Gruppen der beiden Cyclopeptide sowie vier Carbonylgruppen der Linker bilden Wasserstoffbrücken zu den Wassermolekülen im Hohlraum aus. Wasser scheint den Kristall zu stabilisieren, da intermolekulare Wasserstoffbrücken zwischen Amid und Carbonylgruppen zweier Moleküle **69** fehlen.

a)



b)



Abbildung 71: Kristallstruktur von **69**. Die beiden Cyclopeptidringe sind farblich hervorgehoben (a); Struktur mit Kristallwasser (b).

4.4 Untersuchungen der Bis(cyclopeptide)

Die Untersuchung der Bis(cyclopeptide) auf ihre Wechselwirkung mit Anionen kann mittels verschiedener analytischer Verfahren erfolgen.

Massenspektrometrische Analysen

Eine einfache Möglichkeit, Komplexe zu untersuchen bietet die Massenspektrometrie. Da bei diesem Analyseverfahren isolierte Moleküle oder Addukte in der Gasphase betrachtet werden, unterscheidet sie sich von Messmethoden die in Lösung durchgeführt werden unter anderem durch das Fehlen jeglicher Lösungsmittelleffekte. Die bevorzugte Methode ist in diesem Fall die Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI), da sie ein besonders mildes Verfahren der Ionisation darstellt, das es ermöglicht, auch nichtkovalente Aggregate, wie sie die Anionenkomplexe der Cyclopeptide darstellen, zu analysieren.^[52] Durch die negative Ladung des Anions erfolgt die Untersuchung der Bis(cyclopeptid)-Komplexe im negativen Modus.

Abbildung 72 zeigt die ESI-MS Spektren von **68** und **69** in H₂O/MeOH 1:1 (v/v) in Gegenwart von einem bzw. drei Äquivalenten Sulfat, einem Anion welches von strukturverwandten Cyclopeptiden gewöhnlich am besten gebunden wird.^[154] In diesen Spektren kann der jeweils intensivste Peak aufgrund seines m/z Verhältnisses und Isotopenmusters dem zweifach negativ geladenen Sulfatkomplex **68**·SO₄²⁻ ($m/z = 802.8$) bzw. **69**·SO₄²⁻ ($m/z = 1009.9$) zugeordnet werden. Weitere kleine Peaks stammen von den einfach geladenen Chloridaddukten **68**·Cl⁻ ($m/z = 1544.6$) und **69**·Cl⁻ ($m/z = 1958.7$), bzw. dem deprotonierten Bis(cyclopeptid) **68**-H⁻ ($m/z = 1508.6$). Die Spektren belegen, dass beide Rezeptoren mit Sulfat bevorzugt 1:1 Komplexe bilden.

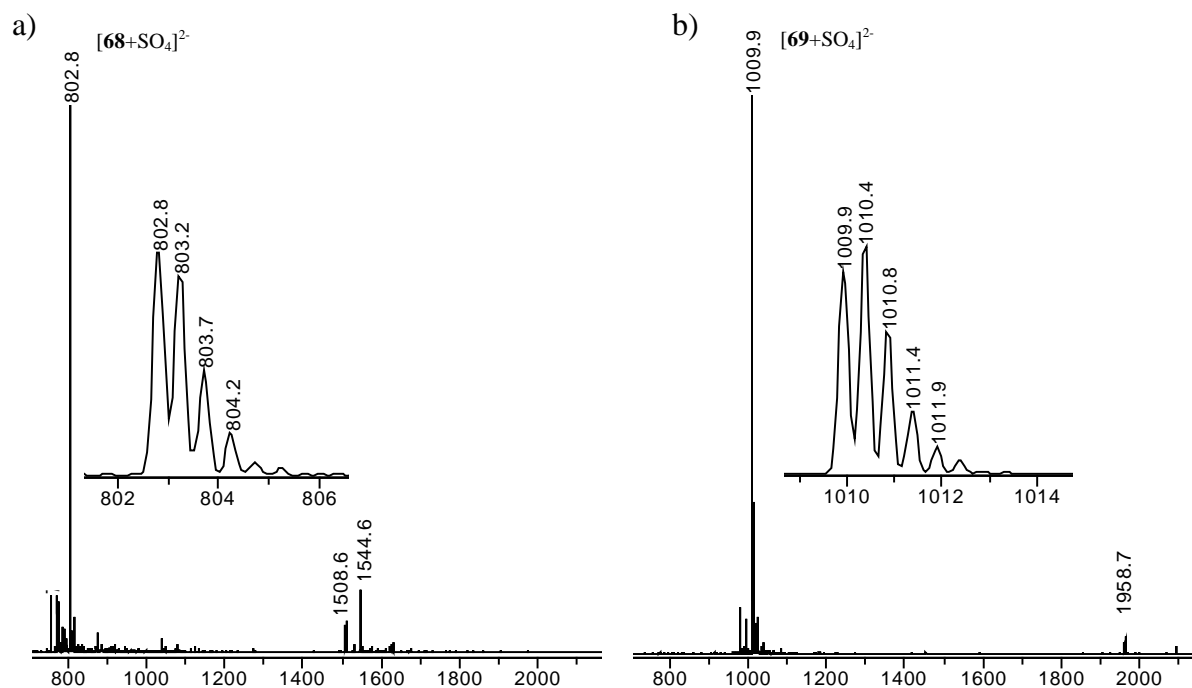


Abbildung 72: ESI-MS Spektren (negativer Modus) von **68** (0.01 mM in H₂O/MeOH 1:1 (v/v)) in Gegenwart von 1 eq Na₂SO₄ (a) sowie von **69** (0.01 mM in H₂O/MeOH 1:1 (v/v)) in Gegenwart von 3 eq Na₂SO₄ (b).

Neben Informationen über Struktur und Zusammensetzung von Komplexen, kann man mithilfe der Massenspektrometrie auch Aussagen über deren relative Stabilitäten in der Gasphase treffen.^[158] Hierzu wurden ESI-MS Spektren von Lösungen der Verbindungen **68** und **69** (0.01 mM; Wasser/Methanol 1:1 (v/v)) mit 2 Äquivalenten Natriumsulfat bei verschiedenen Ionisationsspannungen, dem sogenannten Cap-Exit-Wert aufgenommen (Abbildung 73). Bei niedriger Cap-Exit-Spannung wurde in den betreffenden Spektren als einziger Peak nur das zweifach negativ geladene Sulfataddukt beobachtet. Da nackte Sulfatdianionen in der Gasphase labil sind, deutet dies auf eine Stabilisierung des Anions im Komplex durch mehrere Wasserstoffbrücken hin.^[159] Bei Erhöhung der Spannung erschien im Spektrum in zunehmendem Maße ein Peak, der dem freien (deprotonierten) Rezeptor zuzuordnen ist. Dabei wirkt sich bei ansonsten gleichen Messbedingungen die Höhe der Spannung jedoch unterschiedlich auf das Verhältnis der Peakintensität von Sulfataddukt zu deprotonierten Rezeptor für die beiden Bis(cyclopeptide) **68** und **69** aus. Während bei **68** beide Peaks schon bei -200 V die gleiche Intensität aufwiesen und das Sulfataddukt bei -280 V vollständig verschwunden war, lag die Spannung, die bei der Kapsel **69** nötig war, um eine gleiche Peakintensität zu erreichen bei ungefähr -340 V. Eine vollständige Fragmentierung des Sulfatkomplexes konnte nicht erreicht werden. Natürlich muss in Betracht gezogen werden, dass sich eine bestimmte Energiemenge auf Ionen bzw. Addukte

unterschiedlicher Masse nicht notwendigerweise identisch auswirkt. Dennoch können diese Ergebnisse als starker Hinweis darauf gewertet werden, dass das dreifach verbrückte Bis(cyclopeptid) **69** Sulfat stärker bindet als das einfach verbrückte Analogon **68**.

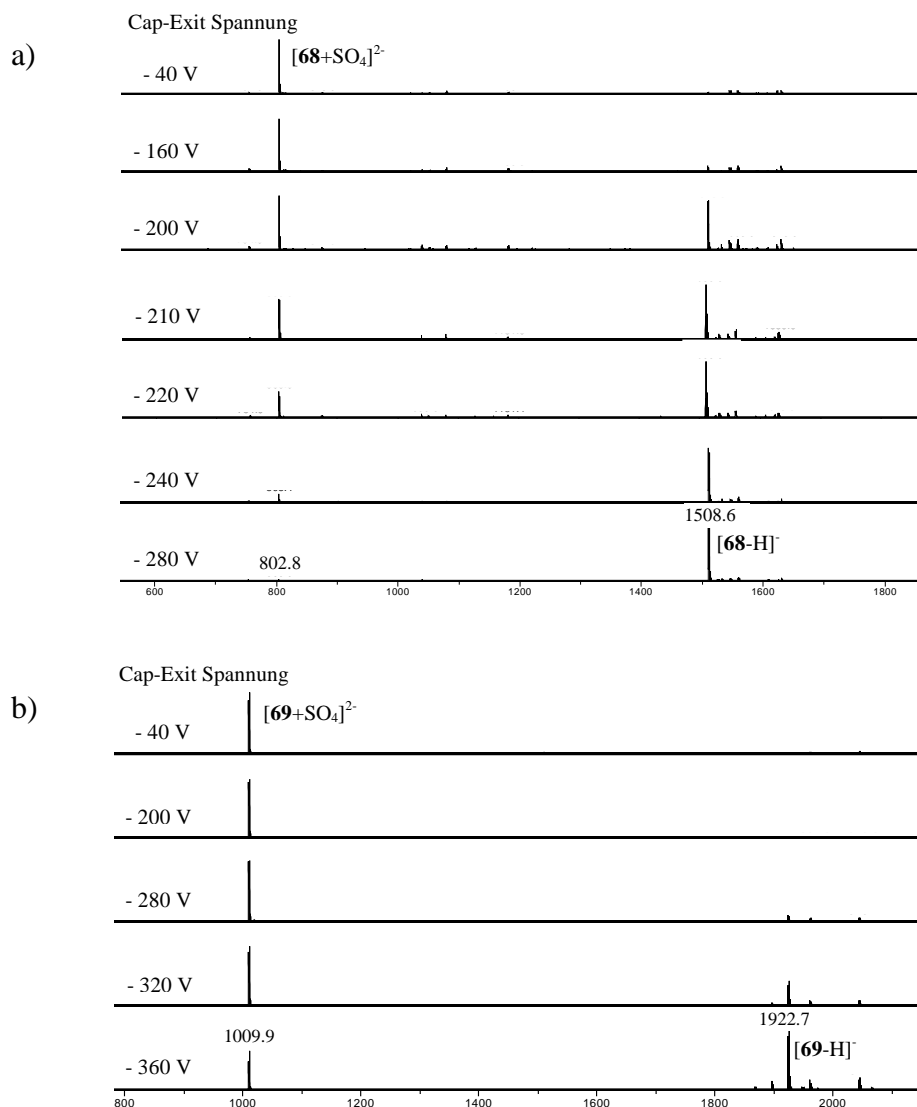


Abbildung 73: ESI-MS Spektren von **68** (0.01 mM) bei Cap-Exit Werten von -40 bis -280 V. $[\mathbf{68}+\text{SO}_4]^{2-}$ ($m/z = 802.8$); $[\mathbf{68}-\text{H}]^-$ ($m/z = 1508.6$) (a) und **69** (0.01 mM) bei Cap-Exit Werten von -40 bis -360 V. $[\mathbf{69}+\text{SO}_4]^{2-}$ ($m/z = 1009.9$); $[\mathbf{69}-\text{H}]^-$ ($m/z = 1924.4$) (b) in Wasser/Methanol 1:1 (v/v) jeweils in Anwesenheit von 2 eq Na_2SO_4 .

Weiterhin wurden massenspektrometrische Studien zur Wechselwirkung von **68** und **69** mit Halogenidionen in der Gasphase durchgeführt. Dazu wurden Lösungen von **68** bzw. **69** (0.1 mM; Wasser/Methanol 1:1 (v/v)) mit jeweils 0.33 Äquivalenten NaCl, NaBr, und NaI versetzt und mit ESI-MS gemessen (Abbildung 74). Neben den Peaks der deprotonierten Rezeptoren wurden in diesen Spektren die drei Peaks der 1:1 Addukte mit den Halogeniden beobachtet. Im Spektrum von **68** sind zusätzlich zweifach negativ geladene Komplexe der Zusammensetzung $[\mathbf{68}-2\text{H}]^{2-}$ ($m/z = 754.3$), $[\mathbf{68}-\text{H}+\text{Cl}]^{2-}$ ($m/z = 794.7$) und $[\mathbf{68}-\text{H}+\text{I}]^{2-}$ ($m/z =$

818.3) mit geringer Intensität vorhanden. Die relativen Intensitäten der Peaks der einfach geladenen Halogenidkomplexe nehmen von Chlorid über Bromid zu Iodid zu, was im Einklang mit Ergebnissen steht, die für andere Bis(cyclopeptide) gefunden wurden. Diese Reihenfolge deutet an, dass die Anionenaffinität von **68** und **69** in der Reihenfolge ($I^- > Br^- > Cl^-$) steigt.^[52, 154] Diese Vermutung wurde durch weitergehende Untersuchungen untermauert. Dazu wurden die einzelnen Addukte isoliert und per MS/MS fragmentiert. Die zur Fragmentierung nötige Spannung wurde solange variiert, bis der Peak des jeweiligen Halogenidaddukts und der des entstehenden deprotonierten Rezeptors dieselbe Intensität aufwies. Auch hierbei zeigte sich bei beiden Rezeptoren dass die zur Fragmentierung benötigte Spannung in der Reihenfolge Iodidkomplex > Bromidkomplex > Chloridkomplex stieg (Abbildung 74). Da alle anderen sich ebenfalls auf die Fragmentierung auswirkenden Messparameter bei den Messungen konstant gehalten wurden, kann man davon ausgehen, dass die Energie, die zur Fragmentierung der Komplexe notwendig ist, mit der Stärke der Anionenbindung korreliert.

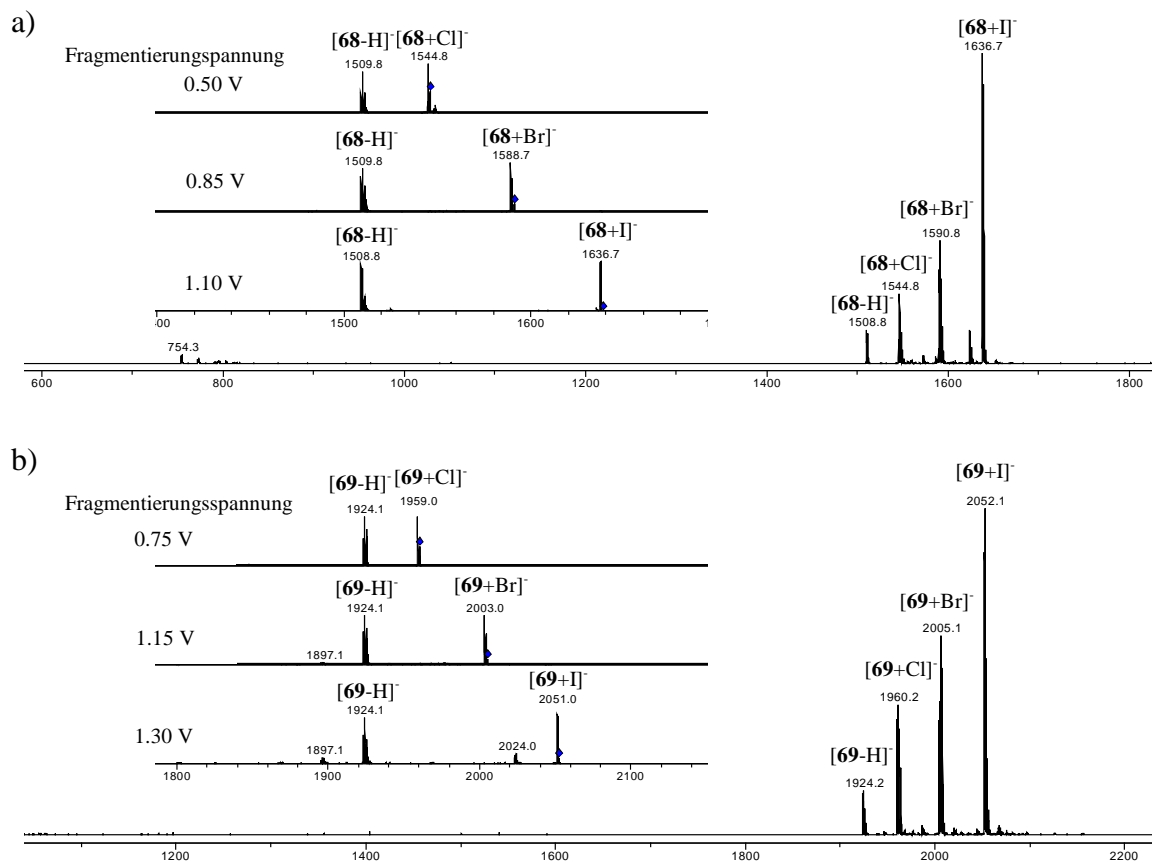


Abbildung 74: ESI-MS Spektren von **68** (0.1 mM) (a) und **69** (0.1 mM) (b) in Wasser/Methanol 1:1 (v/v) nach der Zugabe von jeweils 0.33 eq NaCl, NaBr und NaI. In den jeweiligen eingefügten Spektren sind die Ergebnisse der MS/MS-Fragmentierungsstudien gezeigt. Es sind jeweils nur die Spektren dargestellt, in denen das Signal des deprotonierten Rezeptors und das des Halogenidkomplexes eine gleiche Intensität besitzen, sowie die Fragmentierungsspannungen, die zur Aufnahme dieses Spektren verwendet wurden.

Wie schon erwähnt, sind Bindungsstudien in der Gasphase nur bedingt mit Studien in Lösung vergleichbar. Da bei massenspektrometrischen Messungen in der Gasphase nur Populationen von isolierten, vollständig von ihrer Solvathülle befreiten Ionen bzw. geladenen Addukten detektiert und fragmentiert wurden, sind Aussagen über den Einfluss von entropischen Effekten (z.B. hydrophoben Wechselwirkungen) auf die Komplexstabilität nicht möglich. Des Weiteren liegt in der Gasphase kein Gleichgewicht zwischen Komplex und freiem Rezeptor vor, da nach der Fragmentierung des Bis(cyclopeptid)-Anion-Komplexes die beiden Komponenten irreversibel voneinander getrennt werden. Die Energie, die zur Fragmentierung aufgewendet werden muss, entspricht daher eher einer kinetischen als thermodynamischen Stabilität.^[160,161] Zwei Beiträge korrelieren mit dieser kinetischen Stabilität des Komplexes in der Gasphase. Zum einen muss bei der Dekomplexierung die direkte enthalpische Bindung, die unter anderem von Zahl und Stärke der Wasserstoffbrücken abhängt, überwunden werden. Zum anderen kann die Dekomplexierung auch sterisch gehindert sein. Dies ist der Fall, wenn der Rezeptor dabei eine starke, mit höherem Energieeinsatz verbundene konformative Änderung erfahren muss. Man kennt dies von Hemicarceranden, bei denen der Gast beim Austausch enge Portale passieren muss und der Austausch daher eine höhere Aktivierungsenergie benötigt.

Vergleicht man die Fragmentierungen der Sulfatkomplexe von **68** und **69** miteinander, so deutet der höhere Energieaufwand beim dreifach verbrückten Rezeptor **69** darauf hin, dass er Sulfat entweder enthalpisch stärker bindet als **68**, oder dass die Dekomplexierung aufgrund sterischer Faktoren gehindert ist.

NMR-Messungen

Informationen über die Wechselwirkungen von Cyclopeptiden, die sich von **1** ableiten, mit Anionen können außerdem aus ^1H -NMR-Spektren gewonnen werden. Bindet ein Anion an das Cyclopeptid, führt seine negative Ladung zu einer Entschirmung der Protonen die sich in räumlicher Nähe befinden.^[52] Aus Abbildung 75 sind diese Protonen anhand der Grundstruktur von **1** und der Kristallstruktur seines Komplexes mit Iodid ersichtlich. Eine Entschirmung und dadurch eine charakteristische Tieffeld-Verschiebung der Signale im ^1H -NMR Spektrum erfahren insbesondere die Amidprotonen des Gerüsts, welche das Anion über Wasserstoffbrücken binden (grün gestrichelt dargestellt), sowie die gelb markierten $\text{H}(\alpha)$ -Protonen der Prolineinheiten.

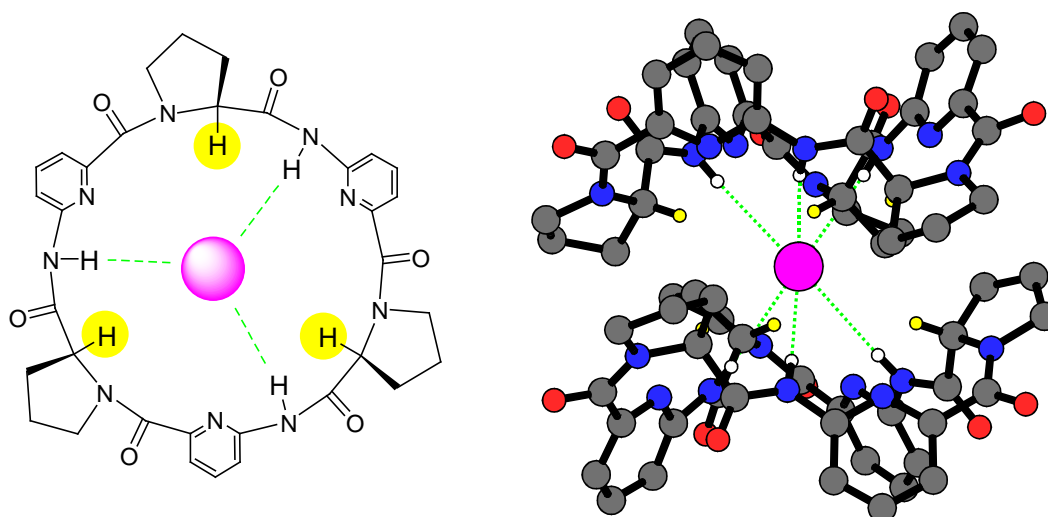


Abbildung 75: Cyclohexapeptid **1** und Kristallstruktur eines Sandwichkomplexes von **1** mit Iodid; Wasserstoffbrücken sind grün gestrichelt dargestellt, $\text{H}(\alpha)$ -Protonen gelb hervorgehoben.

Im Falle der einfach verbrückten Bis(cyclopeptide) **43** und **68** verschob sich das Signal der $\text{H}(\alpha)$ -Protonen in DMSO-d_6 bei der Zugabe von NBu_4I wie erwartet zu tieferem Feld (Abbildung 76 und Abbildung 77). Die Signale der Amidprotonen erfahren nur eine geringe Verschiebung. Der Grund liegt in der Eigenschaft des Lösungsmittels DMSO-d_6 , dessen Sauerstoffatom ebenso wie das Iodid als Wasserstoffbrückenakzeptor fungiert. Bei der Komplexbildung mit Iodid wird nicht die Brutto-Verschiebung der Amidprotonen beobachtet, sondern nur die Differenz der Verschiebungen von Iodidkomplex und dem solvatisiertem Rezeptor als Ausgangspunkt. Sofern also das Solvens in Abwesenheit des Anions starke Wasserstoffbrücken zu den Amidprotonen ausbildet, kann die Verdrängung der Solvensmoleküle durch Iodid in einem geringen Shift oder sogar Hochfeldshift resultieren.

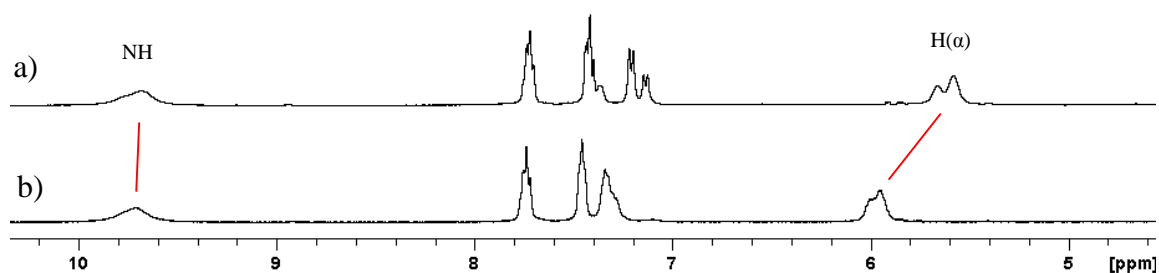


Abbildung 76: ¹H-NMR-Spektren von **43** in DMSO-d₆ vor (a) und nach Zugabe von NBU₄I (b).

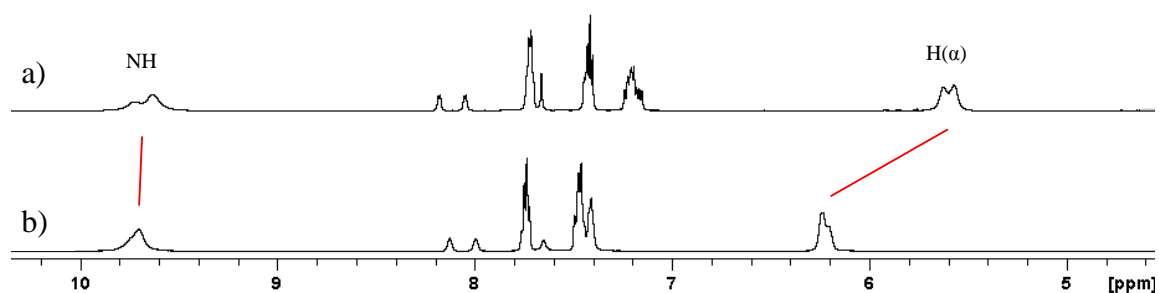


Abbildung 77: ¹H-NMR-Spektren von **68** in DMSO-d₆ vor (a) und nach Zugabe von NBU₄I (b).

Die weiteren Untersuchungen zur Sulfatbindung erfolgten im wässrigen Lösungsmittelgemisch D₂O/CD₃OD 1:1 (v/v). Dazu wurde eine Lösung von **68** mit steigenden Mengen an Natriumsulfat versetzt und der Einfluss der Salzzugabe auf das ¹H-NMR Spektrum verfolgt (Abbildung 78). Die H(α)-Signale des Komplexes wurden wie bei anderen Bis(cyclopeptiden) stark (um ca. 1 ppm in Anwesenheit von 2 Äquivalenten Na₂SO₄) zu tiefem Feld verschoben, was darauf hinweist dass das Anion im Hohlraum zwischen den Cyclopeptidringen gebunden wird. In den Spektren, in denen Sulfat im Vergleich zum Rezeptor im Überschuss vorlag, war ein gleichmäßiger Shift und eine starke Verbreiterung der Signale zu beobachten. Dies deutet an, dass die Kinetik der Komplexbildung im Vergleich zur NMR-Zeitskala schnell ist, so dass die Signale des Komplexes und die des freien Rezeptors nicht getrennt registriert werden können, sondern sich zu einem Signal mitteln. Die starke Verbreiterung der Signale zeigt aber, dass die Geschwindigkeit der Komplexbildung bei Raumtemperatur in einem ähnlichen Bereich wie die Messfrequenz des verwendeten NMR-Spektrometers (400 MHz) liegt.

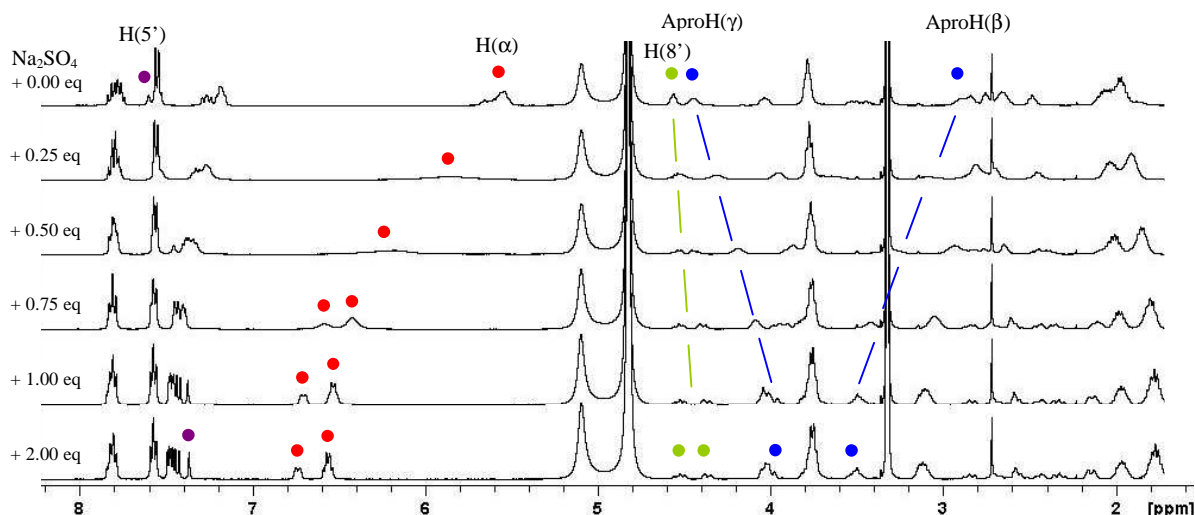


Abbildung 78: ^1H -NMR-Spektren einer 2.80 mM Lösung von **68** in $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ 1:1 (v/v) mit ansteigender Menge an Na_2SO_4 . Die Signale der $\text{H}(\alpha)$ -Protonen sind rot markiert.

Neben den $\text{H}(\alpha)$ -Protonen erfuhren auch andere Signale von **68** eine Veränderung (Beispiele blau markiert), die auf eine Änderung der Konformation des Bis(cyclopeptids) bei Komplexbildung hinweisen. Dieser Befund wird besonders am Signal einer CH_2 -Gruppe des Linkers deutlich ($\text{H}8'$, grün markiert). Die diastereotopen Protonen, die im freien Bis(cyclopeptid) zu einem Signal zusammenfallen, spalten im Sulfatkomplex in zwei Signale auf. Dies ist ein Indiz dafür, dass der Linker bei der Komplexbildung in seiner Flexibilität deutlich eingeschränkt wird. Das Signal des Triazolprotonen (violett markiert) wurde zu hohem Feld verschoben und scheint daher nicht wie bei anderen, Triazolgruppen enthaltenden, Anionenrezeptoren an der Bindung zum Anion beteiligt zu sein.^[126-128, 162-165]

Genauere Informationen zur Struktur des Sulfatkomplexes erhält man durch zweidimensionale NOESY NMR-Spektroskopie. NOESY-Spektren zeigen Kreuzpeaks für Protonen, die sich in räumlicher Nähe zueinander befinden. Dabei können diese zum einen über wenige Bindungen benachbart sein (skalare Kopplung), oder sich räumlich nahe kommen, ohne dass es eine unmittelbare Verknüpfung über Bindungen gibt (*through-space-coupling*). Für signifikante Kreuzpeaks muss der Abstand solcher Protonen im Allgemeinen weniger als 5 Å betragen wodurch sich Rückschlüsse auf die Konformation der Verbindung in Lösung ziehen lassen.

Das NOESY-Spektrum von **68** (Abbildung 79a) weist eine Vielzahl von Kreuzpeaks auf, die jedoch alle innerhalb einer Untereinheit, also entweder zwischen Protonen substituierter Aminoprolin-, unsubstituierter Prolineinheiten oder innerhalb des Linkers auftreten und auf skalare Kopplungen der Protonen zurückzuführen sind. Kreuzpeaks zwischen Protonen

verschiedener Untereinheiten treten nicht auf, da diese Protonen im Cyclopeptidring einen zu großen Abstand zueinander besitzen. In Gegenwart von 2 Äquivalenten Natriumsulfat treten hingegen zusätzlich Kreuzpeaks zwischen Signalen substituierter Aminoprolin- und unsubstituierter Prolineinheiten auf. Besonders gut ist dies anhand Kreuzpeaks der H(α)-Protonen zu sehen, die in Abbildung 79b mit Pfeilen hervorgehoben sind. Wie vorangegangene Untersuchungen gezeigt haben, können diese Kreuzpeaks nur auftreten, wenn das Bis(cyclopeptid) eine gefaltete Konformation einnimmt, in der sich die beiden Cyclopeptidringe räumlich nahe kommen und gemeinsam mit dem Anion wechselwirken.^[52] Dann ist der Abstand gering genug, dass Protonen des einen Ringes mit Protonen des anderen Ringes wechselwirken können. In Abwesenheit von Sulfat ist diese Konformation weniger populiert und die Cyclopeptidringe haben im zeitlichen Mittel einen größeren Abstand, weswegen Kreuzsignale zwischen Prolineinheiten der beiden Cyclopeptidringe fehlen.

Bei dem dreifach verbrückten Bis(cyclopeptid) **69** können analoge Kreuzpeaks prinzipiell nicht beobachtet werden, da es sich um eine C_3 -symmetrische Verbindung handelt, die nur substituierte Aminoprolineneinheiten enthält welche NMR-spektroskopisch nicht zu unterscheiden sind. Trotzdem können Aussagen über die Konformation von **69** in Lösung aus dem NOESY-NMR Spektrum abgeleitet werden. So sind im Vergleich zum Spektrum von **68** die Kreuzpeaks zwischen den Triazolprotonen und anderen Protonen der Linker in Gegenwart von Sulfat intensiver (Abbildung 80, mit Pfeilen markiert). Dies weist auf eine kompakte gefaltete Konformation der Linker hin. Die Abwesenheit auffälliger Unterschiede zwischen den NOESY Spektren mit und ohne Sulfat lässt allerdings keine genaueren Aussagen über die konformative Veränderung des Rezeptors bei Komplexbildung zu.

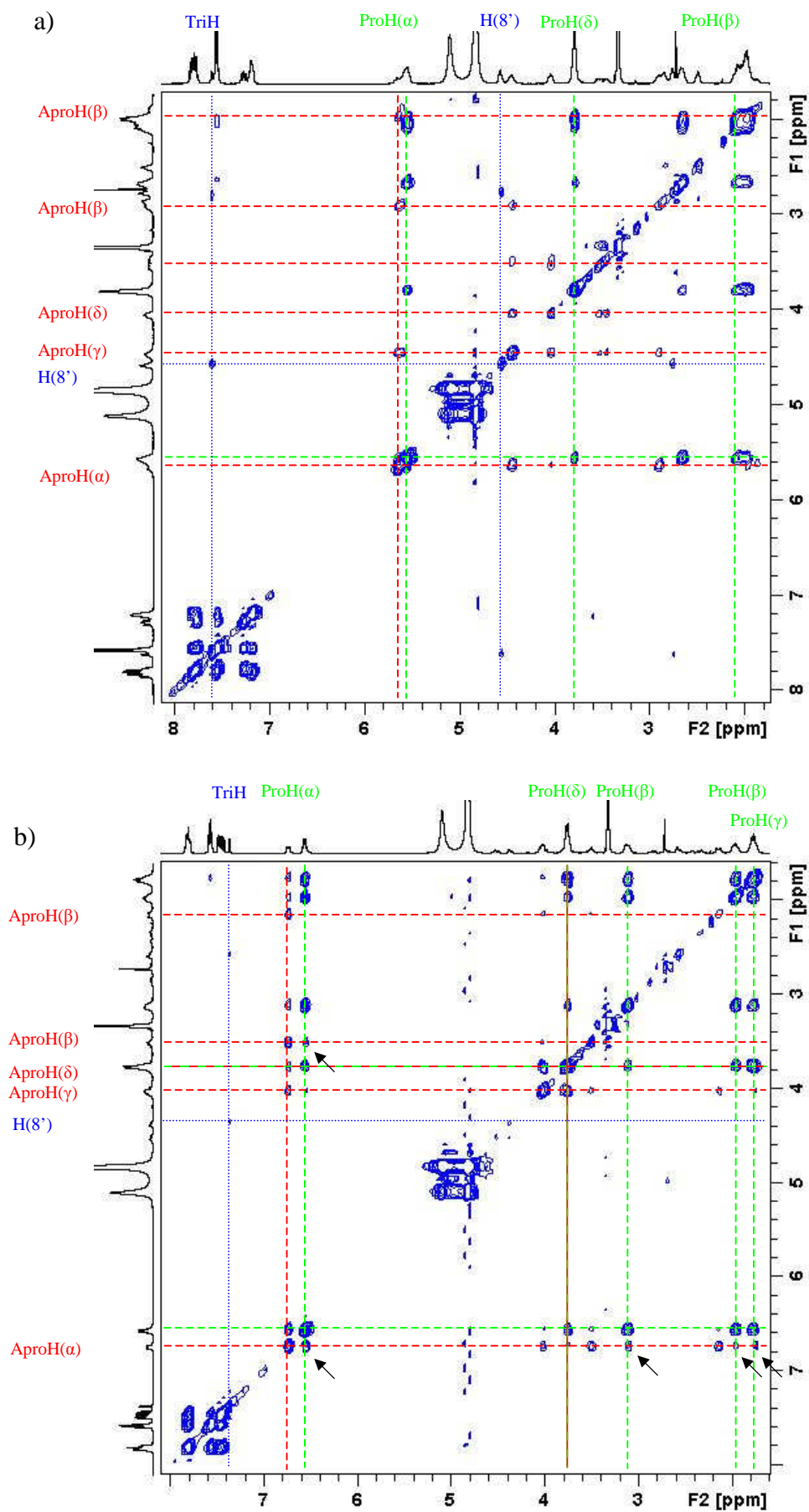


Abbildung 79: 2D-NOESY NMR-Spektren von 68 in D_2O/CD_3OD 1:1 (v/v): (a) 2.8 mM, 400 MHz, Mischzeit $\tau_m = 2$ s; (b) 2.8 mM + 2 eq Na_2SO_4 , 400 MHz, Mischzeit $\tau_m = 2$ s.

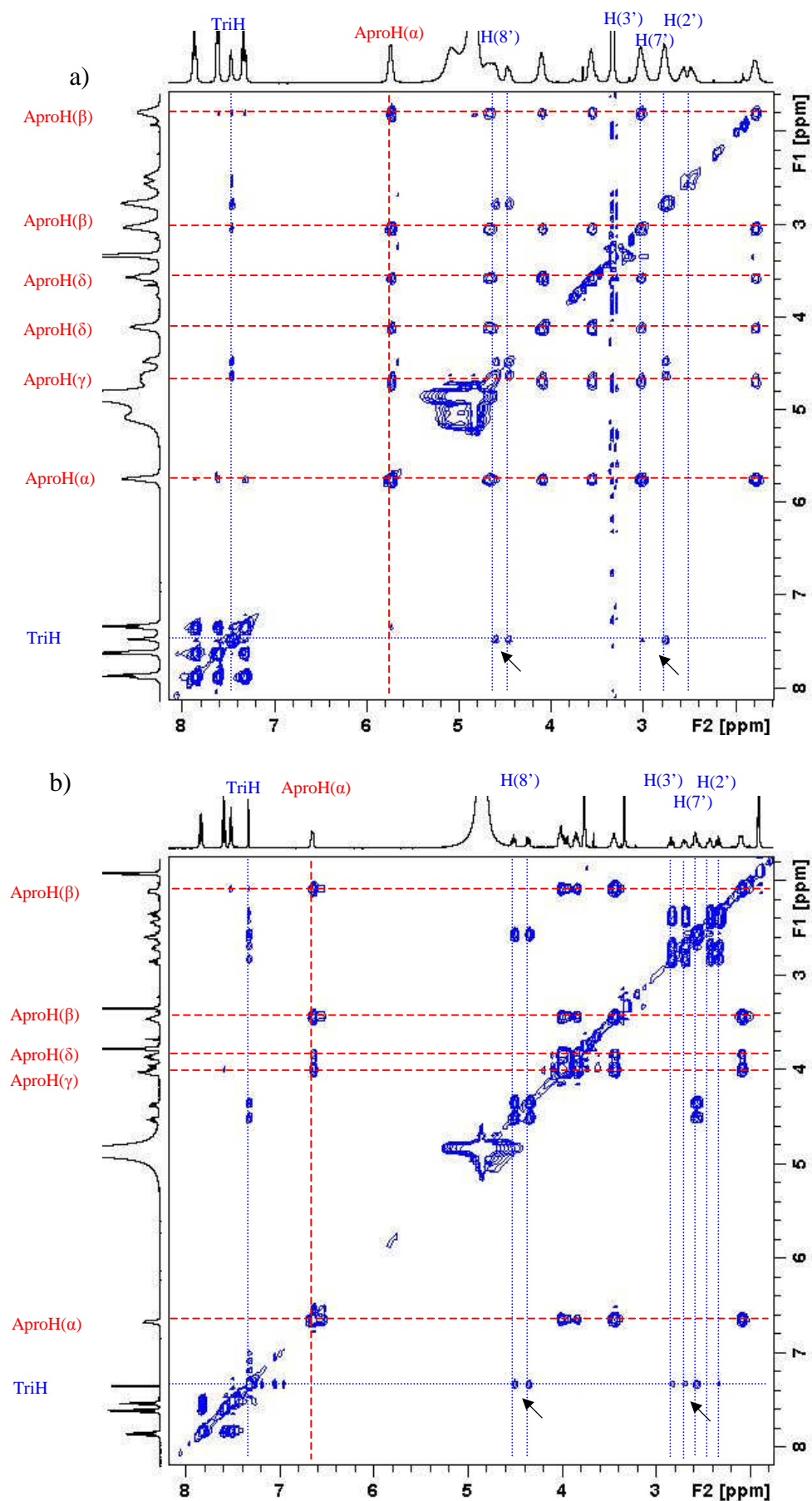


Abbildung 80: 2D-NOESY NMR-Spektren von 69 in D₂O/CD₃OD 1:1 (v/v): (a) 2.8 mM, 400 MHz, Mischzeit $\tau_m = 2$ s; (b) 1.6 mM +2 eq Na₂SO₄, 600 MHz, Mischzeit $\tau_m = 1$ s.

Das eindimensionale $^1\text{H-NMR}$ Spektrum der Kapsel **69** in $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ 1:1 (v/v) (Abbildung 81) wird bei Zugabe steigender Mengen an Natriumsulfat ebenso charakteristisch verändert wie das des Bis(cyclopeptids) **68**. So verschiebt sich das Signal der $\text{H}(\alpha)$ -Protonen zu tieferem Feld (rot markiert) und auch andere Signale erfahren deutliche Shifts (Beispiele blau markiert), die auf eine Bindung des Anions im Hohlraum hinweisen.

Im Verhalten von **68** und **69** sind jedoch auch einige markante Unterschiede zu beobachten. So spalten die diastereotopen Methylenprotonen der Linker von **69** auch in Abwesenheit von Sulfat in zwei Signale auf (grün markiert). Dies ist auf die rigidere Struktur der Kapsel zurückzuführen. Dass bei der Komplexbildung trotzdem eine gewisse Reorganisation der Linker unter Reduzierung der konformer Flexibilität stattfindet, kann man an der geringen Verschiebung der Signale und ihrer Verschärfung in Gegenwart von zwei Äquivalenten Sulfat im Vergleich zur leeren Kapsel erkennen.

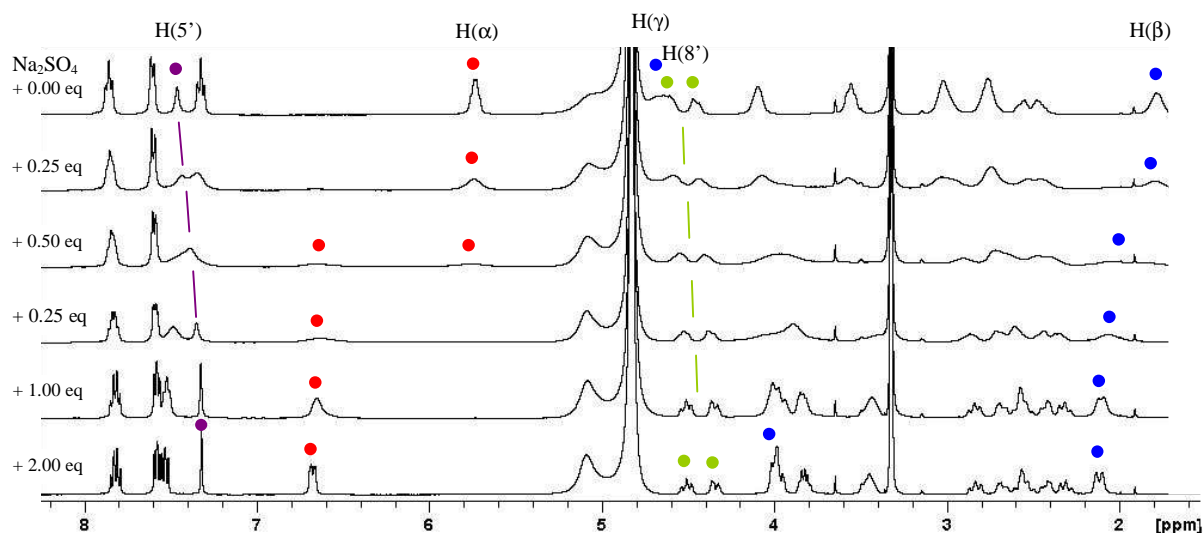


Abbildung 81: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren einer 1.60 mM Lösung von **69** in $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ 1:1 (v/v) mit ansteigender Menge an Na_2SO_4 . Die Signale der $\text{H}(\alpha)$ -Protonen sind rot markiert.

Ein weiterer großer Unterschied liegt im Tieffeldshift der $\text{H}(\alpha)$ -Protonen. Er erfolgt nicht wie bislang bei solchen Cyclopeptidrezeptoren beobachtet gleichmäßig, sondern es werden nebeneinander zwei Signale für die freie Kapsel und den Sulfatkomplex gefunden. Bei zunehmender Sulfatzugabe nimmt die Intensität des ersten Signals ab und die des zweiten zu (rot markiert). Dies bedeutet, dass der Gastaustausch im Gegensatz zu **68** langsam auf der NMR-Zeitskala verläuft, die Einführung weiterer Linker in das Bis(cyclopeptid)system also die Kinetik der Komplexbildung deutlich verringert. Dies wurde bereits bei anderen Containermolekülen beobachtet.^[32,166] Interessant in diesem Zusammenhang ist, dass sich das Triazolsignal des Linkers (violett markiert) bei Sulfatzugabe gleichmäßig zu hohem Feld

verschiebt. Dies bedeutet zum einen, dass auch bei diesem Rezeptor der Linker nicht an einer Bindung zum Anion beteiligt ist, aber auch dass die konformelle Mobilität der Linker und die Komplexbildung auf verschiedenen Zeitskalen ablaufen.

Isotherme Titrationskalorimetrie

Die isotherme Titrationskalorimetrie (ITC) ist eine weitere Möglichkeit zur Charakterisierung nichtkovalenter Komplexe.^[167] Sie besitzt den großen Vorteil, dass sie in einer Messung neben Bindungskonstante und Stöchiometrie auch die thermodynamischen Parameter Enthalpie ΔH und Entropie ΔS der Komplexbildung liefert. Die Kenntnis dieser Parameter ist wichtig für das Verständnis der Bindungsprozesse und somit auch für das Design und die Optimierung von Rezeptoren.

Das Ergebnis einer typischen Messung ist in Abbildung 82 dargestellt. Der obere Teil der Abbildung zeigt den Verlauf der Titration und der dabei bestimmten Messgröße. Jeder Peak entspricht der Dosierung einer bestimmten Menge an Gastlösung in die Rezeptorlösung. Die zugehörige Fläche entspricht dem Wärmeumsatz während der Injektion, die mit der Reaktionsenthalpie korreliert werden kann.

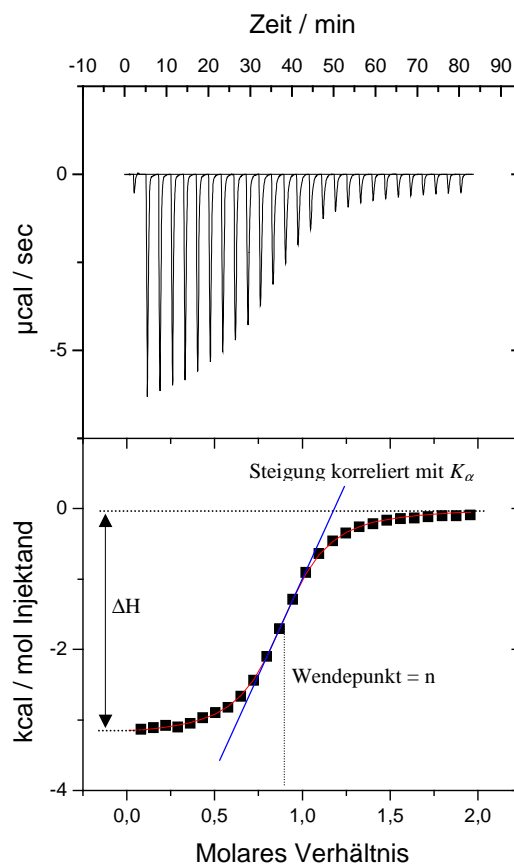


Abbildung 82: Diagramm der ITC-Messung von Rezeptor 68 (0.5 mM) und Na_2SO_4 (5 mM) in 1:1 (v/v) Wasser/Methanol bei 298 K. Der obere Teil zeigt die bei der Titration der Salz- in die Rezeptorlösung auftretende Reaktionswärme. Im unteren Teil sind die Integrale der einzelnen Peaks aufgetragen, mit einer geeigneten sigmoiden Funktion gefittet (rote Linie) und die Ermittlung der Werte für K_α , n und ΔH schematisch dargestellt.

Im Idealfall ergibt die Auftragung der gemessenen Enthalpien gegen den Molenbruch der Titration eine sigmoide Kurve, aus der man durch nicht-lineare Kurvenanpassung die gewünschten thermodynamischen Daten bestimmen kann. Die Gesamtenthalpie der Reaktion ΔH entspricht der maximalen Differenz in der Energie. Die Lage des Wendepunkts definiert die Stöchiometrie der Reaktion, also die Anzahl n der Bindungsstellen des Komplexes. Aus der Steigung im Wendepunkt erhält man schließlich die Bindungskonstante K_a .

Mit Hilfe der van't Hoff'schen Gleichung (Gleichung 1) erhält man aus diesen Parametern die freie Bildungsenthalpie ΔG der Komplexbildung.

$$\Delta G = -RT \ln K_a \quad (1)$$

Nach der Gibbs-Helmholtz-Gleichung (Gleichung 2) wird über ΔG , ΔH und die Messtemperatur als letzte unbekannte Größe die Entropie der Gesamtreaktion ΔS berechnet.

$$\Delta S = \frac{\Delta H}{T} - \frac{\Delta G}{T} \quad (2)$$

Mittels ITC wurden die thermodynamischen Parameter der Anionenbindung der beiden einfach verbrückten Bis(cyclopeptide) **43** und **68** sowie der Kapsel **69** mit den Anionen Sulfat, Iodid und Bromid in Wasser/Methanol 1:1 (v/v) bestimmt. Die Anionen wurden in Form ihrer Natriumsalze eingesetzt. Die Ergebnisse der Messungen sind zusammen mit den Daten des einfach mit Adipinsäure verbrückten Bis(cyclopeptids) **3a** in Tabelle 3 aufgeführt. Bis auf die Parameter von **69** mit NaI wurden jeweils drei unabhängige Messungen durchgeführt und die Ergebnisse gemittelt. Der n -Wert der Messungen liegt bei ungefähr 1, was bei allen Komplexen wie erwartet für eine 1:1 Stöchiometrie spricht.

	3a ^[154]	43	68	69	
	n	0.81 ± 0.01	0.87 ± 0.05	0.92 ± 0.01	
	log K_a	5.28 ± 0.10	5.23 ± 0.06	4.96 ± 0.05	5.70 ± 0.03
Na ₂ SO ₄	ΔG	-30.2 ± 0.2	-29.9 ± 0.4	-28.4 ± 0.3	-32.6 ± 0.2
	ΔH	-15.5 ± 0.4	-15.7 ± 0.6	-13.5 ± 0.3	10.1 ± 0.1
	$T\Delta S$	14.7 ± 0.6	14.3 ± 0.9	14.9 ± 0.5	42.7 ± 0.2
	n	0.77 ± 0.03	0.83 ± 0.04	1.01 ^a	
	log K_a	3.79 ± 0.26	3.65 ± 0.03	3.45 ± 0.03	3.85 ^a
NaI	ΔG	-21.6 ± 2.5	-20.8 ± 0.1	-19.7 ± 0.1	-21.9 ^a
	ΔH	-13.2 ± 1.0	-15.1 ± 0.1	-16.0 ± 0.7	1.1 ^a
	$T\Delta S$	8.4 ± 2.5	5.7 ± 0.1	3.7 ± 1.0	23.1 ^a
	n		0.80 ± 0.02		
	log K_a	3.45 ± 0.39		3.46 ± 0.01	
NaBr	ΔG	-19.7 ± 2.2		-19.8 ± 0.1	
	ΔH	-11.2 ± 0.9		-16.6 ± 0.3	
	$T\Delta S$	8.5 ± 3.1		3.2 ± 0.4	

Tabelle 3: Thermodynamische Daten der Komplexbildung von **43**, **68** und **69** mit Sulfat, Iodid und Bromid in Wasser/Methanol 1:1 (v/v) bei 298 K; die Energien sind in kJ/mol angegeben.
^{a)}nur eine Messung durchgeführt.

Die beiden einfach verbrückten Rezeptoren **43** und **68** weisen mit log K_a Werten von 5.23 bzw. 4.96 in Wasser/Methanol 1:1 (v/v) eine sehr hohe Sulfataffinität auf. Sie liegt in der Größenordnung die auch bei anderen analogen Bis(cyclopeptiden), wie der Verbindung **3a** (log K_a = 5.28), gefunden wurde. Allerdings erreicht sie nicht die Affinität eines von C. Reyheller synthetisierten Rezeptors, in welchem die beiden Cyclopeptidringe über einen 2,2'-(1,3-Phenylen)-diessigsäurelinker verknüpft sind. Diese Verbindung bindet Sulfat unter gleichen Bedingungen mit einem log K_a von 5.97, dem höchsten Wert der bislang für ein Bis(cyclopeptid) mit dieser Grundstruktur gefunden wurde.^[154]

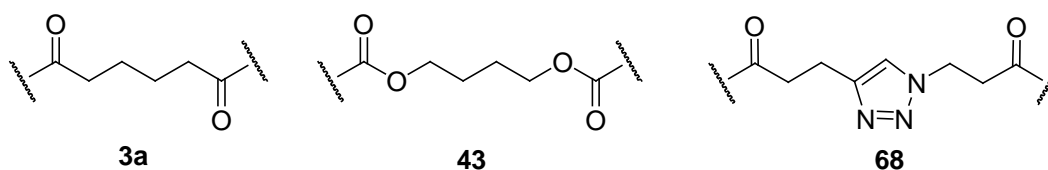


Abbildung 83: Vergleich der Linkerstruktur von **3a**, **43** und **68**.

Wie bei anderen bislang untersuchten Bis(cyclopeptiden) ist die Komplexbildung von **43** und **68** mit allen untersuchten Anionen sowohl enthalpisch als auch entropisch begünstigt.^[52, 154]

Die einzelnen Beiträge von Enthalpie und Entropie zu der Sulfatbindung unterscheiden sich bei **3a**, **43** und **68** nur geringfügig. Obwohl sich die Anzahl der Atome zwischen den Amid-NH-Protonen im Linker von 6 bei **3a** über 8 bei **43** auf 9 bei **68** erhöht (Abbildung 83), wirkt sich die Länge des Linkers, wenn sie sich in einem gewissen Bereich bewegt, also nur geringfügig auf die thermodynamischen Parameter der Sulfatbindung aus.

Bei der Komplexbildung von Iodid nimmt der entropische Term zur Komplexbildung bei den drei Rezeptoren mit steigender Linkerlänge leicht ab. Die gleichzeitige Abnahme der Enthalpie kann diesen Verlust nicht vollständig kompensieren, weshalb die Affinität für Iodid ebenso abnimmt. Da sich die drei Linker nicht nur in ihrer Kettenlänge, sondern auch in ihrer Rigidität unterscheiden, ist ein Rückschluss des beobachteten Effekts rein auf die Kettenlänge nicht zulässig.

Die Bromidaffinität von **68** ist praktisch ebenso groß wie die Affinität dieses Rezeptors für Iodid. Damit unterscheidet sich die Anionenselektivität von **68** von der anderer Bis(cyclopeptide), wie **3a**, die Bromid üblicherweise signifikant schwächer binden als Iodid. In vorangegangenen Arbeiten wurde gezeigt, dass die Anionenselektivität bislang untersuchter Bis(cyclopeptide) im Allgemeinen in der Reihenfolge $\text{SO}_4^{2-} > \text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$ sinkt.^[52] Bei den Halogeniden korreliert sie also mit dem Ionenradius des Anions und nicht mit seiner Ladungsdichte, d.h. der Fähigkeit Wasserstoffbrücken auszubilden. Dies wurde dadurch erklärt, dass Iodid aufgrund seiner Größe den Hohlraum der Bis(cyclopeptide) optimal ausfüllt und so mit allen NH-Gruppen gleichzeitig wechselwirken kann. Das Sulfation ist etwa genauso groß wie Iodid, aufgrund seiner höheren Ladung und der stärkeren Akzeptoreigenschaften der Sauerstoffatome im Vergleich zu Iodid, wird dieses Anion aber stärker gebunden.

Eine höhere Sulfataffinität wurde für die Rezeptoren **43**, **68** und **69** wie erwartet gefunden. Die ähnlich großen Bindungskonstanten der Iodid- und Bromidkomplexe von **68** sind dagegen ungewöhnlich. Allerdings fehlen vergleichende Messungen, z.B. auch zur Chloridaffinität, um dieses Ergebnis besser bewerten zu können.

Der Vergleich der Sulfataffinität von **69** mit den für **43** und **68** gemessenen Bindungskonstanten der Sulfatkomplexe zeigt, dass durch Erhöhung der Anzahl der Linker der Sulfatkomplex stabilisiert wird. So liegt die Affinität bei der dreifach verbrückten Kapsel **69** mit einem $\log K_a$ von 5.70 um ca. eine Größenordnung über dem einfach verbrückten

Analogon **68** ($\log K_a = 4.96$). Auch Iodid wird von **69** stärker gebunden. Mit einer Bindungskonstante von 3.85 ist die Verbesserung bei Iodid gegenüber **68** ($\log K_a = 3.45$) aber weniger ausgeprägt als bei Sulfat.

Stellt man die Bindungseigenschaften des einfach verbrückten Rezeptors **68** denen des dreifach verbrückten Derivats **69** gegenüber, erkennt man klar, dass die Erhöhung der Anzahl der Linker eine Verbesserung der Anionenaffinität bewirkt. Bedenkt man jedoch die wesentlich bessere Vororganisation, die **69** für die Anionenbindung besitzen sollte, bleibt die Anionenaffinität der Kapsel hinter den Erwartungen zurück. Die Bindungskonstanten alleine vermögen dieses überraschende Ergebnis nicht zu erklären. Erst bei Vergleich der Bindungsenthalpien und Bindungsentropien der Sulfatkomplexierung von **68** und **69** werden grundlegende Unterschiede deutlich.

Während die Bindung bei **68** exotherm ist und die Enthalpie mit -13.5 kJ/mol mit einem Anteil von ca. 50 % zur Sulfatbindung beiträgt, ist sie bei **69** endotherm, d.h. ΔH liefert mit ungefähr 10 kJ/mol einen negativen Beitrag zur Bindung. Bei Iodid tritt das gleiche Phänomen auf, wenn es auch etwas weniger ausgeprägt ist als bei Sulfat.

Die hohe Stabilität des Sulfatkomplexes von **69** resultiert also allein aus dem hohen positiven Beitrag der Entropie zur Komplexbildung. Dieser Beitrag ist so groß, dass er den ungünstigen Enthalpiebeitrag völlig überkompensiert und letztlich zu einer Sulfataffinität führt, die die von **68**, dessen Komplexbildung exotherm ist, übersteigt.

Es stellt sich nun die Frage nach den Gründen für die völlig unterschiedlichen thermodynamischen Signaturen in der Anionenbindung der Rezeptoren **68** und **69**. Insbesondere wäre eine Erklärung hilfreich, warum die Erhöhung der Anzahl der Linker in diesen Rezeptoren einen Wechsel der Komplexbildungsenthalpie von exotherm zu endotherm bewirkt. Eine endotherme Sulfatkomplexierung wurde bereits bei anderen Rezeptoren beschrieben.^[168] In diesem Fall wurde von den Autoren als Erklärung angeführt, dass die direkten Rezeptor-Anion-Wechselwirkungen nicht den Energiebetrag überkompensieren können, der für die Desolvatation des Anions notwendig ist. Analoge Gründe dürften auch für die Endothermie der Komplexbildung von **68** verantwortlich sein. Der Einfluss der Linker auf die Bindungsenthalpie wird dadurch aber nicht erklärt und vertiefende Betrachtungen sind notwendig. Hierfür muss man sich zunächst bewusst sein, dass sowohl Komplexbildungsenthalpie als auch -entropie von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst werden, die nicht unabhängig voneinander messbar sind. Sie sind im Folgenden kurz zusammengefasst.

1. Direkte Rezeptor-Substrat-Wechselwirkung:

- $\Delta H < 0$ Die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen Wirt und Gast führt zu einem günstigen Enthalpiebeitrag.
- $T \Delta S < 0$ Die Verringerung der Teilchenzahl (aus Rezeptor und Gast wird ein Komplex) liefert einen ungünstigen Entropiebeitrag.

2. Umorganisation des Rezeptors: (Der Rezeptor erfährt durch Komplexbildung eine konformative Einschränkung):

- $\Delta H = ?$ Der Enthalpiebeitrag ist vermutlich neutral oder ungünstig, je nachdem ob der Rezeptor im Komplex in einer Konformation vorliegt, die er in Abwesenheit des Substrats sowieso bevorzugt oder eher nicht.
- $T \Delta S < 0$ Die konformative Einschränkung und damit einhergehende Reduzierung der Freiheitsgrade führt zu einem ungünstigen Entropiebeitrag.

3. Desolvatation des Anions:

- $\Delta H > 0$ Zum Aufbrechen der Solvathülle muss Energie aufgewendet werden. Der Enthalpiebeitrag ist ungünstig.
- $T \Delta S > 0$ Die aus der Solvathülle freigesetzten Moleküle erhöhen die Entropie des Systems und liefert einen günstigen Entropiebeitrag.

4. Desolvatation des Rezeptors:

- $\Delta H = ?$ Der Enthalpiebeitrag hängt stark von der Struktur, Größe und Oberfläche des Rezeptors sowie der Polarität des Lösungsmittels ab. Da die Bis(cyclopeptide) polare (Amid) als auch unpolare (Prolin) Regionen aufweisen ist der Enthalpiebeitrag schwer vorherzusagen.
- $T \Delta S > 0$ Die aus der Solvathülle freigesetzten Moleküle erhöhen die Entropie des Systems und liefert einen günstigen Entropiebeitrag.

5. Wechselwirkung der freiwerdenden Solvatmoleküle:

- $\Delta H = ?$ Die aus der Solvathülle freigesetzten Moleküle wechselwirken mit dem
- $T \Delta S = ?$ restlichen Solvens. Die Auswirkung auf Enthalpie und Entropie hängt von dem Ausgangszustand ab und kann nicht ohne weiteres abgeschätzt werden.

Diese Unterteilung macht deutlich, dass bei Wechsel von Rezeptor **68** zu **69** aufgrund der Veränderung der Rezeptorstruktur fast alle Punkte in dieser Aufstellung mehr oder weniger stark beeinflusst werden. Allein die Desolvation des Anions bleibt konstant, wenn z.B. die Sulfataffinität von **68** mit der von **69** verglichen wird. Da schwer abschätzbar ist, inwieweit z.B. die Desolvation des Rezeptors oder seine konformative Umorganisation bei Komplexbildung die Größe oder das Vorzeichen der thermodynamischen Parameter beeinflussen, kann durch Unterteilung der Komplexbildung in die Vorgänge Desolvation, konformative Umorganisation und Rezeptor/Substrat-Wechselwirkungen noch keine Ursache für das unterschiedliche Verhalten von **68** und **69** identifiziert werden. Diese Vorgehensweise hilft aber, mögliche hypothetische Ursachen zu identifizieren. So kann für die Endothermie der Sulfatkomplexierung von **69**

- eine schwächere Wechselwirkung zwischen Bis(cyclopeptid) und Anion im Vergleich zu **68** verantwortlich sein oder
- eine Rezeptorkonformation von **69** im Komplex, die enthalpisch wesentlich ungünstiger ist als die von **68** oder
- ein enthalpisch wesentlich größerer Beitrag der Desolvation des Rezeptors bei der Komplexbildung.

Informationen zum ersten Punkt liefern die NMR-spektroskopischen Untersuchungen zur Anionenbindung in Verbindung mit Molecular Modelling Studien.

Ausgehend von der Kristallstruktur von $\mathbf{1} \cdot \text{SO}_4^{2-}$,^[50] sowie der Konformation, die ein von Frau Rodriguez-Docampo synthetisiertes einfach verbrücktes Bis(cyclopeptid) in seinem Sulfatkomplex annimmt,^[169] wurde die Struktur des Sulfatkomplexes von **69** berechnet. Die Optimierung führte zur in Abbildung 84a dargestellten Struktur als dem globalem Minimum und ähnelt sehr der bekannten Struktur von $\mathbf{1} \cdot \text{SO}_4^{2-}$.^[170] Weitere sieben Konformationen wurden gefunden, die bis zu 5 kJ/mol energiereicher sind. Sie gleichen alle stark der energieärmsten Konformation und unterscheiden sich im wesentlichen in den Konformationen der Linker, während es nur geringfügige strukturelle Unterschiede in den Konformationen der Cyclopeptidringe gibt.^[50] Die beiden Cyclopeptidringe weisen einen Abstand auf, der kurze Wasserstoffbrückenbindungen zum eingeschlossenen Sulfation mit N...O Abständen zwischen 2.6 und 3.1 Å ermöglicht.

Eine molekulardynamische Simulation (Abbildung 84b) zeigte, dass die Linker auch im Komplex eine verhältnismäßig hohe Flexibilität behalten, was im Einklang mit dem gleichmäßig shiftenden Signal des Triazolprotons bei Sulfatbindung im NMR steht.

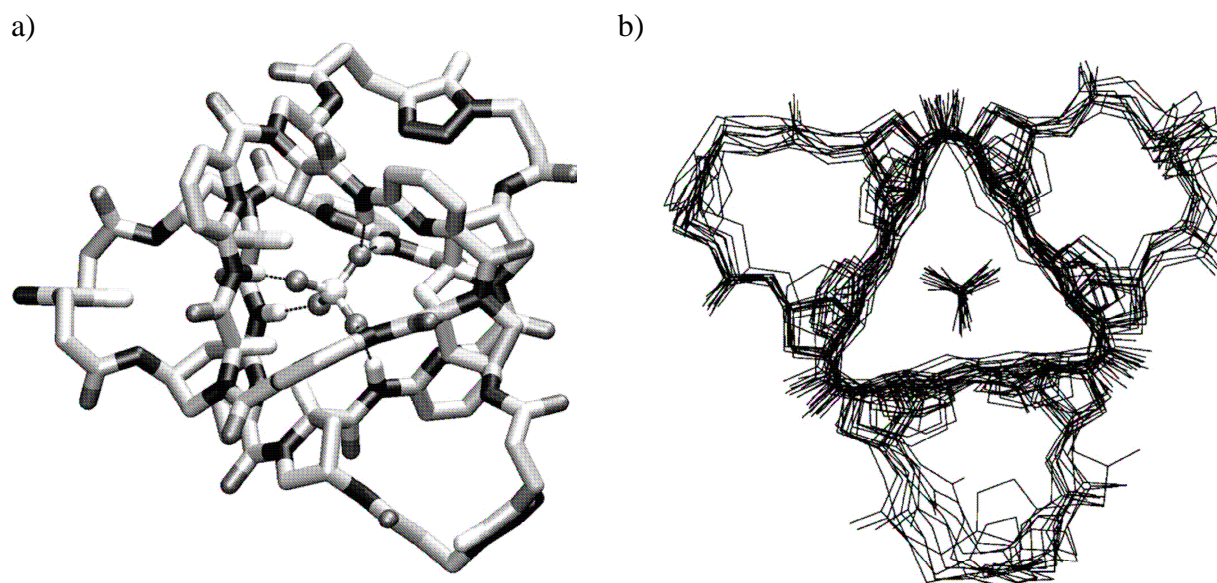


Abbildung 84: Über Monte-Carlo-Simulation berechnete Konformationen des Sulfatkomplexes von **69** (a), und seine in molekular dynamischer Simulation bestimmte konformelle Flexibilität (b).^[170]

In den ^1H -NMR-Spektren ist der Tieffeldshift, den die $\text{H}(\alpha)$ -Protonen von **69** bei Sulfatkomplexierung erfahren mit 0.94 ppm etwas geringer als der Shift der $\text{H}(\alpha)$ -Protonen von **68** (1.08 ppm). Dies ist ein Indiz dafür, dass das eingeschlossene Sulfation bei **69** im Mittel einen größeren Abstand zu den $\text{H}(\alpha)$ -Protonen aufweist, als bei **68** und deswegen **69** im Vergleich schwächere Wasserstoffbrücken ausbildet.

Der Unterschied in den Differenzen der Verschiebungen ist allerdings so gering, dass darin nicht allein der Wechsel von einer exothermen zu einer endothermen Bindung begründet sein kann, zumal in den Molecular Modelling Studien zu $\text{69}\cdot\text{SO}_4^{2-}$ kein auffällig großer Abstand der beiden Cyclopeptidringe zum Sulfation gefunden wurde.

Zur zweiten möglichen Ursache für die endotherme Sulfatbindung von **69**, der Stabilisierung einer enthalpisch ungünstigen Rezeptorkonformation bei Komplexbildung, liefert vor allem die Kristallstruktur von **69** wichtige Hinweise. Prinzipiell sollten zwar auch die NMR-spektroskopischen Untersuchungen Informationen über die konformative Reorganisation bei Komplexbildung liefern, die erhaltenen Spektren deuten aber im Wesentlichen nur an, dass diese Reorganisation tatsächlich erfolgt und dass die Linker von **69** im Komplex eine kompakte, gefaltete Struktur annehmen. Detailliertere Informationen über die Konformation des Rezeptors vor und nach der Komplexbildung können aus den NMR-Spektren nicht abgeleitet werden. Allerdings ist zu erwarten, dass konformative Veränderungen durch die

Komplexbildung vor allem in den Linkern und weniger in den beiden Cyclopeptidringen induziert werden.

Die Kristallstruktur von **69** zeigt allerdings, dass dieses Bis(cyclopeptid) im Kristall bevorzugt eine Konformation annimmt, die sich von der berechneten Struktur im Komplex massiv unterscheidet. Da im Kristall keine intermolekularen Wechselwirkungen zwischen Bis(cyclopeptid)einheiten beobachtet werden, kann man annehmen, dass es sich bei der Kristallstruktur um eine enthalpisch günstige Struktur handelt, die der Rezeptor im zeitlichen Mittel auch in Lösung annimmt. Während die beiden Cyclopeptidringe für die Komplexbildung eine günstige Konformation besitzen, ist ihre gegenseitige Anordnung für die Komplexbildung außerordentlich ungünstig. Die notwendige Anordnung kann nur durch Veränderung in der Konformation der Linker erreicht werden, was vermutlich mit einem Energieaufwand verbunden ist.

Hierfür spricht ein weiteres Indiz: Auch in Gegenwart von Natriumsulfat in Lösung kristallisiert **69** nie als Sulfatkomplex, sondern immer in freier (hydratisierter) Form. Die in Lösung auftretenden hohen Entropiebeiträge bei der Sulfatbindung spielen im Kristall keine Rolle. Ein Komplex kann im Kristall daher nur existieren, wenn er auch enthalpisch stabil ist. Dies ist aber bei **69** nicht gegeben; die enthalpisch günstige Konformation ist die, die für die Komplexbildung ungünstig ist. Diese Betrachtungen sprechen also stark dafür, dass energetisch ungünstige Konformationen des Rezeptors, vor allem wohl in seinen drei Linkern, im Komplex dafür verantwortlich sind, dass die Komplexbildung endotherm ist. Entropische Beiträge zur Komplexbildung, die wahrscheinlich maßgeblich auf die Freisetzung von Solvensmolekülen aus den Hydrathüllen von Rezeptor und Substrat zurückzuführen sind, kompensieren die ungünstige Komplexbildungsenthalpie und führen letztlich zu einer immer noch beachtlichen Stabilität des Sulfatkomplexes in wässriger Lösung.

Dass möglicherweise auch Solvatisierungseffekte einen enthalpischen Beitrag auf die Komplexbildung haben und damit auch die dritte vorgeschlagene Ursache für die Endothermie der Sulfatbindung von **69** eine gewisse Berechtigung hat, deutet die Kristallstruktur von **69** ebenfalls an. Rezeptor **69** kristallisiert mit 21 Wassermolekülen. Neun der Wassermoleküle bilden im Hohlraum einen Cluster, der aus drei viergliedrigen Ringen und zwei sechsgliedrigen Ringen besteht, welche über kooperative sowie verzweigte Wasserstoffbrückenbindungen ($\text{N-H}\cdots\text{O(H)H}\cdots\text{O=C}$, $\text{C=O}\cdots\text{HOH}\cdots\text{O=C}$, $\cdots\text{O(H)H}\cdots\text{O(H)H}\cdots\text{O(H)}\cdots\text{O(H)H}\cdots\text{H}\cdots\text{O(H)H}\cdots$) stabilisiert werden. Alle Moleküle dieses Wasserclusters bilden Wasserstoffbrücken zum Rezeptor aus, im Gegensatz zum endohedralen molekularen Eis, welches kürzlich in einem selbstassoziierten Käfigmolekül gefunden wurde.^[171]

Natürlich ist es nicht unproblematisch die aus der Kristallstruktur erhaltenen Daten zur Deutung des Bindungsverhaltens von **69** in Lösung heranzuziehen. Da die aus der Kristallstruktur des „solvatisierten“ Rezeptors gewonnenen Informationen aber nur auf Wechselwirkungen zwischen Rezeptor und Wassermolekülen beruhen und intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den Rezeptormolekülen im Kristall nicht existieren ist ein vorsichtiger Vergleich möglich. Hierbei sind vor allem zwei Umstände von Bedeutung.

Zum einen sind die Lösungsmittelmoleküle des im Kristall befindlichen Wasserclusters stark gebunden und hochgeordnet. Ist die Situation in Lösung ähnlich, sollte die Desolvatisierung der Kapsel endotherm sein, was den für die Komplexbildung aufzuwendenden Energiebetrag zusätzlich vergrößert. Im Gegenzug führt die Freisetzung des Wassers aus dem Hohlraum zu einem Entropiegewinn. Der hohe Entropiebeitrag von 42.7 kJ/mol bei der Sulfatkomplexierung von **69** spiegelt diesen Sachverhalt wieder. Welchen Anteil die Desolvatisierung an den beobachteten Gesamtenergiebeiträgen hat, lässt sich mit den vorhandenen experimentellen Daten jedoch schwer abschätzen. Gegebenenfalls könnten Messungen von Isotopeneffekten des Lösungsmittels (in D₂O sind Wasserstoffbrücken stärker als in H₂O) auf die Komplexbildung hier nähere Informationen liefern.^[172] Im Rahmen dieser Arbeit wurden diese Untersuchungen aber nicht durchgeführt.

Diese Betrachtungen geben also Hinweise darauf, dass der Rezeptor **69** im Komplex Konformationen annimmt, die aufgrund energetisch ungünstiger Linkerkonformationen energiereich sind. Bei Rezeptor **68** ist diese Problematik möglicherweise ebenfalls vorhanden, da dieser Rezeptor aber nur einen Linker enthält ist der Effekt wahrscheinlich deutlich kleiner. Zusätzlich kann für die Endothermie der Komplexbildung von **69** auch eine effiziente Hydratisierung des Rezeptors in Lösung verantwortlich sein.

Informationen über die Lösungsmittelabhängigkeit der Sulfataffinität von **68** und **69** wurden gewonnen, indem die Komplexbildung mikrokalorimetrisch in Wasser/Methanol-Gemischen unterschiedlicher Zusammensetzung mit einem volumetrischen Wasseranteil von 35, 50 und 65 % untersucht wurde. Die Verwendung von Lösungsmittelgemischen mit noch höheren Wasseranteilen war aufgrund der ungenügenden Löslichkeit der Rezeptoren nicht möglich. Die Ergebnisse der Messungen sind in Tabelle 4 aufgeführt.

% H ₂ O	68			69		
	35 %	50 %	65 %	35 %	50 %	65 %
n	0.88 ± 0.01	0.87 ± 0.05	0.86 ± 0.01	0.89 ± 0.01	0.92 ± 0.01	0.75 ± 0.14
log K _a	5.67 ± 0.02	4.96 ± 0.06	4.26 ± 0.02	6.34 ± 0.02	5.70 ± 0.03	5.19 ± 0.05
ΔG	-32.4 ± 0.1	-28.4 ± 0.3	-23.9 ± 0.8	-36.2 ± 0.1	-32.6 ± 0.2	-29.6 ± 0.3
ΔH	-12.4 ± 0.1	-13.5 ± 0.3	-11.8 ± 0.2	13.3 ± 0.1	10.1 ± 0.1	6.9 ± 0.3
TΔS	19.9 ± 0.2	14.9 ± 0.5	12.1 ± 0.9	49.5 ± 0.1	42.7 ± 0.2	36.5 ± 0.1

Tabelle 4: Thermodynamische Daten der Komplexbildung von **68** und **69** mit Sulfat in Wasser/Methanol-Mischungen mit variierendem Wasseranteil. Die Energien sind in kJ/mol angegeben.

Bei beiden Rezeptoren nimmt die freie Bindungsenthalpie ΔG und somit die Bindungskonstante mit steigendem Wasseranteil ab. Im Gegensatz zu anderen neutralen Anionenrezeptoren, deren Bindungskonstanten schon bei Zugabe geringer Mengen an Wasser stark abnehmen,^[173] ist der Verlust an Bindungsenergie (in Abbildung 85 graphisch dargestellt) im Fall von **68** und **69** jedoch relativ gering. Wie in Tabelle 4 ersichtlich, ist der Grund für die Verringerung der Komplexstabilität in Lösungsmittelgemischen mit höherem Wasseranteil vor allem die Verringerung des entropischen Beitrags zur Komplexbildung. Die Enthalpie ist bei **68** von der Lösungsmittelzusammensetzung fast unbeeinflusst oder weist im Falle von **69** mit steigendem Wasseranteil einen weniger ungünstigen Beitrag zur Komplexbildung auf.

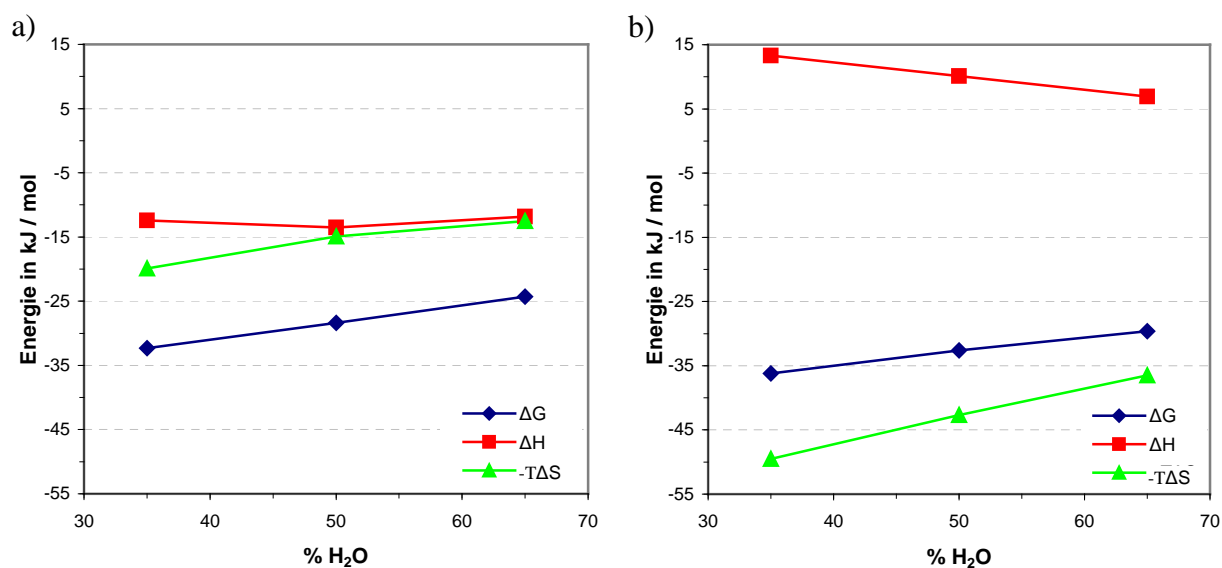


Abbildung 85: Graphische Darstellung der thermodynamischen Parameter ΔG , ΔH und $T\Delta S$ der Sulfatkomplexierung von **68** (a) und **69** (b) in Abhängigkeit von der Lösungsmittelzusammensetzung.

Eine analoge Abhängigkeit wurde bereits bei der Charakterisierung eines anderen Bis(cyclopeptid)-Rezeptors in Wasser-Acetonitril-Mischungen beobachtet.^[169]

Intuitiv würde man genau einen entgegengesetzten Verlauf erwarten: In stärker kompetitiven Lösungsmittelgemischen mit höherem Wasseranteil sollte aufgrund von schwächeren Rezeptor/Substrat-Wechselwirkungen die Bindung enthalpisch ungünstiger sein, während aufgrund stärkerer hydrophober Wechselwirkung die Entropie die Wechselwirkung zunehmend begünstigen sollte. Diese Sicht fokussiert allerdings ausschließlich auf die direkten Wechselwirkungen zwischen Rezeptor und Substrat und lässt andere Einflüsse, wie Solvation, außer acht, die ebenfalls zum Bindungsvorgang beitragen.

Eine mögliche Erklärung für die beobachteten Ergebnisse beruht auf der Annahme, dass Sulfationen in Wasser/Methanol-Gemischen bevorzugt von Wassermolekülen solvatisiert werden.^[169] In Lösungsmittelgemischen mit geringerem Wasseranteil sollte dementsprechend die Bindung von Sulfationen entropisch stark begünstigt sein, da die geordneten Wassermoleküle aus der Solvathülle freigesetzt werden. Allerdings ist der enthalpische Aufwand für die Desolvatisierung hoch. In Lösungsmitteln mit höherem Wasseranteil sinkt der entropische Vorteil der Sulfatbindung, allerdings wird die Desolvatisierung zunehmend leichter so dass der enthalpische Gesamtgewinn der Komplexbildung größer wird. Leider sind nur die freien Energien für den Übergang von Sulfationen von Wasser in Wasser/Methanol-Mischungen bekannt und nicht die individuellen enthalpischen und entropischen Beiträge.^[174] Diese Daten würden Informationen liefern, ob die obige Interpretation sinnvoll ist. Weitere systematische Bindungsstudien sind daher notwendig, um die Abhängigkeit der Bindungsenthalpie und -entropie von der Lösungsmittelzusammensetzung bei der Anionenkomplexierung durch **68**, **69** oder andere analoge Bis(cyclopeptide) genauer zu verstehen.

Kinetik der Sulfatbindung

Die Erkenntnis aus den ^1H -NMR-Spektren, dass der Gastaustausch der Sulfatkomplexe von **68** und **69** mit deutlich unterschiedlicher Geschwindigkeit abläuft, führte zur eingehenderen Untersuchung der Bindungskinetiken beider Rezeptoren. Die dynamische NMR-Spektroskopie bietet die Möglichkeit, kinetische Daten zu erhalten.^[175,176] Man beobachtet dabei Kerne, die zwischen zwei magnetisch unterschiedlichen Positionen hin- und herwechseln und dabei eine mittlere Lebensdauer von 10^{-1} – 10^{-3} s aufweisen.^[177,178] Im konkreten Fall sind dies Protonensignale eines freien Bis(cyclopeptids) und seines Komplexes mit Sulfat. Erfolgt der Austausch langsam auf der NMR-Zeitskala beobachtet man zwei getrennte Signale. Erhöht sich die Geschwindigkeit des Austauschs kann das NMR-Gerät die Signale nicht mehr auflösen. Sie verbreitern sich und fallen bei schnellerem Austausch zu einem einzelnen Signal zusammen (Koaleszenz). Faktoren, die die NMR-Spektren beeinflussen, sind neben der Temperatur, die sich direkt auf die Austauschgeschwindigkeit auswirkt, auch die Messfrequenz und somit die Auflösung der Messung.

Es gibt mehrere Methoden, die Geschwindigkeitskonstante des Austauschs aus eindimensionalen NMR-Spektren zu bestimmen.^[175-177,179] Am genauesten ist die vollständige Linienformanalyse, bei der Simulationsprogramme bei verschiedenen Temperaturen gemessene Spektren iterativ mit berechneten Spektren vergleichen. Moleküle mit komplexen Spinsystemen, wie die Bis(cyclopeptide), bei denen zusätzlich noch Signale zusammenfallen, lassen sich aber mit normalen Mitteln nicht mehr ohne weiteres berechnen.

Eine Vereinfachung bietet die oft verwendete „Koaleszenzmethode“. Sie wurde ursprünglich für die Untersuchung intramolekularer dynamischer Prozesse, wie z.B. der Bestimmung der Rotationsbarriere von *N,N*-Dimethylformamid, eingesetzt. Bei diesen Untersuchungen liegen Protonen in zwei gleich populierte Zustände vor, die über eine Reaktion erster Ordnung, in diesem Fall eine gehinderte Rotation, ineinander überführt werden. Eine Kopplung zwischen den Protonen der beiden Zustände findet nicht statt.

Werden mit der Koaleszenzmethode Austauschreaktionen, wie sie die Komplexbildung der Bis(cyclopeptide) mit Anionen darstellen, untersucht, sind diese Voraussetzungen nicht mehr vollständig erfüllt.

So ist die Komplexdissoziation zwar normalerweise eine Reaktion erster Ordnung, die Komplexbildung aber eine zweiter Ordnung. Zusätzlich sind die Konzentrationen beider Zustände unterschiedlich, und die für die Bestimmung notwendige Änderung der Messtemperatur beeinflusst nicht nur die Bindungskinetik, sondern auch das Verhältnis von

freiem zu komplexiertem Rezeptor. Trotzdem wurde die Koaleszenzmethode aufgrund ihres vergleichsweise geringen Aufwands in der Vergangenheit verschiedentlich verwendet, um die Geschwindigkeit von Komplexbildungsgleichgewichten abzuschätzen.^[177,180] Mit Gleichung 4 kann die Geschwindigkeitskonstante des Austauschs bei Temperaturen unterhalb der Koaleszenz berechnet werden, sofern die Signale getrennt sind und die Verschiebungen der Signale in Abwesenheit eines Austausches bekannt sind. Diese werden meist durch Tieftemperaturmessungen weit unterhalb der Koaleszenztemperatur bestimmt, bei denen der Austausch stark verlangsamt ist, bzw. auf der NMR-Zeitskala kein Austausch mehr stattfindet. Ist dies nicht möglich, schätzt man δv ab.^[177] Bei der Koaleszenztemperatur vereinfacht sich Gleichung 4 zu Gleichung 5.

$$k = \frac{\pi}{\sqrt{2}} \sqrt{\delta v^2 - \delta v_e^2} \quad (4)$$

$$k_c = \frac{\pi \delta v}{\sqrt{2}} \quad (5)$$

- k : Geschwindigkeitskonstante
 δv : Linienabstand ohne Austausch
 δv_e : Linienabstand mit Austausch
 k_c : Geschwindigkeitskonstante bei Koaleszenztemperatur

Zur Untersuchung der Kinetik des Anionenaustausches bei **68** wurden ^1H -NMR-Spektren einer 2.80 mM Lösung dieses Bis(cyclopeptids) in $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ 1:1 (v/v) in Gegenwart von 0.5 eq Na_2SO_4 bei verschiedenen Temperaturen gemessen. Eine Auswahl der erhaltenen ^1H -NMR Spektren ist in Abbildung 86 dargestellt. Man erkennt deutlich, dass die $\text{H}(\alpha)$ -Protonen, die bei Raumtemperatur nur ein breites Signal liefern, bei tiefen Temperaturen in zwei ebenfalls breite Signale für freien Rezeptor und Sulfatkomplex aufspalten. Die Koaleszenztemperatur liegt bei etwa 10 °C. Die Auflösung des bei 0 °C mit einer Messfrequenz von 600 MHz gemessenen Spektrums reicht im Gegensatz zum Hochtemperaturspektrum bei 50 °C nicht aus, um die Signale der $\text{H}(\alpha)$ -Protonen an den substituierten und unsubstituierten Prolineinheiten einzeln aufzulösen und somit Signale in Abwesenheit eines Austausches zu erhalten. Messungen unterhalb von 0 °C konnten jedoch nicht durchgeführt werden, da unter diesen Bedingungen die Bildung eines Niederschlags im NMR-Röhrchen beobachtet wurde. Da also keine geeigneten Messbedingungen gefunden wurden, um die chemische Verschiebung der $\text{H}(\alpha)$ -Signale im Abwesenheit eines Austausches zu bestimmen, wurden diese Werte aus den NMR-Spektren des freien Rezeptors und aus einem Spektrum des Rezeptors in Gegenwart von zwei Äquivalenten Na_2SO_4

ermittelt. Anhand dieser Werte wurde die Geschwindigkeitskonstante des Austauschs bei der Koaleszenztemperatur T_c mittels Gleichung 5 auf 1400 /s bzw. 1500 /s berechnet. Diese unterschiedlichen Werte ergeben sich je nachdem, ob man für die Berechnung die Signale der Protonen an den Prolin- oder den Aminoprolineneinheiten heranzieht. Letztere erfahren bei Sulfatkomplexierung eine etwas größere Verschiebung.

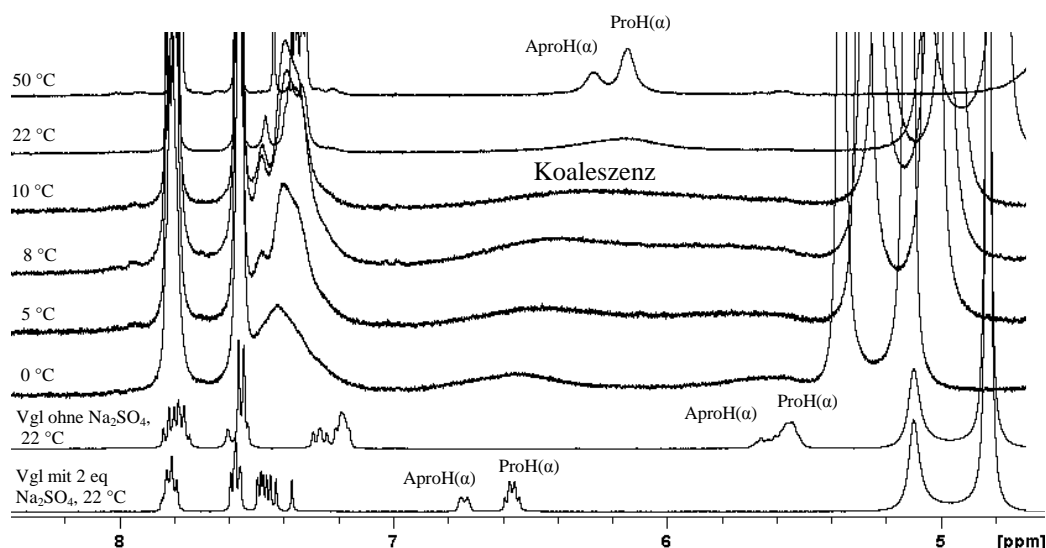


Abbildung 86: ^1H -NMR-Spektren einer 2.80 mM Lösung von **68** in $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ 1:1 (v/v) mit 0.5 eq Na_2SO_4 , gemessen mit 600 MHz bei variabler Temperatur, sowie Vergleichsspektren bei Raumtemperatur ohne und mit 2 eq Na_2SO_4 .

Analoge Untersuchungen wurden ebenfalls mit **69** durchgeführt. Allerdings war es in diesem Fall nicht möglich, die Koaleszenztemperatur zu bestimmen, da die $\text{H}(\alpha)$ -Protonen dieser Verbindung im ^1H -NMR-Spektrum selbst bei einer Messtemperatur von 60 °C zwei deutlich getrennte Signale zeigten, deren Differenz $\Delta\delta$ sich im Vergleich zu den Spektren bei tiefer Temperatur (–20 °C) bzw. den Spektren ohne und mit 2 eq Natriumsulfat nur geringfügig verringert hatte und die demnach noch weit von der Koaleszenz entfernt waren (Abbildung 87). Die Geschwindigkeitskonstante des Sulfataustauschs von **69** in $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ 1:1 (v/v) bei Raumtemperatur wurde mithilfe der Spektren des freien Rezeptors und seines Sulfatkomplexes auf 210 /s bzw. 330 /s bestimmt. Diese unterschiedlichen Werte ergeben sich je nachdem, ob man in der Berechnung als Referenzwert ohne Austausch die Signale des Spektrums bei –20 °C oder des Spektrums in Gegenwart von 2 eq Na_2SO_4 heranzieht. Die Geschwindigkeitskonstante k_c bei (der unbekanntenen) Koaleszenztemperatur berechnet sich zu 1200 /s.

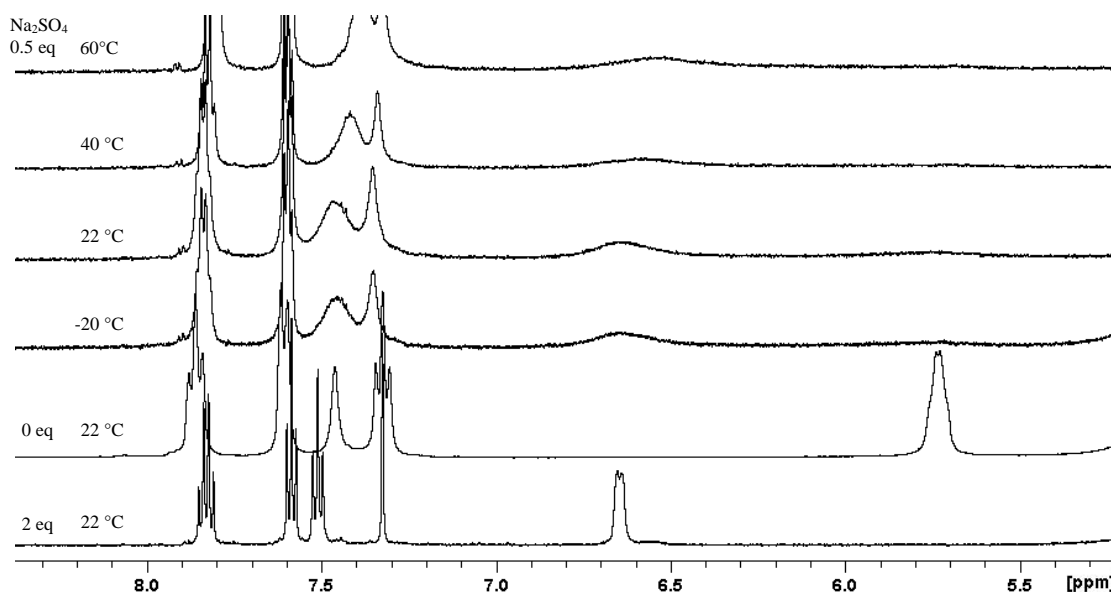


Abbildung 87: ^1H -NMR-Spektren von **69** in $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$ 1:1 (v/v) mit 0.5 eq Na_2SO_4 bei -20 , 22 , 40 und 60 °C bzw. mit 0 und 2 eq Na_2SO_4 bei 22 °C.

Aufgrund der Ungenauigkeiten bei der Bestimmung der chemischen Verschiebungen (geringes Signal-zu-Rausch-Verhältnis und starke Verbreiterung der Peaks) sowie der oben erwähnten verallgemeinernden Annahmen, die bei der Bestimmung von Austauschkonstanten unter Verwendung von Gleichung 4 gemacht werden müssen, kann dieses Ergebnis nur als grobe Näherung betrachtet werden. Jedoch ist klar ersichtlich, dass die Austauschgeschwindigkeit des einfach verbrückten Bis(cyclopeptids) **68** eindeutig über der des dreifach verbrückten Derivats **69** liegt. Zwar liegen die Geschwindigkeitskonstanten bei der jeweiligen Koaleszenztemperatur in der gleichen Größenordnung. Während T_c bei **68** aber 10 °C beträgt, erreicht bei **69** der Austausch erst bei Temperaturen deutlich über 60 °C eine vergleichbare Geschwindigkeit.

Detailliertere Aussagen über die Kinetik von Austauschreaktionen können mit Hilfe der EXSY-Spektroskopie getroffen werden.^[181] 2D-EXSY Spektren werden mit der gleichen Pulsfolge wie 2D-NOESY Spektren aufgenommen. Im Unterschied zur NOESY-NMR wird aber keine Wechselwirkung zwischen Dipolen, sondern der chemische Austausch von Protonen zwischen zwei nichtäquivalenten Orten gemessen. Das Experiment basiert darauf, dass ein Kern mit einer bestimmten Verschiebung innerhalb einer festgelegten Mischzeit τ_m in einen Kern mit anderer Verschiebung überführt wird (im konkreten Fall wird aus einem Proton der leeren Kapsel nach Anionenbindung ein Proton des Komplexes und umgekehrt). Dieser Transfer von Magnetisierung zwischen zwei Zuständen führt im zweidimensionalen Spektrum zu einem Kreuzpeak, dessen Intensität in Beziehung zur Geschwindigkeit dieses

Übergangs steht. Das besondere ist, dass beide Reaktionen, die Komplexbildung sowie die Dekomplexierung, gleichzeitig und unabhängig voneinander gemessen werden können. Diese Methode setzt also voraus, dass im NMR-Spektrum getrennte Signale für die beiden zu beobachtenden Spezies auftreten. Damit ist eine Anwendung zur Bestimmung der kinetischen Parameter nur für **69**, nicht aber für das einfach verbrückte Bis(cyclopeptid) **68** möglich.

Durch Matrixanalyse werden aus den Intensitäten der Kreuz- und Diagonalpeaks einer Messung mit Austausch ($\tau_m > 0$), und einer Messung ohne Austausch ($\tau_m = 0$) die beiden Geschwindigkeitskonstanten pseudo-erster Ordnung $k_{1,obs}$ und $k_{-1,obs}$ berechnet. Dabei ist die Auswahl einer optimalen Mischzeit wichtig. Bei zu kurzem τ_m ist der Magnetisierungstransfer noch nicht vollständig, die Kreuzpeaks sind zu klein und der Fehler bei der Integration durch ein geringes Signal-zu-Rausch-Verhältnis groß. Ist τ_m zu lang, verringern sich die Intensitäten durch spezifische (NOESY Kreuzpeaks) sowie unspezifische Relaxationen und korrelieren nicht mehr mit den Geschwindigkeitskonstanten. Da EXSY Messungen sehr zeitaufwändig sind, werden oft nur Messungen bei einer Mischzeit durchgeführt. Allerdings ist die Wahl der adäquaten Mischzeit ein kritischer Faktor. Eine geeignete Mischzeit für die der relative Fehler in k minimal ist, kann nach Gleichung 6 berechnet werden,^[181] wobei dazu vorher die Geschwindigkeitskonstanten k_1 und k_{-1} über Linienformanalyse abgeschätzt und die Spin-Gitter-Relaxationszeit T_1 bestimmt werden muss. Gute Ergebnisse werden für Geschwindigkeitskonstanten erhalten, die zwischen 10^{-2} und 10^2 liegen.^[175,181] Alternativ kann die Mischzeit gewählt werden, bei der die Intensitäten der Austauschpeaks maximal sind.^[182]

$$\tau_{m,opt} \cong \frac{1}{T_1^{-1} + k_1 + k_{-1}} \quad (6)$$

Die in den zweidimensionalen NMR-Spektren erhaltenen Peakvolumina sind dabei über Gleichung 7 mit den Geschwindigkeitskonstanten, den Relaxationsgeschwindigkeiten und der Mischzeit τ_m verknüpft.^[183]

$$A = \exp(-R\tau_m) \quad (7)$$

A ist dabei eine Matrix mit den Volumina der Kreuz- und Diagonalpeaks einer bestimmten Mischzeit geteilt durch die Intensität der Diagonalpeaks des Spektrums ohne Austausch (Gleichung 8), und R die Matrix der gesuchten kinetischen Parameter von Austausch und Spin-Gitter-Relaxation.

$$A = \begin{vmatrix} I_{11}/M_1 & I_{12}/M_2 \\ I_{21}/M_1 & I_{22}/M_2 \end{vmatrix} \quad (8)$$

Die Lösung von Gleichung 7 wird nach der Eigenwert Eigenvektormethode durchgeführt (Gleichung 9). D ist eine Diagonalmatrix der Eigenwerte von A, X und sein Inverses X^{-1} sind die Eigenvektoren von A.

$$R = \frac{-X(\ln D)X^{-1}}{\tau_m} \quad (9)$$

Die Lösung von Gleichung 9 ergibt die Austauschmatrix R (Gleichung 10) mit den gesuchten kinetischen Parametern.

$$R = \begin{vmatrix} -R_1 - k'_1 & k'_{-1} \\ k'_1 & -R_2 - k'_{-1} \end{vmatrix} \quad (10)$$

Zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten wurden EXSY-NMR Spektren der Kapsel **69** in D_2O/CD_3OD 1:1 (v/v) mit 0.5 eq Na_2SO_4 bei 22 °C aufgenommen. Dabei wurde die Mischzeit τ_m im Bereich von 30 ms bis 500 ms variiert. In Abbildung 88 ist das Spektrum mit $\tau_m = 150$ ms exemplarisch dargestellt. Die Intensitäten der Peaks wurden anschließend mit Hilfe des NMR-Programms TOPSPIN bestimmt. Die weitere Berechnung erfolgte mit dem Programm EXSYCalc von Mestrelab Research.^[184]

Zu beachten ist, dass die durch die Auswertung der EXSY Messungen erhaltenen Geschwindigkeitskonstanten für Komplexierung und Dekomplexierung $k_{1,obs}$ und $k_{-1,obs}$ pseudo erster Ordnung sind.^[185]

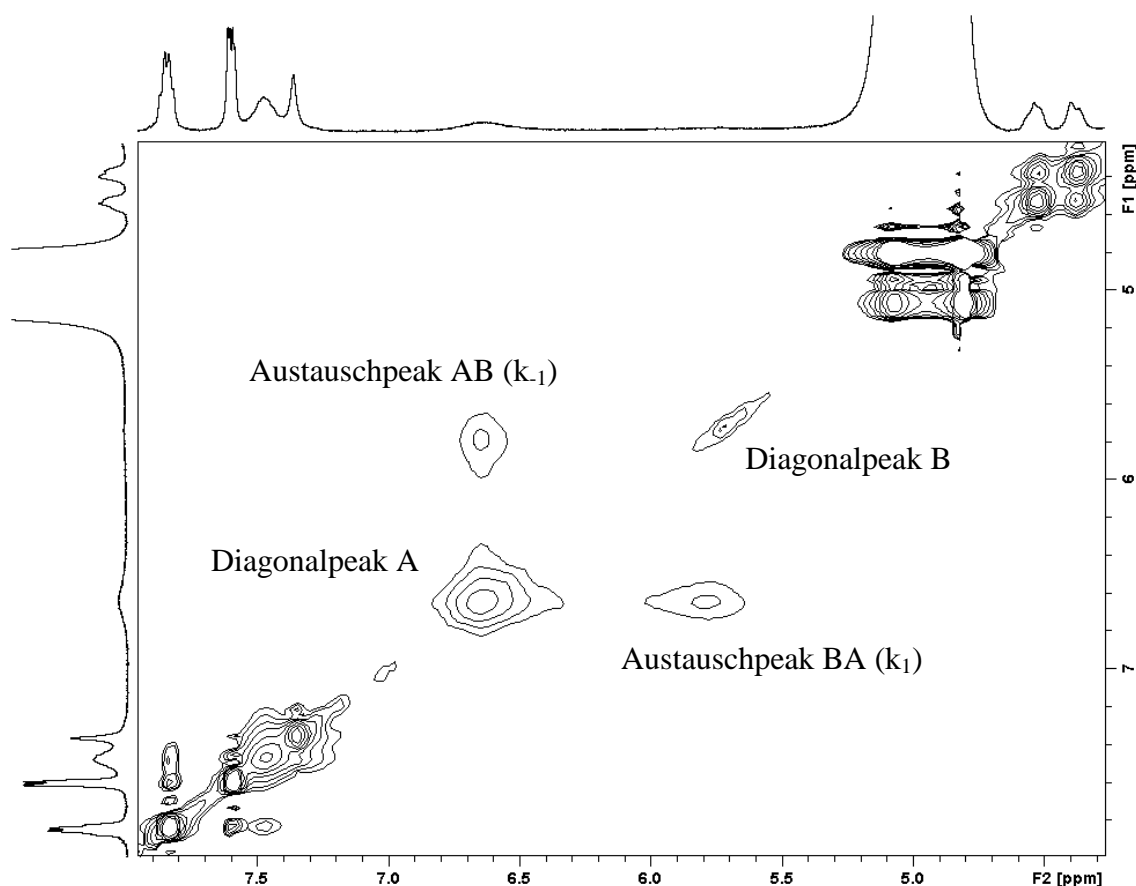


Abbildung 88: 2D-EXSY Spektrum von **69** in D_2O/CD_3OD 1:1 (v/v) mit 0.5 eq Na_2SO_4 ; $\tau_m = 0.15$ s.

In Abbildung 89a sind die berechneten Geschwindigkeitskonstanten $k_{1, obs}$ und $k_{-1, obs}$ aus den verschiedenen EXSY Messungen in Abhängigkeit von der Mischzeit dargestellt. Bei 30, 45 und 60 ms sind die Mittelwerte zweier Messungen mitsamt Standardabweichung aufgeführt. Man erkennt, dass die berechneten Geschwindigkeitskonstanten stark von der verwendeten Mischzeit abhängen und zu kleinen τ_m hin ansteigen. Die Messung wie in der Literatur öfters angegeben bei nur einer Mischzeit (meist zwischen 300 und 500 ms)^[186-188] durchzuführen, kann also zu großen Fehlern führen. Betrachtet man die Integrale der Kreuzpeaks AB und BA, die entsprechend Gleichung 7 mittels Division durch die Diagonalpeaks ohne Austausch (A_0 bzw. B_0) normalisiert wurden (Abbildung 89b), liegt das Maximum bei 60 ms. Wie in der Theorie vorhergesagt, führt bei längerer Mischzeit die Relaxation zur Intensitätsabnahme, ist sie zu kurz ist der magnetische Transfer nicht intensiv genug.

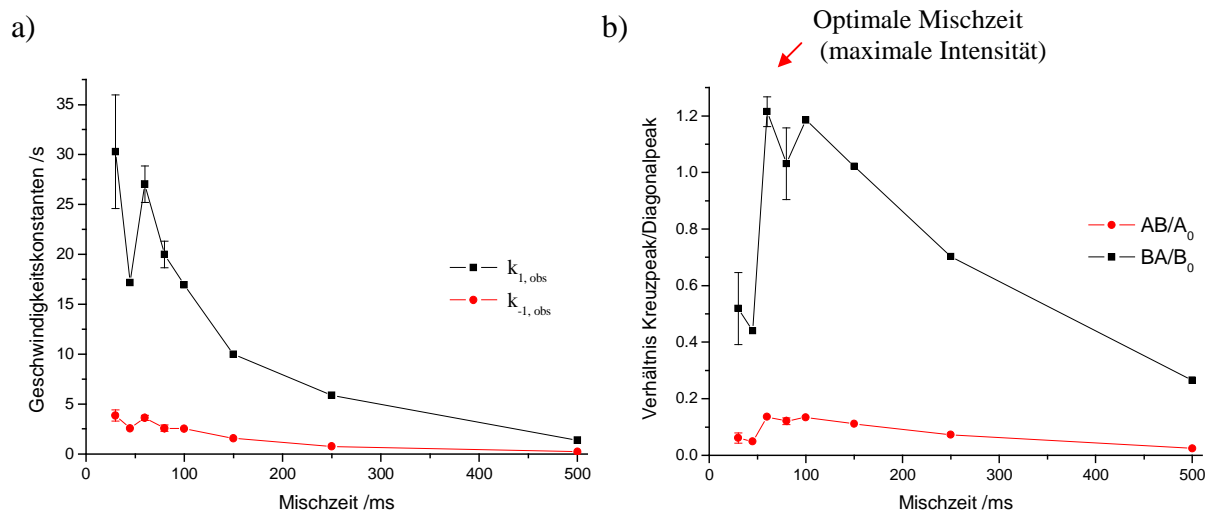


Abbildung 89: EXSY-Messungen von 69 mit Sulfat. Graphische Darstellung der Geschwindigkeitskonstanten $k_{1,obs}$ und $k_{-1,obs}$ in Abhängigkeit von der Mischzeit (a); Quotient der Intensitäten des Kreuzpeaks und Diagonalpeaks (b). Messungen bei 30, 60 und 80 ms wurden zweimal durchgeführt und mit Standardabweichung angegeben.

Die bei der optimalen Mischzeit von 60 ms berechneten Geschwindigkeitskonstanten für die Bindung von Sulfat an **69** betragen bei Raumtemperatur $k_{1,obs}=25.4$ /s bzw. $k_{-1,obs}=3.8$ /s für die Dekomplexierung. Da die Dekomplexierung eine Reaktion erster Ordnung darstellt, ist k_{-1} ebenfalls 3.8 /s.

Die freie Aktivierungsenthalpie der Dekomplexierung ΔG_{-1}^\ddagger berechnet sich aus der Geschwindigkeitskonstante der Dekomplexierung nach Gleichung 11 zu 69.7 kJ/mol.

$$\Delta G_{-1}^\ddagger = -RT \ln \frac{hk_{-1}}{k_B T} \quad (11)$$

ΔG_{-1}^\ddagger : freie Aktivierungsenthalpie der Dekomplexierung
 R : Gaskonstante
 h : Plancksche Konstante
 k_B : Boltzmann-Konstante

Die Geschwindigkeitskonstante k_{-1} und die Aktivierungsenergie ΔG_{-1}^\ddagger der Dekomplexierung von **69**:SO₄ liegen in einer Größenordnung, die auch bei anderen käfigartigen Rezeptoren gefunden wurde. So beträgt die Dissoziationskonstante des Cavitand-Porphyrin-Komplexes von Naruta et al. mit Methan in CDCl₃ bei 25 °C $k_{-1} = 1.4$ /s und $\Delta G_{-1}^\ddagger = 72$ kJ/mol (Abbildung 90a).^[188] Die hexamere auf Resorcinaren basierende Kapsel von Rebek et al. komplexiert verschiedene Alkylammoniumsalze in ihrem Hohlraum. Die Dissoziationskonstante des Komplexes nimmt mit zunehmender Länge der Alkylketten des Gastes ab, und wurde in CDCl₃ bei 30 °C für N(C₃H₇)₄Br auf $k_{-1} = 2.5$ /s ($\Delta G_{-1}^\ddagger = 72$ kJ/mol) bestimmt.^[187]

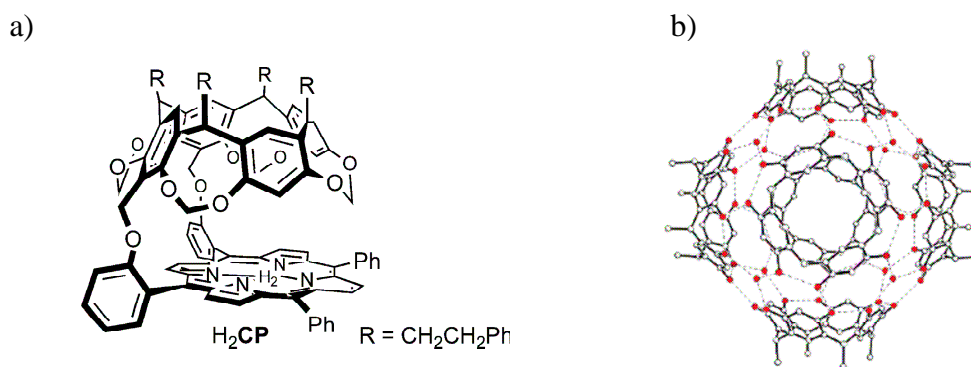


Abbildung 90: Beispiele molekularer Kapseln mit ähnlicher Dissoziationskinetik wie 69.

Die Freisetzung eines Sulfats aus dem Hohlraum von **69** erfordert also eine nicht unerhebliche Aktivierungsenergie. Ähnliche Verhältnisse werden häufig bei der Dekomplexierung von Gastmolekülen aus käfigartigen Rezeptoren beobachtet.^[22, 32, 189] Sie sind darauf zurückzuführen, dass das Portal des Rezeptors, welches der Gast bei der Einlagerung in den Hohlraum oder beim Verlassen passieren muss, relativ klein ist. Dies hat zur Folge, dass der Rezeptor während der Komplexbildung/Dekomplexierung eine energetisch ungünstige konformative Umorganisation erfährt, bzw. nichtkovalente intramolekulare Bindungen aufgebrochen werden müssen, um ein Portal zu erhalten, welches groß genug ist, um einen Gastaustausch zu ermöglichen. Besteht der Rezeptor wie im Falle der hexameren Kapsel von Rebek aus mehreren aggregierten Untereinheiten, die durch nichtkovalente intermolekulare Wechselwirkungen zusammengehalten werden, ist zur Gastkomplexbildung oft eine teilweise oder sogar vollständige Fragmentierung des Rezeptors in seine einzelnen Bausteine notwendig. Dies führt dazu, dass Komplexe, die thermodynamisch nicht einmal besonders stabil sind, eine erhebliche kinetische Stabilität besitzen können. Komplexe mit sehr hoher kinetischer Stabilität, die einen Gastaustausch nur bei erhöhten Temperaturen erlauben, nennt man Hemicarceplexe. Findet selbst bei hohen Temperaturen kein Austausch statt, spricht man von Carceplexen.

Aufgrund der innenliegenden NH-Gruppen, die in direkte Wechselwirkungen mit dem eingelagerten Anion treten können, besitzt der Sulfatkomplex von **69** aber auch eine erhebliche thermodynamische Stabilität. So wurde die freie Energie bei Komplexbildung von Sulfat in H₂O/MeOH 1:1 (v/v) mikrokalorimetrisch zu $\Delta G^\circ = -32.6$ kJ/mol bestimmt (siehe Tabelle 3).

Die Energiebarriere, die das Sulfation aufgrund sterischer Effekte bei Verlassen der Kapsel überwinden muss, nannte Cram *constrictive binding*.^[22] Nach Raymond entspricht die „constrictive“ Bindungsenergie der freien Energie, die zur Komplexierung aufgewendet werden muss, also der Differenz aus der freien Aktivierungsenergie bei Dissoziation ΔG_{-1}^{\ddagger} und der freien Energie bei Komplexierung ΔG° (Abbildung 91).^[166] Mithilfe des Wertes von ΔG° aus der kalorimetrischen Bestimmung berechnet sich $\Delta G_{\text{constrictive}}^{\ddagger}$ zu 37.1 kJ/mol. Die Stabilität des Komplexes $\mathbf{69} \cdot \text{SO}_4$ beruht also zu annähernd gleichen Teilen auf kinetischen und thermodynamischen Effekten.

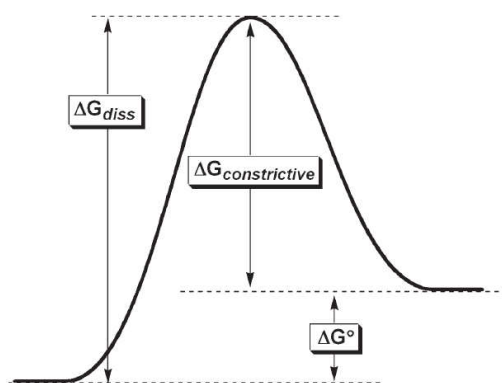


Abbildung 91: Energiediagramm der Dekomplexierung mit freier Bindungsenthalpie ΔG° , freier Dissoziationsenthalpie ΔG_{diss} und der constrictive Bindungsenthalpie $\Delta G_{\text{constrictive}}$ genannten Aktivierungsenthalpie der Dissoziation.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Ziel der im Rahmen meiner Promotion durchgeführten Arbeiten war es, neuartige molekulare Kapseln auf Basis der in der Arbeitsgruppe von S. Kubik untersuchten Cyclopeptide zu entwickeln und ihre Anionenaffinität zu untersuchen.

Die Kapseln bestehen aus zwei cyclischen Hexapeptiden, die alternierend aus 6-Aminopicolinsäure- und 2*S*,4*S*-Aminoprolinuntereinheiten aufgebaut und über drei Linker zu einem Bis(cyclopeptid) verbrückt sind. Um den Einfluss der Linkerzahl auf die Anionenaffinität abschätzen zu können, wurden auch die analogen Verbindungen mit nur einem Linker dargestellt. Beim Aufbau dieser Strukturen besteht der letzte Schritt der Synthese in der Verbrückung der beiden Cyclopeptidringe. Als Reaktionen zur Verbrückung wurde sowohl die Olefinmetathese verwendet, die reversibel verläuft, als auch die 1,3-dipolare Cycloaddition von Alkinen und Aziden (Click-Reaktion genannt), die unter konventionellen Reaktionsbedingungen irreversibel verläuft. Die auf diesem Weg unter thermodynamischer sowie kinetischer Kontrolle hergestellten Bis(cyclopeptide) sind in Abbildung 92 dargestellt.

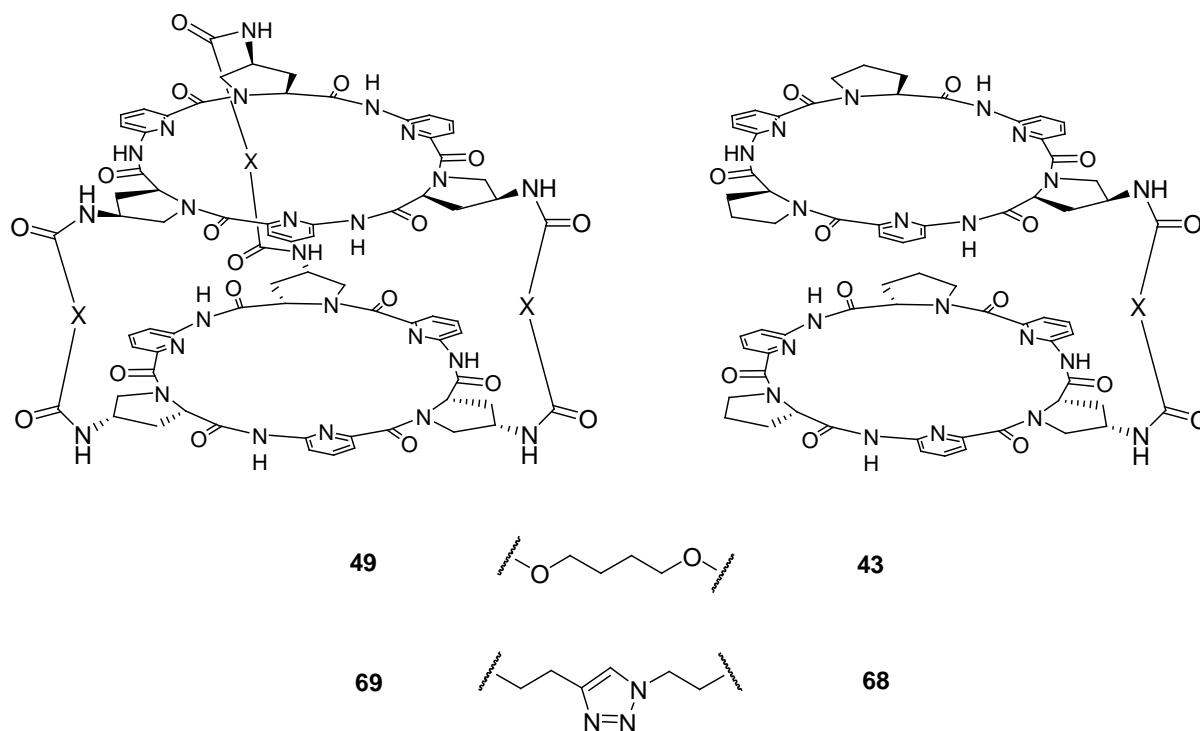


Abbildung 92: Im Rahmen meiner Promotion hergestellte dreifach (49, 69) und einfach (43, 68) verbrückte Bis(cyclopeptide).

Zum Aufbau der Bis(cyclopeptide) wurden zuerst die Z-geschützten Cyclopeptide **36** und **29** synthetisiert und diese nach Entschützung zu den jeweiligen Aminen mit den entsprechenden Seitenketten funktionalisiert (Abbildung 93).

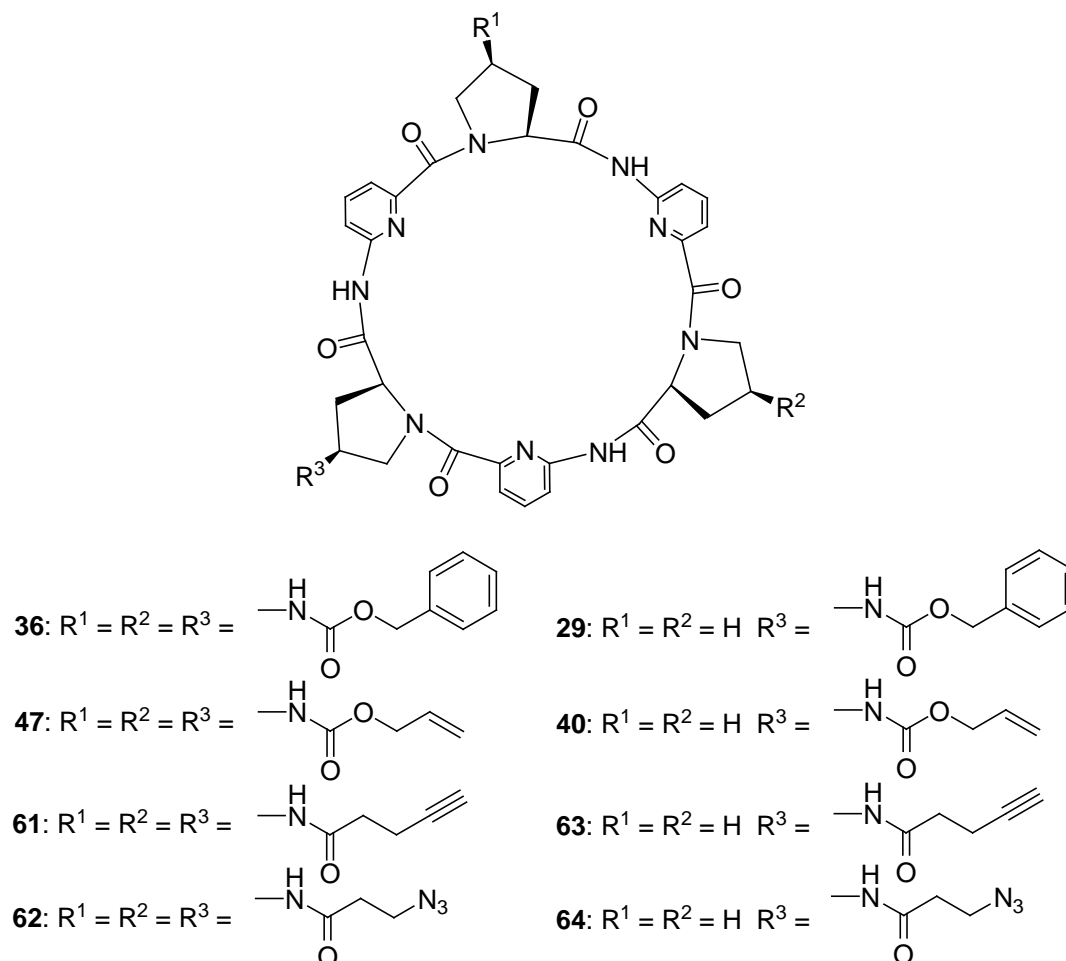


Abbildung 93: Einfach und dreifach substituierte Cyclopeptide als Vorstufen der Bis(cyclopeptide).

Die funktionalisierten Cyclopeptide wurden anschließend mittels Olefinmetathese und Click-Reaktion zu den verbrückten Bis(cyclopeptiden) umgesetzt. Verbindungen **43**, **68**, und **69** konnten analysenrein isoliert werden und standen für die Untersuchung ihrer Bindungseigenschaften zur Verfügung. Die Bildung der über Olefinmetathese verbrückten Kapsel **49** wurde unter den gewählten Reaktionsbedingungen ebenfalls beobachtet, auftretende Nebenprodukte verhinderten jedoch ihre vollständige Isolierung.

Alle untersuchten Bis(cyclopeptide) bilden mit Sulfat und den Halogeniden Chlorid, Iodid und Bromid 1:1 Komplexe in Wasser/Methanol 1:1 (v/v). Die Charakterisierung der Bindungseigenschaften mittels isothermer Titrationskalorimetrie zeigte, dass Sulfat in allen Fällen stärker gebunden wird als Iodid oder Bromid. Dies kann auf die höhere Ladung und besseren Akzeptoreigenschaften der Sauerstoffatome des Sulfations zurückgeführt werden. Vergleicht man die drei Rezeptoren, liegt die Stabilität des Sulfatkomplexes der dreifach verbrückten Kapsel **69** in Wasser/Methanol 1:1 (v/v) mit einem $\log K_a$ von 5.7 über den Stabilitäten der Sulfatkomplexe der einfach verbrückten Bis(cyclopeptide) **68** ($\log K_a$ 5.0) und **43** ($\log K_a$ 5.2). Die wesentlich bessere Vororganisation, die **69** durch die zwei zusätzlichen Linker besitzen sollte, ließ allerdings eine höhere Bindungskonstante erwarten. Die Ursache für die unerwartet geringe Sulfataffinität von **69** konnte in den thermodynamischen Parametern der Komplexierung gefunden werden. Im Gegensatz zu den einfach verbrückten Rezeptoren **43** und **68**, bei denen die Sulfatkomplexierung exotherm verläuft, erfolgt die Komplexierung von Sulfat bei **69** endotherm. Ein Verlust des enthalpischen Bindungsbeitrages bei Erhöhung der Linkerzahl kann, wenn auch in einem geringeren Maße, ebenso bei der Komplexierung von Iodid beobachtet werden. NMR-spektroskopische Untersuchungen zeigten, dass die Sulfatkomplexe der einfach und dreifach verbrückten Bis(cyclopeptide) in Lösung ähnliche Konformationen annehmen, und das Anion wie erwartet zwischen den beiden Cyclopeptideinheiten über Wasserstoffbrücken gebunden wird. In Abwesenheit von Anionen in Lösung scheint **69** aber eine für die Anionenbindung schlecht vororganisierte Konformation zu bevorzugen, wie sie im Kristall mittels Kristallstrukturanalyse gefunden wurde. Die Endothermie der Komplexierung von Sulfat mit **69** liegt dementsprechend darin begründet, dass **69** bei der Komplexbildung eine konformative Umorganisation erfahren muss, die energetisch aufwendig ist. Zudem scheint auch die Freisetzung von im Hohlraum gebundenem Wasser während der Komplexbildung zur Endothermie des Vorgangs beizutragen. Der negative enthalpische Beitrag wird allerdings von entropischen Faktoren, vermutlich vor allem aus der Freisetzung von Solvensmolekülen aus den Hydrathüllen, überkompensiert, wodurch die Sulfataffinität der Kapsel **69** die der einfach verbrückten Verbindungen letztendlich übersteigt.

Zusätzlich wurde die Lösungsmittelabhängigkeit der Sulfataffinität von **68** und **69** in Wasser/Methanol-Gemischen untersucht. Mit steigendem Wasseranteil nimmt die Bindungskonstante bei beiden Rezeptoren ab. Dies liegt vor allem an der Verringerung des entropischen Anteils zur Bindung.

Ein weiterer großer Unterschied zwischen den einfach und dreifach verbrückten Bis(cyclopeptiden) liegt in der unterschiedlichen Kinetik bei der Sulfatkomplexierung. Durch die Erhöhung der Anzahl der Linker reduzieren sich die Geschwindigkeiten von Komplexierung und Dekomplexierung deutlich. EXSY-NMR-Messungen lieferten quantitative Informationen über die Aktivierungsenergie der Dekomplexierung bei Rezeptor **69**, dem sogenannten *constrictive binding*.

In meinen Arbeiten gelang es mir dementsprechend erstmals molekulare Kapseln auf der Basis dreifach verbrückter Bis(cyclopeptide) darzustellen und thermodynamische und kinetische Parameter der Sulfatkomplexierung einer Kapsel exakt zu quantifizieren. Diese Untersuchungen lieferten neue Erkenntnisse, wie sich strukturelle Veränderungen auf das Rezeptorverhalten derartiger Systeme auswirken. Zusätzlich deuten die erhaltenen Informationen darauf hin, dass die synthetisierte molekulare Kapsel möglicherweise einen geeigneten Rezeptor für größere Anionen wie Di- oder Triphosphat darstellen könnte, da sie in Lösung Konformationen bevorzugt, in denen die beiden Cyclopeptidringe in einem gewissen Abstand zueinander angeordnet sind. Entsprechende Untersuchungen werden derzeit im Arbeitskreis Kubik durchgeführt.

6 Experimenteller Teil

6.1 Apparatives

$^1\text{H-NMR}$	<p>Bruker Avance 600 (600 MHz)</p> <p>Bruker DPX 400 (400 MHz)</p> <p>Bruker DPX 200 (200 MHz)</p>
$^{13}\text{C-NMR}$	<p>Bruker Avance 600 (151 MHz)</p> <p>Bruker DPX 400 (101 MHz)</p>
Massenspektrometrie	<p>MALDI-TOF MS: Bruker Ultraflex TOF/TOF</p> <p>ESI Quadrupol MS: Bruker Daltonics Esquire 3000</p>
C,H,N-Analyse	<p>Analytik-Abteilung des Fachbereichs Organische Chemie Technische Universität Kaiserslautern (Perkin-Elmer 2400 CHN Elemental Analyzer)</p>
Schmelzpunktbestimmung	Müller SPM-X 300
IR	Perkin Elmer FT-IR Spectrometer, Spectrum 1000
Mikrokalorimetrie	MicroCal VP-ITC
HPLC	<p>Dionex: P680 HPLC Pumpe, ASI-100 Autosampler, TCC-100 Säulenofen, UVD 170U UV/Vis Detektor, Chromeleon V6.70 Software</p>
HPLC-Säulen	<p>Acclaim[®] 120 C18, 4.6x150 mm, 5μm, 120 Å</p> <p>Zorbax Eclipse XDB-C8, 4,6 x 150 mm, 5μm</p> <p>LiChroCART[®] 250-10, Purospher[®]STAR RP-18 endcapped (5 μm)</p> <p>Chromolith[®] SemiPrep 100-10 mm RP-18 endcapped</p>

Säulenchromatographie	Kieselgel 63-200 (60 Å) von MP SiliTech
	Kieselgel 60 (230-400 Mesh ASTM) von Merck
	Lobar [®] Fertigsäule von Merck, Größe B (310-25)
	Lichroprep [®] RP-8 (40-63 µm)
	Lobar [®] Fertigsäule von Merck, Größe A (240-10)
	Lichroprep [®] RP-18 (40-63 µm)
Dünnschichtchromatographie	Kieselgel 60 F ₂₅₄ auf Aluminiumträger (Merck)
	RP-8 F ₂₅₄ auf Glasträger (Merck)
	RP-18 F ₂₅₄ auf Glasträger (Merck)

6.2 Messungen

6.2.1 Isotherme Titrationskalorimetrie

Die kalorimetrischen Untersuchungen der Bis(cyclopeptide) wurden in Lösungsmittelgemischen Wasser/Methanol mit einem Wasseranteil von 35 bis 65 % bei 298 K durchgeführt. Dazu wurde der Rezeptor in Methanol (HPLC-Grade) und der Gast in Wasser (HPLC-Grade) gelöst und diese Stammlösungen anschließend jeweils langsam mit Wasser oder Methanol auf die gewünschten Lösungsmittelverhältnisse aufgefüllt. Die Konzentrationen der Rezeptorlösungen von **43** und **69** betragen 0.25 mM. Die Konzentration von **68** betrug in 1:1-Mischungen der Lösungsmittel 0.5 mM, ansonsten 0.25 mM. Als Konzentration der Salzlösung wurde die 10-fache Konzentration der Rezeptorlösung gewählt, im Falle von Iodid und Bromid auch die 20-fache Konzentration. Von den beobachteten Wärmetönungen bei den Messungen mit Rezeptor wurden die Verdünnungswärmen, die bei der Titration der Gastlösung in das reine Lösungsmittel auftraten, abgezogen. Zur Auswertung wurden die aus den Integralen der Peakflächen erhaltenen Enthalpiewerte gegen den Molenbruch aufgetragen. Durch Regression der erhaltenen Kurve mit einer geeigneten Fit-Funktion wurden die thermodynamischen Daten ermittelt. Als Auswertsoftware diente eine von der Firma MicroCal angepasste Version von Origin 7.0. Sofern nicht anders

angegeben, wurde mindestens eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Die Ergebnisse sind als Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen angegeben.

6.2.2 MALDI-MS

Für die MALDI-TOF-Massenspektrometrie wurde 2,5-Dihydroxybenzoesäure und in einigen Fällen auch 4-Cyanozimtsäure als Matrix verwendet. Die Spektren wurden bei einer Spannung von 25 kV im positiven Modus bzw. bei 20 kV im negativen Modus aufgenommen.

6.3 Chemikalien

ABCR	N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)
Acros	4-Pentensäure Acetanhydrid Chloressigsäure Cyclohexylamin Natriumazid 99% Kaliumpermanganat p.a. Phosphoroxchlorid Phosphorpentoxid <i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid Tetrakis[triphenylphosphin]palladium(0)
Aldrich	3-Butin-1-ol 4-Dimethylaminopyridin 4-Pentensäure Anilin Dichlor[1,3-bis(2-methylphenyl)-2-imidazolidinyliden](2-isopropoxyphenylmethylen)ruthenium Diisopropylethylamin Grubbs Katalysator I. Generation Grubbs Katalysator II. Generation Hoveyda-Grubbs Katalysator II. Generation Kaliumhexafluorophosphat, 98 % 20 % Pd(OH) ₂ /C Propargylbromid 80% ige Lösung in Toluol Tetrabutylammoniumiodid 98 %
BASF	1,4-Dioxan Methanol
Berkel	Ethanol p.a.

Brenntag	Aceton Essigsäureethylester z.S. Toluol z.S.
Degussa-Hüls	Diethylether z.S.
Deutero	Dimethylsulfoxid- <i>d</i> ₆
Euriso-top	Chloroform- <i>d</i> ₁ Dimethylsulfoxid- <i>d</i> ₆ Deuteriumoxid Methanol- <i>d</i> ₄
Fluka	2-Amino-6-methylpyridin 2,6-Lutidin 4 <i>R</i> -Hydroxy-L-prolin-methylesterhydrochlorid Acrylsäure Allylchloroformiat Benzylchloroformiat Chloroform Celite [®] Filter Cel Di- <i>tert</i> -butyl-dicarbonat Kaliumhydrogensulfat Palladium auf Aktivkohle 10 % Pentafluorphenol Pyrrolidin p.a. TBTU
T.J. Baker	Natriumhydroxid Plätzchen <i>n</i> -Pentan Salzsäure 37 % p.a. Tetrahydrofuran z.S.

Merck	3-Brom-1-propen z.S. BaCl ₂ Cäsiumcarbonat CuI DMSO Iod Kupfer(II)sulfat Magnesiumspäne <i>N,N</i> -Dimethylformamid z.S. <i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin Natriumascorbat Natriumdichromat Dihydrat Natriumcarbonat, wasserfrei Natriumchlorid p.a. Natriumhydrogencarbonat, reinst Natriumperodat Natriumsulfat wasserfrei p.a. Natronlauge Salpetersäure Salzsäure Titrisol 1N Schwefelsäure Tetramethylsilan Triethylamin
MP SiliTech	Kieselgel 63 – 200 (60 Å)
Nova-Biochem	4 <i>R</i> -Hydroxy-L-prolin-methylesterhydrochlorid Boc-Pro-OH EDC TBTU
Riedel-de-Haën	Kupferbromid Morpholin Pyridin

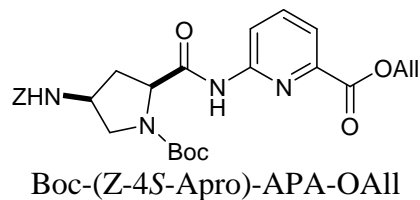
Roth	<i>n</i> -Pentan
VWR	Acetonitril, HPLC-Grade Dichlormethan Ethylacetat Methanol, HPLC-Grade <i>n</i> -Hexan Wasser, HPLC-Grade

6.4 Nomenklatur und Arbeitsweisen

6.4.1 Nomenklatur

Die Peptide werden nach folgender Systematik benannt:

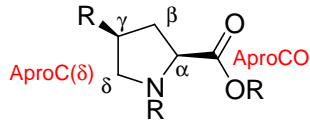
- Die Aminosäuren werden wie folgt abgekürzt: Pro = L-Prolin, Apro = 2*S*,4-Aminoprolin (die Konfiguration des Substituenten in 4-Position ist in der jeweiligen Verbindung gekennzeichnet), APA = 6-Aminopicolinsäure
- Peptidsequenzen werden vom N- zum C-terminalen Ende benannt, wobei H- und -OH für die ungeschützten und R- sowie -R die geschützten terminalen Aminosäuren beschreiben
- In 4-Position substituiertes Aminoprolin wurde mit dem vorangestellten Substituenten in runden Klammern zusammengefasst



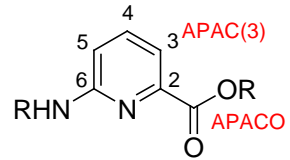
Die NMR-spektroskopische Zuordnung der Protonen und Kohlenstoffatome wird anhand der folgenden Beispiele dargestellt

Aminosäuren

Prolinderivate

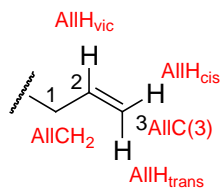


Aminopicolinsäure (APA)

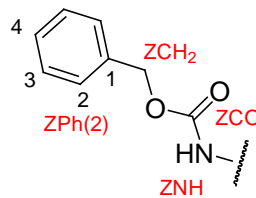


Schutzgruppen

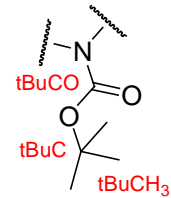
Allylgruppe (All)



Z-Gruppe

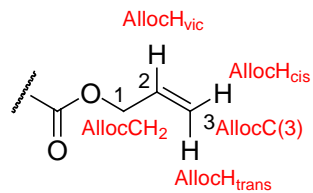


Boc-Gruppe

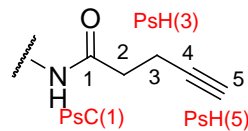


Seitenketten

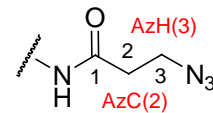
Allyloxocarbonylgruppe (Alloc)



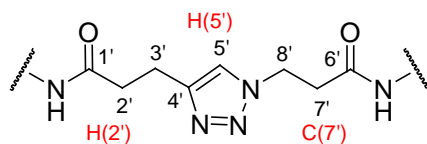
4-Pentinsäuregruppe (Ps)



Azidoessigsäuregruppe (Az)



Triazolinkler



6.4.2 Allgemeine Arbeitsweisen

Trockene Lösungsmittel wurden nach Standardmethoden hergestellt. Die zur Entschützung notwendige Lösung von 6N HCl in 1,4-Dioxan wurde durch Einleiten von Chlorwasserstoff in trockenes 1,4-Dioxan unter Eiskühlung hergestellt. Es wurde so lange Gas eingeleitet, bis die Lösung eine Konzentration von mindestens 6N hatte. Dies wurde durch eine Titration überprüft.

Das verwendete Kupplungsreagenz PyCloP wurde analog zu den Vorschriften von T. Yvernault, G. Yvernault und J.C. Bollinger bzw. Coste, Frérot und Jovin über zwei Stufen dargestellt.^[190, 191]

Das Kupplungsreagenz TBTU wurde käuflich erworben. In einigen Fällen wurde auch HBTU eingesetzt, was auf die Durchführung der Reaktion allerdings keinen Einfluss hatte.

Abspalten der Benzyl-Schutzgruppe

Eine Lösung des benzylgeschützten Peptids in 9:1 (v/v) 1,4-Dioxan/Wasser (20 ml pro 1 mmol Edukt) wurde mit 100 mg 10 % Pd/C versetzt und unter einer Wasserstoffatmosphäre etwa 18 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC Kontrolle) wurde der Katalysator über Celite abfiltriert, mit 1,4-Dioxan gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und das Lösungsmittel wieder im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Produkt wurde abschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Abspalten der Boc-Schutzgruppe

Zu einer Lösung von 1 mmol des Boc-geschützten Peptids in 15 ml 1,4-Dioxan wurde über einen Zeitraum von 1 Stunde unter Eiskühlung tropfenweise 30 ml 6 N HCl in 1,4-Dioxan hinzugefügt. Anschließend wurde noch zwei Stunden - bei Hexapeptiden vier Stunden - in der Kälte gerührt. Das Lösungsmittel wurde bei einer Wasserbadtemperatur ≤ 40 °C im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde im Exsikkator über P₄O₁₀ getrocknet.

Abspalten der Allyl-Schutzgruppe

Ein Schlenkkolben mit 1 mmol des zu entschützenden Peptids wurde dreimal sekuriert. Dabei wurde der Kolben nicht ausgeheizt, da die Boc-Gruppe thermolabil ist. Im Stickstoffgegenstrom wurden nacheinander 20 ml entgastes THF p.a., eine Spatelspitze Tetrakis[triphenylphosphin]palladium(0) und 3 Äquivalente Morpholin hinzugefügt. Wenn die Reaktion nach 5 Min nicht abgeschlossen war (DC-Kontrolle), wurde weiterer Katalysator zugegeben. Das Lösungsmittel wurde anschließend im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Ethylacetat - im Falle der Hexapeptide mit Dichlormethan - aufgenommen. Die organische Phase wurde anschließend dreimal mit 3 %iger Kaliumhydrogensulfatlösung und dreimal mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abschließend im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt.

6.5 Synthesen

6.5.1 Darstellung der Aminosäuren APA-OAlI 21 und Boc-(Z-4S-Apro)-OH 20

Darstellung von *N*-Acetyl-2-amino-6-methylpyridin^[145]

2-Amino-6-methylpyridin (27.00 g, 0.25 mol) wurde in Chloroform (125 ml) gelöst. Acetanhydrid (35.42 ml, 0.375 mol) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung 30 min zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung zweimal mit Natriumcarbonatlösung (10 %) und dreimal mit Wasser gewaschen und getrocknet. Die Lösung wurde am Rotationsverdampfer im Vakuum zur Trockne eingeeengt und der Rückstand aus Petrolether (60/80) / Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute 33.4 g (89 % d. Th.)

Darstellung von *N*-Acetyl-2-amino-6-picolinsäure^[145]

N-Acetyl-2-amino-6-methylpyridin (20 g, 0.13 mol) wurde in Wasser (200 ml) suspendiert und die Suspension auf 75 °C erhitzt, wobei das Edukt in Lösung ging. Nun wurde vorsichtig innerhalb von 40 min festes Kaliumpermanganat (50 g, 0.31 mol) portionsweise so zugegeben, dass die Temperatur der Reaktionsmischung 80 °C nicht überstieg. Danach wurde noch weitere 3 Stunden bei 75 °C gerührt und anschließend die noch heiße Reaktionslösung über Celite abfiltriert. Das Filtrat wurde in einem Eisbad abgekühlt und mit Salzsäure auf einen pH von 4 - 5 angesäuert, wobei das Produkt ausfiel. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit wenig Eiswasser gewaschen und ohne weiteres Trocknen direkt weiter umgesetzt.

Darstellung von 6-Aminopicolinsäure (APA)^[145]

N-Acetyl-2-amino-6-picolinsäure wurde in 10 %iger Natronlauge (200 ml) gelöst und sechs Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung unter Eiskühlung mit konz. Salzsäure auf einen pH von 4-5 angesäuert. Der Niederschlag wurde abfiltriert und einmal mit wenig Eiswasser, zweimal mit Aceton und einmal mit Diethylether gewaschen. Das Produkt wurde über Phosphorpentoxid getrocknet.

Ausbeute 9.50 g (53 % d. Th. über zwei Stufen)

Darstellung von 6-Aminopicolinsäurebenzylester (APA-OBn)^[50]

6-Aminopicolinsäure (6.90 g, 50 mmol) und Natriumhydrogencarbonat (5.88 g, 70 mmol) wurden in DMF (300 ml) suspendiert. Nach Zugabe von Benzylbromid (8.31 ml, 70 mmol) wurde sieben Tage bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde im Ölpumpenvakuum einkondensiert und der Rückstand mit Natriumcarbonatlösung (10 %, 200 ml) versetzt und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Nach Abtrennung der organischen Phase wurde die wässrige Phase noch zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Aus der wässrigen Phase konnte durch Ansäuern nicht umgesetzte 6-Aminopicolinsäure ausgefällt und zurückgewonnen werden. Die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit Wasser gewaschen und getrocknet. Die Lösung wurde am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt und der Rückstand mit Hexan angerieben. Das Rohprodukt wurde abfiltriert und aus Hexan / Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute 5.60 g (49 % d. Th.)

Darstellung von 6-Aminopicolinsäureallylester (APA-OAlI) 21^[142]

6-Aminopicolinsäure (6.90 g, 50 mmol) und Natriumhydrogencarbonat (8.40 g, 100 mmol) wurden in DMF (300 ml) suspendiert. Es wurde 3-Brom-1-propen (13.1 ml, 150 mmol) zugegeben und 7 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und anschließend jeweils dreimal mit Natriumcarbonatlösung (10 %) und mit Wasser gewaschen. Aus der wässrigen Phase konnte durch Ansäuern nicht umgesetzte 6-Aminopicolinsäure ausgefällt und zurückgewonnen werden. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde die organische Phase am Rotationsverdampfer eingengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit Pentan/Ethylacetat 1:1 (v/v) gereinigt. Nach Animpfen des öligen Rückstands kristallisierte das Produkt aus.

Ausbeute 5.52 g (62 % d. Th.)

Darstellung von Boc-(4*R*-Hydroxy-L-prolin)-methylester 15^[192]

4*R*-Hydroxy-L-prolin-methylesterhydrochlorid (5.00 g, 27.6 mmol) wurde in 1,4-Dioxan/Wasser 2:1 (v/v) (75 ml) suspendiert und es wurden unter Eisbadkühlung Di-*tert*-butyl-dicarbonat (6.63 g, 30.4 mmol, 1.1eq) und Triethylamin (5.77 ml, 41.4 mmol, 1.5eq) zugegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt und danach das 1,4-Dioxan im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit Ethylacetat (150 ml) versetzt. Die organische Phase wurde mit Wasser (25 ml) gewaschen. Die wässrige Phase wurde anschließend zweimal mit Ethylacetat (je 25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 0.5 N Salzsäure, Wasser, Natriumcarbonatlösung (10 %), Wasser und gesättigter Kochsalzlösung (je 12 ml) gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute 6.63 g (98 % d. Th.)

Darstellung von Boc-(4*R*-Tosyloxy-L-prolin)-methylester 16^[143]

Boc-(4*R*-Hydroxy-L-prolin)-methylester 15 (6.53 g, 26.6 mmol) wurde in einer Mischung aus Pyridin (25 ml, 12 eq) und trockenem Dichlormethan (25 ml) gelöst. Es wurde *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (20.3 g, 106 mmol, 4 eq) zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum einkondensiert und der Rückstand mit Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde dreimal mit Natriumcarbonatlösung (10 %) und dreimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Pentan 1:2 (v/v) als Eluens gereinigt. Das Produkt kristallisierte unter leichtem Erwärmen im Ölpumpenvakuum zum farblosen Feststoff.

Ausbeute 9.96 g (94 % d. Th.)

Darstellung von Boc-(4S-Azido-L-prolin)-methylester 17^[143]

Boc-(4R-Tosyloxy-L-prolin)-methylester **16** (6.13 g, 15.3 mmol) wurden in DMF (40 ml) gelöst. Es wurde Natriumazid (2.00 g, 30.8 mmol, 2 eq) zugegeben und drei Stunden bei 80 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Wasser, Natriumcarbonatlösung (10 %) und anschließend mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurde als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute 4.09 g (98 % d. Th.)

Darstellung von Boc-(4S-Amino-L-prolin)-methylester (Boc-(4S-Apro)-OMe) 18^[143]

Boc-(4S-Azido-L-prolin)-methylester **17** (2.15 g, 8 mmol) wurde in Methanol (50 ml) gelöst. Es wurden 1N Salzsäure (8.7 ml, 1.1 eq) und 10 % Pd/C (500 mg) zugegeben und die Reaktionsmischung 18 Stunden bei Normaldruck unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Anschließend wurde der Katalysator über Celite abfiltriert, der Filterkuchen mit ausreichend Methanol nachgewaschen, und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und zweimal mit Ethylacetat gewaschen. Die organische Phase wurde einmal mit Wasser reextrahiert und danach verworfen. Daraufhin wurden die vereinigten wässrigen Phasen mit Natriumcarbonatlösung (10 %) auf einen pH-Wert von 9 eingestellt und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt und getrocknet. Das Lösungsmittel wurde anschließend im Vakuum entfernt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurde als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute 1.50 g (77 % d. Th.)

Darstellung von Boc-(Z-4S-Amino-L-prolin)-methylester (Boc-(Z-4S-Apro)-OMe) 19^[143]

Boc-(4S-Amino-L-prolin)-methylester **18** (1.50 g, 6 mmol) wurde in trockenem Dichlormethan (120 ml) gelöst. Unter Eiskühlung wurden DIEA (1.6 ml, 9 mmol, 1.5 eq) und Benzylchloroformiat (1.73 ml, 12 mmol, 2 eq) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit Kaliumhydrogensulfatlösung (5 %) gewaschen, und das Lösungsmittel anschließend im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Pentan 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt und das Produkt als hellgelbes Öl erhalten.

Ausbeute 2.23 g (96 % d. Th.)

Darstellung von Boc-(Z-4S-Amino-L-prolin) (Boc-(Z-4S-Apro)-OH) 20^[143]

Boc-(Z-4S-Amino-L-prolin)-methylester **19** (2.71g, 7.16 mmol) wurde in 1,4-Dioxan (30 ml) gelöst. Im Eisbad wurde 1 N Natronlauge (30 ml) zugegeben und die Reaktionslösung 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das 1,4-Dioxan wurde im Vakuum entfernt, die wässrige Lösung unter Eiskühlung mit konzentrierter Salzsäure auf pH 2 angesäuert und viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurde als weißer Feststoff erhalten und ohne weitere Aufreinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

Ausbeute 2.64 g (100 % d. Th.)

6.5.2 Darstellung des Monoamins *cyclo*[(4*S*-Apro)-APA-(Pro-APA)₂] **13**

Darstellung von Boc-Pro-APA-OBn **24**^[50]

6-Aminopicolinsäurebenzylester (1.71 g, 7.5 mmol), Boc-L-Prolin (2.42 g, 11.3 mmol) und PyCloP (4.74 g, 11.3 mmol) wurden in trockenem Dichlormethan (85 ml) gelöst. Bei Raumtemperatur wurde DIEA (3.9 ml, 22.6 mmol) zugetropft und die Reaktionsmischung anschließend sieben Tage bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt mittels Säulenchromatographie mit Ethylacetat/Pentan 1:1 (v/v) als Eluens isoliert. Es wurde als weißer Feststoff erhalten.

Ausbeute 3.07 g (96 % d. Th.)

Darstellung des Tetrapeptids Boc-(Pro-APA)₂-OBn^[50]

Boc-Pro-APA-OBn **24** (1.55 mg, 3.64 mmol) wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Abspaltung von Boc-Schutzgruppen entschützt. Eine äquivalente Menge Boc-Pro-APA-OBn **24** (1.55 mg, 3.64 mmol) wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Abspaltung von Benzyl-Schutzgruppen entschützt. Die beiden entschützten Dipeptide H-Pro-APA-OBn · 2 HCl und Boc-Pro-APA-OH wurden mit PyCloP (1.93 mg, 4.5 mmol, 1.2 eq) in trockenem Dichlormethan (70 ml) gelöst. DIEA (2.63 ml, 15.1 mmol) wurde zugetropft und die Reaktionsmischung 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt chromatographisch mit Ethylacetat als Eluens isoliert. Es wurde nach als weißer Feststoff erhalten.

Ausbeute 2.07 g (94 % d. Th.)

Darstellung von Boc-(Z-4*S*-Apro)-APA-OAll **22**

Boc-(Z-4*S*-Amino-L-prolin) **20** (2.61 g, 7.16 mmol), 6-Aminopicolinsäureallylester **21** (1.41 g, 7.88 mmol, 1.1 eq) und PyCloP (3.4 g, 8.1 mmol, 1.1 eq) wurden in trockenem Dichlormethan (140 ml) gelöst. Es wurde DIEA (2.5 ml, 15 mmol, 2 eq) zugegeben und eine

Woche bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt chromatographisch mit Ethylacetat/Pentan 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute 3.04 g (81 % d. Th.)

Schmelzpunkt 68-75 °C

¹H-NMR [600 MHz, DMSO-d₆, 100 °C] δ 1.37 (s, 9H, tBuCH₃), 1.92-1.98 (m, 1H, AproH(β)), 2.53-2.59 (m, 1H, AproH(β)), 3.28 (dd, 1H, ²J = 10.6 Hz, ³J = 6.5 Hz, AproH(γ)), 3.74 (dd, 1H, ²J = 10.6 Hz, ³J = 6.8 Hz, AproH(δ)), 4.10-4.13 (m, 1H, AproH(δ)), 4.52 (dd, 1H, ³J = 8.3 Hz, ³J = 6.5 Hz AproH(α)), 4.85 (d, 2H, ²J = 5.6 Hz, AllCH₂), 5.03-5.08 (m, 2H, ZCH₂), 5.31 (dd, 1H, ²J = 1.4 Hz, ³J = 10.5 Hz, AllH_{cis}), 5.43 (dd, 1H, ²J = 1.4 Hz, ³J = 17.2 Hz, AllH_{trans}), 6.02-6.09 (m, 1H, AllH_{vic}), 6.95 (s, 1H, AproNH), 7.27-7.37 (m, 5H, ZPhH), 7.78 (d, 1H, ³J = 7.4 Hz, APAH(3)), 7.97 (t, 1H, ³J = 7.9 Hz, APAH(4)), 8.27 (d, 1H, ³J = 8.3 Hz, APAH(5)), 10.36 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR [151 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 27.9 + 28.1 (tBuCH₃), 35.1 + 35.9 (AproC(β)), 48.8 + 49.4 (AproC(γ)), 50.9 + 51.6 (AproC(δ)), 58.4 + 58.7 (AproC(α)), 65.5 + 65.7 (ZCH₂ + AllC(1)), 79.0 + 79.1 (tBuC), 117.4 + 117.6 (AllC(3)), 118.6 (APAC(3)), 120.7 (APAC(5)), 127.9 + 128.4 (ZPhC(2-4)), (132.4 (AllC(2)), 136.9 (ZPhC(1)), 139.7 + 139.9 (APAC(4)), 145.8 + 145.9 (APAC(2)), 151.9 (APAC(6)), 152.8 + 153.3 (tBuCO), 155.6 (ZCO)), 164.0 (APACO), 171.9 + 172.5 (AproCO)

Massenspektrum MALDI-TOF *m/z* (rel. Int.): [M+H]⁺ 525.2 (100 %), [M+Na]⁺ 547.2 (69 %), [M+K]⁺ 563.2 (15 %)

C, H, N
 ber C: 61.82 % H: 6.15 % N: 10.68 %
 gef C: 61.64 % H: 6.34 % N: 10.55 %
 F_w(C₂₇H₃₂N₄O₇): 524.57

Darstellung des Hexapeptids Boc-[Pro-APA]₂-(Z-4S-Apro)-APA-OAll 26^[53]

Boc-(Z-4S-Apro)-APA-OAll **22** (2.10 mg, 4.00 mmol) wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Abspaltung von Boc-Schutzgruppen entschützt. Eine äquivalente Menge Boc-[Pro-APA]₂-OBn (2.57 mg, 4.00 mmol) wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Abspaltung von Benzyl-Schutzgruppen entschützt. Das entschützte Tetrapeptid Boc-[Pro-APA]₂-OH **25** und das Dipeptid H-(Z-4S-Apro)-APA-OAll · 2 HCl **23** wurden mit TBTU (1.41 mg, 4.4 mmol, 1.1 eq) in DMF (120 ml) gelöst. DIEA (2.80 ml, 16.4 mmol, 4.1 eq) wurde zugetropft und die Reaktionsmischung 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde auf Wasser gegossen (600 ml) und die entstehende Suspension mit Salzsäure auf pH 4 angesäuert. Es wurde noch 10 min gerührt, der Niederschlag anschließend abfiltriert, gründlich mit Wasser gewaschen und im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet. Das Hexapeptid wurde ohne weitere Aufreinigung in der folgenden Cyclisierung eingesetzt.

Ausbeute 3.61 g (94 % d. Th.)

Massenspektrum MALDI-TOF *m/z* (rel. Int.): [M+H]⁺ 959.4 (24 %), [M+Na]⁺ 981.4 (100 %), [M+K]⁺ 997.8 (33 %)

Darstellung des Cyclopeptids *cyclo*[(Z-4S-Apro)-APA-(Pro-APA)₂] 29^[53]

Das Hexapeptid Boc-(Pro-APA)₂-(Z-4S-Apro)-APA-OAll **26** (1.40 mg, 1.46 mmol) wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Entschützung von Allylestern umgesetzt. Das gesamte allyl-entschützte Hexapeptid Boc-(Pro-APA)₂-(Z-4S-Apro)-APA-OH **27** wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Entschützung von Boc-Gruppen umgesetzt. Dabei wurde es 4 Stunden statt 2 Stunden gerührt. TBTU (2.36 g, 7.35 mmol, 5 eq) wurde in einen 500 ml Dreihalskolben eingewogen und dieser dreimal sekuriert. Im Stickstoffgegenstrom wurde nun entgastes DMF p.a. (300 ml) zugegeben. Nach Zugabe von DIEA (800 µl, 4.69 mmol) wurde die Reaktionslösung in einem vorgeheizten Ölbad auf 80 °C erwärmt. Nun wurde eine Lösung des voll entschützten Hexapeptids **28** und DIEA (2.00 ml, 11.6 mmol) in entgastem DMF p.a. (58 ml) mittels einer Spritzenpumpe über einen Zeitraum von sechs Stunden hinzugegeben. Anschließend wurde der pH-Wert der Reaktionsmischung durch Zugabe von DIEA (0.50 ml, 2.90 mmol) auf ca. 9 eingestellt und eine weitere Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Das

Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum entfernt und das Produkt chromatographisch aus dem Rückstand isoliert. Zunächst erfolgte eine Vorreinigung über eine Kieselgelsäule mit Aceton als Eluens. Anschließend wurde das so erhaltene Rohprodukt in wenig DMF gelöst und auf eine RP-8 Säule aufgetragen. Die Säule war mit Wasser/1,4-Dioxan 10:1 (v/v) vorkonditioniert. Das Elutionsmittel wurde langsam von 10:1 über 5:1, 2:1 auf Wasser/1,4-Dioxan 1:1 umgestellt, bei welcher Lösungsmittelzusammensetzung das Produkt eluierte. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Produkt in Aceton aufgenommen und durch Eingießen dieser Lösung in Diethylether wieder ausgefällt, abgesaugt und getrocknet.

Ausbeute 616 mg (53 % d. Th.)

Schmelzpunkt 185–190 °C

¹H-NMR [600 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 1.76-1.88 (m, 4H, ProH(γ)), 1.88-1.96 (m, 1H, ProH(β)), 2.00-2.06 (m, 2H, ProH(β) + AproH(β)), 2.52-2.60 (m, 2H, ProH(β)), 2.83-2.92 (AproH(β)) 3.39-3.41 (m, 1H, AproH(δ)), 3.53-3.62 (m, 2H, ProH(δ)), 3.65-3.72 (m, 2H, ProH(δ)), 3.86-3.93 (m, 1H, AproH(γ)), 4.98-5.03 (m, 2H, ZCH₂), 5.47-5.54 (s, 2H, ProH(α)), 5.60-5.62 (s, 1H, ProH(α)), 7.16 (d, 1H, ³J = 8.1 Hz, APAH(3)), 7.21 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, APAH(3)), 7.27-7.35 (m, 5H, ZPhH), 7.39-7.46 (m, 3H, APAH(5)), 7.52-7.57 (m, 1H, AproNH), 7.69-7.77 (m, 3H, APAH(4)), 9.54 + 9.57 + 9.66 (3 x s, 3x 1H, NH)

¹³C-NMR [151 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 22.8 + 22.9 (ProC(γ)), 32.9 + 33.0 (ProC(β)), 37.6 (AproC(β)), 48.3 (AproC(γ)), 48.5 + 48.6 (ProC(δ)), 52.5 (AproC(δ)), 61.0 (AproC(α)), 61.9 (ProC(α)), 65.9 (ZCH₂), 115.9 + 116.3 + 116.6 (APAC(3)), 120.1 + 120.2 (APAC(5)), 128.2 + 128.3 + 128.8 (ZPhC(2-4)), 137.4 (ZPhC(1)), 139.4 + 139.5 (APAC(4)), 148.9 + 149.0 (APAC(2)), 152.0 + 152.3 + 152.5 (APAC(6)), 156.2 (ZCO), 166.3 + 166.5 (APACO), 170.9 (AproCO), 171.4 + 171.5 (ProCO)

Massenspektrum MALDI-TOF m/z (rel. Int.): $[M+H]^+$ 801.4 (89 %), $[M+Na]^+$ 823.4 (100 %), $[M+K]^+$ 839.4 (67 %)

C, H, N
 ber C: 58.47 % H: 5.43 % N: 16.63 %
 gef C: 58.50 % H: 5.12 % N: 16.45 %
 $F_w(C_{41}H_{40}N_{10}O_8 \cdot 2.3 H_2O)$: 842.27

Darstellung von Cyclopeptid *cyclo*[(4*S*-Apro)-APA-(Pro-APA)₂] 13^[53]

cyclo[(*Z*-4*S*-Apro)-APA-(Pro-APA)₂] **29** (108.8 mg, 136 μ mol) wurde in einer Mischung aus Dichlormethan (20 ml) und Methanol (20 ml) gelöst. Nach der Zugabe von 10 % Pd/C (30 mg) und 1N Salzsäure (163 μ l, 163 μ mol, 1.2 eq) wurde die Reaktionsmischung 18 Stunden lang unter einer Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde der Palladiumkatalysator über Celite abfiltriert und der Filterkuchen sorgfältig mit Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum vollständig entfernt. Auf diese Weise wurde das Produkt sauber erhalten und konnte ohne weitere Aufreinigung weiter eingesetzt werden.

Ausbeute 90 mg (94 % d. Th.)

Massenspektrum MALDI-TOF m/z (rel. Int.): $[M+H]^+$ 667.3 (57 %), $[M+Na]^+$ 689.3 (100 %), $[M+K]^+$ 705.3 (22 %)

6.5.3 Darstellung des Triamins *cyclo*[(4*S*-Apro)-APA]₃ **14**

Darstellung des Tetrapeptids Boc-[(*Z*-4*S*-Apro)-APA]₂-OAll **31**

Boc-(*Z*-4*S*-Apro)-APA-OAll **22** (525 mg, 1.00 mmol) wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Abspaltung von Boc-Schutzgruppen entschützt. Eine äquivalente Menge Boc-(*Z*-4*S*-Apro)-APA-OAll **22** (525 mg, 1.00 mmol) wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Abspaltung von Allyl-Schutzgruppen entschützt. Die entschützten Dipeptide H-(*Z*-4*S*-Apro)-APA-OAll · 2 HCl **23** und Boc-(*Z*-4*S*-Apro)-APA-OH **30** wurden mit TBTU (354 mg, 1.1 mmol, 1.1 eq) in DMF (25 ml) gelöst. DIEA (800 µl, 4.8 mmol, 4.8 eq) wurde zugetropft und die Reaktionsmischung 15 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt chromatographisch mit Ethylacetat als Eluens isoliert.

Ausbeute 863.5 mg (97 % d. Th.)

Massenspektrum MALDI-TOF *m/z* (rel. Int.): [M+H]⁺ 891.5 (20 %), [M+Na]⁺ 913.5 (100 %), [M+K]⁺ 929.5 (6 %)

Darstellung des Hexapeptids Boc-[(*Z*-4*S*-Apro)-APA]₃-OAll **33**

Das Tetrapeptid Boc-[(*Z*-4*S*-Apro)-APA]₂-OAll **31** (864 mg, 969 µmol) wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Abspaltung von Boc-Schutzgruppen entschützt. Parallel dazu wurde das Dipeptid Boc-(*Z*-4*S*-Apro)-APA-OAll **22** (525 mg, 1.00 mmol) nach der allgemeinen Vorschrift zur Abspaltung von Allyl-Schutzgruppen entschützt. Das entschützte Tetrapeptid H-[(*Z*-4*S*-Apro)-APA]₂-OAll · 3 HCl **32** und das entschützte Dipeptid Boc-(*Z*-4*S*-Apro)-APA-OH **30** wurden mit TBTU (355 mg, 1.1 mmol, 1.1 eq) in DMF (25 ml) gelöst. DIEA (1.00 ml, 5.74 mmol) wurde zugetropft (pH 9) und die Reaktionsmischung 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde auf Wasser gegossen (300 ml) und die entstehende Suspension mit Salzsäure auf pH 4 angesäuert. Es wurde noch 10 min gerührt, der Niederschlag anschließend abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet. Das Hexapeptid wurde ohne weitere Aufreinigung in der Cyclisierung eingesetzt.

Ausbeute 1.18 g (91 % d. Th.)

Massenspektrum MALDI-TOF m/z (rel. Int.): $[M+H]^+$ 1257.7 (11 %), $[M+Na]^+$ 1279.5 (100 %), $[M+K]^+$ 1295.5 (51 %)

Darstellung des Cyclopeptids *cyclo*[(Z-4S-Apro)-APA]₃ **36**

Das Hexapeptid Boc-[(Z-4S-Apro)-APA]₃-OAll **33** (1.26 mg, 1 mmol) wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Entschützung von Allylestern umgesetzt. Das gesamte allyl-entschützte Hexapeptid Boc-[(Z-4S-Apro)-APA]₃-OH **34** wurde nach der allgemeinen Vorschrift zur Entschützung von Boc-Gruppen umgesetzt. Dabei wurde es 4 Stunden statt 2 Stunden gerührt. TBTU (1.6 g, 5.0 mmol, 5 eq) wurde in einen 500 ml Dreihalskolben eingewogen und dieser dreimal sekuriert. Im Stickstoffgegenstrom wurde nun entgastes DMF p.a. (200 ml) zugegeben. Nach Zugabe von DIEA (420 μ l, 2.40 mmol) wurde die Reaktionslösung in einem vorgeheizten Ölbad auf 80 °C erwärmt. Nun wurde eine Lösung des voll entschützten Hexapeptids **35** und DIEA (1.04 ml, 6.0 mmol) in entgastem DMF p.a. (40 ml) mittels einer Spritzenpumpe über einen Zeitraum von sechs Stunden hinzugegeben. Anschließend wurde der pH der Reaktionsmischung durch Zugabe von DIEA auf ca. 9 eingestellt und eine weitere Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum entfernt und das Produkt chromatographisch aus dem Rückstand isoliert. Zunächst erfolgte eine Vorreinigung über eine Kieselgelsäule mit Aceton als Eluens. Anschließend wurde das so erhaltene Rohprodukt in wenig DMF gelöst und auf eine RP-8 Säule aufgetragen. Die Säule wurde zuvor mit Wasser/1,4-Dioxan 10:1 (v/v) vorkonditioniert. Das Elutionsmittel wurde langsam von 10:1 über 5:1, 2:1 und 1:1 auf Wasser/1,4-Dioxan 1:2 umgestellt, bei welcher Lösungsmittelzusammensetzung das Produkt eluierte. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in Aceton (20 ml) aufgenommen und langsam unter Rühren auf Diethylether (200 ml) gegossen. Nach 15 min wurde der Niederschlag abgesaugt und getrocknet. Das Produkt wurde aus Ethanol/Wasser 1:1 (v/v) umkristallisiert.

Ausbeute 370 mg (34 % d. Th.)

Schmelzbereich 161–170 °C

$^1\text{H-NMR}$	[600 MHz, DMSO- d_6 , 100 °C] δ 2.06 (m_c , 3H, AproH(β)), 2.84 (3H, m , AproH(β)), 3.52 (m_c , 3H, AproH(δ)), 3.96 (m_c , 3H, AproH(δ)), 4.21 (m_c , 3H, AproH(γ)), 5.04 (s, 6H, ZCH $_2$), 5.54 (br s, 3H, AproH(α)), 6.88 (br s, 3H, AproNH), 7.27 – 7.34 (m, 18H, APAH(3), ZPhH), 7.48 (d, 3H, $^3J = 7.6$ Hz, APAH(5)), 7.73 (m_c , 3H, APAH(4)), 9.13 (br s, 3H, APANH)
$^{13}\text{C-NMR}$	[151 MHz, DMSO- d_6 , 22 °C] δ 37.2 (AproC(β)), 47.9 (AproC(γ)), 52.0 (AproC(δ)), 60.5 (AproC(α)), 65.5 (ZCH $_2$), 115.9 (APAC(3)), 119.7 (APAC(5)), 127.8 + 127.9 + 128.4 (ZPhC(2-4)), 136.9 (ZPhC(1)), 139.1 (APAC(4)), 148.5 (APAC(2)), 151.6 (APAC(6)), 155.8 (ZCO), 166.2 (APACO), 170.4 (AproCO)
Massenspektrum	MALDI-TOF m/z (rel. Int.): [M+H] $^+$ 1099.6 (28 %), [M+Na] $^+$ 1121.5 (100 %), [M+K] $^+$ 1137.5 (76 %)
C, H, N	ber C: 59.37 % H: 5.24 % N: 14.58 % gef C: 59.74 % H: 5.13 % N: 14.38 % $F_w(\text{C}_{57}\text{H}_{54}\text{N}_{12}\text{O}_{12} \cdot 3 \text{H}_2\text{O})$: 1153.18
IR	[KBr, cm^{-1}] 3314(m), 3033(w), 2953(w), 1708(s), 1637(s), 1575(s), 1522(s), 1464(s), 1399(s), 1302 (m), 1255(m), 1158(m), 1082(w), 1027(w), 991(w), 902(w), 822(w), 759(m), 698(m), 594(w)

Darstellung von Cyclopeptid *cyclo*[(4*S*-Apro)-APA] $_3$ **14**

Das Cyclopeptid *cyclo*[(*Z*-4*S*-Apro)-APA] $_3$ **36** (112 mg, 102 μmol) wurde in einer Mischung aus Dichlormethan (15 ml) und Methanol (15 ml) gelöst. Nach der Zugabe von 10 % Pd/C (40 mg) und 20 % Pd(OH) $_2$ /C (40 mg) sowie 1N Salzsäure (342 μl , 342 μmol , 3.3 eq) wurde die Reaktionsmischung unter einer Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck gerührt. Nach beendeter Reaktion (die vollständige Entschützung war nach 7 Tagen beendet) wurde der Palladiumkatalysator über Celite abfiltriert und der Filterkuchen sorgfältig mit Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum vollständig entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung weiter eingesetzt.

Ausbeute 80 mg (97 % d. Th.)

Massenspektrum MALDI-TOF m/z (rel. Int.): $[M+H]^+$ 697.3 (87 %), $[M+Na]^+$ 719.3 (100 %), $[M+K]^+$ 735.3 (79 %)

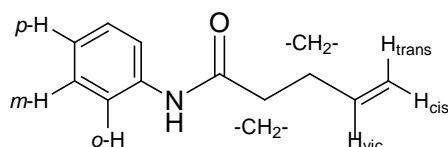
6.5.4 Metathesereaktionen und Darstellung der Vorstufen

Testreaktionen

Darstellung von 4-Pentensäurephenylamid 37

Anilin (0.46 ml, 5.0 mmol), 4-Pentensäure (0.51 ml, 5.0 mmol) und PyCloP (2.1 g, 5.0 mmol) wurden in trockenem Dichlormethan (40 ml) gelöst. Nach Zugabe von DIEA (1.74 ml, 10.0 mmol) wurde die Lösung 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Hexan 1:1 (v/v) als Eluens gereinigt. Mit Anilin verunreinigte Fraktionen wurden dreimal mit 0.01 N Salzsäure und dreimal mit Wasser gewaschen und getrocknet. Die organischen Phasen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute 0.76 g (87 % d. Th.)



$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , 22 °C] δ 2.46 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 5.05 (d, 1H, $^3\text{J} = 10.1$ Hz, H_{cis}), 5.11 (d, 1H, $^3\text{J} = 17.3$ Hz, H_{trans}), 5.87 (m_c, 1H, H_{vic}), 7.10 (t, 1H, $^3\text{J} = 7.5$ Hz, PhH_p), 7.30 (t, 2H, $^3\text{J} = 8.0$ Hz, PhH_m), 7.47 (br s, 1H, NH), 7.51 (d, 2H, $^3\text{J} = 7.8$ Hz, PhH_o)

Darstellung von Phenylcarbaminsäureallylester 39^[193]

Anilin (1.0 ml, 10.9 mmol) wurde in trockenem Dichlormethan (35 ml) gelöst und unter Eisbadkühlung tropfenweise mit Allylchloroformiat (2.33 ml, 21.9 mmol, 2 eq) versetzt. Nach Entfernen des Eisbades wurde DIEA (2.86 ml, 16.4 mmol, 1.5 eq) zugegeben und die Reaktionsmischung 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde nacheinander dreimal mit Wasser, zweimal mit Kaliumhydrogensulfatlösung (5 %), einmal mit Wasser, zweimal mit Natriumcarbonatlösung (10 %) und anschließend mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase wurde das Lösungsmittel im Vakuum

entfernt. Das Produkt wurde nach dreifachem Umkristallisieren aus Petrolether analysenrein erhalten.

Ausbeute 856 mg (44 % d. Th.)

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , 22 °C] δ 4.67 (d, 2H, $^3\text{J} = 5.8$ Hz, Alloc CH_2), 5.27 (d, 1H, $^3\text{J} = 10.4$ Hz, Alloc H_{cis}), 5.37 (d, 1H, $^3\text{J} = 17.2$ Hz, Alloc H_{trans}), 5.97 (ddd, 1H, $^3\text{J} = 17.1$ Hz, $^3\text{J} = 10.4$ Hz, $^3\text{J} = 5.7$ Hz, Alloc H_{vic}), 6.65 (br s, 1H, NH), 7.07 (t, 1H, $^3\text{J} = 7.3$ Hz, Ph H_p), 7.31 (m_c, 2H, Ph H_m), 7.38 (d, 2H, $^3\text{J} = 7.9$ Hz, Ph H_o)

$^{13}\text{C-NMR}$ [101 MHz, CDCl_3 , 22 °C] δ 66.0 (AlIc(1)), 118.4 (AlIc(3)), 118.9 (PhC(2)), 123.7 (PhC(4)), 129.2 (PhC(3)), 132.6 (AlIc(2)), 137.9 (PhC(1)), 153.4 (CO)

C, H, N ber C: 67.78 % H: 6.26 % N: 7.90 %
 gef C: 67.89 % H: 6.31 % N: 7.88 %
 $F_w(\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_2)$: 177.20

Allgemeine Vorschrift zur Umsetzung der Testverbindungen in der Olefinmetathese

Ein Schlenkkolben wurde sekuriert und das Edukt (150 μmol) sowie der Katalysator (3-5 Mol%) eingewogen. Nach mehrfachem Evakuieren und Besticken des Kolbens wurde unter Stickstoffatmosphäre das zuvor getrocknete und entgaste Lösungsmittel (5 ml) sowie bei Bedarf das Additiv zugegeben. Die Lösung wurde bei entsprechender Temperatur gerührt, und mittels Kanüle über ein Septum wurden regelmäßig Proben für die Analyse (DC, HPLC, MS) entnommen.

Darstellung des einfach verbrückten Bis(cyclopeptids)

Darstellung von Allylpentafluorphenylcarbonat 41

Pentafluorphenol (932 mg, 5.06 mmol) wurde in trockenem Dichlormethan (15 ml) gelöst. Unter Rühren wurden im Eisbad nacheinander DIEA (854 μ l, 5.0 mmol) und Allylchloroformiat (531 ml, 5.0 mmol) zugetropft. Nach 1 Stunde wurde die Lösung jeweils zweimal mit Wasser, Kaliumhydrogensulfatlösung (5 %), Wasser, Natriumcarbonatlösung (10 %) und Wasser gewaschen. Nach Trocknen über $MgSO_4$ wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute 1.12 g (83 % d. Th.)

1H -NMR [600 MHz, $CDCl_3$, 22 °C] δ 4.79 (d, 2H, $^3J = 5.9$ Hz, AllocCH₂), 5.37 (dd, 1H, $^3J = 10.5$ Hz, $^2J = 1.1$ Hz, AllocH_{cis}), 5.45 (dd, 1H, $^3J = 17.1$ Hz, $^2J = 1.1$ Hz, AllocH_{trans}), 5.99 (m_c, 1H, AllocH_{vic})

^{13}C -NMR [151 MHz, $CDCl_3$, 22 °C] δ 70.9 (AllocC(1)), 120.4 (AllocC(3)), 130.3 (AllocC(2)), 137.2, 139.0, 140.7, 142.4 (PhC(1-4)), 151.3 (AllocCO)

^{19}F -NMR [565 MHz, $CDCl_3$, 22 °C] δ -162.3 (m_c, 2F, PhF(3)), -157.8 (t, 1F, $^3J = 21.5$ Hz, PhF(4)), -153.5 (m_c, 2F, PhF(2))

C, H, N
ber C: 44.79 % H: 1.88 %
gef C: 43.96 % H: 1.72 %
 $F_w(C_{10}H_5F_5O_3)$: 268.14

IR [KBr, cm^{-1}] 3553(w), 3094(w), 2997(m), 2962(m), 2896(w), 2678(w), 2472(w), 2158(w), 2101(w), 1784(s), 1654(m), 1522(s), 1454(m), 1426(m), 1366(s), 1324(s), 1230(s), 1163(s), 1056(s), 1004(s), 773(m), 694(w), 615(m)

Darstellung des Cyclohexapeptids *cyclo*[(Alloc-4*S*-Apro)-APA-(Pro-APA)₂] 40

Das entschützte Cyclopeptid *cyclo*[(4*S*-Apro)-APA-(Pro-APA)₂] · HCl **13** (97.6 mg, 129 µmol) wurde in trockenem Dichlormethan (20 ml) suspendiert. Nach Zugabe von DIEA (92.2 µl, 540 µmol, 4 eq) und DMSO (2 ml) löste sich das Cyclopeptid. Es wurde eine Lösung von Allylpentafluorphenylcarbonat **41** (74.2 mg, 277 µmol, 2eq) in trockenem Dichlormethan (10 ml) zugegeben und 7 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch mit Dichlormethan/Methanol 10:1 (v/v) als Eluens aufgereinigt. Nach Einengen der Lösung wurde das Produkt in Methanol aufgenommen, durch Eingießen der Lösung in Diethylether als weißer Feststoff ausgefällt und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute 57.7 mg (56 % d. Th.)

Schmelzbereich 190–207 °C

¹H-NMR [600 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 1.81 (m, 2H, ProH(γ)), 1.86 (m, 2H, ProH(γ)), 1.92 (m, 1H, AproH(β)), 2.03 (m_c, 2H, ProH(β)), 2.56 (m_c, 2H, ProH(β)), 2.86 (m_c, 1H, AproH(β)), 3.38 (m, 1H, AproH(δ)), 3.58 (m, 2H, ProH(δ)), 3.69 (m, 2H, ProH(δ)), 3.89 (m, 1H, AproH(δ)), 4.15 (m, 1H, AproH(γ)), 4.46 (m, 2H, AllocCH₂), 5.11 (d, 1H, ³J = 10.4 Hz, AllocH_{cis}), 5.22 (d, 1H, ³J = 17.1 Hz, AllocH_{trans}), 5.55 (m, 2H, ProH(α)), 5.62 (m_c, 1H, AproH(α)), 5.86 (m_c, 3H, AllocH_{vic}), 7.16 (d, 1H, ³J = 8.2 Hz, APAH(3)), 7.22 (m_c, 2H, APAH(3)), 7.40-7.44 (m_c, 3H, APAH(5)), 7.47 (d, 1H, ³J = 6.5 Hz, AproNH), 7.71-7.75 (m, 3H, APAH(4)), 9.60 (br s, 1H, APANH), 9.63 (br s, 1H, APANH), 9.69 (br s, 1H, APANH)

¹³C-NMR [151 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 22.4 (ProC(γ)), 30.5 + 32.6 (ProC(β)), 37.2 (AproC(β)), 47.8 (AproC(γ)), 48.1 (ProC(δ)), 52.0 (AproC(δ)), 60.6 (AproC(α)), 61.5 (ProC(α)), 64.4 (AllocC(1)), 115.8 + 116.1 (APAC(3)), 117.1 (AllocC(3)), 119.5 + 119.7 (APAC(5)), 133.5 (AllocC(2)), 139.0 + 139.1 (APAC(4)), 148.4 + 148.5 (APAC(2)), 151.5 + 151.9 + 152.1 (APAC(6)), 155.6 (AllocCO), 165.9 + 166.0 (APACO), 170.5 (AproCO), 171.0 + 171.1 (ProCO)

Massenspektrum	MALDI-TOF m/z (rel. Int.): $[M+H]^+$ 751.4 (6 %), $[M+Na]^+$ 773.4 (100 %), $[M+K]^+$ 789.4 (22 %)		
C, H, N	ber	C: 55.84 %	H: 5.45 % N: 17.60 %
	gef	C: 55.94 %	H: 5.39 % N: 17.51 %
	$F_w(C_{37}H_{38}N_{10}O_8 \cdot 2.5 H_2O)$:	795.81	
IR	[KBr, cm^{-1}] 3395(m), 3275(w), 2975(w), 2881(w), 1706(s), 1634(s), 1575(s), 1527(s), 1464(s), 1422(s), 1399(s), 1342(w), 1300 (m), 1257(w), 1158(m), 1082(w), 993(w), 921(w), 822(w), 760(m), 651(m), 597(w)		

Umsetzung von *cyclo*[(Alloc-4*S*-Apro)-APA-(Pro-APA)₂] **40** in der Olefinmetathese

Verbindung **40** wurde mit verschiedenen Katalysatoren unter Variation der Reaktionsbedingungen, wie Katalysatormenge, Temperatur und Lösungsmittel, umgesetzt. Die Durchführung erfolgte nach dem folgenden allgemeinen Schema, die jeweiligen Bedingungen sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Das Lösungsmittel wurde getrocknet und vor der Reaktion frisch destilliert und entgast. Ein Schlenkkolben wurde sekuriert und das Edukt (3.8 mg, 5 μ mol) sowie der Katalysator (1 bzw. 2.5 μ mol) eingewogen. Nach mehrfachem Evakuieren und Besticken des Kolbens wurde das Lösungsmittel (4 ml) im Argongegenstrom zugegeben und die Reaktion unter Schutzatmosphäre gerührt. Mittels Kanüle wurden über ein Septum regelmäßig Proben für die Analyse (DC, HPLC, MALDI-MS) entnommen.

Eintrag	Katalysator	Temperatur	Umsatz nach 2d	Umsatz nach Ende
1 ^{a)}	5 (50 Mol%)	RT	nicht bestimmt	31 % (3d)
2 ^{a)}	5 (20 Mol%)	RT ^{c)}	17 %	21 % (3d)
3 ^{a)}	5 (20 Mol%)	40 °C	50 %	50 % (6d)
4 ^{a)}	7 (20 Mol%)	RT	15 %	41 % (4.5d)
5 ^{a)}	7 (50 Mol%)	40 °C	65 %	95 % (4d)
6 ^{a)}	6 (20 Mol%)	40 °C	60 %	64 % (7d)
7 ^{a)}	8 (50 Mol%)	RT	50 %	72 % (6d)
8 ^{b)}	8 (20 Mol%)	80 °C	26 %	39 % (4d)

a) Dichlormethan, b) Toluol, c) kurz zum Sieden erhitzt

Tabelle 5: Versuchsdetails zur Umsetzung von **40** in den Metathesereaktionen.

Die Darstellung des analysenreinen einfach verbrückten Bis(cyclopeptids) **43** gelang nach folgender Vorschrift:

Cyclo[(Alloc-4*S*-Apro)-APA-(Pro-APA)₂] **40** (100 mg, 134 μmol) und Grubbs II Katalysator **6** (11 mg, 13 μmol) wurden in einen sekurierten Schlenkkolben eingewogen und dieser mehrmals evakuiert und mit Argon bestickt. Über ein Septum wurde getrocknetes, frisch destilliertes und entgastes Dichlormethan (5 ml) zugegeben und die Lösung bei Raumtemperatur gerührt. Nach einem und zwei Tagen wurden im Argongegenstrom nochmals Katalysator **6** (11 mg, 13 μmol bzw. 15.6 mg, 18.4 μmol) zugegeben. Nach insgesamt drei Tagen wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in wenig DMF aufgenommen und auf eine RP-18 Säule aufgetragen. Die Säule wurde zuvor mit Wasser/1,4-Dioxan 10:1 (v/v) vorkonditioniert. Das Elutionsmittel wurde langsam von 10:1 über 5:1 auf Wasser/1,4-Dioxan 2:1 umgestellt, bei welcher Lösungsmittelzusammensetzung das Produkt eluierte. Das Rohprodukt wurde in Dichlormethan/Methanol 5:1 (v/v) (10 ml) gelöst und nach Zugabe von 20 % Pd(OH)₂ /C (10 mg) unter einer Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck hydriert. Nach beendeter Reaktion (der Verlauf der Reaktion wurde mittels MALDI-MS verfolgt) wurde der Katalysator über Celite abfiltriert und der Filterkuchen sorgfältig mit Dichlormethan/Methanol 5:1 (v/v) gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum vollständig entfernt. Das Rohprodukt wurde in wenig Dichlormethan/Methanol 5:1

(v/v) gelöst und das Produkt mittels semipräparativer HPLC (mobile Phase: Wasser/Acetonitril-Gradient (75/25 auf 65/35, Fluss 2 ml/min), stationäre Phase: Chromolith® SemiPrep 100-10 mm RP-18 endcapped) isoliert. Die Produktfraktionen wurden zur Trockne eingengt, der Rückstand in Diethylether suspendiert, abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute 25.3 mg (26 % d. Th.)

¹H-NMR [600 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 1.50 (s, 4H, -CH₂-), 1.74-1.93 (m, 10H, 2 x AproH(β), 8 x ProH(γ)), 2.00 (s, 4H, ProH(β)), 2.55 (m, 4H, ProH(β)), 2.84 (s, 4H, AproH(β)), 3.36 (4H, AproH(δ)), 3.58 (m, 4H, ProH(δ)), 3.67 (m, 4H, ProH(δ)), 3.84-4.00 (6H, 2 x AproH(δ), 4 x -CH₂-), 4.13 (m, 2H, AproH(γ)), 5.58 (s, 4H, 2 x AproH(α), 2 x ProH(α)), 5.65 (s, 2H, ProH(α)), 7.17 (d, 2H, ³J = 7.6 Hz, APAH(3)), 7.25 (m, 4H, APAH(3)), 7.35 (br s, 2H, AproNH), 7.42 (m_c, 6H, APAH(5)), 7.73 (m, 6H, APAH(4)), 9.79 + 9.86 (br s, 6H, APANH)

¹³C-NMR [150.9 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 22.4 (ProC(γ)), 25.2 (-CH₂-), 32.6 (ProC(β)), 37.2 (AproC(β)), 47.8 (AproC(γ)), 48.2 (ProC(δ)), 52.1 (AproC(δ)), 60.6 (AproC(α)), 61.5 (ProC(α)), 63.6 (-CH₂-), 115.7 + 116.0 (APAC(3)), 119.7 (APAC(5)), 139.0 + 139.1 (APAC(4)), 148.5 + 148.7 (APAC(2)), 151.5 + 151.9 + 152.1 (APAC(6)), 156.0 (AllocCO), 165.9 + 166.1 (APACO), 170.6 (AproCO), 171.1 + 171.2 (ProCO)

Massenspektrum MALDI-TOF *m/z* (rel. Int.): [M+H]⁺ 1475.7 (97 %), [M+Na]⁺ 1497.7 (100 %), [M+K]⁺ 1513.7 (48 %)

C, H, N
 ber C: 54.61 % H: 5.47 % N: 17.69 %
 gef C: 54.50 % H: 5.35 % N: 17.55 %
 F_w(C₇₂H₇₄N₂₀O₁₆ · 6 H₂O): 1583.60

Darstellung des dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) 49**Darstellung des Cyclohexapeptids *cyclo*[(Alloc-4*S*-Apro)-APA]₃ 47**

Das entschützte Cyclopeptid *cyclo*[(4*S*-Apro)-APA]₃ · 3 HCl **14** (99 mg, 120 μmol) wurde in DMSO (5 ml) unter Zugabe von DIEA (123 μl, 720 μmol, 6 eq) gelöst. Es wurde Allylpentafluorphenylcarbonat **41** (206 mg, 768 μmol, 6.4 eq) in trockenem Dichlormethan (10 ml) zugegeben und die Reaktionsmischung 2.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch mit Dichlormethan/Methanol 15:1 (v/v) als Elutionsmittel aufgereinigt. Nach Einengen der Lösung wurde das Produkt in Methanol aufgenommen, durch Eingießen in wenig Wasser ausgefällt, abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute 46.2 mg (41 % d. Th.)

Schmelzbereich 168-176 °C

¹H-NMR [400 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 1.91 (m_c, 3H, AproH(β)), 2.84 (m_c, 3H, AproH(β)), 3.38 (m, 3H, AproH(δ)), 3.87 (m_c, 3H, AproH(δ)), 4.15 (m_c, 3H, AproH(γ)), 4.46 (d, 6H, ³J = 3.9 Hz, AllocCH₂), 5.11 (d, 3H, ³J = 10.4 Hz, AllocH_{cis}), 5.22 (d, 3H, ³J = 17.2 Hz, AllocH_{trans}), 5.53 (m_c, 3H, AproH(α)), 5.86 (m_c, 3H, AllocH_{vic}), 7.17 (d, 3H, ³J = 8.0 Hz, APAH(3)), 7.42 (d, 3H, ³J = 7.6 Hz, APAH(5)), 7.47 (d, 3H, ³J = 6.6 Hz, AproNH), 7.74 (m_c, 3H, APAH(4)), 9.64 (br s, 3H, APANH)

¹³C-NMR [151 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 37.1 (AproC(β)), 47.9 (AproC(γ)), 52.0 (AproC(δ)), 60.5 (AproC(α)), 64.4 (AllocC(2)), 116.0 (APAC(3)), 117.1 (AllocC(3)), 119.5 + 119.7 (APAC(5)), 133.5 (AllocC(2)), 139.1 (APAC(4)), 148.5 (APAC(2)), 151.5 APAC(6), 155.6 (AllocCO), 166.1 (APACO), 170.5 (AproCO)

Massenspektrum MALDI-TOF *m/z* (rel. Int.): [M+H]⁺ 949.5 (12 %), [M+Na]⁺ 971.5 (100 %), [M+K]⁺ 987.5 (72 %)

C, H, N	ber C: 52.94 % H: 5.53 % N: 16.46 %
	gef C: 53.06 % H: 5.53 % N: 16.13 %
	$F_w(\text{C}_{45}\text{H}_{58}\text{N}_{12}\text{O}_{12} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}): 1021.01$
IR	[KBr, cm^{-1}] 3396(br, m), 3081(w), 2949(w), 1705(s), 1630(m), 1574(s), 1534(s), 1466(m), 1424(m), 1400(m), 1303(m), 1257(m), 1228(w), 1186(w), 1159(w), 1079(w), 1037(w), 992(w), 924(w), 823(w), 761(m), 652(w), 592(w)

Umsetzung von *cyclo*[(Alloc-4*S*-Apro)-APA]₃ **47** in der Olefinmetathese

Zur Umsetzung des dreifach Alloc-substituierten Cyclopeptids **47** in der Olefinmetathese wurden wie auch bei der Umsetzung des einfach substituierten Cyclopeptids **40** mehrere Ansätze unter verschiedenen Reaktionsbedingungen durchgeführt. Neben dem eingesetzten Katalysator, es wurden die Katalysatoren **6**, **7** und **8** verwendet, wurde auch dessen Menge sowie die Reaktionszeit variiert. Die Durchführung erfolgte dabei nach folgendem allgemeinen Verfahren.

Cyclo[(Alloc-4*S*-Apro)-APA]₃ **47** (28.5 mg, 30.0 μmol) sowie der jeweilige Katalysator (25-50 Mol%) wurden in einen sekurierten Schlenkkolben eingewogen und dieser mehrmals evakuiert und mit Argon belüftet. Über ein Septum wurde getrocknetes, frisch destilliertes und entgastes Dichlormethan (6 ml) zugegeben und die Lösung bei Raumtemperatur gerührt. Proben für die Analyse (DC, HPLC, MALDI-MS) wurden über das Septum mittels Kanüle entnommen. Bei Bedarf wurde nach einem Tag weiterer Katalysator im Argongegenstrom zugegeben. Nach insgesamt 1 bis 3 Tagen wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Zur Isolierung des Produkts wurden verschiedene chromatographische Verfahren, sowohl mit normalem Kieselgel als auch mit RP-Material als stationärer Phase getestet. Eine mögliche Sequenz ist im Folgenden beschrieben.

Der Rückstand wurde zuerst säulenchromatographisch mit Dichlormethan/Methanol gereinigt. Dabei wurde das Lösungsmittel von 15:1 über 12:1 und 7:1 auf Dichlormethan/Methanol 5:1 (v/v) umgestellt, wobei das Produkt eluierte. Die Produktfraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das so

erhaltene Rohprodukt wurde in Dichlormethan/Methanol 5:1 (v/v) (10 ml) gelöst und nach Zugabe von 20 % Pd(OH)₂/C (10 mg) unter einer Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck hydriert. Nach beendeter Reaktion (der Verlauf der Reaktion wurde mittels MALDI-MS verfolgt), wurde der Katalysator über Celite abfiltriert und der Filterkuchen sorgfältig mit Dichlormethan/Methanol 5:1 (v/v) gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in wenig DMF aufgenommen und auf eine RP-18 Säule aufgetragen. Die Säule wurde zuvor mit Wasser/1,4-Dioxan 10:1 (v/v) vorkonditioniert. Das Elutionsmittel wurde langsam von 10:1 über 5:1 und 2:1 auf Wasser/1,4-Dioxan 1:1 umgestellt, bei welcher Lösungsmittelzusammensetzung das Produkt eluierte. Allerdings konnten auf diesem Weg nicht alle Verunreinigungen abgetrennt werden. Auch die Aufreinigung über semipräparative HPLC führte nicht zu analysenreinem Produkt.

6.5.5 Click-Reaktionen und Darstellung der Vorstufen

Darstellung von 3-Butinsäure 52^[151]

3-Butinol (1.0 g, 14.3 mmol) wurde in Wasser (25 ml) gelöst. Anschließend wurden Natriumperiodat (6.7 g, 31.3 mmol, 2.2 eq), Natriumdichromat Dihydrat (42.6 mg, 143 μ mol, 1 Mol%) und Salpetersäure (65%, 73.5 mg, 5 Mol%) zugegeben und die Reaktionsmischung 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde dreimal mit Diethylether extrahiert, die organische Phase getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde durch mehrfaches Umkristallisieren aus Petrolether (35-70) erhalten.

Ausbeute 401 mg (33 % d. Th.)

Schmelzbereich 81–82 °C

¹H-NMR [200 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 2.99 (t, 1H, ⁴J = 2.6 Hz, H(4)), 3.29 (d, 2H, ⁴J = 2.7 Hz, H(2)), 12.66 (br s, 1H, OH)

¹³C-NMR [100 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 25.2 (C(2)), 73.6 (C(4)), 77.5 (C(3)), 169.1 (CO)

IR [KBr, cm⁻¹] 3298(m), 3289(m), 2945(w), 2913(w), 1734 (s), 1430 (w), 1394 (m), 1327 (w), 1289 (w), 1237 (s), 951 (w), 876 (m), 702 (w), 658 (m), 636 (m), 488 (w)

Darstellung von Azidoessigsäure 53^[152, 153]

Chloressigsäure (3.2 g, 33.9 mmol) und Natriumhydroxid (1.6 g, 40 mmol) wurden in Wasser (10 ml) gelöst und die wässrige Phase mit Diethylether (7 ml) überschichtet. Unter Eisbadkühlung erfolgte die Zugabe von Natriumazid (2.3 g, 35.4 mmol). Anschließend wurde die Reaktionsmischung unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Nach 24 Stunden wurde die Reaktionsmischung im Eisbad abgekühlt und mit verdünnter Schwefelsäure auf pH 5

angesäuert. Die wässrige Phase wurde 7 mal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt (Wasserbadtemperatur <30 °C). Das erhaltene Öl wurde im Vakuum (30 mbar) getrocknet.

Ausbeute 2.06 g (60 % d. Th.)

¹H-NMR [200 MHz, CDCl₃, 22 °C] δ 3.96 (s, 2H, CH₂), 9.31 (s, 1H, OH)

Kupplung von Azidoessigsäure **53** mit Boc-(4*S*-Amino-L-prolin)-methylester **18**

Boc-(4*S*-Amino-L-prolin)-methylester Hydrochlorid **18** (200 mg, 0.71 mmol) wurde in trockenem Dichlormethan (25 ml) gelöst. Anschließend wurden Azidoessigsäure **53** (121.4 mg, 1.20 mmol, 1.7 eq) und TBTU (388 mg, 1.21 mmol, 1.7 eq) zugegeben, der pH mit DIEA (0.6 ml, 3.44 mmol) auf 9-10 eingestellt und die Reaktion bei Raumtemperatur gerührt. Nach 18 Stunden wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch mit Ethylacetat/Pentan 3:1 (v/v) als Eluens gereinigt.

Ausbeute 209 mg (90 % d. Th.)

¹H-NMR [600 MHz, DMSO-d₆, 100 °C] δ 1.40 (s, 9H, tBuCH₃), 1.89 (m_c, 1H, AproH(β)), 2.55 (m_c, 1H, AproH(β)), 3.19 (dd, 1H, ²J = 10.7 Hz, ³J = 6.8 Hz, AproH(δ)), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.74 (dd, 1H, ²J = 10.7 Hz, ³J = 7.1 Hz, AproH(δ)), 3.80 (s, 2H, CH₂), 4.24–4.30 (m, 2H, AproH(α), AproH(γ)), 7.77 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR [151 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 27.9 + 28.0 (tBuCH₃), 35.1 + 35.9 (AproC(β)), 47.2 + 47.9 (AproC(γ)), 50.6 + 50.8 + 51.9 + 52.0 (AproC(δ), OCH₃, CH₂), 57.1 + 57.4 (AproC(α)), 79.2 + 79.3 + 79.4 (tBuC), 152.7 + 153.3 (tBuCO), 167.4 + 167.5 + 172.6 + 172.9 (AproCO, CH₂CO)

IR [KBr, cm^{-1}] 3348(w), 3018 (m), 2980 (w), 2116 (s), 1736 (m), 1682 (s), 1530 (m), 1398 (s), 1370 (m), 1224 (m), 1160 (m), 1132 (w), 1102 (w)

Kupplung von 3-Butinsäure **52** mit Boc-(4S-Amino-L-prolin)-methylester **18**

Boc-(4S-Amino-L-prolin)-methylester Hydrochlorid **18** (100 mg, 0.36 mmol) und 3-Butinsäure **52** (30 mg, 0.36 mmol) wurden in trockenem Dichlormethan (10 ml) gelöst. Es wurde EDC (*N*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid Hydrochlorid) (82.8 mg, 0.43 mmol, 1.2 eq) portionsweise zugegeben und die Suspension 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in einer Mischung aus Wasser und Ethylacetat aufgenommen und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumchloridlösung gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute 80.4 mg (72 % d. Th.)

$^1\text{H-NMR}$ [200 MHz, CDCl_3 , 22 °C] δ 1.42 + 1.45 (2 x s, 9H, tBuCH₃), 1.98 (m, 1H, AproH(β)), 2.38 (d, 1H, $^4\text{J} = 2.4$ Hz, H(4)), 2.51 (m_c 1H, AproH(β)), 3.19 (d, 2H, $^4\text{J} = 2.4$ Hz, H(2)), 3.65 (m, 2H, AproH(δ)), 3.77 (s, 3H, OMe), 4.32 + 4.68 (2 x m, 2H, AproH(α), AproH(γ)), 7.27 (s, 1H, NH)

Darstellung von 4-Pentinsäurepentafluorphenylester **59**

Pentafluorphenol (740 mg, 4.0 mmol) und 4-Pentinsäure (410 mg, 4.2 mmol) wurden in trockenen Ethylacetat (40 ml) gelöst. Unter Rühren wurde portionsweise EDC (805 mg, 4.2 mmol) zugegeben. Nach Rühren über Nacht, das EDC löste sich dabei nicht vollständig, wurde die Suspension jeweils dreimal mit Wasser, Natriumcarbonatlösung (10 %) und Wasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über MgSO_4 wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das auskristallisierte Produkt wurde anschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute 992 mg (94 % d. Th.)

Schmelzbereich	51–55 °C
¹ H-NMR	[400 MHz, CDCl ₃ , 21 °C] δ 2.06 (t, 1H, ⁴ J = 2.6 Hz, PsH(5)), 2.65 (td, 2H, ³ J = 7.3 Hz, ⁴ J = 2.6 Hz, PsH(3)), 2.93 (t, 2H, ³ J = 7.3 Hz, PsH(2))
¹³ C-NMR	[151 MHz, CDCl ₃ , 22 °C] δ 14.3 (PsC(3)), 32.6 (PsC(2)), 69.9 (PsC(5)), 81.0 (PsC(4)), 124.9 (PhC(1)), 137.0, 138.7, 140.2, 140.4, 142.0, 142.1 (PhC(2-4)), 167.7 (PsC(1))
¹⁹ F-NMR	[565 MHz, CDCl ₃ , 22 °C] δ -162.2 (m _c , 2F, PhF(3)), -157.7 (t, 1F, ³ J = 21.7 Hz, PhF(4)), -152.5 (m _c , 2F, PhF(2))
C, H, N	ber C: 50.02 % H: 1.91 % gef C: 49.94 % H: 2.00 % F _w (C ₁₁ H ₅ F ₅ O ₂): 264.15
IR	[KBr, cm ⁻¹] 3311(m), 2937(w), 2667(w), 2456(w), 2126(w), 1793(s), 1520(s), 1437(m), 1418(m), 1380(m), 1284(m), 1150(m), 1115(s), 1051(m), 989(s), 890(m), 775(m), 670(m), 629(s), 500(w)

Darstellung von 3-Azidopropansäure 58^[155]

Frisch destillierte Acrylsäure (7.25 g, 100 mmol) wurde in Eisessig (15 ml) gelöst. Im Eisbad wurde eine Lösung von Natriumazid (9.80 g, 150 mmol) in Wasser (37.5 ml) zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Die Lösung wurde vier mal mit MTBE extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Wasser gewaschen, über NaSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde destillativ erhalten.

Ausbeute 5.34 g (46 % d. Th.)

Siedepunkt 84 °C (1.2 mbar)

¹H-NMR [400 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 2.51 (t, 2H, ³J = 6.2 Hz, AzH(2)), 3.50 (t, 2H, ³J = 6.2 Hz, AzH(3)), 12.44 (s, 1H, COOH)

¹³C-NMR [100.6 MHz, CDCl₃, 22 °C] δ 33.8 (AzC(2)), 46.4 (AzC(3)), 177.4 (AzC(1))

C, H, N
 ber C: 31.31 % H: 4.38 % N: 36.51 %
 gef C: 31.26 % H: 4.22 % N: 36.35 %
 F_w(C₃H₅N₃O₂): 115.09

Darstellung von 3-Azidopropansäurepentafluorphenylester **60**

Pentafluorphenol (462 mg, 2.51 mmol) und 3-Azidopropansäure (305 mg, 2.65 mmol) wurden in trockenem Ethylacetat (20 ml) gelöst. Unter Rühren und Eisbadkühlung wurde portionsweise EDC (509 mg, 2.66 mmol) zugegeben. Nach einer Stunde wurde die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 4 Stunden gerührt. Die Suspension wurde jeweils dreimal mit Wasser und Natriumcarbonatlösung (10 %), zweimal mit Wasser und Kaliumhydrogensulfatlösung (5 %) und anschließend dreimal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen über MgSO₄ wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute 687 mg (97 % d. Th.)

¹H-NMR [400 MHz, CDCl₃, 22 °C] δ 2.94 (t, 2H, ³J = 6.4 Hz, AzH(2)), 3.72 (t, 2H, ³J = 6.4 Hz, AzH(3))

¹³C-NMR [150.9 MHz, CDCl₃, 22 °C] δ 33.3 (AzC(2)), 46.4 (AzC(3)), 124.8 (PhC(1)), 137.2, 138.9, 140.3, 140.6, 142.0 (PhC(2-4)), 167.2 (AzC(1))

¹⁹F-NMR [565 MHz, CDCl₃, 22 °C] δ -162.0 (m_c, 2F, PhF(3)), -157.4 (t, 1F, ³J = 21.7 Hz, PhF(4)), -152.5 (m_c, 2F, PhF(2))

Experimenteller Teil

C, H, N	ber C: 38.45 % H: 1.43 % N: 14.95 % gef C: 38.43 % H: 1.44 % N: 14.76 % $F_w(\text{C}_9\text{H}_4\text{F}_5 \text{N}_3\text{O}_2)$: 281.14
IR	[KBr, cm^{-1}] 3341(w), 2941(w), 2670(w), 2462(w), 2105(s), 1791(s), 1654(w), 1521(s), 1471(m), 1451(m), 1407(m), 1374(m), 1290(m), 1215(m), 1150(m), 1113(s), 1061(m), 1005(s), 865(m), 836(w), 782(w), 731(w)

Darstellung von *N*-Phenylpent-4-inamid **65**

Anilin (193 mg, 2.07 mmol) und 4-Pentinsäure (197 mg, 2.01 mmol) wurden in trockenem Dichlormethan (15 ml) gelöst. Es wurden TBTU (670 mg, 2.09 mmol, 1 eq) und DIEA (0.53 ml, 3.04 mmol, 1.5 eq) zugegeben und die Lösung 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und der Rückstand säulenchromatographisch mit Ethylacetat aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, das Rohprodukt aus Ethylacetat/n-Hexan (3 ml, 5 ml) umkristallisiert und die Kristalle anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute 176 mg (51 % d. Th.)

Schmelzbereich 127-128 °C

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , 24 °C] δ 2.06 (s, 1H, H(5)), 2.60 (m, 4H, 2 x H(2), 2 x H(3)), 7.11 (t, 1H, $^3\text{J} = 7.4$ Hz, PhH(4)), 7.32 (m_c, 2H, PhH(3)), 7.43 (br s, 1H, NH), 7.51 (d, 2H, $^3\text{J} = 7.9$ Hz, PhH(2))

$^{13}\text{C-NMR}$ [151 MHz, CDCl_3 , 25 °C] δ 15.0 (C(3)), 36.5 (C(2)), 69.9 (C(5)), 82.9 (C(4)), 120.1 (PhC(2)), 124.6 (PhC(4)), 129.2 (PhC(3)), 137.8 (PhC(1)), 169.3 (PhCO)

C, H, N	ber C: 76.28 % H: 6.40 % N: 8.09 % gef C: 76.26 % H: 6.41 % N: 8.07 % F _w (C ₁₁ H ₁₁ NO): 173.21
IR	[KBr, cm ⁻¹] 3300 (s), 3279 (s), 3203 (s), 3144 (s), 3090 (m), 2923 (w), 2118 (w), 1662 (s), 1605 (s), 1550 (s), 1499 (s), 1443 (s), 1416 (m), 1378 (m), 1319 (s), 1248 (m), 1191 (m), 966 (m), 904 (w), 758 (s), 692 (m), 661 (m), 639 (m), 503 (w), 490 (w)

Darstellung von 3-Azido-*N*-cyclohexylpropanamid **66**

Cyclohexylamin (108 mg, 1.09 mmol) und 3-Azidopropansäurepentafluorphenylester **60** (143 mg, 0.51 mmol) wurden in trockenem Dichlormethan (10 ml) gelöst und die Lösung mit DIEA (170 µl, 1 mmol) versetzt. Nach 4 Stunden wurde der ausgefallene weiße Feststoff abfiltriert. Das Filtrat wurde im Vakuum eingeeengt und der Rückstand in Ethylacetat gelöst. Die organische Phase wurde je dreimal mit Wasser, Kaliumhydrogensulfatlösung (5 %), Natriumcarbonatlösung (10 %) und Wasser gewaschen und getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt wobei das Produkt kristallisierte.

Ausbeute	93.5 mg (93 % d. Th.)
¹ H-NMR	[200 MHz, CDCl ₃ , 27 °C] δ 1.10–1.50 (m, 6H, CyCH ₂), 1.70 (m, 2H, CyCH ₂), 1.93 (m, 2H, CyCH ₂), 2.38 (t, 2H, ³ J = 6.4 Hz, AzH(2)), 3.61 (t, 2H, ³ J = 6.4 Hz, AzH(3)), 3.79 (m, 1H, CyCH), 5.42 (br s, 1H, NH)
¹³ C-NMR	[151 MHz, CDCl ₃ , 22 °C] δ 25.0 (CyC(4)), 25.6 (CyC(3)), 33.3 (AzC(2)), 36.4 (CyC(2)), 47.7 (AzC(3)), 48.6 (CyC(1)), 168.9 (AzCO)
C, H, N	ber C: 55.08 % H: 8.22 % N: 28.55 % gef C: 54.54 % H: 8.09 % N: 26.87 % F _w (C ₉ H ₁₆ N ₄ O): 196.25

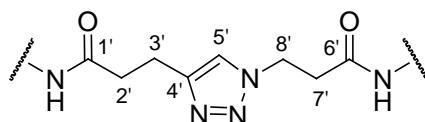
IR [KBr, cm^{-1}] 3284 (s), 3089 (w), 2937 (s), 2853 (s), 2111(s), 1634 (s), 1558 (s), 1445 (m), 1335 (m), 1243 (s), 1186 (m), 1153 (w), 1108 (m), 1026 (w), 986 (m), 916 (w), 892 (w), 725 (w), 641 (w), 557 (w)

Darstellung des Triazols **67** durch Click-Reaktion

N-Phenylpent-4-inamid **65** (6.8 mg, 39 μmol) und 3-Azido-*N*-cyclohexylpropanamid **66** (7.5 mg, 39 μmol) wurden in einen sekurierten Schlenkkolben eingewogen und in einem Wasser/Methanol-Gemisch 40:60 (v/v) (500 μl) gelöst. Unter Stickstoffatmosphäre wurden DIEA (13.3 μl , 87 μmol , 2 eq) sowie eine Spatelspitze CuI zugegeben und 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von Aceton wurde die gelbe Suspension über Celite filtriert und das Filtrat im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen und über Celite abfiltriert. Das nun farblose Filtrat wurde im Vakuum zur Trockne eingengt.

Ausbeute 13.4 mg (94 % d. Th.)

$^1\text{H-NMR}$ [600 MHz, DMSO- d_6 , 22 °C] δ 1.05 + 1.20 + 1.51 + 1.64 (m, 10H, Cy), 2.56 + 2.62 (2 x m_c , 4H, H(2'), H(7')), 2.90 (m, 2H, H(3')), 3.49 (m 1H, CyCH), 4.49 (m_c , 2H, H(8')), 7.72 (s, 1H, H(5')), 7.80 (s, 1H, CyNH), 9.94 (s, 1H, PhNH)



$^{13}\text{C-NMR}$ [151 MHz, DMSO- d_6 , 22 °C] δ 20.9 (C(3')), 24.5 + 25.2 (CyC(4), CyC(3)), 32.3 + 34.7 + 35.8 (CyC(2), C(2'), C(7')), 45.8 + 47.4 (C(8'), CyC(1)), 119.0 (PhC(2)), 122.0 + 123.9 (PhC(4), C(5')), 128.6 (PhC(3)), 139.2 (PhC(1)), 145.7 (C(4')), 167.9 + 170.1 (C(1'), C(6'))

Darstellung des einfach verbrückten Bis(cyclopeptids) 68

Darstellung des Cyclopeptids mit einer Alkingruppe 63

Das entschützte Cyclopeptid *cyclo*[(4*S*-Apro)-APA-(Pro-APA)₂] · HCl **13** (214 mg, 300 μmol) wurde mit DIEA (128 μl, 750 μmol, 2.5 eq) in DMSO (2 ml) gelöst. Nach Zugabe von 4-Pentinsäurepentafluorphenylester **59** (203 mg, 768 μmol, 2.5 eq) in trockenem Dichlormethan (20 ml) wurde die Reaktionsmischung 2.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel anschließend im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde chromatographisch mit Dichlormethan/Methanol 7:1 (v/v) als Elutionsmittel aufgereinigt. Nach Einengen der Produktfraktionen wurde das Produkt in Methanol aufgenommen, durch Eingießen der Lösung in Diethylether als weißer Feststoff wieder ausgefällt, abfiltriert, und im Vakuum getrocknet. Laut ¹H-NMR-Spektrum und CHN-Analyse enthielt das Produkt noch DMSO und Wasser.

Rohausbeute 194 mg (74 % d. Th.)

C, H, N	ber C: 55.80 %	H: 5.73 %	N: 15.94 %
	gef C: 55.58 %	H: 5.59 %	N: 15.91 %
	F _w (C ₃₈ H ₃₈ N ₁₀ O ₇ · 1 DMSO · 3 H ₂ O): 878.96		

Um das DMSO zu entfernen wurde das Produkt in Aceton aufgeschlämmt, unter Zugabe von etwas Methanol gelöst, durch Eingießen der Lösung in Diethylether ausgefällt, abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute 138 mg (56 % d. Th.)

Schmelzbereich 196–208 °C

¹H-NMR [600 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 1.81 (m, 2H, ProH(γ)), 1.86 (m, 2H, ProH(γ)), 1.91 (m, 1H, AproH(β)), 2.03 (m_c, 2H, ProH(β)), 2.21 (m, 2H, PsH(2)), 2.28 (m, 2H, PsH(3)), 2.56 (m_c, 2H, ProH(β)), 2.69 (t, 1H, ⁴J = 2.5 Hz, PsH(5)), 2.88 (m_c, 1H, AproH(β)), 3.37 (1H, AproH(δ)), 3.58

(m_c, 2H, ProH(δ)), 3.69 (m_c, 2H, ProH(δ)), 3.90 (m_c, 1H, AproH(δ)), 4.32 (m, 1H, AproH(γ)), 5.55 (m, 1H, AproH(α)), 5.59 (m, 2H, ProH(α)), 7.22 (2 x d, 2 x 1H, ³J = 8.2 Hz, APAH(3)), 7.27 (d, 1H, ³J = 8.2 Hz, APAH(3)), 7.41 (2 x d, 2 x 1H, ³J = 7.6 Hz, APAH(5)), 7.44 (d, 1H, ³J = 7.6 Hz, APAH(5)), 7.70-7.76 (m, 3H, APAH(4)), 8.12 (d, 1H, ³J = 6.4 Hz, AproNH), 9.69 + 9.71 + 9.77 (m, 3H, APANH)

¹³C-NMR [151 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 14.1 (PsC(3)), 22.4 (ProC(γ)), 32.6 (ProC(β)), 34.2 (PsC(2)), 37.4 (AproC(β)), 46.3 (AproC(γ)), 48.2 (ProC(δ)), 51.9 (AproC(δ)), 60.6 (AproC(α)), 61.5 (ProC(α)), 71.3 (PsC(5)), 83.6 (PsC(4)), 115.6 + 115.7 + 115.9 (APAC(3)), 119.7 (APAC(5)), 139 + 139.1 + 139.2 (APAC(4)), 148.6 + 148.7 (APAC(2)), 151.5 + 152.0 + 152.1 (APAC(6)), 166.0 + 166.1 (APACO), 170.6 + 170.7 (AproCO, PsCO), 171.0 + 171.1 (ProCO)

Massenspektrum MALDI-TOF *m/z* (rel. Int.): [M+H]⁺ 747.3 (100 %), [M+Na]⁺ 769.3 (54 %), [M+K]⁺ 785.3 (21 %)

C, H, N
 ber C: 55.74 % H: 5.66 % N: 17.12 %
 gef C: 55.59 % H: 5.79 % N: 16.67 %
 F_w(C₃₈H₃₈N₁₀O₇ · 4 H₂O): 818.85

IR [KBr, cm⁻¹] 3460(br, m), 3268(m), 3050(w), 2976(w), 2880(w), 2117 (w), 1702(s), 1627(s), 1594(s), 1573(s), 1534(s), 1467(s), 1426(s), 1400(s), 1343(w), 1299 (m), 1260(w), 1175(m), 1158(m), 1083(w), 992(w), 915(w), 822(w), 761(m), 651(w), 597(w), 425(w)

Darstellung des Cyclopeptids mit einer Azidgruppe **64**

Das entschützte Cyclopeptid *cyclo*[(4*S*-Apro)-APA-(Pro-APA)₂] · HCl **13** (106 mg, 150 μmol) wurde in trockenem Dichlormethan (10 ml) suspendiert. Eine Lösung von 3-Azidopropansäurepentafluorphenylester **60** (180 mg, 640 μmol, 4.2 eq) und DIEA (51.2 μl, 300 μmol, 2 eq) in trockenem Dichlormethan (10 ml) wurde zugegeben und die

Reaktionsmischung 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch mit Dichlormethan/Methanol 5:1 (v/v) als Elutionsmittel aufgereinigt. Nach Einengen der Produktfraktionen wurde das Produkt in Methanol aufgenommen, durch Eingießen der Lösung in Diethylether als weißer Feststoff ausgefällt, abfiltriert, und im Vakuum getrocknet. Das Produkt war sauber genug zur weiteren Umsetzung (Reinheit HPLC 98%). Analysenreines Produkt wurde durch semipräparative HPLC gewonnen.

Ausbeute 70.5 mg (87 % d. Th.)

Schmelzpunkt Zersetzung ab 210 °C

¹H-NMR [600 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 1.81 (m, 2H, ProH(γ)), 1.86 (m, 2H, ProH(γ)), 1.95 (m_c, 1H, AproH(β)), 2.02 (m_c, 2H, ProH(β)), 2.31 (m_c, 2H, AzH(2)), 2.56 (m_c, 2H, ProH(β)), 2.88 (m_c, 1H, AproH(β)), 3.39 (1H, AproH(δ)), 3.43 (t, 2H, ³J = 6.3 Hz, AzH(3)), 3.58 (m, 2H, ProH(δ)), 3.69 (m, 2H, ProH(δ)), 3.90 (m_c, 1H, AproH(δ)), 4.33 (m_c, 1H, AproH(γ)), 5.58 (m, 1H, AproH(α)), 5.63 (m, 2H, ProH(α)), 7.23 (m, 2H, APAH(3)), 7.27 (d, 1H, ³J = 8.2 Hz, APAH(3)), 7.41 (d, 1H, ³J = 7.6 Hz, APAH(5)), 7.42 (d, 1H, ³J = 7.6 Hz, APAH(5)), 7.44 (d, 1H, ³J = 7.6 Hz, APAH(5)), 7.71-7.76 (m, 3H, APAH(4)), 8.20 (d, 1H, ³J = 6.4 Hz, AproNH), 9.74 (br s, 2H, APANH), 9.82 (br s, 1H, APANH)

¹³C-NMR [151 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 22.4 (ProC(γ)), 32.6 (ProC(β)), 34.6 (AzC(2)), 37.4 (AproC(β)), 46.3 (AproC(γ)), 46.8 (AzC(3)), 48.2 (ProC(δ)), 51.9 (AproC(δ)), 60.5 (AproC(α)), 61.5 (ProC(α)), 115.5 + 115.7 + 115.9 (APAC(3)), 119.7 (APAC(5)), 139.1 + 139.2 (APAC(4)), 148.6 + 148.7 (APAC(2)), 151.6 + 152.0 + 152.1 (APAC(6)), 166.0 + 166.1 (APACO), 169.9 (AzCO), 170.6 (AproCO), 171.1 (ProCO)

Massenspektrum MALDI-TOF *m/z* (rel. Int.): [M-N₂+H₂+H]⁺ 738.3 (41 %), [M-N₂+H₂+Na]⁺ 760.3 (22 %), [M+H]⁺ 764.3 (92 %), [M+Na]⁺ 786.3 (100 %), [M+K]⁺ 802.3 (21 %)

C, H, N	ber C: 50.64 % H: 5.55 % N: 21.33 % gef C: 50.53 % H: 5.33 % N: 21.00 % $F_w(C_{36}H_{37}N_{13}O_7 \cdot 5 H_2O)$: 853.84
IR	[KBr, cm^{-1}] 3386(m), 3275 (m), 3067(w), 2974(m), 2879(w), 2102(m), 1702(m), 1637(s), 1575(s), 1527(s), 1465(s), 1420(s), 1399(s), 1342(m), 1298(m), 1259(m), 1157(m), 1082(w), 992(w), 915(w), 821(m), 760(m), 651(w), 596(w), 420(w)

Darstellung des einfach verbrückten Bis(cyclopeptids) **68**

Zur Herstellung des einfach über Click-Reaktion verbrückten Bis(cyclopeptids) **68** wurden die beiden Edukte, das Monoalkin **63** und das Monoazid **64**, unter verschiedenen Reaktionsbedingungen umgesetzt. Dabei wurden verschiedene Kupferquellen auf ihre Eignung als Katalysator untersucht. Als bestes Verfahren stellte sich folgende Kupplung mit einem Kupfer(II)sulfat-Ascorbat-System heraus.

Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde $CuSO_4$ (35.0 mg, 140 μ mol, 2 eq) in Wasser (7 ml) gelöst. Dann wurden nacheinander 2,6-Lutidin (45.0 mg, 420 μ mol, 6 eq) in Methanol (7 ml) sowie Natriumascorbat (83.0 mg, 420 μ mol, 6 eq) in Wasser (7 ml) zugegeben, wobei sich die Reaktionsmischung klärte und eine vollständige Entfärbung eintrat. Nach Zugabe des Monoalkins **63** (52.2 mg, 70.0 μ mol) und Monoazids **64** (54.0 mg, 70.0 μ mol) in Methanol (14 ml), wurde 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand mittels RP-Chromatographie aufgetrennt. Dazu wurde er in wenig DMSO gelöst und auf eine eine RP-8 Säule aufgetragen. Die Säule war mit Wasser/1,4-Dioxan 10:1 (v/v) vorkonditioniert. Das Elutionsmittel wurde langsam von 10:1 über 5:1 auf Wasser/1,4-Dioxan 3:1 umgestellt, bei welcher Lösungsmittelzusammensetzung das Produkt eluierte. In Fällen in denen es noch leicht verunreinigt war, wurde es über semipräparative HPLC (mobile Phase: Wasser/Acetonitril 75:25, stationäre Phase: LiChroCART[®] 250-10, Purospher[®] STAR RP-18 endcapped (5 μ m)) analysenrein als weißes

Pulver isoliert. Die für die Kupplung verwendeten Lösungsmittel waren HPLC-grade und wurden vor der Verwendung im Vakuum entgast.

Ausbeute 46.6 mg (40 % d. Th.)

Schmelzbereich 262–284 °C

¹H-NMR [600 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 1.76-1.90 (m, 9H, 8 x ProH(γ)), 1 x AproH(β)), 1.93 (m, 1H, AproH(β)), 2.03 (m, 4H, ProH(β)), 2.35 (m, 2H, H(2')), 2.56 (m, 4H, ProH(β)), 2.64 (m, 2H, H(7')), 2.73 (m, 2H, H(3')), 2.85 (m, 2H, AproH(β)), 3.34 (2H, AproH(δ)), 3.58 (m, 4H, ProH(δ)), 3.69 (m, 4H, ProH(δ)), 3.89 (m_c, 2H, AproH(δ)), 4.31 (m_c, 2H, AproH(γ)), 4.43 (m_c, 2H, H(8')), 5.52-5.67 (m, 6H, AproH(α), ProH(α)), 7.13-7.26 (m, 6H, APAH(3)), 7.43 (m, 6H, APAH(5)), 7.66 (s, 1H, H(5')), 7.72 (m, 6H, APAH(4)), 8.05 (d, 1H, ³J = 6.0 Hz, AproNH), 8.18 (d, 1H, ³J = 6.1 Hz, AproNH), 9.63 + 9.72 (br s, 6H, APANH)

¹³C-NMR [151 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 21.1 (C(3')), 22.4 (ProC(γ)), 32.5 (ProC(β)), 34.8 (C(2')), 35.5 (C(7')), 37.1 + 37.2 (AproC(β)), 45.5 (C(8')), 46.2 (AproC(γ)), 48.1 (ProC(δ)), 51.9 + 52.0 (AproC(δ)), 60.6 + 61.5 (AproC(α), ProC(α)), 115.8 + 116.0 + 116.1 (APAC(3)), 119.7 (APAC(5)), 122.0 (C(5')), 139.0 + 139.1 (APAC(4)), 145.7 (C(4')), 148.5 + 148.6 (APAC(2)), 151.4 + 151.5 + 151.9 + 152.0 (APAC(6)), 165.9 + 166.0 + 166.1 (APACO), 169.4 (C(6')) 170.6 (AproCO), 171.0 + 171.1 (ProCO), 171.5 (C(1'))

Massenspektrum MALDI-TOF *m/z* (rel. Int.): [M+H]⁺ 1510.6 (35 %), [M+Na]⁺ 1532.6 (100 %), [M+K]⁺ 1548.6 (46 %)

C, H, N ber C: 53.72 % H: 5.54 % N: 19.47 %
 gef C: 53.80 % H: 5.52 % N: 19.20 %
 F_w(C₇₄H₇₅N₂₃O₁₄ · 8 H₂O): 1654.68

IR [KBr, cm^{-1}] 3393(m), 3274(m), 2970(w), 2880(w), 2878 (w), 1702(s), 1635(s), 1574(s), 1528(s), 1467(s), 1463 (s), 1423(s), 1398(s), 1342(w), 1298 (m), 1259(w), 1157(m), 1083(w), 992(w), 915(w), 821(w), 760(m), 651(w), 596(w)

Darstellung des dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) 69

Darstellung des Cyclopeptids mit drei Alkylgruppen 61

Das entschützte Cyclopeptid *cyclo*[(4*S*-Apro)-APA]₃ · 3 HCl **14** (81 mg, 100 μmol) wurde mit DIEA (103 μl , 600 μmol , 6 eq) in DMSO (5 ml) gelöst. Nach Zugabe einer Lösung von 4-Pentinsäurepentafluorphenylester (238 mg, 900 μmol , 9 eq) in Dichlormethan (10 ml) wurde die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur 4 Stunden gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch mit Dichlormethan/Methanol 5:1 (v/v) als Elutionsmittel aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Aceton aufgenommen, durch Eingießen der Lösung in Diethylether ausgefällt, abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute 65.6 mg (65 % d. Th.)

Schmelzbereich 188-194 °C

¹H-NMR [400 MHz, DMSO-d₆, 22 °C] δ 1.90 (m_c, 3H, AproH(β)), 2.22 (m, 6H, PsH(2)), 2.28 (m, 6H, PsH(3)), 2.71 (t, 1H, ⁴J = 2.4 Hz, PsC(5)), 2.85 (m_c, 3H, AproH(β)), 3.37 (3H, AproH(δ)), 3.89 (m_c, 3H, AproH(δ)), 4.32 (m_c 3H, AproH(γ)), 5.60 (m, 3H, AproH(α)), 7.22 (d, 3H, ³J = 8.2 Hz, APAH(3)), 7.43 (d, 3H, ³J = 7.3 Hz, APAH(5)), 7.74 (m_c, 3H, APAH(4)), 8.10 (d, 1H, ³J = 6.4 Hz, AproNH), 9.72 (br s, 3H, APANH)

¹³ C-NMR	[100 MHz, DMSO-d ₆ , 22 °C] δ 13.9 (PsC(3)), 34.0 (PsC(2)), 37.2 (AproC(β)), 46.1 (AproC(γ)), 51.8 (AproC(δ)), 60.4 (AproC(α)), 70.9 (PsC(5)), 83.4 (PsC(4)), 115.7 (APAC(3)), 119.5 (APAC(5)), 138.8 (APAC(4)), 148.4 (APAC(2)), 151.4 (APAC(6)), 165.9 (APACO), 170.4 + 170.5 (PsCO, AproCO)
Massenspektrum	MALDI-TOF <i>m/z</i> (rel. Int.): [M+H] ⁺ 937.4 (54 %), [M+Na] ⁺ 959.4 (100 %), [M+K] ⁺ 975.4 (80 %)
C, H, N	ber C: 57.14 % H: 5.59 % N: 16.66 % gef C: 57.23 % H: 5.33 % N: 16.57 % F _w (C ₄₈ H ₄₈ N ₁₂ O ₉ · 4 H ₂ O): 1009.03
IR	[KBr, cm ⁻¹] 3284(br, m), 3077(w), 2951(w), 2117(w), 1699(s), 1633(s), 1594(s), 1573(s), 1538(s), 1467(s), 1424(s), 1400(s), 1300 (m), 1262(w), 1210(w), 1181(m), 1159(m), 1104(w), 1081(w), 991(w), 919(w), 822(w), 761(m), 652(w), 594(w), 425(w)

Darstellung des Cyclopeptids mit drei Azidgruppen **62**

Das geschützte Cyclopeptid *cyclo*[(4*S*-Apro)-APA]₃ · 3 HCl **14** (100 mg, 124 μmol) und DIEA (186 μl, 1.09 mmol, 9 eq) wurden in DMSO (5 ml) gelöst. Eine Lösung von 3-Azidopropansäurepentafluorphenylester **60** (214 mg, 761 μmol, 6.1 eq) in trockenem Dichlormethan (10 ml) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten als Elutionsmittel aufgereinigt. Dabei wurde das Gemisch von 15:1 über 12:1 und 10:1 zu 7:1 Dichlormethan/Methanol geändert, bei welcher Lösungsmittelzusammensetzung das Produkt eluierte. Nach Einengen der Lösung wurde das Produkt in Methanol aufgenommen, durch Eingießen der Lösung in Diethylether als weißer Feststoff ausgefällt, abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Da das Produkt noch mit Salzen des DIEAs verunreinigt war wurde es in Methanol aufgenommen, durch Eingießen der Lösung in Wasser wieder ausgefällt, abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Experimenteller Teil

Ausbeute	47.2 mg (36 % d. Th.)
Schmelzbereich	176–186 °C
¹ H-NMR	[600 MHz, DMSO-d ₆ , 22 °C] δ 1.95 (m _c , 3H, AproH(β)), 2.31 (m _c , 6H, AzH(2)), 2.86 (m _c , 3H, AproH(β)), 3.40 (m _c , 3H, AproH(δ)), 3.43 (t, 6H, ³ J = 6.3 Hz, AzH(3)), 3.89 (m _c , 3H, AproH(δ)), 4.32 (m _c 3H, AproH(γ)), 5.60 (m _c , 3H, AproH(α)), 7.25 (d, 3H, ³ J = 8.3 Hz, APAH(3)), 7.43 (d, 3H, ³ J = 7.6 Hz, APAH(5)), 7.74 (m _c , 3H, APAH(4)), 8.19 (d, 1H, ³ J = 6.4 Hz, AproNH), 9.73 (br s, 3H, APANH)
¹³ C-NMR	[151 MHz, DMSO-d ₆ , 22 °C] δ 34.6 (AzC(2)), 37.3 (AproC(β)), 46.3 (AproC(γ)), 46.8 (AzC(3)), 51.9 (AproC(δ)), 60.5 (AproC(α)), 115.7 (APAC(3)), 119.7 (APAC(5)), 139.1 (APAC(4)), 148.6 (APAC(2)), 151.5 (APAC(6)), 166.1 (APACO), 169.8 (AzCO) 170.6 (AproCO)
Massenspektrum	MALDI-TOF <i>m/z</i> (rel. Int.): [M–2N ₂ +Na] ⁺ 954.4 (5 %), [M–N ₂ +Na] ⁺ 982.4 (25 %), [M–N ₂ +K] ⁺ 998.4 (6 %), [M+Na] ⁺ 1010.4 (100 %), [M+K] ⁺ 1026.4 (21%)
C, H, N	ber C: 46.03 % H: 5.24 % N: 26.84 % gef C: 46.33 % H: 5.01 % N: 26.50 % F _w (C ₄₂ H ₄₅ N ₂₁ O ₉ · 6 H ₂ O): 1096.05
IR	[KBr, cm ⁻¹] 3448(m), 3283(m), 3073 (w), 2937(w), 2104(m), 1701(m), 1685(m), 1654, 1648, 1637, 1629(s), 1595(m), 1572(s), 1559(m), 1541, 1534(s), 1466(s), 1424(s), 1400(s), 1301(m), 1260(w), 1212(w), 1184(w), 1157(w), 1081(w), 991(w), 922(w), 823(w), 762(m), 652(m), 552(w)

Darstellung des dreifach verbrückten Bis(cyclopeptids) 69

Zur Herstellung des dreifach über Click-Reaktion verbrückten Bis(cyclopeptids) **69** wurden die beiden Edukte, das Trisalkin **61** und das Trisazid **62**, unter verschiedenen Reaktionsbedingungen umgesetzt. Neben Kupferpulver wurde als Katalysator Kupfer(II)sulfat eingesetzt, welches in verschiedenen stöchiometrischen Verhältnissen zu den Edukten eingesetzt wurde. Zusätzlich wurden unterschiedliche Eduktkonzentrationen und Zugabegeschwindigkeiten untersucht. Als bestes Verfahren stellte sich folgende Kupplung mit einem Kupfer(II)sulfat-Ascorbat-System heraus.

Unter Schutzgas wurde CuSO₄ (150 mg, 600 µmol, 20 eq) in Wasser (60 ml) gelöst. Dann wurden nacheinander Lösungen von 2,6-Lutidin (193 mg, 1.80 mmol, 60 eq) in Methanol (40 ml) sowie Natriumascorbat (357 mg, 1.80 mmol, 60 eq) in Wasser (30 ml) zugegeben, wobei sich die Reaktionsmischung klärte und eine vollständige Entfärbung eintrat. Nach Zugabe von Trisazid **62** (30 mg, 30 µmol) in Methanol (15 ml) wurde unter Rühren eine Lösung des Trisalkins **61** (29.5 mg, 30 µmol) in Methanol (15 ml) mittels eines Perfusors innerhalb von 8 Stunden zugetropft. Nach weiteren 10 Stunden wurde eine Lösung von BaCl₂ (156 mg, 750 µmol, 25 eq) zugegeben, die Feststoffe über Celite abfiltriert und das Filtrat zum gelben Feststoff eingengt. Zur Reinigung wurde eine Fritte mit etwas RP-8 Kieselgel gefüllt und dieses mit NH₃ · aq (2.5 %) vorkonditioniert. Der Rückstand wurde in NH₃ · aq (2.5 %)/1,4-Dioxan 20:1 aufgetragen und das Kieselgel so lange mit NH₃ · aq (2.5 %) gespült bis das Eluat fast farblos war. Anschließend wurde das Rohprodukt mit Wasser/1,4-Dioxan 1:1 eluiert. Das Lösungsmittel wurde in Vakuum entfernt und das Produkt mittels semipräparativer HPLC (mobile Phase: Wasser/Acetonitril-Gradient (90/10 zu 70/30, Fluss 5 ml), stationäre Phase: LiChroCART® 250-10, Purospher®STAR RP-18 endcapped (5 µm)) gereinigt. Die für die Kupplung verwendeten Lösungsmittel waren HPLC-grade und wurden zuvor im Vakuum entgast.

Ausbeute 18.1 mg (28 % d. Th.)

Schmelzbereich > 300 °C

$^1\text{H-NMR}$	[400 MHz, DMSO- d_6 , 22 °C] δ 1.64 (m _c , 6H, AproH(β)), 2.38 (m, 6H, H(2')), 2.60-2.74 (m, 9H, 6 x H(7'), 3 x H(3')), 2.80-2.98 (m, 9H, 6 x AproH(β), 3 x H(3')), 3.30 (6H, AproH(δ)), 3.92 (m _c , 6H, AproH(δ)), 4.30-4.57 (m, 12H, 6 x AproH(γ)), 6 x H(8')), 5.56 (m, 6H, AproH(α)) 7.16 (m, 6H, $^3J = 8.4$ Hz, APAH(3)), 7.42-7.46 (m, 9H, 6 x APAH(5), 3 x H(5')), 7.76 (m, 6H, APAH(4)), 8.14 (d, 3H, $^3J = 6.8$ Hz, AproNH), 8.27 (d, 3H, $^3J = 6.7$ Hz, AproNH), 9.61 (br s, 6H, APANH)
$^{13}\text{C-NMR}$	[151 MHz, DMSO- d_6 , 22 °C] δ 20.9 (C(3')), 34.5 (C(2')), 35.5 (C(7')), 37.5 (AproC(β)), 45.5 (C(8')), 46.0 + 46.1 (AproC(γ)), 51.4 (AproC(δ)), 60.8 (AproC(α)), 116.1 (APAC(3)), 119.8 (APAC(5)), 121.9 (C(5')), 139.2 (APAC(4)), 145.6 (C(4')), 148.3 (APAC(2)), 151.4 (APAC(6)), 166.0 (APACO), 169.5 (C(6')) 170.5 (AproCO), 171.5 (C(1'))
Massenspektrum	MALDI-TOF m/z (rel. Int.): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1926.1 (94%), $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1947.9 (100%), $[\text{M}+\text{K}]^+$ 1963.9 (37%)
C, H, N	ber C: 50.07 % H: 5.56 % N: 21.41 % gef C: 49.89 % H: 5.37 % N: 21.43 % $F_w(\text{C}_{90}\text{H}_{93}\text{N}_{33}\text{O}_{18} \cdot 13 \text{H}_2\text{O})$: 2159.14

Kristallstrukturanalyse

Analyse eines Einkristalls von **69**, kristallisiert aus Wasser/Methanol in Gegenwart von Na_2SO_4 .

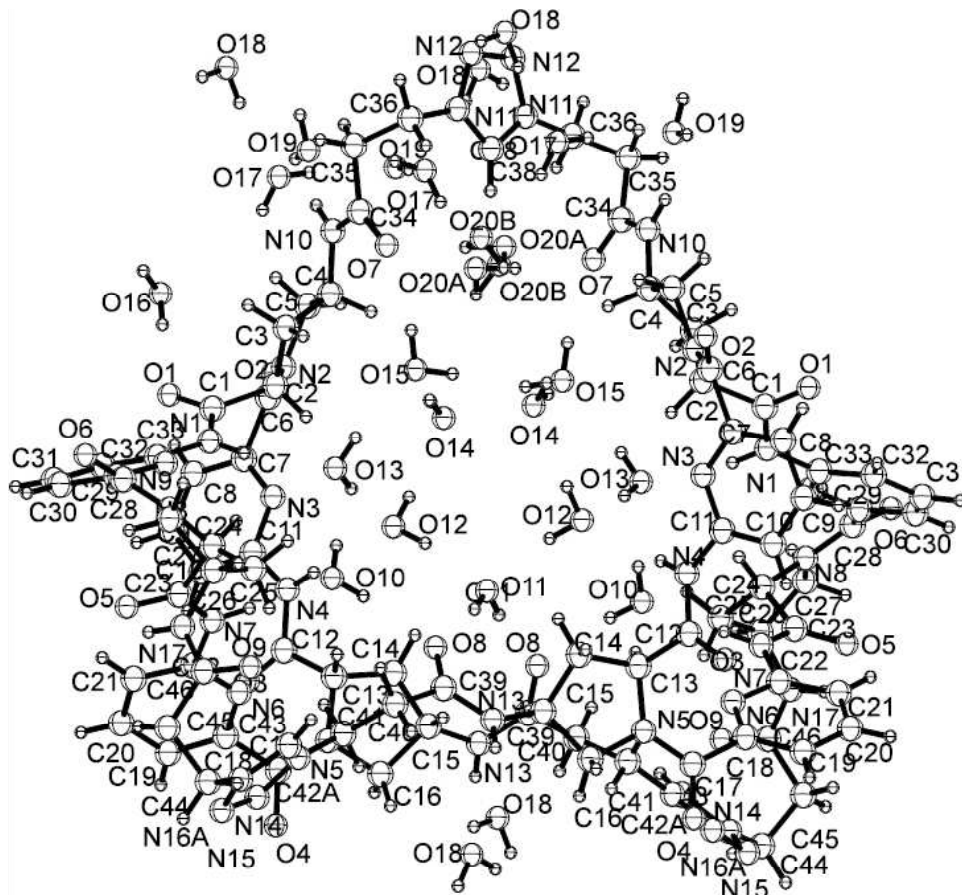


Abbildung 94: Kristallstruktur von **69**. Ellipsoide umschließen den Bereich mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Die Wasserstoffatome werden als Kugeln mit arbiträren Radien dargestellt.

Einkristalle von 69 wurden sowohl aus Wasser/Acetonitril- als auch aus Wasser/Methanol-Mischungen in Gegenwart und Abwesenheit von Na_2SO_4 erhalten. Dabei kristallisierte die Kapsel mit 21 Wassermolekülen, unabhängig vom verwendeten Lösungsmittelgemisch oder dem Vorhandensein von Sulfat in Lösung. Es wurden sieben Kristalle aus verschiedenen Kristallisationsansätzen untersucht und keiner der Kristalle enthielt Sulfat im Hohlraum der Kapsel. In allen Kristallen wies das Wasser eine ähnliche Ordnung auf und die Einheitszellen sowie die Kristallstrukturen waren innerhalb der Standardabweichungen vergleichbar. Die Kristalle, die in Gegenwart von Na_2SO_4 erhalten wurden, schienen größer zu sein. Nachfolgend sind die Kristallstrukturdaten von zwei Kristallen aufgeführt, die in Gegenwart und Abwesenheit von Sulfat erhalten wurden.

Kristallstrukturdaten von **69** (gezüchtet in Abwesenheit von Na₂SO₄):

[C₉₀H₉₃N₃₃O₁₈]·21[H₂O], Wasser/Acetonitril, $M_r = 2303.31 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, farblose Plättchen, Kristallgröße: 0.023 x 0.093 x 0.208 mm³, monoklin, Raumgruppe *C2*, $a = 30.733(4) \text{ \AA}$, $b = 17.847(3) \text{ \AA}$, $c = 10.6118(15) \text{ \AA}$, $\beta = 99.240(2)^\circ$, $V = 5745.1(14) \text{ \AA}^3$, $T = 250 \text{ K}$, $Z = 2$, $D_{\text{calc}} = 1.331 \text{ g} \cdot \text{cm}^3$, λ (Synchrotron-Strahlung) = 0.8 \AA , $\mu = 0.106 \text{ mm}^{-1}$, Gaußsche Absorptionskorrektur ($T_{\text{min}} = 0.85382$, $T_{\text{max}} = 0.98126$), die Messdaten wurden mit SADABS skaliert, Bruker AXS Smart Apex2 Diffraktometer, ANKA Synchrotron Anlage, Karlsruhe, $1.49 < \theta < 32.03$, 71125 gemessene Reflexe, 6960 unabhängige Reflexe, 6226 Reflexe mit $I > 2 \sigma(I)$. Strukturlösung durch Charge Flipping (Superflip). Strukturverfeinerung nach der Methode des kleinsten Quadrats, wobei $\Sigma[(F_o^2 - F_c^2)^2]$ minimiert wurde (*SHELXL*), zu $R_I = 0.0354 [I > 2\sigma(I)]$, $wR_2 = 0.0974$, 783 Parameter. Die Daten zeigten wenig anomale Streuung und Friedel Paare wurden gemittelt.

Aufgrund der kleinen Größe des untersuchten Kristalls wurden nur 96 % der Daten mit einer Auflösung von 0.75 \AA gesammelt. Die Symmetrie der Kapsel stimmt nicht mit der Kristallsymmetrie überein. Da jedes Kapselmolekül auf einer kristallographischen zweizähligen Achse sitzt, die durch C5 und einen der Triazolinker geht, müssen die N1 und C4 Positionen dieses Triazolrings fehlgeordnet sein. Wenn ein Triazolring fehlgeordnet ist, müssen alle drei Triazolringe fehlgeordnet sein, da die Kapsel durch die kovalente Verknüpfung eines Cyclohexapeptids mit drei Alkylsubstituenten und eines mit drei Azidsubstituenten gebildet wurde. Daher müssen die N1 Positionen der drei Triazolringe gleich orientiert sein.

Die Darstellung der Fehlordnung der Triazolringe erfolgte durch die Belegung jedes N1 und C4 durch C und N mit jeweils halber Belegung und gleicher ADP für C und N.

Das O-Atom O20 des Kristallwassers ist über zwei Positionen (O20A and O20B) fehlgeordnet. Die relativen Belegungen wurden verfeinert und konvergierten mit einer Belegung von 0.694(11) für O20A. Alle Wasserstoffatome konnten durch eine Differenz Fourier Synthese lokalisiert werden; ihre Positionen wurden anschließend mittels eines Riding Model-Verfahrens verfeinert. Um die Zahl der Parameter zu reduzieren, ohne das Modell zu beeinträchtigen, wurden die ADP der H-Atome der Wassermoleküle als 120 % des ADP der O-Atome festgelegt, an die sie gebunden waren. Die O-H Abstände wurden bei 0.84 \AA gehalten mit einer Standardunsicherheit von 0.02.

In der Einheitszelle befindet sich in einer hydrophoben Region ein Hohlraum von 35 \AA^3 ; in diesem Bereich wurde jedoch durch die endgültige Differenz Fourier Synthese keine Elektronendichte festgestellt. $S = 1.016$, Restelektronendichte +0.20 / -0.33 e \AA^{-3} . CCDC 763645.

Kristallstrukturdaten von 69 (gezüchtet in Gegenwart von Na₂SO₄):

[C₉₀H₉₃N₃₃O₁₈]·21[H₂O], Wasser/Methanol, $M_r = 2303.31 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, farblose Plättchen, Kristallgröße: 0.320 x 0.322 x 0.862 mm³, monoklin, Raumgruppe C2, $a = 30.6638(10) \text{ \AA}$, $b = 17.7503(6) \text{ \AA}$, $c = 10.5374(4) \text{ \AA}$, $\beta = 99.197(1)^\circ$, $V = 5661.7(3) \text{ \AA}^3$, $T = 100 \text{ K}$, $Z = 2$, $D_{\text{calc}} = 1.351 \text{ g} \cdot \text{cm}^3$, $\lambda (\text{Cu-K}\alpha) = 1.54178 \text{ \AA}$, $\mu = 0.909 \text{ mm}^{-1}$, Gaußsche Absorptionskorrektur ($T_{\text{min}} = 0.50740$, $T_{\text{max}} = 0.82840$), die Messdaten wurden mit SADABS skaliert, Bruker AXS Proteum X₈ Diffraktometer, $2.89 < \theta < 66.66$, 64165 gemessene Reflexe, 9649 unabhängige Reflexe, 9570 Reflexe mit $I > 2 \sigma(I)$. Strukturlösung durch Charge Flipping (Superflip). Strukturverfeinerung nach der Methode des kleinsten Quadrats, wobei $\Sigma[(F_o^2 - F_c^2)^2]$ minimiert wurde (SHELXL), zu $R_I = 0.0256 [I > 2\sigma(I)]$, $wR_2 = 0.0682$, 783 Parameter.

Die Symmetrie der Kapsel stimmt nicht mit der Kristallsymmetrie überein. Da jedes Kapselmolekül auf einer kristallographischen zweizähligen Achse sitzt, die durch C5 und einen der Triazolinker geht, müssen die N1 und C4 Positionen dieses Triazolrings fehlgeordnet sein. Wenn ein Triazolring fehlgeordnet ist, müssen alle drei Triazolringe fehlgeordnet sein, da die Kapsel durch die kovalente Verknüpfung eines Cyclohexapeptids mit drei Alkylsubstituenten und eines mit drei Azidsubstituenten gebildet wurde. Daher müssen die N1 Positionen der drei Triazolringe gleich orientiert sein.

Die Darstellung der Fehlordnung der Triazolringe erfolgte durch die Belegung jedes N1 und C4 durch C und N mit jeweils halber Belegung und gleicher ADP für C und N.

Das O-Atom O20 des Kristallwassers ist über zwei Positionen (O20A and O20B) fehlgeordnet. Die relativen Belegungen wurden verfeinert und konvergierten mit einer Belegung von 0.820(4) für O20A. Alle Wasserstoffatome konnten durch eine Differenz Fourier Synthese lokalisiert werden; ihre Positionen wurden anschließend mittels eines Riding Model-Verfahrens verfeinert. Die Wasser-H-Atome wurden zuerst isotrop zur Konvergenz verfeinert. Sie gaben einen mittleren O-H Abstand von 0.89(8) Å und ADP von 0.06(3) Å². Um die Zahl der Parameter zu reduzieren ohne das Modell zu beeinträchtigen wurden die ADP der H-Atome der Wassermoleküle als 120 % des ADP der O-Atome festgelegt, an die sie gebunden waren. Die O-H Abstände wurden bei 0.84 Å gehalten mit einer Standardunsicherheit von 0.02.

In der Einheitszelle befindet sich in einer hydrophoben Region ein Hohlraum von 33 Å³; in diesem Bereich wurde jedoch durch die endgültige Differenz Fourier Synthese keine Elektronendichte festgestellt. $S = 1.016$, Restelektronendichte +0.20 / -0.33 e Å⁻³. CCDC 763646.

- [1] Langenscheidt Handwörterbuch Lateinisch-Deutsch, 9. Aufl., München, **2005**, bearbeitet von Dr. Erich Pertsch auf der Grundlage des Menge-Gäthling.
- [2] www.wikipedia.de; Stichwort Kapsel, Stand 10/2009.
- [3] Thieme Chemistry (Hrsg.): RÖMPP Online - Version 3.4. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart 2009.
- [4] H. Lautenschläger, in *Handbook of Cosmetic Science and Technology* (Eds.: A. O. Barel, M. Paye, H. I. Maibach), **2006**, 155.
- [5] B. Städler, R. Chandrawati, A. D. Price, S.-F. Chong, K. Breheney, A. Postma, L. A. Connal, A. N. Zelikin, F. Caruso, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4359.
- [6] C. H. Park, H. E. Simmons, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 2431.
- [7] B. Dietrich, J.-M. Lehn, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *15*, 1225.
- [8] J.-M. Lehn, *Acc. Chem. Res.* **1978**, *11*, 49.
- [9] J.-M. Lehn, E. Sonveaux, A. K. Willard, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 4914.
- [10] T. Clifford, A. Danby, J. M. Llinares, S. Mason, N. W. Alcock, D. Powell, J. A. Aguilar, E. G. -España, K. Bowman-James, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 4710.
- [11] S. O. Kang, D. Powell, K. Bowman-James, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13478.
- [12] J. A. Aguilar, T. Clifford, A. Danby, J. M. Llinares, S. Mason, E. García-España, K. Bowman-James, *Supramol. Chem.* **2001**, *11*, 405 .
- [13] Y. Dussart, C. Harding, P. Dalgaard, C. McKenzie, R. Kadirvelraj, V. McKee, J. Nelson, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2002**, 1704.
- [14] C. A. Ilioudis, M. J. Bearpark, J. W. Steed, *New J. Chem.* **2005**, *29*, 64.
- [15] M. V. Baker, M. J. Bosnich, C. C. Williams, B. W. Skelton, A. H. White, *Aust. J. Chem* **1999**, *52*, 823.
- [16] S. O. Kang, V. W. Day, K. Bowman-James, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2677.
- [17] A. Lélias-Vanderperre, J.-C. Chambron, E. Espinosa, P. Terrier, E. Leize-Wagner, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2961.
- [18] H. Masu, K. Katagiri, T. Kato, H. Kagechika, M. Tominaga, I. Azumaya, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 5143.
- [19] M. Ayabe, S. Shinkai, in *TCI America Research Articles*, **2004**.
- [20] R. Warmuth, J. Yoon, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 95.
- [21] D. J. Cram, S. Karbach, Y. H. Kim, L. Baczynskyj, G. W. Kallemeyn, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 2575.
- [22] D. J. Cram, M. E. Tanner, C. B. Knobler, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7717.
- [23] T. Brotin, J.-P. Dutasta, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 88.

- [24] J. Gabard, A. Collet, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1981**, 1137.
- [25] H. A. Fogarty, P. Berthault, T. Brotin, G. Huber, H. Desvaux, J.-P. Dutasta, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10332.
- [26] V. Böhmer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 713.
- [27] K. D. Shimizu, J. Rebek, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1995**, *92*, 12403.
- [28] I. Vatsouro, V. Rudzevich, V. Böhmer, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1375.
- [29] D. Braekers, C. Peters, A. Bogdan, Y. Rudzevich, V. Böhmer, J. F. Desreux, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 701.
- [30] G. A. Jeffrey, *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer, Berlin, **1991**.
- [31] R. Wyler, J. d. Mendoza, J. Rebek, Jr., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1993**, *32*, 1699.
- [32] L. C. Palmer, J. Rebek, Jr., *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3051.
- [33] A. Scarso, L. Trembleau, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13512.
- [34] B. C. Gibb, in *Organic Nanostructures* (Eds.: J. L. Atwood, J. W. Steed), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2008**.
- [35] S. Liu, B. C. Gibb, *Chem. Commun.* **2008**, *32*, 3693.
- [36] M. Yoshizawa, J. K. Klosterman, M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3418.
- [37] P. J. Stang, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2.
- [38] X. Liu, R. Warmuth, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14120.
- [39] D. A. Makeiff, J. C. Sherman, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12363.
- [40] L. Avram, Y. Cohen, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1505.
- [41] A. V. Leontiev, A. W. Saleh, D. M. Rudkevich, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1753.
- [42] S. O. Kang, D. Powell, V. W. Day, K. Bowman-James, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1921.
- [43] T. S. Koblenz, J. Wassenaar, J. N. H. Reek, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 247.
- [44] D. J. Cram, M. E. Tanner, R. Thomas, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1991**, *30*, 1024.
- [45] R. Warmuth, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *37*, 1347.
- [46] V. M. Dong, D. Fiedler, B. Carl, R. G. Bergman, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14464.
- [47] J. Chen, J. Rebek, Jr., *Org. Lett.* **2002**, *4*, 327.
- [48] D. H. Leung, R. G. Bergman, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9781.
- [49] H. Ishida, M. Suga, K. Donowaki, K. Ohkubo, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5374.
- [50] S. Kubik, R. Goddard, R. Kirchner, D. Nolting, J. Seidel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2648.
- [51] S. Kubik, R. Goddard, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 5127.

- [52] S. Kubik, R. Kirchner, D. Nolting, J. Seidel, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12752.
- [53] C. Reyheller, Dissertationsschrift, Technische Universität Kaiserslautern, **2007**.
- [54] S. Kubik, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 585.
- [55] S. J. Rowan, S. J. Cantrill, G. R. L. Cousins, J. K. M. Sanders, J. F. Stoddart, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 898.
- [56] P. T. Corbett, J. Leclaire, L. Vial, K. R. West, J.-L. Wietor, J. K. M. Sanders, S. Otto, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3652.
- [57] X. Liu, Y. Liu, R. Warmuth, *Supramol. Synth.* **2008**, *20*, 41.
- [58] K. R. West, K. D. Bake, S. Otto, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2615.
- [59] P. Skowronek, J. Gawronski, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4755.
- [60] D. Astruc, *New J. Chem.* **2005**, *29*, 42.
- [61] R. H. Grubbs, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7117.
- [62] *Handbook of Metathesis*, Vol. 1-3, (Ed.: R. H. Grubbs), Wiley-VCH, Weinheim, **2003**
- [63] T. M. Trnka, R. H. Grubbs, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 18.
- [64] A. Fürstner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3012.
- [65] K. C. Nicolaou, P. G. Bulger, D. Sarlah, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4490.
- [66] Y. Chauvin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3741.
- [67] R. R. Schrock, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3748.
- [68] R. H. Grubbs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3760.
- [69] A. Gradillas, J. Pérez-Castells, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6086.
- [70] M. Schuster, S. Blechert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 2036.
- [71] A. K. Chatterjee, in *Handbook of Metathesis*, Vol. 2 (Ed.: R. H. Grubbs), Wiley-VCH, Weinheim, **2003**, 246.
- [72] A. K. Chatterjee, T.-L. Choi, D. P. Sanders, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11360.
- [73] J.-L. Hérisson, Y. Chauvin, *Makromol. Chem.* **1971**, *141*, 161.
- [74] I. C. Stewart, C. J. Douglas, R. H. Grubbs, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 441.
- [75] M. Scholl, S. Ding, C. W. Lee, R. H. Grubbs, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 953.
- [76] L. Ackermann, A. Fürstner, T. Weskamp, F. J. Kohl, W. A. Herrmann, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4787.
- [77] T. Weskamp, W. C. Schattenmann, M. Spiegler, W. A. Herrmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2490.
- [78] C. Samojlowicz, M. Bieniek, K. Grela, *Chem. Rev.* **2009**.
- [79] D. Burtscher, K. Grela, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 442.

- [80] J. S. Kingsbury, J. P. A. Harrity, P. J. Bonitatebus, Jr., A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 791.
- [81] F. Boeda, H. Clavier, S. P. Nolan, *Chem. Commun.* **2008**, 2726.
- [82] Y. Schrodi, R. L. Pederson, *Aldrichimica Acta* **2007**, *40*, 45.
- [83] L. Li, J.-l. Shi, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1745.
- [84] F. Michalek, W. Bannwarth, *Helv Chim Acta* **2006**, *89*, 1030.
- [85] D. Fischer, S. Blechert, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1329.
- [86] V. Böhmer, Y. Rudzevich, V. Rudzevich, *Macromol. Symp.* **2010**, 287, 42.
- [87] O. Molokanova, M. O. Vysotsky, Y. Cao, I. Thondorf, V. Böhmer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8051.
- [88] T. D. Clark, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12364.
- [89] T. D. Clark, K. Kobayashi, M. R. Ghadiri, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 782 .
- [90] L. J. Prins, P. Scrimin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2288.
- [91] V. Martinez, J.-C. Blais, G. Bravic, D. Astruc, *Organometallics* **2004**, *23*, 861.
- [92] S. E. Lehman Jr., J. E. Schwendeman, P. M. O'Donnell, K. B. Wagener, *Inorg. Chim. Acta.* **2003**, *345*, 190.
- [93] A. Fürstner, O. R. Thiel, L. Ackermann, H.-J. Schanz, S. P. Nolan, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2204.
- [94] S. Kotha, K. Mandal, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 5387.
- [95] S. J. Connon, S. Blechert, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1873.
- [96] J. P. Jordan, R. H. Grubbs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *119*, 5244.
- [97] F. C. Curchay, J. C. Sworen, I. Ghiviriga, K. A. Abboud, K. B. Wagener, *Organometallics* **2006**, *25*, 6074.
- [98] M. B. Dinger, J. C. Mol, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 2827.
- [99] R. Raju, L. J. Allen, T. Le, C. D. Taylor, A. R. Howell, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1699.
- [100] K. Vehlouw, S. Gessler, S. Blechert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8082.
- [101] S. Hanessian, S. Giroux, A. Larsson, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5481.
- [102] B. Schmidt, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1865.
- [103] D. Finnegan, B. A. Seigal, M. L. Snapper, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2603.
- [104] V. Böhrsch, S. Blechert, *Chem. Commun.* **2006**, 1968.
- [105] B. Schmidt, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7672.
- [106] S. H. Hong, D. P. Sanders, C. W. Lee, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17160.

- [107] J. M. Berlin, K. Campbell, T. Ritter, T. W. Funk, A. Chlenov, R. H. Grubbs, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1339.
- [108] J. Moise, S. Arseniyadis, J. Cossy, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1695.
- [109] C. Bai, X. Lu, R. He, W. Zhang, X. Feng, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 4139.
- [110] B. R. McNaughton, K. M. Bucholtz, A. Camaano-Moure, B. L. Miller, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 733.
- [111] P. Formentín, N. Gimeno, J. H. G. Steinke, R. Vilar, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8235.
- [112] N. Gimeno, P. Formentín, J. H. G. Steinke, R. Vilar, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 918.
- [113] T. Fiehn, *Diplomarbeit*, Technische Universität Kaiserslautern, **2005**.
- [114] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004.
- [115] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596.
- [116] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057.
- [117] M. E. C. Biffin, J. Miller, D. B. Paul, in *The Azido Group* (Ed.: S. Patai), John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, UK, **1971**.
- [118] L. Zhang, X. Chen, P. Xue, H. H. Y. Sun, I. D. Williams, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, G. Jia, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998.
- [119] B. C. Boren, S. Narayan, L. K. Rasmussen, L. Zhang, H. Zhang, Z. Lin, G. Jia, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8923.
- [120] P. Wu, V. V. Fokin, *Aldrichimica Acta* **2007**, *40*, 7.
- [121] V. D. Bock, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 51.
- [122] T. R. Chan, R. Hilgraf, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2853.
- [123] F. Perez-Balderas, M. Ortega-Munoz, J. Morales-Sanfrutos, F. Hernandez-Mateo, F. G. Calvo-Flores, J. A. Calvo-Asin, J. Isac-García, F. Santoyo-Gonzalez, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1951.
- [124] P. Wu, A. K. Feldman, A. K. Nugent, C. J. Hawker, A. Scheel, B. Voit, J. Pyun, J. M. J. Fréchet, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*.
- [125] M. Meldal, C. Wenzel Tornøe, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2952.
- [126] Y. Li, A. H. Flood, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2649.
- [127] H. Juwarker, J. M. Lenhardt, J. C. Castillo, E. Zhao, S. Krishnamurthy, R. M. Jamiolkowski, K.-H. Kim, S. L. Craig, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8924.
- [128] R. M. Meudtner, S. Hecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4926.
- [129] M. D. Best, *Biochemistry* **2009**, *48*, 6571.
- [130] J. E. Moses, A. D. Moorhouse, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1249.

- [131] F. Amblard, J. H. Cho, R. F. Schinazi, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4207.
- [132] G. C. Tron, T. Pirali, R. A. Billington, P. L. Canonico, G. Sorba, A. A. Genazzani, *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 278.
- [133] J.-F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1018.
- [134] R. E. Looper, D. Pizzirani, S. L. Schreiber, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2063.
- [135] R. A. Turner, A. G. Oliver, R. S. Lokey, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5011.
- [136] V. D. Bock, R. Perciaccante, T. P. Jansen, H. Hiemstra, J. H. van Maarseveen, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 919.
- [137] J. Lietard, A. Meyer, J.-J. Vasseur, F. Morvan, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 191.
- [138] J. Morales-Sanfrutos, M. Ortega-Muoz, J. Lopez-Jaramillo, F. Hernandez-Mateo, F. Santoyo-Gonzalez, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7772.
- [139] K. Banert, J. Wutke, T. Rüffer, H. Lang, *Synthesis* **2008**, *16*, 2603.
- [140] Y. Li, K. M. Mullen, T. D. W. Claridge, P. J. Costa, V. Felix, P. D. Beer, *Chem. Commun.* **2009**, 7134.
- [141] S. Otto, S. Kubik, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7804.
- [142] S. Stüwe, Dissertationsschrift, Technische Universität Kaiserslautern, **2007**.
- [143] B. P. Gangamani, V. A. Kumar, K. N. Ganesh, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 15017.
- [144] A. Fisher, A. Mann, V. Verma, N. Thomas, R. K. Mishra, R. L. Johnson, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 307.
- [145] A. Janecka, T. Janecki, S. Shan, C. Bowers, K. Folkers, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2238.
- [146] B. P. Paulson, R. L. Pederson, in *FreePatentsOnline.com*, Tilliechem, Inc. (San Gabriel, CA, US), United States, **2005**.
- [147] I. C. Stewart, T. Ung, A. A. Pletnev, J. M. Berlin, R. H. Grubbs, Y. Schrodi, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1589.
- [148] C. Prévost, M. Gaudemar, J. Honigberg, *Compt. Rend.* **1950**, *230*, 1186.
- [149] I. Heilbron, Sir, E. R. H. Jones, F. Sondheimer, *J. Chem. Soc.* **1949**, 604.
- [150] B. C. Holland, N. W. Gilman, *Synth. Commun.* **1974**, *4*, 203.
- [151] L. Schmieder-van de Vondervoort, S. Bouttemy, J. M. Padrón, J. L. Bras, J. Muzart, P. L. Alsters, *Synlett* **2002**, *2*, 243.
- [152] J. H. Boyer, J. Hamer, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 951.
- [153] D. Hoppe, M. Kloft, *Liebigs Ann. Chem.* **1980**, *1980*, 1512.
- [154] C. Reyheller, B. P. Hay, S. Kubik, *New J. Chem.* **2007**, *31*, 2095.
- [155] J. H. Boyer, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 5248.
- [156] C. A. G. N. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827.

- [157] V. P. Rajappan, R. S. Hosmane, *Synth. Commun.* **1998**, *28*, 753.
- [158] P. A. Brady, J. K. M. Sanders, *New J. Chem.* **1998**, *22*, 411.
- [159] T. Becherer, D. Meshcheryakov, A. Springer, V. Böhmer, C. A. Schalley, *J. Mass. Spectrom.* **2009**, *44*, 1338.
- [160] E. Kalenius, P. Vainiotalo, *Spectrosc. Eur.* **2008**, *20*, 13.
- [161] B. Baytekin, H. T. Baytekin, C. A. Schalley, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2825.
- [162] Y. Li, A. H. Flood, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12111.
- [163] Y. Li, M. Pink, J. A. Karty, A. H. Flood, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 17293.
- [164] A. Kumar, P. S. Pandey, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 165.
- [165] H. Juwarker, J. M. Lenhardt, D. M. Pham, S. L. Craig, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3740.
- [166] M. D. Pluth, K. N. Raymond, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 161.
- [167] F. P. Schmidtchen, in *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry* (Ed.: C. A. Schalley), WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2007**, 55.
- [168] M. Berger, F. P. Schmidtchen, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9986.
- [169] Z. Rodriguez-Docampo, S. I. Pascu, S. Kubik, S. Otto, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11206.
- [170] Macromodel 9.0 mit Maestro interface, Schrödinger Inc.; Strukturoptimisierung: Monte-Carlo mit MMFF94S Kraftfeld mit GB/SA Wassermmodell, 500 Schritte; Molekulardynamik: 100 ps, 25 °C, alle 10 ps wurde eine Aufnahme der Struktur gemacht.
- [171] M. Yoshizawa, T. Kusukawa, M. Kawano, T. Ohhara, I. Tanaka, K. Kurihara, N. Niimura, M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2798.
- [172] M. V. Rekharsky, Y. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12361.
- [173] R. Prohens, S. Tomàs, J. Morey, P. M. Deyà, P. Ballester, A. Costa, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1063.
- [174] Y. Marcus, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 3880.
- [175] A. Pastor, E. Martínez-Viviente, *Coord. Chem. Rev.* **2008**, *252*, 2314.
- [176] M. Pons, O. Millet, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectros.* **2001**, *38*, 267.
- [177] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie, 4. Auflage*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2006**.
- [178] F. A. Bovey, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2. ed., **1988**.
- [179] N. E. Jacobsen, *NMR Spectroscopy Explained*, Wiley-Interscience, **2007**.

- [180] M. Lobert, H. Bandmann, U. Burkert, U. P. Büchele, V. Podsadlowski, F.-G. Klärner, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 1629.
- [181] C. L. Perrin, T. J. Dwyer, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 935.
- [182] I. D. Gridnev, N. U. Zhanpeisov, M. K. C. del Rosario, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 12498.
- [183] Mestrelab Research Application Note, **2007**, *EXSY CALC: NMR analysis of molecular systems undergoing chemical exchange*
- [184] J. C. Cobas, M. Martin-Pastor, EXSYCalc, Version 1.0, MestReC, **2004**
- [185] S. Macura, R. R. Ernst, *Mol. Phys.* **1980**, *41*, 95.
- [186] K. Kataoka, S. Okuyama, T. Minami, T. D. James, Y. Kubo, *Chem. Commun.* **2009**, 1682.
- [187] M. Yamanaka, A. Shivanyuk, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2939.
- [188] J. Nakazawa, Y. Sakae, M. Aida, Y. Naruta, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9448.
- [189] C. L. D. Gibb, B. C. Gibb, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 4857.
- [190] T. Yvernault, G. Yvernault, J. C. Bollinger, *C. R. Acad. Sci. Paris* **1978**, *287*, 519.
- [191] J. Coste, E. Frérot, P. Jouin, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2436.
- [192] M. Tamaki, G. Han, V. J. Hruby, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3593.
- [193] C. Greck, L. Bischoff, F. Ferreira, J. P. Genet, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7010.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. S. Kubik für die Bereitstellung des interessanten Themas, sowie die gute Betreuung und unkomplizierte Diskussionsbereitschaft die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Für die Anfertigung der NMR-Spektren und zeitaufwändigen kinetischen Untersuchungen danke ich Christiane Müller.

Für Durchführung der Röntgenstrukturanalysen und Lösung der Struktur danke ich Richard Goddard sowie Rüdiger Seidel.

Weiterer Dank geht an die Mitarbeiter in der Physikalischen Chemie, Fabian Menges, Stefan Ambrus, Anita Langutschenkov sowie Britta Pfeffer für die Aufnahme der ESI-MS Spektren, der Analytischen Abteilung mit Birgit Dusch, Elke Biehl und Markus Weyland für die C,H,N-Analysen und chromatographische Unterstützung, dem Team der Chemikalienausgabe Jürgen Rahm, Frank Schröer und Ludvik Napast für die Versorgung mit Chemikalien und ihren Kampfgeist bei den ChemCups, sowie den Mitarbeitern der Glasbläserei für die Reparatur und Anfertigung diverser Glasgeräte.

Ich danke den Mitarbeitern der Arbeitskreise Dr. J. Hartung und Dr. L. Goößen für die freundliche Zusammenarbeit.

Für die Unterstützung bei den Arbeiten zu meinem Promotionsthema und weiteren Nebenprojekten möchte ich mich bei den Forschungspraktikanten Chai Wenquiang, Christian Lothschütz, Irina Kempter, Johannes Pitsch, Carola Filz sowie dem Auszubildenden Jakob Specht bedanken, sowie bei Kevin Yehl, dessen Forschungsaufenthalt vom DAAD gefördert wurde.

Bedanken möchte ich mich bei meinen Weggefährten aus den Zeiten des Studiums, die sich erst über die Fachbereiche und Fachrichtungen und anschließend über den halben Erdball verteilt haben.

Besonders danken möchte ich meine Kollegen der ersten und zweiten Generation, Carsten Reyheller, Sabine Stüwe, Martin Meng, Christine „Tine“ Richter, Eugenia „Jenny“ Petkova

Eugenieva, Martin Krause, Astrid Schaly, Laura Gilberg, Raquel „Raki“ Belda-Vidal und Michael Zengerle für die freundliche Aufnahme im Arbeitskreis, das gute Arbeitsklima, die zahlreichen Diskussionen über und jenseits der Chemie, die Mensagespräche und Kaffeepausen, das Teilen von Freude, Frust, Ideen und Chemikalien, Anregungen und Kritik, sowie für viele gemeinsame Unternehmungen.

Zuletzt danke ich all denen, die ich hier namentlich vergessen habe, die aber ebenfalls zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Für die finanzielle Unterstützung danke ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Last but not least danke ich meinem Schatz und Weggefährtin Esther, für ihre Ausdauer und Geduld bei der Entstehung dieser Arbeit, sowie meinen Eltern für ihre Unterstützung während meines Studiums.

Ich danke allen für die schöne Zeit in Kaiserslautern.

Lebenslauf

Name	Thomas Fiehn
Geburtsdatum	17.05.1979
Geburtsort	Mannheim-Neckarau

Schulbildung:

08/1989-07/1998	Peter-Petersen-Gymnasium, Mannheim
07/1998	Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife

Hochschulstudium:

10/1999-11/2005	Studium der Chemie an der Technischen Universität Kaiserslautern
10/2001	Vordiplom
11/2005	Diplom
12/2005	Beginn der Promotion an der Technischen Universität Kaiserslautern im Arbeitskreis von Prof. Dr. S. Kubik
12/2005-12/2008	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern