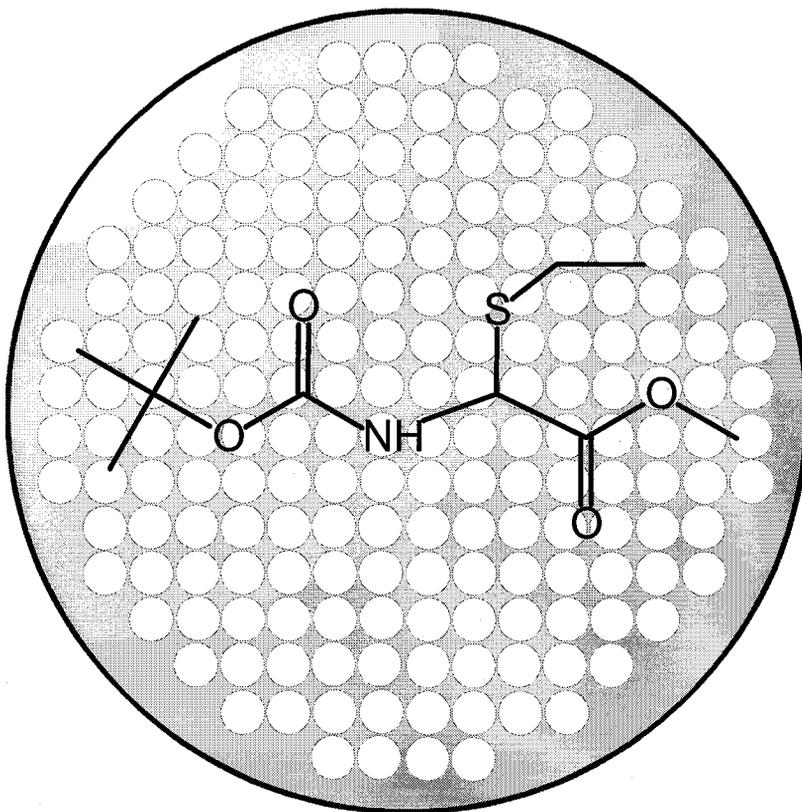


Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

# Verwendung von $\alpha$ -(Alkylthio)glycinen zur Festphasensynthese modifizierter Peptide und Synthese von RGD-Cyclopeptiden



von  
**Christian Miksch**  
aus München

2001

### **Erklärung**

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 13 Abs. 3 bzw. 4 der Promotionsordnung vom 29. Januar 1998 von Herrn Prof. Dr. W. Steglich betreut.

### **Ehrenwörtliche Versicherung**

Diese Dissertation wurde selbständig, ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, am 01.06.2001



*Christian Miksch*

Dissertation eingereicht am 01.06.2001

1. Gutachter: Prof. Dr. W. Steglich
2. Gutachter: Prof. Dr. T. Lindel

Mündliche Prüfung am 20.06.2001

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 1998 bis Mai 2001 unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. W. Steglich am Institut für Organische Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem verehrten Lehrer, *Herrn Prof. Dr. W. Steglich* für die interessante Themenstellung und die große Freiheit, die er mir bei der Gestaltung der einzelnen Projekte gegeben hat. Zahlreiche Anregungen und Diskussionen, sowie seine spürbare Begeisterung für die Chemie haben mich immer motiviert.

*Herrn Prof. Dr. Lindel* danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Weiterhin gilt mein Dank:

Frau Sabine Voß für die große Unterstützung bei der chemischen und verwaltenden Arbeit. Ihr Interesse an der Arbeit und ein gutes Arbeitsklima waren für den Fortgang dieser Arbeit sehr wichtig.

Den Herren Dr. C. Paulitz, Dr. M. Heidl und Dr. C. Stark, sowie den Damen K. Zeitler, Dr. U. Herr besonders für zahlreiche Diskussionen über synthetische, präparative und analytische Probleme.

Der gesamten analytischen Abteilung des Instituts für Organische Chemie, besonders aber Herrn Dr. W. Spahl für die Aufnahme unzähliger Massenspektren.

Frau. E. Lenz und Frau H. Merten für die hervorragende Betreuung und Unterstützung in administrativen Belangen.

Herrn M. Gayer und Herrn Dr. Arnold für die gute Zusammenarbeit bei den verwaltenden Aufgaben.

Allen Arbeitskreismitgliedern für die freundschaftliche Atmosphäre und die kollegiale Zusammenarbeit, insbesondere meinen Laborkollegen/innen A. Bartsch, H. Ebel, B. Irlinger, S. Voß, M. Winner und den Damen N. Ermel, Dr. N. Fehling, G. Gruber, Dr. L. Kahner, Dr. U. Herr, K. Zeitler und den Herren Dr. N. Arnold, Dr. R. Fehling, Dr. M. Heidl, M. Heinrich, A. Kreipl, S. Kroiss, M. Lang, C. Peschko, Dr. B. Sonntag, S. Spittler, Dr. C. Stark, Dr. G. Wille, Dr. C. Winklhofer.

S. Kroiss und Dr. M. Ried für die kritische und konstruktive Durchsicht des Manuskripts.

*Für meine Eltern und Elke*

---

# Inhaltsverzeichnis

<b>I. Zusammenfassung</b> .....	<b>1</b>
<b>II. Allgemeiner Teil</b> .....	<b>7</b>
<b>1. Wirkstoffentwicklung</b> .....	<b>7</b>
1.1. Einleitung .....	7
1.2. Methoden in der Wirkstoffentwicklung .....	8
1.2.1. Vergleich von Synthese an der festen Phase und in Lösung .....	8
1.2.2. Prinzip der kombinatorischen organischen Synthese .....	10
1.2.3. Entschlüsselung von Substanzgemischen .....	12
<b>2. Cyclopeptide</b> .....	<b>15</b>
2.1. Cyclopeptide in der Natur .....	15
2.2. Prinzip der Cyclopeptide .....	16
2.3. Cyclopeptidsynthese .....	19
2.3.1. Einleitung .....	19
2.3.2. Cyclopeptidsynthese an der Festphase .....	20
2.3.3. Peptidmimetica .....	22
<b>3. Entwicklung der RGD-Peptide</b> .....	<b>25</b>
3.1. Einleitung .....	25
3.2. Entwicklung von $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten .....	27
<b>III. Spezieller Teil</b> .....	<b>31</b>
<b>4. Ziele der Arbeit</b> .....	<b>31</b>
<b>5. Verwendung von <math>\alpha</math>-(Ethylthio)glycin zur Synthese modifizierter Peptide</b> .....	<b>33</b>
<b>6. Modifizierung von c(RGDfV) (43) mittels <math>\alpha</math>-(Ethylthio)glycin</b> .....	<b>37</b>
6.1. Vergleich von Boc- und Fmoc-Chemie .....	37
6.2. Asparaginsäure-Modifizierung von c(RGDfV) (43) .....	39
6.2.1. Cyclopeptidsynthese mit dem Kaiser-Harz (19) .....	39
6.2.2. Synthese mit dem TCP-Harz (78) .....	41
6.2.2.1. Einleitung .....	41

6.2.2.2. Wahl der Argininseitenketten-Schutzgruppe .....	43
6.2.2.3. Synthese von $c[{}^D\text{FVRG}{}^{D,L}\text{G}(\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H})]$ (98 a-d) .....	44
6.3. Arginin-Modifizierung von $c(\text{RGDFV})$ (43) .....	49
6.3.1. Synthese von Thiolen .....	49
6.3.2. Synthese von Aminen .....	51
6.3.3. Synthese mit dem Thio-Harz (124) .....	53
6.3.3.1. Einleitung .....	53
6.3.3.2. Wahl der Asparaginsäure-Seitenkettenschutzgruppe .....	57
6.3.3.3. Synthese von $c[\text{GD}{}^D\text{FV}{}^{D,L}\text{G}(\text{S}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2)]$ (150 a-d) .....	57
<b>7. SAR-Untersuchung .....</b>	<b>61</b>
7.1. Strukturberechnung .....	61
7.1.1. Einleitung .....	61
7.1.2. Strukturberechnung synthetisierter Cyclopeptide .....	62
7.2. Biologische Testung und Schlußfolgerungen.....	64
<b>8. Verwendung von <math>\alpha</math>-(Ethylthio)glycin an der Festphase .....</b>	<b>67</b>
8.1. Einleitung .....	67
8.2. Polymere in der Festphasenchemie .....	68
8.3. Harzwahl .....	69
8.4. Verwendung von $\alpha$ -(Ethylthio)glycin am Wang-Harz (162) .....	71
8.4.1. Entschützungsbedingungen .....	71
8.4.2. Synthese von Dipeptiden .....	71
8.4.3. Kombinatorische Chemie .....	73
<b>9. Zusammenfassung der Harzversuche .....</b>	<b>75</b>
<b>IV. Experimenteller Teil .....</b>	<b>77</b>
<b>10. Analytik, Allgemeine Arbeitsmethoden .....</b>	<b>77</b>
<b>11. Allgemeine Arbeitsvorschriften .....</b>	<b>81</b>
<b>12. Asparaginsäure-Modifizierung von <math>c(\text{RGDFV})</math> (43) .....</b>	<b>85</b>
12.1. Cyclopeptidsynthese mit dem Kaiser-Harz (19) .....	85
12.2. Synthese von ${}^D\text{FVR}{}^{\text{Pbf}}\text{G}{}^{D,L}\text{G}(\text{SEt})$ (96) mit dem TCP-Harz (78) .....	86
12.3. Synthese von $c[{}^D\text{FVRG}{}^{D,L}\text{G}(\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H})]$ (98 a-d) .....	89
<b>13. Arginin-Modifizierung von <math>c(\text{RGDFV})</math> (43) .....</b>	<b>97</b>
13.1. Synthese der Thiole (110 a-d) .....	97
13.2. Synthese der Amine (113, 119, 122) .....	103

---

13.3. Synthese von c[GD <sup>D</sup> FV <sup>D,L</sup> G(S(CH <sub>2</sub> ) <sub>m</sub> NHC(NH)NH <sub>2</sub> )] (150 a-d) mit dem Thio-Harz (124) ...	107
14. Synthese der Dipeptide mit dem Wang-Harz (162) .....	117
<b>V. Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>121</b>
<b>VI. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>123</b>

# I. Zusammenfassung

In einem ersten Teil der vorliegenden Arbeit wird das von *Kessler et al.* entwickelte Cyclopeptid c(RGD<sup>D</sup>FV) (**43**) modifiziert, um mehr Informationen über die Struktur-Aktivitäts-Beziehung dieses  $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten zu bekommen. Asparaginsäure und Arginin sind entscheidend für die Wechselwirkung von **43** mit den Integrinrezeptoren. Deren Substitution in **43** durch  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin ermöglicht die weitere Umsetzung mit den ausgewählten Nucleophilen **110 a-d**. Auf diese Weise werden jeweils die Seitenketten der Asparaginsäure und des Arginins verlängert.

Die Modifizierung der Asparaginsäure gelingt durch die Synthese von c[<sup>D</sup>FVR<sup>Pbf</sup>G<sup>D,L</sup>G(SEt)] (**96**) mit dem TCP-Harz (**78**). Nur durch den Einsatz dieses Fmoc-Harzes kann die Guanidinogruppe des Arginins mit der milde abspaltbareren Pbf-Gruppe geschützt werden. Die racemisierungsfreie Beladung des Harzes und die sterisch stark gehinderte Diketopiperazinbildung sind weitere Vorteile dieses Verfahrens.

**96** dient als Ausgangssubstanz für die Umsetzung zu c[<sup>D</sup>FVRG<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CO<sub>2</sub>H)] (**98 a-d**) in Gesamtausbeuten von 51 – 55 %.

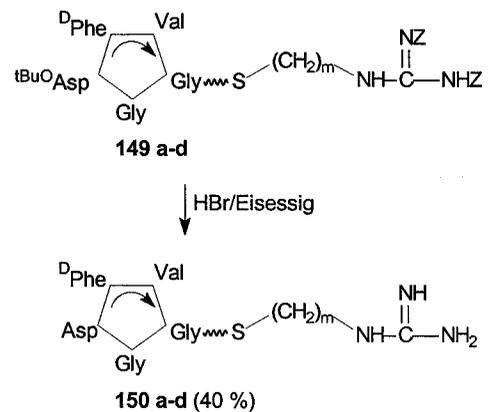
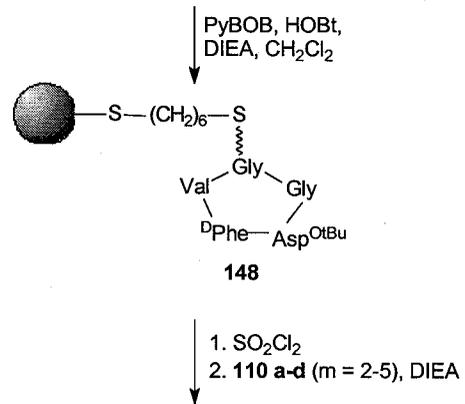
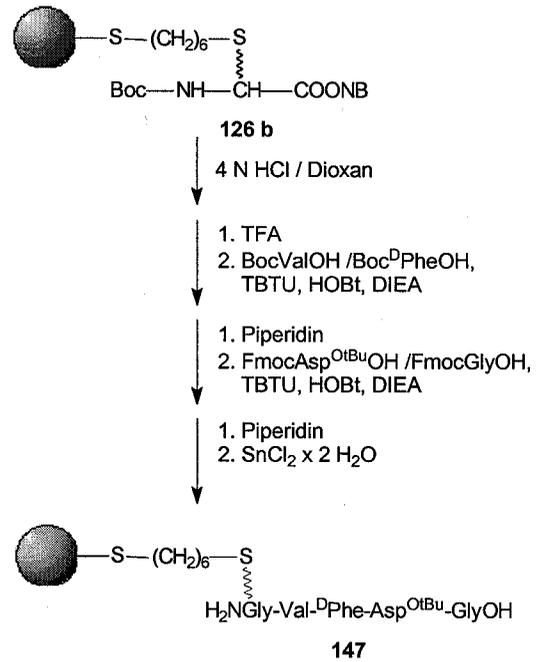
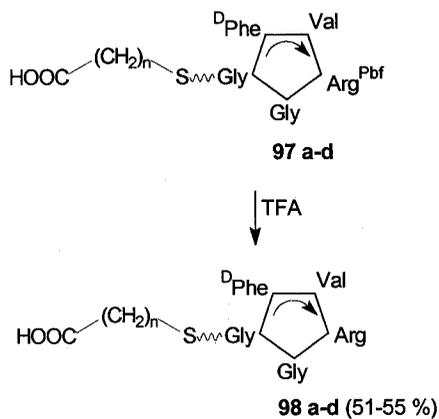
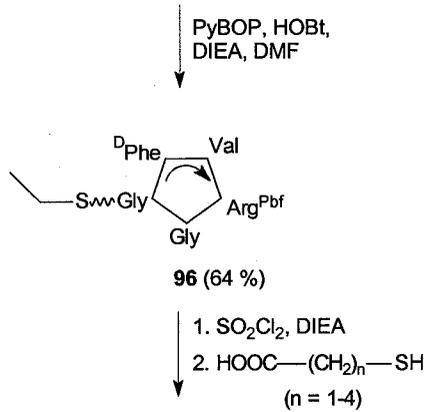
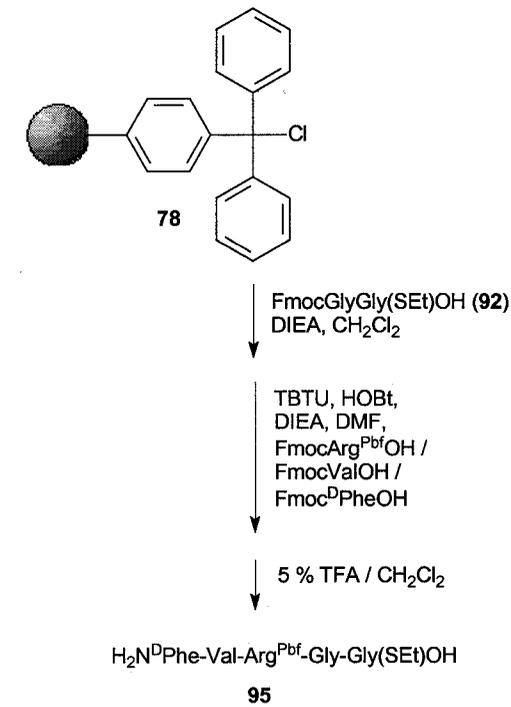
Die Synthese von c[<sup>D</sup>FVR<sup>Tos</sup>G<sup>D,L</sup>G(SEt)] (**77 a**) mit dem Kaiser-Harz (**19**) wird nicht weiter verfolgt, da bei der abspaltenden Cyclisierung neben dem Cyclopentapeptid auch das Cyclodecapeptid gebildet wird (Monomer/Dimer = 2:1). Durch eine geringere Harzbeladung (Verdünnung) kann die Dimerisierung unterdrückt werden (Monomer/Dimer = 9:1), allerdings sinkt die Gesamtausbeute dann soweit (10 %), daß der Nutzen der Festphasensynthese verloren geht.

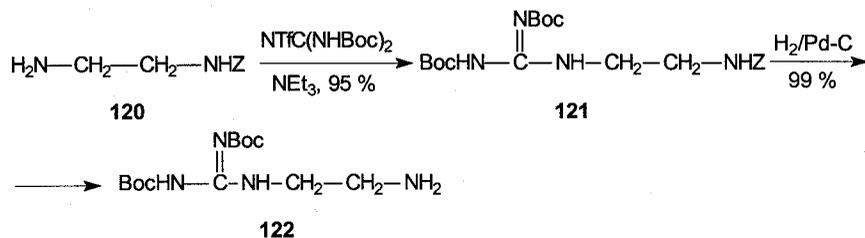
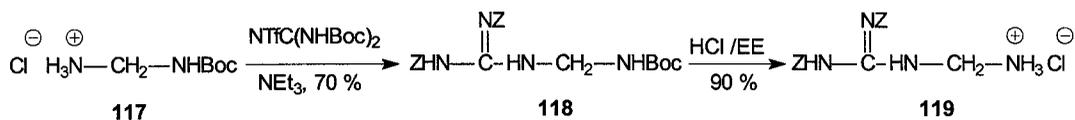
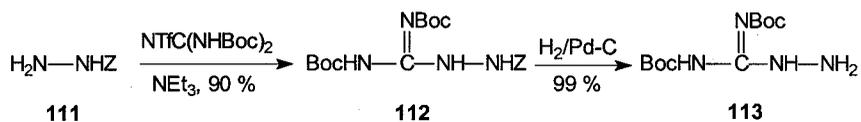
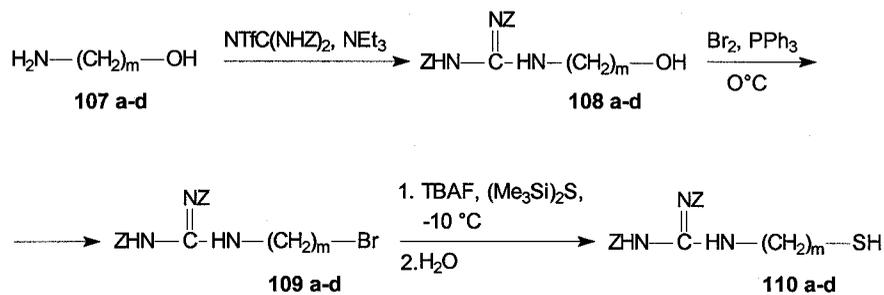
Die Modifizierung des Arginins ist durch die Synthese von c[GD<sup>D</sup>FV<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>NHC(NH)NH<sub>2</sub>)] (**150 a-d**) mit dem von *Paulitz* entwickelten Thio-Harz (**124**) möglich. Das Thio-Harz (**124**) kombiniert die Vorteile der Festphasenchemie und die der Aminosäuremodifizierung mittels  $\alpha$ -(Thioalkyl)glycin. Der Nutzen des Thio-Harzes (**124**) für Peptidmodifizierungen nach *Steglich et al.* wird durch die Synthese von **150 a-d** demonstriert.

Erstmals wird die Boc- und Fmoc-Strategie in einer Synthese am Thio-Harz (**124**) verwendet. So kann mit preisgünstigen Boc-Aminosäuren gearbeitet werden, und  $\alpha$ -(Thioalkyl)glycin muß nicht als Dipeptid benutzt werden. Der Einsatz von Fmoc-Aminosäuren ermöglicht es, die milde abspaltbare <sup>t</sup>Butylgruppe zum Schutz der Asparaginsäure-Seitenkette zu verwenden.

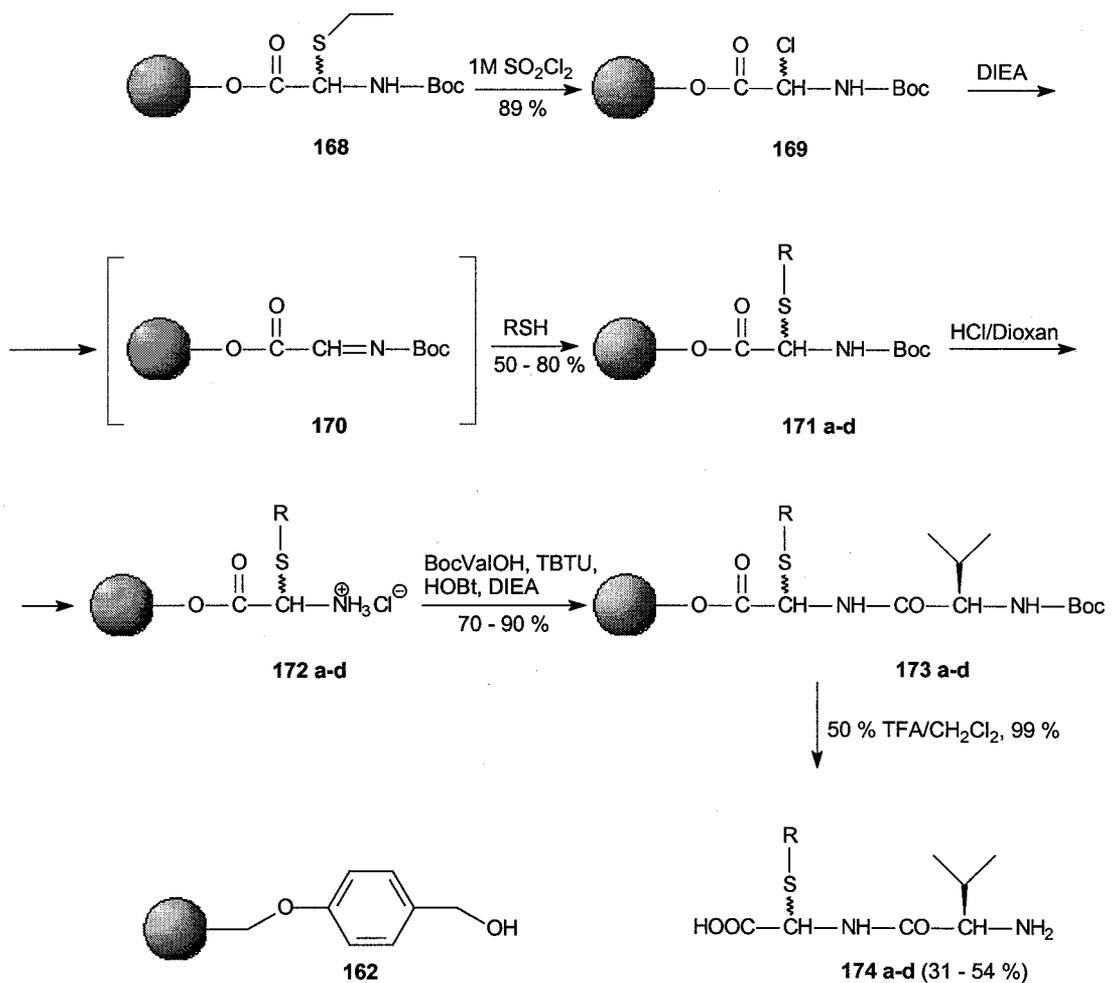
Da die Cyclisierung am Harz erfolgt und die Abspaltung und Modifizierung in einem Schritt durchgeführt wird, spart man sich aufwendige HPLC-Reinigungsschritte. Die Gesamtausbeuten liegen um 40 %.







In einem zweiten Teil der Arbeit werden die Möglichkeiten zur Modifizierung von Peptiden nach *Steglich et al.* an der Festphase erweitert. Die Synthese mit dem Thio-Harz (124) unterliegt Einschränkungen, die durch die Verwendung des Wang-Harzes (162) vermieden werden können. Die Modifizierung von  $\alpha$ -(Thioalkyl)glycin gelingt ohne Abspaltung vom Harz, und die Position des  $\alpha$ -(Thioalkyl)glycins kann frei gewählt werden. Boc- und Fmoc-Chemie sind am Wang-Harz (162) genauso wie am Thio-Harz (124) möglich. Es können so die Dipeptide 174 a-d mit dieser neuen Methode erstmals vollautomatisch synthetisiert werden.





## II. Allgemeiner Teil

### 1. Wirkstoffentwicklung

#### 1.1. Einleitung

Als einer der ersten Wirkstoffe wurde 1815 durch *F. W. Sertürner* Morphinum aus einem Opiumextrakt isoliert.<sup>[1]</sup> Weitere Entdeckungen waren 1848 das Papaverin oder 1929 das Penicillin.<sup>[2,3]</sup> Die Suche nach Wirkstoffen im industriellen Maßstab gibt es erst seit etwa 100 Jahren. Sie begann 1874 mit der Postulierung des Schlüssel-Schloß-Prinzips durch *Paul Ehrlich*. *Ehrlich*<sup>[4]</sup> postulierte, daß bestimmte Chemorezeptoren auf Parasiten, Mikroorganismen und Krebszellen sich von analogen Strukturen in Wirtszellen unterscheiden, und daß diese Unterschiede therapeutisch genutzt werden könnten. Ein weiterer Meilenstein war 1905 das Konzept von *Langley*<sup>[5]</sup>. Er bezeichnete Rezeptoren als Schalter, die spezifische Signale empfangen und aussenden können. Die Rezeptoren sollten durch Antagonisten blockiert werden oder durch Agonisten aktiviert werden können. So führte 1933 die Charakterisierung der Carboanhydrase zur Entdeckung des Sulfanilamids (**1**), welches das Enzym inhibiert.<sup>[6,7]</sup> Sulfanilamide entwickelten sich zu einer Wirkstoffklasse mit breitem Anwendungsspektrum (z.B. Entzündungen, Typ II Diabetes, Bluthochdruck).

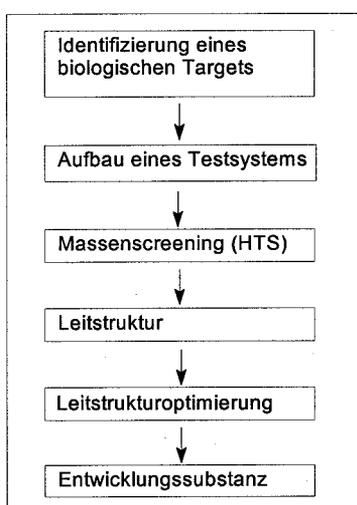
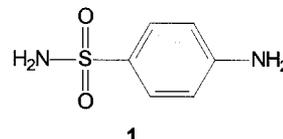


Abb. 1: Pharmawirkstoffsuche heute.

Bis heute sind etwa 500 molekulare „Targets“ bekannt. Die zwei größten Gruppen bilden mit 45 % Zellmembranrezeptoren und mit 28 % Enzyme.<sup>[8]</sup> Es sind im humanen Genom 12000 bis 14000 Gene vorhanden, die die Informationen für Proteine enthalten, so daß die Entdeckung einer großen Anzahl neuer Wirkstoffe denkbar ist. Besonders die Entwicklung der Strukturbiologie (NMR, Kristallisation, Röntgenstrukturanalyse, Bioinformatik) ermöglicht die relativ rasche Charakterisierung von Proteinen und kann so zur gezielten („rational designed“) Synthese neuer Wirkstoffe beitragen. Durch entsprechende Automatisierung können heute tausende Substanzen pro Tag auf ihre Wirkung hin untersucht werden. Dieses „High-Throughput-Screening“ (HTS) setzt zum Auffinden neuer Leitstrukturen eine

große Zahl von Testsubstanzen mit vielfältigsten Strukturen voraus. Deshalb ist die schnelle Bereitstellung von vielen Testsubstanzen für die Leitstruktursuche und Leitstrukturoptimierung ein entscheidender Faktor geworden („High-Throughput-Synthesis“).

Die Automatisierung der Pharmaindustrie führt nicht zwangsläufig zu neuen Wirkstoffen, sondern wie zu Beginn des 20. Jahrhunderts die Zusammenarbeit mehrerer Fachrichtungen. Damals erwies sich die Zusammenarbeit von Chemie und Pharmakologie als entscheidend. Heute sind durch neu hinzugekommene Fachrichtungen, wie „genomics“, „structural genomics“ oder Bioinformatik neue Impulse zu erwarten. Die Vorgehensweise der Wirkstoffsuche heute wird schematisch in Abb.1 dargestellt.

## 1.2. Methoden in der Wirkstoffentwicklung

### 1.2.1. Vergleich von Synthese an der festen Phase und in Lösung

Die Automatisierung der Wirkstoffsuche und Wirkstoffentwicklung durch Maschinen setzt chemische Methodenentwicklung voraus. Das Prinzip der Festphasensynthese von Peptiden (SPPS = Solide Phase Peptide Synthesis) von *Bruce Merrifield*<sup>[9,10]</sup> war ein entscheidender Schritt. Abb. 2 zeigt das Prinzip der Festphasensynthese. Man funktionalisiert ein polymeres Trägermaterial durch einen Linker und führt die Reaktion von A + B an der festen Phase durch. Als einzige Arbeitstechnik muß die Filtration angewendet werden. Eine Vielzahl von Harzen und Linker sind mittlerweile für die verschiedensten Anwendungen entwickelt worden.<sup>[11]</sup>

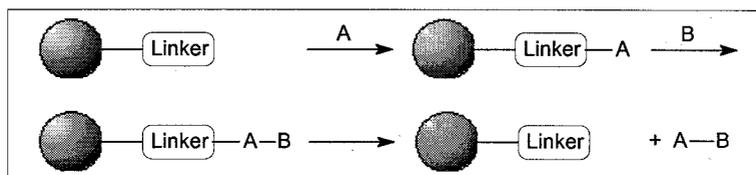


Abb. 2: Prinzip der Festphasensynthese.

Allerdings ist die Synthese niedermolekularer organischer Verbindungen an der Festphase noch nicht so weit fortgeschritten wie die Peptidsynthese an der Festphase. Bei der Durchführung einer Synthese über mehrere Reaktionsschritte an der Festphase sollte die Ausbeute für jeden einzelnen Schritt über 95 % liegen. Tab. 1 verdeutlicht die Problematik. Bei einer Ausbeute von 80 % pro Reaktionsschritt liegt die Gesamtausbeute nach 10 Stufen bei 11 %. Das bedeutet aber nicht zwangsläufig, daß das Produkt als Reinsubstanz vorliegt. Besonders bei der Peptidsynthese führt eine nicht vollständig durchgeführte Kupplung zu nur noch mit HPLC trennbaren Produktgemischen.

<b>Ausbeute pro Stufe / Stufen</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
99%	98%	97%	96%	95%	94%	93%	92%	91%	90%
90%	81%	73%	66%	59%	53%	48%	43%	39%	35%
80%	64%	51%	41%	33%	26%	21%	17%	13%	11%

Tab. 1: Gesamtausbeute als Funktion von Ausbeute pro Stufe und Anzahl der Reaktionsschritte.

Eines der größten Probleme bei der Durchführung mehrstufiger Synthesen an der festen Phase ist die Analytik der Zwischenprodukte. Man verwendet hierzu Farbreaktionen, IR-Spektroskopie, Verbrennungsanalyse, MAS-Gelphasen-NMR und MALDI-MS-Spektroskopie. Farbreaktionen, die teilweise durch Extinktionsmessungen quantitativ ausgewertet werden können, sind bisher nur für wenige funktionelle Gruppen entwickelt worden. Bei der Peptidsynthese hat sich die Ninhydrin-Reaktion zum Nachweis freier Aminogruppen beim Acylierungsschritt etabliert.<sup>[12,13]</sup> Alternativ können eine auf Bromphenolblau basierende Kontrollreaktion,<sup>[14]</sup> eine die Freisetzung von Tritylkationen nutzende Quantifizierung<sup>[15]</sup> oder die Pikrat-Titration von *Gisin*<sup>[1,16]</sup> verwendet werden. Existieren funktionelle Gruppen mit charakteristischen Absorptionsbanden, hat sich die IR-Spektroskopie harzgebundener Moleküle als nützlich erwiesen. Die Verbrennungsanalyse ist mit einem gewissen Unsicherheitsfaktor belastet, da der Anteil der funktionellen Gruppen im Vergleich zum polymeren Träger klein ist. Bei Verwendung von bestimmten Harzen kann die MAS-Gelphasen-NMR-Spektroskopie angewendet werden.<sup>[17,18,19,20]</sup> Für die Analyse mit der MALDI-MS-Spektroskopie genügt bereits die Beladung eines Harzkorns. Allerdings werden die Moleküle vor der Analyse vom Harz gespalten, was die Aussage verfälschen kann.<sup>[13,21]</sup> Es besteht also noch Bedarf an neuen, leistungsfähigen Methoden zur Analytik harzgebundener Moleküle, um den Erfolg mehrstufiger Synthesen sicherer verfolgen zu können.

Tab. 2 zählt Vor- und Nachteile der Festphasen- und Flüssigphasensynthese auf.<sup>[22]</sup> Nicht unwichtig für den industriellen Einsatz ist, daß viele funktionalisierte Polymere relativ teuer sind und für das Scale-up deshalb nicht in Frage kommen. Für die Weiterentwicklung der Synthese in Lösung werden einfache Konzepte für die automatisierte Rohproduktreinigung von fundamentaler Bedeutung sein (z.B. Scavenger-Harze). Der Einsatz von Fest- oder Flüssigphasenchemie hängt also von der Aufgabenstellung ab. Eine Kombination beider Verfahren kann sinnvoll sein.

<b>Festphasensynthese</b>	<b>Flüssigphasensynthese</b>
<b>Vorteile:</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reagenzien können ohne spätere Trennprobleme im Überschuß eingesetzt werden, um die Umsetzung zur Vollständigkeit zu bringen</li> <li>• Reinigung der Produkte durch Waschen des Trägers</li> <li>• Einfache vollständige Automatisierung von Reaktionssequenzen</li> <li>• Split-Synthese möglich („one bead – one compound“)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prinzipiell alle organischen Reaktionen einsetzbar</li> <li>• Keine Anpassung der bekannten Reaktionsbedingungen nötig</li> <li>• Keine zusätzlichen Reaktionsschritte zum Knüpfen an den und Spalten vom Träger</li> <li>• Beliebige Produktmengen herstellbar</li> </ul>
<b>Nachteile:</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ausarbeitungsstand relativ niedrig – hoher Entwicklungsaufwand</li> <li>• Zusätzliche Reaktionsschritte zum Knüpfen an den und Spalten vom Träger</li> <li>• Träger und Linker schränken die Zahl der durchführbaren Reaktionen ein</li> <li>• Methoden zur analytischen Verfolgung der Reaktion wenig ausgearbeitet</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reaktanden ohne zusätzlichen Aufwand bei der Aufarbeitung nicht im Überschuß einsetzbar</li> <li>• Automatisierung der Aufarbeitungs- und Reinigungsschritte schwierig</li> </ul>

Tab. 2: Vergleich von Synthese an der festen Phase und in Lösung.

### 1.2.2. Prinzip der kombinatorischen organischen Synthese

Ziel der kombinatorischen organischen Synthese ist es, viele unterschiedliche Produkte mit definierter Struktur gleichzeitig herzustellen. Statt zwei Edukte A und B zu einem Produkt AB zu verknüpfen, setzt man in einer kombinatorischen Synthese strukturell unterschiedliche Bausteine vom Typ A ( $A^1$ - $A^{10}$ ) mit Bausteinen vom Typ B ( $B^1$ - $B^{10}$ ) um, wobei jeder vom Typ A mit jedem vom Typ B reagiert. Man erhält auf diese Weise bereits  $A^n \times B^n = 100$  Produkte. Die kombinatorische Chemie nutzt die Methode der Festphasenchemie, als auch die der Chemie in Lösung.

Die kombinatorische Chemie kann parallel in getrennten Gefäßen durchgeführt werden („Parallelsynthese“), und man erhält jedes Produkt in einem Gefäß. Frank<sup>[23,24]</sup> entwickelte die „Spot-Synthese“, bei der Substanzen an einer Membran gebunden sind. Es können z.B. auf einer Zellulose-Membran hunderte Reaktionen parallel an definierten Punkten (Spots) durchgeführt

werden. Jeder Punkt wird getrennt durch einen Pipetierroboter angesteuert und mit dem gewünschten Reaktanten versorgt. In der Peptidsynthese kann so das Anknüpfen von verschiedenen Aminosäuren getrennt durchgeführt werden. Unspezifische Schritte, wie *N*-terminales Entschützen, können hingegen mit der gesamten Membran gleichzeitig durchgeführt werden.

Die kombinatorische Chemie kann aber auch Substanzgemische erzeugen. Hierzu entwickelte Furka<sup>[25,26,27]</sup> die „Split-and-Mix-Synthese“, die als die eigentliche kombinatorische Chemie angesehen wird. Werden nämlich mehrere Produkte gleichzeitig in einem Reaktionsgefäß durch Einsatz einer Mischung von Reaktanten erzeugt, so stellt sich das Problem von Reaktivitätsunterschieden der Reaktanten. Außerdem kann nicht mit Überschüssen gearbeitet werden, um sicher zu stellen, daß die Reaktion vollständig abläuft. Erst durch die „Split-and-Mix-Synthese“ lassen sich äquimolare Substanzgemische synthetisieren. Abb. 3 zeigt das Prinzip der „Split-and-Mix-Methode“: Der feste Träger wird in drei gleiche Teile geteilt und jeder Teil mit dem Synthesebaustein A umgesetzt. Nach Mischen der entstandenen Produktharze und erneutem Aufteilen erhält man drei Gemische, in denen die harzgebundenen Komponenten A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup> und A<sup>3</sup> in äquimolaren Mengen enthalten sind. Diese werden einzeln mit B<sup>1</sup>-B<sup>3</sup> umgesetzt und ergeben insgesamt neun Produkte. Da sich in jedem Reaktionsgefäß nur jeweils ein Reaktant in Lösung befindet, können trotz eventuell unterschiedlicher Kinetiken alle Reaktionen bis zum vollständigen Umsatz geführt werden. Dieser Cyclus wird wiederholt (Aufteilen – Reaktion – Vereinigen), und man erhält aus neun Synthesebausteinen 27 Produkte (in drei Mischungen zu neun Verbindungen). Bei der herkömmlichen Synthese von Einzelsubstanzen wären dazu 81 Reaktionsschritte notwendig. Am Ende befindet sich auf jedem Partikel (bead) genau eine Verbindung in vielfacher Kopie („one bead – one compound“).<sup>[28]</sup> Die Zahl aller synthetisierten Substanzen *N* ergibt sich aus folgender Gleichung (*n* = Zahl der Bausteine in der jeweiligen Reaktion, *m* = Zahl der Reaktionsschritte):

$$N = n_1 \times n_2 \times n_3 \times \dots \times n_m$$

Allein durch die Kombination der natürlichen Aminosäuren zu allen möglichen Pentapeptiden würden sich  $20^5 = 3\,200\,000$  verschiedene Substanzen ergeben.

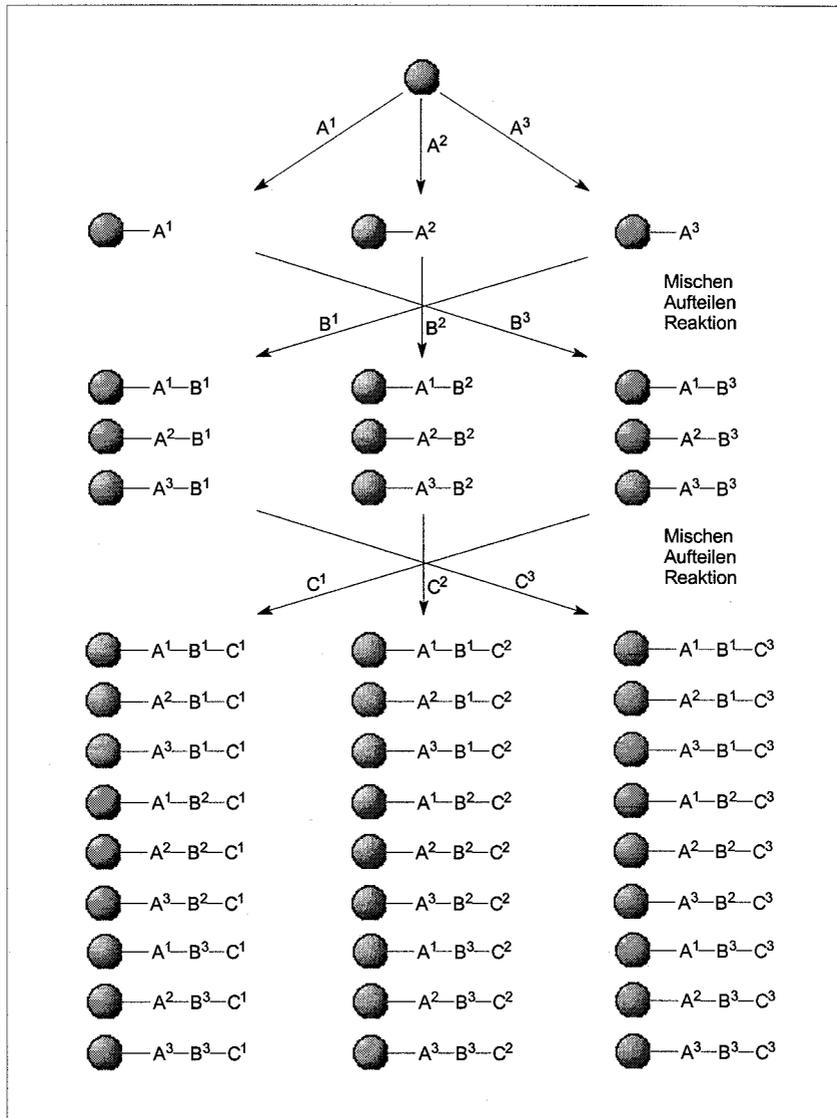


Abb. 3: „Split-and-Mix-Methode“.

### 1.2.3. Entschlüsselung von Substanzgemischen

Ein Problem der Split-and-Mix-Methode ist, daß Substanzgemische und nicht definierte Einzelsubstanzen auf ihre biologische Wirkung hin getestet werden. Man muß also die Substanzen der Mischung einzeln erneut synthetisieren, oder die Substanzen können durch eine Markierung eindeutig identifiziert werden.

Die Markierung kann auf dem Polymerpartikel angebracht werden und die Substanzen bleiben bei der biologischen Testung an das Polymerpartikel gebunden. Die Entschlüsselung („Deconvolution“) kann also auf molekularer Ebene geschehen, indem z.B. die Hälfte der Bindungsstellen eines Polymerpartikels durch Moleküle belegt wird, die ein bestimmtes Substitutionsmuster aufweisen. So können definierte Mengen von Polymerpartikeln unterschiedlich markiert werden

(„tagging“), z.B. wird eine Menge durch eine bestimmte Peptidsequenz und eine andere Menge durch eine andere Peptidsequenz kodiert. Erstmals wurde diese Methode von *Kerr* 1993 angewendet.<sup>[29]</sup>

*Houghten*<sup>[30]</sup> hingegen entwickelte die „Tea-Bag-Methode“, bei der eine gewisse Menge an polymerem Träger in Teebeuteln ähnliche, gekennzeichnete Polypropylenetze eingeschweißt wird. Durch die Markierung der „Tea-Bags“ kann nach Anwendung der „Split-and-Mix-Methode“ bestimmt werden, welche Substanzen sich in einem „Tea-Bag“ befinden. Auch *Houghten* benutzte die Methode zur Peptidsynthese.

*Nicolaou*<sup>[31,32,33]</sup> modifizierte diese Methode und benutzte kleine Mikroreaktoren (Abb. 4), die durch Radiofrequenz-Sender (SMART = Single or Multiple Adressable Radiofrequency Tag) kodiert werden, um eine 12,13-Desoxyepothilon A-Bibliothek herzustellen. Durch Epoxidierung erhält man Epothilon A – Derivate. Epothilon A (**2**) wurde ursprünglich aus dem Myxobakterium *Sorangium cellulosum* durch *Höfle et al.*<sup>[34]</sup> isoliert und besitzt eine hohe cytotoxische Aktivität gegenüber Tumorzellen.<sup>[35]</sup>

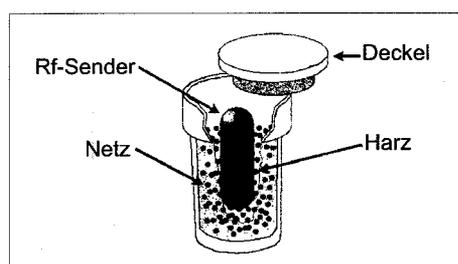


Abb. 4: Mikroreaktor.

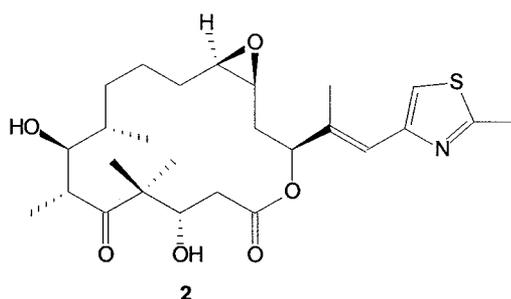


Abb. 5 faßt die Synthese der 12,13-Desoxyepothilon-A-Bibliothek aus den Schlüsselbausteinen **5**, **7** und **9** zusammen. Merrifield-Harz enthaltende SMART-Mikroreaktoren werden durch Kettenverlängerung und Bildung der Phosphoniumsalze glatt in die Mikroreaktoren **4** überführt. Diese werden gemäß ihrer Radiofrequenz-Markierung sortiert und mit Natriumhexamethyldisilazid (NaHMDS) in die entsprechenden Ylide überführt, die mit den Aldehyden **5** umgesetzt werden. Die SMART-Mikroreaktoren werden zum Waschen, für das anschließende Entschützen und für die Oxidation zu den polymergebundenen Aldehyden **6** vereint. Erneutes Sortieren und Reaktion mit dem Dianion der Oxosäure **7** liefert die polymergebundenen Carbonsäuren **8** als Diastereomerenmischungen. Umsortieren und Verestern mit den Alkoholen **9** liefert die Diene **10**. Durch Umsetzung an den einzelnen SMART-Mikroreaktoren mit  $[\text{RuCl}_2(=\text{CHPh})(\text{PCy}_3)_2]$  wird nach Cyclisierung und gleichzeitiger Abspaltung vom Harz durch Olefinmetathese eine Mischung aus den 12,13-Desoxyepothilonen A **11** und **12** erhalten.

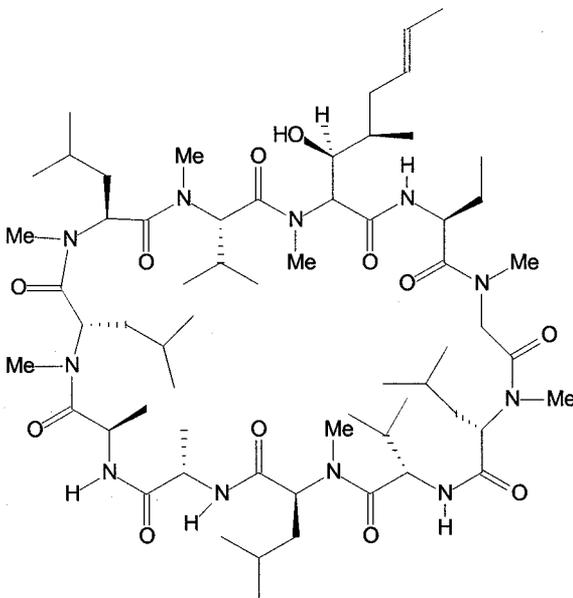


## 2. Cyclopeptide

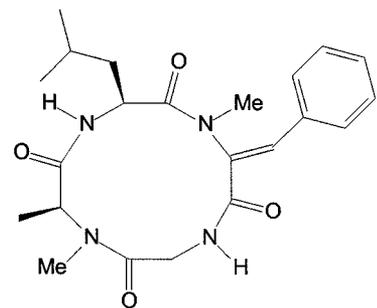
### 2.1. Cyclopeptide in der Natur

Viele der aus marinen Quellen,<sup>[36,37,38,39,40]</sup> Mikroorganismen<sup>[41]</sup> oder seltener, aus Pflanzen<sup>[42,43,44]</sup> isolierten Peptide mit signifikanter biologischer Aktivität weisen eine cyclische Struktur auf. Anhand struktureller Merkmale werden diese Cyclopeptide weiter unterteilt: Besteht der Ring aus Aminosäuren, die durch „normale“ Peptidbindungen verknüpft sind, spricht man von homodeten Cyclopeptiden. Findet man im Peptid-Ring anderer Strukturelemente wie Disulfide, Lactone, Ether oder Thioester, spricht man von heterodeten cyclischen Peptiden. Depsipeptide oder Peptolide schließlich bestehen außer aus Aminosäuren auch aus Hydroxysäuren, so daß die Ringglieder sowohl durch Amid- als auch durch Esterbindungen miteinander verbunden sind.<sup>[45]</sup>

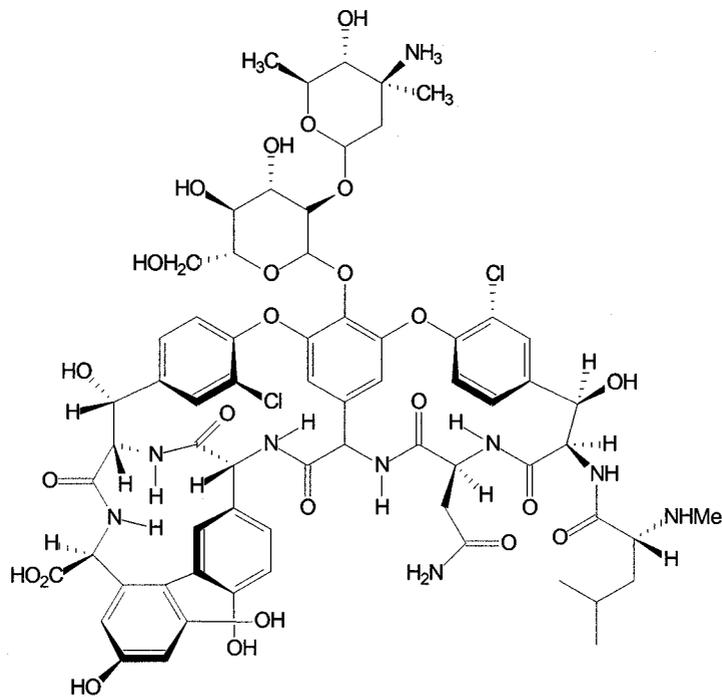
Cyclosporin A (**13**) – ein homodetes Cyclopeptid – ist eine hochwirksame Substanz aus Mikroorganismen, die als Immunsuppressivum eingesetzt wird.<sup>[46,47]</sup> Ein weiteres homodetes Cyclopeptid ist Tentoxin (**14**).<sup>[48,49]</sup> Tentoxin wurde aus dem Pilz *Alternaria alternata* isoliert und hat phytotoxische Eigenschaften. Das aus *Streptomyces orientalis* isolierte, strukturell komplexe heterodete Cyclopeptid Vancomycin (**15**) kann als hochwirksames Antibiotikum praktisch ohne Nebenwirkungen gegen Infektionen mit multiresistenten *Staphylokokken* eingesetzt werden.<sup>[50,51]</sup> Das Cyclopeptolid Didemnin B (**16**) aus dem Tunicaten *Trididemnum solidum* war eines der ersten Meerespeptide, das wegen seiner cancerostatischen und immunsuppressiven Eigenschaften in klinische Studien gelangte.<sup>[52,53,54,55]</sup>



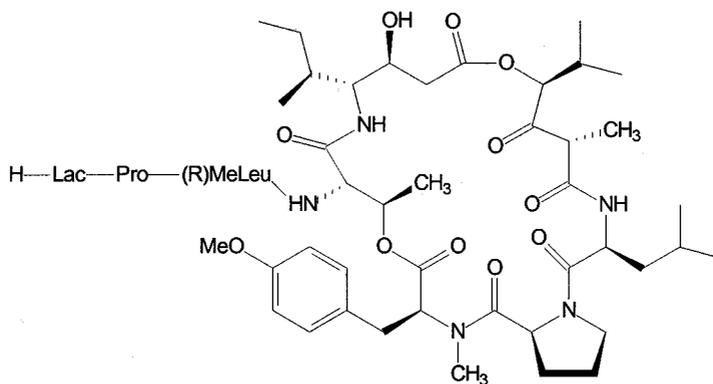
Cyclosporin A (**13**)



Tentoxin (**14**)



Vancomycin (15)



Didemnin B (16)

Abb. 6: Auswahl natürlicher Cyclopeptide.

## 2.2. Prinzip der Cyclopeptide

Die cyclische Struktur und andere nicht-ribosomale Strukturelemente führen zur starken biologischen Wirkung der Cyclopeptide. Der Einbau von D-Aminosäuren oder N-methylierten Aminosäuren erschwert bzw. macht den enzymatischen Abbau *in vivo* unmöglich.<sup>[56]</sup> Die Blockade der *in vivo* bevorzugt abgebauten C- und N-Termini durch Cyclisierung verbessert zusätzlich die

Proteaseresistenz.<sup>[57,58]</sup> Insgesamt nimmt die Verweildauer im Körper zu, so daß die Bioverfügbarkeit steigt.

Eine Sequenz mit wenigen Aminosäuren bindet in eine „Rezeptortasche“ und ist Ursache für die biologische Aktivität eines peptidischen Wirkstoffes. Wirksequenzen werden vor allem in Schleifen („turns“) vermutet, da dieses Strukturelement am leichtesten in eine Bindungstasche eindringen kann.<sup>[23]</sup> Aber auch der Rest des Cyclopeptids spielt eine wichtige Rolle. Einerseits dient er dazu, die Wirksequenz in eine bestimmte Konformation zu bringen, andererseits könnte der Rezeptor das gesamte Molekül umschließen und so noch mehr Wechselwirkungen mit dem Molekül eingehen. Wegen der Flexibilität von Cyclopeptiden sind meist mehrere energetisch günstige Konformationen denkbar, von denen jede mit einem anderen Rezeptor wechselwirken kann. Wird die Wirksequenz in einer Konformation fixiert (z.B. durch intramolekulare H-Brücken), so steigt die Selektivität. Die signalinduzierende Wechselwirkung wird energetisch erleichtert, weil der Entropieverlust beim Binden sinkt.<sup>[6,59,60,61]</sup>

Die Dynamik von Cyclopeptidkonformationen läßt sich mit einem Modell verstehen, das die Cyclopeptidkonformationen auf die Konformationen des Cyclopentans zurückführt.<sup>[62]</sup> Dazu wird jede *trans*-Peptidbindung in eine (*E*)-Ethen-Einheit und jede *cis*-Peptidbindung in eine (*Z*)-Ethen-Einheit umgewandelt. Diese werden nach *Dunitz* und *Waser*<sup>[63]</sup> entweder durch eine „lange“ Bindung für die *trans*-Doppelbindung oder durch eine CH<sub>2</sub>-Gruppe für die *cis*-Doppelbindung ersetzt (Abb. 7). Bei einem Cyclopeptid mit all-*trans*-Peptidbindungen führt dies zum entsprechenden Cycloalkan, als wären nur die  $\alpha$ -Kohlenstoffatome relevant. Somit sollte ein Cyclopentapeptid eine Envelope-Konformation (vier C <sup>$\alpha$</sup> -Atome in einer Ebene) bevorzugen, die aber einer schnellen Pseudorotation unterliegt. Die Röntgenstrukturanalyse eines cyclischen Pentapeptids zeigt eine solche Konformation.<sup>[64]</sup>

In gleicher Weise lassen sich die Konformationen anderer Cyclopeptide auf die von Cycloalkanen zurückführen.<sup>[12,65]</sup> Wie in Cycloalkanen werden 1,3-diaxiale oder ekliptische Anordnungen der C <sup>$\beta$</sup> -Atome vermieden. Dies wird durch Allylspannungen erklärt. Sterische Effekte an den  $\alpha$ -Kohlenstoffatomen könnten über die Amidbindung „weitergeleitet“ werden.

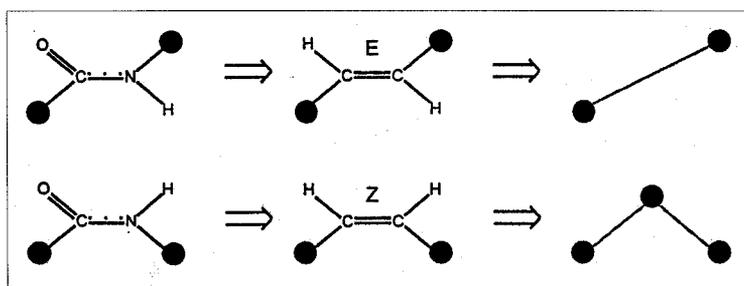


Abb. 7: Schematische Darstellung des Dunitz-Waser-Konzepts.

## 2. Cyclopeptide

Zusätzlich zu diesem grundsätzlichen sterischen Konformationsverhalten können bei Peptiden Wasserstoffbrückenbindungen eine Rolle spielen. Man muß daher bei Cyclopentapeptiden oft mehrere Konformationen berücksichtigen, während Cyclohexapeptide mit all-*trans*-Peptidbindungen cyclohexananaloge Konformationen einnehmen.<sup>[9]</sup>

Es können in Peptiden  $\beta$ - und  $\gamma$ -Schleifen („turns“) auftreten, die durch eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Carbonylgruppe der Aminosäure  $i$  und dem Amid-Wasserstoff der Aminosäure  $i+2$  ( $\gamma$ -turn) bzw.  $i+3$  ( $\beta$ -turn) gekennzeichnet sind (Abb. 8).<sup>[66,67]</sup>

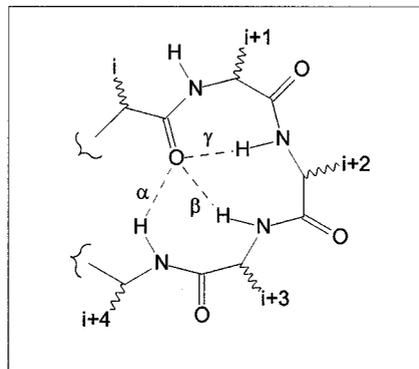


Abb. 8: H-Brückenbindungen in  $\alpha$ -Helices sowie in  $\beta$ - und  $\gamma$ -Schleifen.

$\beta$ - und  $\gamma$ -Schleifen können in verschiedenen Subtypen auftreten, von denen die häufigsten in Abb. 9 dargestellt sind.<sup>[24,68]</sup> Besonders Glycin, Prolin,  $\alpha,\alpha$ -dialkylierte- und D-Aminosäuren in den Positionen  $i+1$  und  $i+2$  induzieren Schleifenstrukturen.<sup>[23,69,70]</sup>

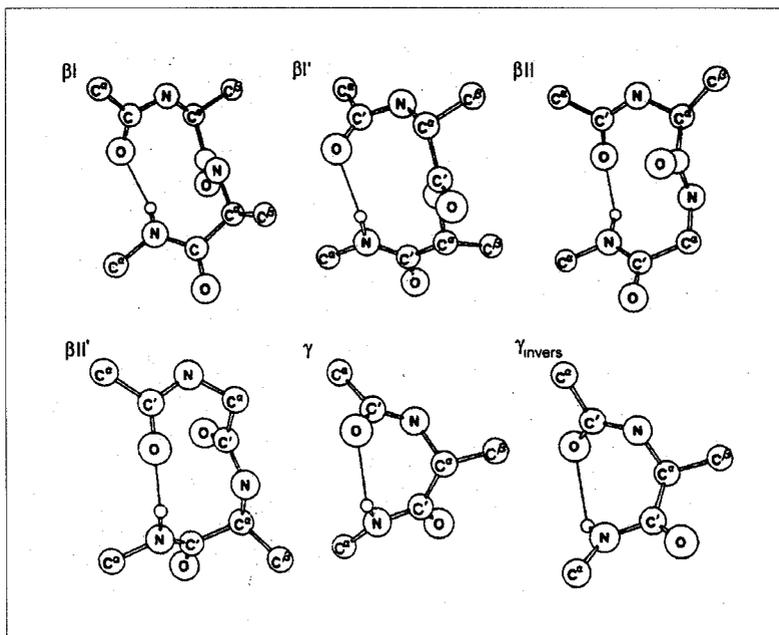


Abb. 9:  $\beta$ - und  $\gamma$ -turn Subtypen.

In Cyclopentapeptiden treten vor allem  $\beta,\gamma$ - (17) oder  $\gamma,\gamma$ -Konformationen (18) auf.

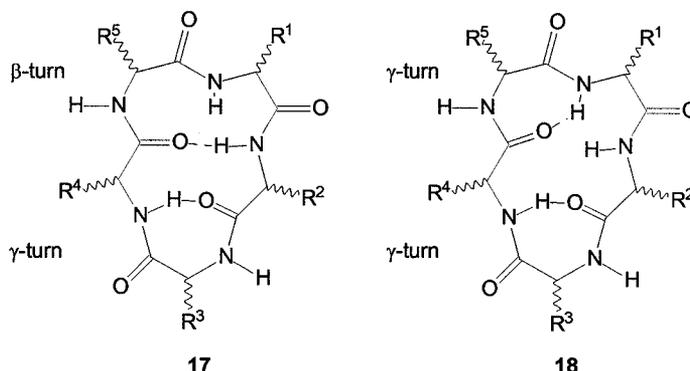


Abb. 10: Schleifenstrukturen von Cyclopentapeptiden.

Durch das Konzept von *Dunitz* und *Waser* und durch das Wissen über Schleifenstrukturen kann anhand der Aminosäuresequenz die vermutlich stabilste Konformation in Lösung vorhergesagt werden. Da ein Cyclopeptid aber oft mehrere sich schnell ineinander umwandelnde Konformationen besitzt, sollte die Vorhersage durch NMR-spektroskopische Methoden und Molecular Modeling Verfahren überprüft werden.<sup>[71,72,73,74]</sup>

Ist eine biologisch relevante Aminosäuresequenz bekannt, so werden bei der Wirkstoffsuche gerne Cyclopeptide für genauere Untersuchungen der Rezeptortasche eingesetzt. Einerseits kann durch Variation der Aminosäuren („positional scanning“) die Wirksequenz verbessert werden,<sup>[75,76]</sup> andererseits können durch Variation der Konformation strukturelle Feinheiten der Rezeptortasche ausgelotet werden („spatial screening“).<sup>[77]</sup> Da die Ausbeute der Cyclisierung eines linearen Peptids aber sehr von seiner Sequenz abhängt,<sup>[78]</sup> ist die Verwendung von Cyclopeptiden in der Wirkstoffsuche nicht immer möglich. Man versucht dann durch den Einsatz anderer konformativ starrer Systeme („scaffolds“) zu Aussagen zu kommen. Oft werden dazu Peptidmimetica verwendet und in späteren Untersuchungen substituierte Heterocyclen.<sup>[79]</sup>

## 2.3. Cyclopeptidsynthese

### 2.3.1. Einleitung

Generell können alle zur Knüpfung einer Peptidbindung geeigneten Methoden auch zur Cyclisierung linearer Peptidvorläufer verwendet werden. Die Ringschlußreaktionen verlaufen meist langsamer als normale Peptidverknüpfungen, was Nebenreaktionen begünstigt. Vor allem die Racemisierung der C-terminalen Aminosäure ist wegen der langen Aktivierungsdauer ein Problem.

Nach Möglichkeit sollten deshalb Glycin oder das racemisierungsresistente Prolin als C-Terminus eingesetzt werden. Findet die Cyclisierung in Lösung statt, so muß in Verdünnung ( $10^{-4}$  –  $10^{-3}$  M) gearbeitet werden, weil sonst die Gefahr der Dimerisierung/ Oligomerisierung gegeben ist.

Zur Cyclisierung können auch die Seitenketten der Aminosäuren eingesetzt werden.<sup>[8]</sup> Bekannt ist die Oxidation zweier Cystein-Reste zu Cystin oder die Verknüpfung zweier Seitenketten zu einem Lactam, Lacton, Ether oder Thioether. Genauso ist die Bindung einer Seitenkette an das Peptid-rückgrat möglich.

### 2.3.2. Cyclopeptidsynthese an der Festphase

Wird die Cyclisierung am polymergebundenen Peptid durchgeführt, so gibt es prinzipiell zwei Möglichkeiten: Das Peptid wird über einen schwach aktivierten oder einen selektiv aktivierbaren Ester C-terminal mit dem Harz verknüpft und nach Aufbau der kompletten Sequenz unter Abspaltung cyclisiert.<sup>[80,81,82]</sup> Oder eine geeignete Aminosäure wird über ihre Seitenkette befestigt, das Peptid normal synthetisiert, nach Abspalten der terminalen Schutzgruppen zum harzgebundenen Cyclopeptid kondensiert und schließlich vom polymeren Träger abgelöst.

Das *para*-Nitrobenzophenonoxim-Harz (Kaiser-Harz) (**19**) ist das einzige Aktivesterharz, das einige Anwendungen gefunden hat.<sup>[83,84,85,86,87]</sup> Durch Kondensation mit einer Boc-Aminosäure erhält man den schwach aktivierten Ester **20**. Nach der Peptidsynthese zu **21** geschieht die Abspaltung durch Nucleophile. Das voll geschützte Peptid kann durch Aminosäureester oder Ammoniumsalze<sup>[88]</sup> der freien Aminosäure vom Harz gespalten werden, wobei C-terminal um eine Aminosäure verlängert der Peptidester **22** oder das Salz der Peptidsäure **23** entsteht. Aufgrund der nur schwachen Aktivierung findet keine Racemisierung statt. Abspaltung mit Aminen oder Hydrazinen ergibt die entsprechenden Peptidamide oder Hydrazide **24**. Wird das Harz **21** nach Abspaltung der *N*-terminalen Boc-Gruppe mit gleichen Teilen Eisessig und Hünig-Base geschüttelt, können durch intramolekulare abspaltende Cyclisierung Cyclopeptide **25** erhalten werden.<sup>[89,90,91,92,93,94,95]</sup>

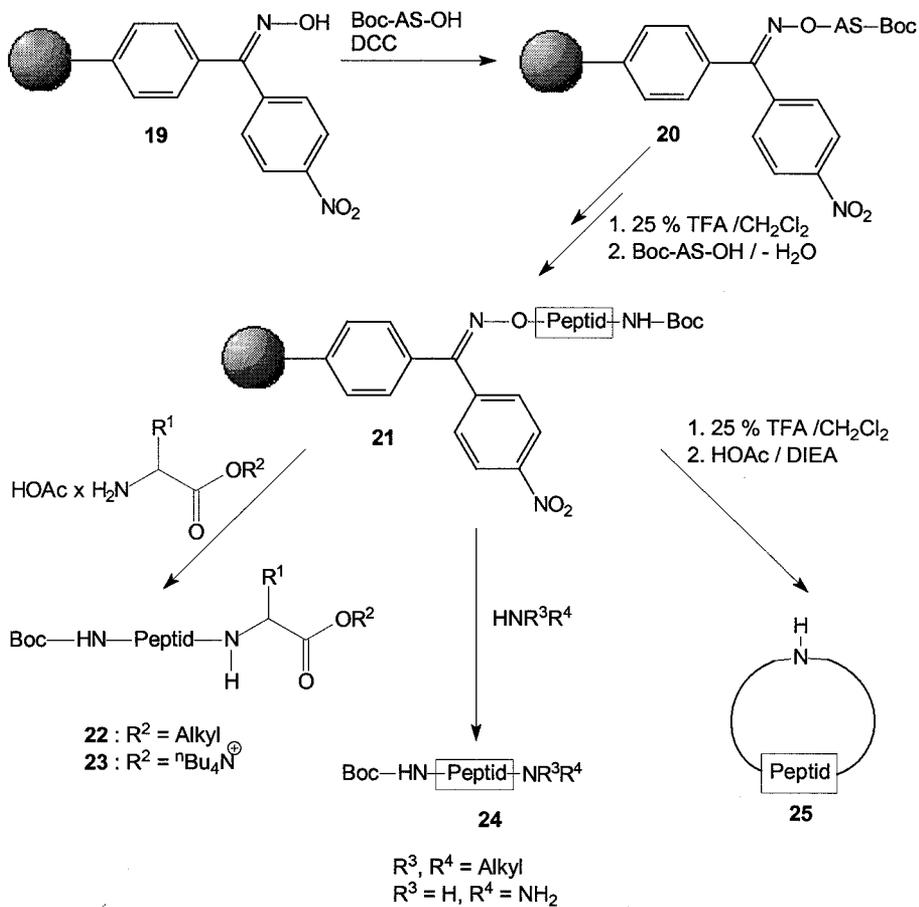


Abb. 11: Synthetische Möglichkeiten mit Kaisers Oxim-Harz.

Das Konzept der Cyclisierung eines über die Seitenkette mit dem Harz verknüpften Peptids („On-Resin“-Cyclisierung) wurde 1969 erstmals von einer russischen Arbeitsgruppe beschrieben.<sup>[96]</sup> *Isied* und *Merrifield*<sup>[97]</sup> verwendeten dieselbe Methode, indem sie Aminomethylharz **26** mit 1,5-Difluor-2,4-dinitrobenzol modifizierten und dieses Harz **27** durch Reaktion mit BocHisOH zum polymeren BocHis(DNP)OH umsetzten. C-terminales Anknüpfen von GlyOBzl (**28**) wurde gefolgt von N-terminalem Verlängern unter Standardbedingungen, so daß das harzgebundene, lineare Hexapeptid **29** erhalten wurde. Die terminalen Schutzgruppen wurden unter sauren Bedingungen entfernt, und Cyclisierung mittels EEDQ führte zum polymerverknüpften c[His(DNP)-Gly-His(DNP)-Gly-His(DNP-Polymer)-Gly] **30**. Die DNP-Gruppen wurden mit Thiophenol abgespalten und das freie Cyclohexapeptid **31** in 42 % Ausbeute erhalten.

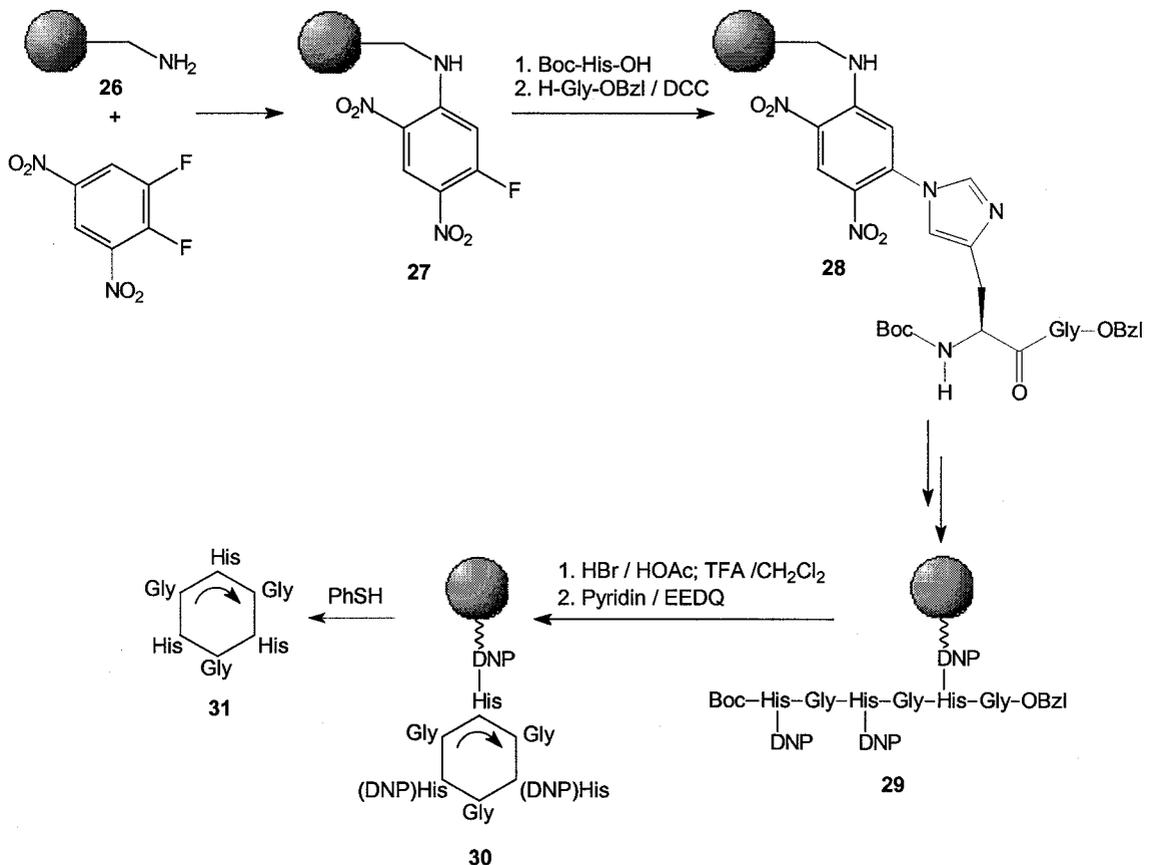


Abb. 12: *Isieds* On-Resin Cyclisierung.

Es wurden auch schon die Seitenketten von Glutaminsäure<sup>[98,99]</sup>, Asparaginsäure<sup>[100]</sup>, Lysin<sup>[101]</sup>, Ornithin, Serin, Cystein und Arginin<sup>[102]</sup> zur Knüpfung an einen polymeren Träger verwendet und anschließend Peptidsynthesen durchgeführt.

### 2.3.3. Peptidmimetica

Erfolgt der Ringschluß nicht-peptidisch, so entstehen cyclische Peptidmimetica von denen man sich generell einen bessere Bioverfügbarkeit erhofft. Peptidmimetica sind Verbindungen, die Peptide in ihrer Interaktion mit einem Rezeptor ersetzen können. Der Cyclus kann oft noch starrer gehalten werden als in rein peptidischen Cyclen, so daß die bevorzugte Konformation besser vorhersagbar wird und Konformations-Aktivitäts-Beziehungen gemacht werden können.<sup>[7,6]</sup> Es existieren darüber hinaus Verbindungen, die die Induzierung von bestimmten Schleifen in Peptidcyclen ermöglichen. Die Substanzen **32**<sup>[103]</sup>, **33**<sup>[104]</sup>, **34**<sup>[105]</sup> und **35**<sup>[106]</sup> stellen eine Auswahl von Verbindungen dar, die  $\beta$ -Turns induzieren.

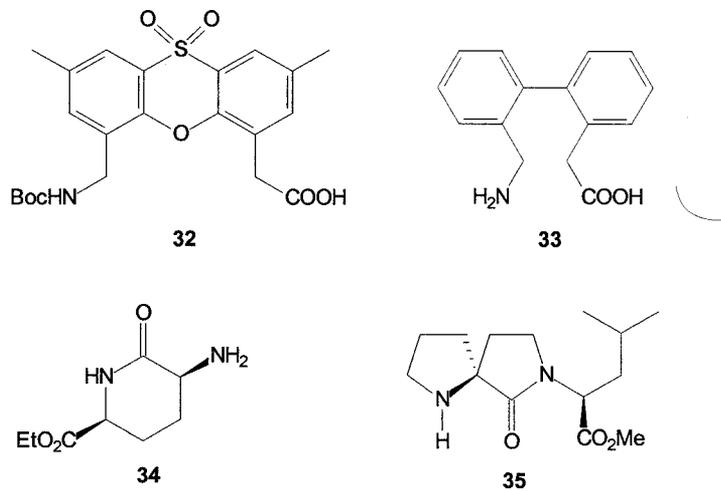
Abb. 13: Auswahl von  $\beta$ -Turn-Mimetica.

Abb. 14 zeigt die Synthese des Peptidmimeticums **42**,<sup>[107]</sup> welches einen  $\beta$ -Turn in der Sequenz Tyr-Ser-Gly-Ser-Thr imitiert, einem Bestandteil der hypervariablen Region eines monoklonalen Antikörpers gegen den Reovirus-Typ-3-Rezeptor.<sup>[108]</sup> Es ist das erste Beispiel eines auf der Grundlage von Röntgenstrukturuntersuchungen des Antigen-Antikörper-Komplexes entwickelten niedermolekularen Immunglobulinmimeticums. Das Cyclopeptid **42** ist resistent gegenüber Proteasen und imitiert Bindung und funktionelle Eigenschaften des nativen Antikörpers. Ausgehend vom Serinderivat **36** wird durch Umsetzung mit dem Säureanhydrid **37** und anschließende Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe die Verbindung **38** hergestellt. Die Säure **39** wird in ein gemischtes Anhydrid überführt und addiert sich an die Aminogruppe von **38** zur Verbindung **40**. Diese wird zu **41** hydriert, so daß der Ringschluß stattfinden kann. Durch Umsetzung mit Z-Tyrosin und Hydrierung erhält man das Peptidmimeticum **42**.

## 2. Cyclopeptide

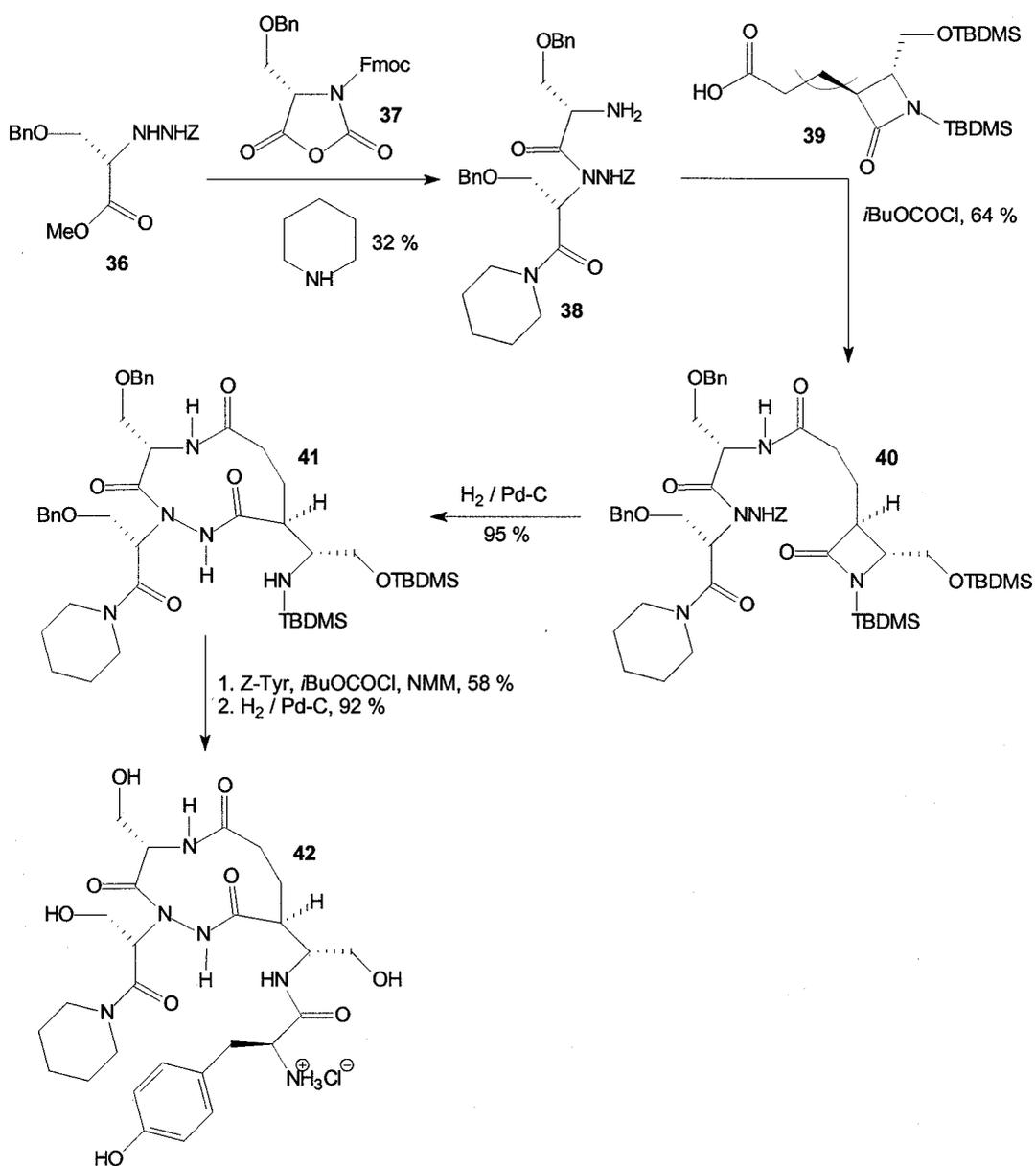


Abb. 14: Synthese des Peptidmimeticums 42.

## 3. Entwicklung der RGD-Peptide

### 3.1. Einleitung

Die Zelladhäsion<sup>[64,109,110]</sup> (Anhaften von Zellen) hilft eine Reihe von Prozessen zu steuern: Im Embryo etwa eine korrekte Entwicklung von Geweben und Organen, im ausgebildeten Organismus dann beispielsweise Blutgerinnung, Wundheilung und Infektionsbekämpfung. Ebenso hängen Krankheiten wie Arthritis, Herzinfarkt, Schlaganfall und Krebs mit der Zelladhäsion zusammen. Für die Zelladhäsion sind einerseits extrazelluläre Matrixmoleküle, andererseits bestimmte Membranmoleküle (Integrine, Cadherine, Selektine, Rezeptoren der Immunglobulin-Superfamilie) verantwortlich. Je nach Gewebetyp kann der Aufbau der extrazellulären Matrix variieren. Strukturell handelt es sich bei ihr um ein komplexes, geordnetes Geflecht von Makromolekülen, und zwar Polysacchariden und Proteinen (Laminin, Fibronectin, Kollagen). Das Anheften von Zellen an bestimmte Matrixmoleküle beeinflusst deren Verhalten grundsätzlich. Die Zellen beginnen zu wandern, sich zu teilen, sich zu differenzieren oder gar abzusterben. Hintergrund ist oft eine veränderte Aktivität von Genen, die bestimmte Proteine überexprimieren.<sup>[111]</sup>

1982 konnten *Pierschbacher et al.*<sup>[112]</sup> erstmals die komplette Sequenz der Zellbindungsdomäne eines Matrixproteins (Fibronectin) bestimmen. Es konnte auch eine Stelle im Fibronectin ermittelt werden, die für die Anheftung von Zellen entscheidend ist: Die Aminosäuresequenz Arginin, Glycin und Asparaginsäure (RGD).<sup>[113,114,115,116]</sup> Es handelt sich hierbei um ein zentrales Zellerkennungsmotiv, das in einem Großteil der Matrixproteine vorkommt. Erst jetzt konnte auch die Integrinfamilie erforscht werden (Abb.15).<sup>[64]</sup> Die Integrine besitzen eine hohe Selektivität für bestimmte Adhäsionsproteine. Zusätzliche Bindungsregionen oder unterschiedliche Konformationen der RGD-Sequenz könnten der Grund sein. Seit 1990 weiß man, daß mit der Bindung an extrazelluläre Strukturen bestimmte innerzelluläre Signalkaskaden aktiviert werden, die sich auf das Genaktivitätsmuster und somit auf die Proteinherstellung auswirken.

Integrine sind heterodimere transmembrane Glycoproteine, die aus einer  $\alpha$ - und einer  $\beta$ -Untereinheit bestehen. Die größere  $\alpha$ -Untereinheit enthält ca. 1100 Aminosäuren und ist häufig aus zwei unterschiedlichen langen Aminosäureketten aufgebaut, die über eine Disulfidbrücke verbunden sind. Der extrazelluläre Teil der  $\alpha$ -Einheit ist durch drei bis vier Bereiche von jeweils 12 bis 15 Aminosäuren am *N*-Terminus gekennzeichnet, die zweiwertige Kationen binden. Man nimmt an, daß RGD-haltige Liganden sich an diese  $\alpha$ -Untereinheit binden. Die  $\beta$ -Untereinheit besteht, mit Ausnahme der  $\beta_4$ -Einheit (ca. 1750 AS), aus nicht ganz 800 Aminosäuren und enthält vier hochkonservierte, cysteinreiche Domänen von je ca. 40 Aminosäuren nahe der transmembranen Region, sowie eine große Schleife am *N*-Terminus des extrazellulären Teils. Beide Untereinheiten haben eine kurze membranständige Region (20-30 AS) und eine cytoplasmatische Domäne (20-50

### 3. Entwicklung der RGD-Peptide

AS). An der Bindung extrazellulärer Liganden sind beide Untereinheiten beteiligt. Die Kontaktstellen befinden sich in Domänen nahe der N-Termini.<sup>[35,117,118,119,120]</sup> Der C-Terminus der  $\beta$ -Untereinheit verbindet über intrazelluläre Proteine wie Talin<sup>[121]</sup>, Vinculin<sup>[122,123]</sup> und  $\alpha$ -Actinin<sup>[124]</sup> den Rezeptor mit dem Aktinfilament des Cytoskeletts. Damit ermöglichen die Integrine den Zellen sowohl eine feste Bindung zur extrazellulären Matrix und zu anderen Zellen, als auch die Informationsübertragung in das Zellinnere.

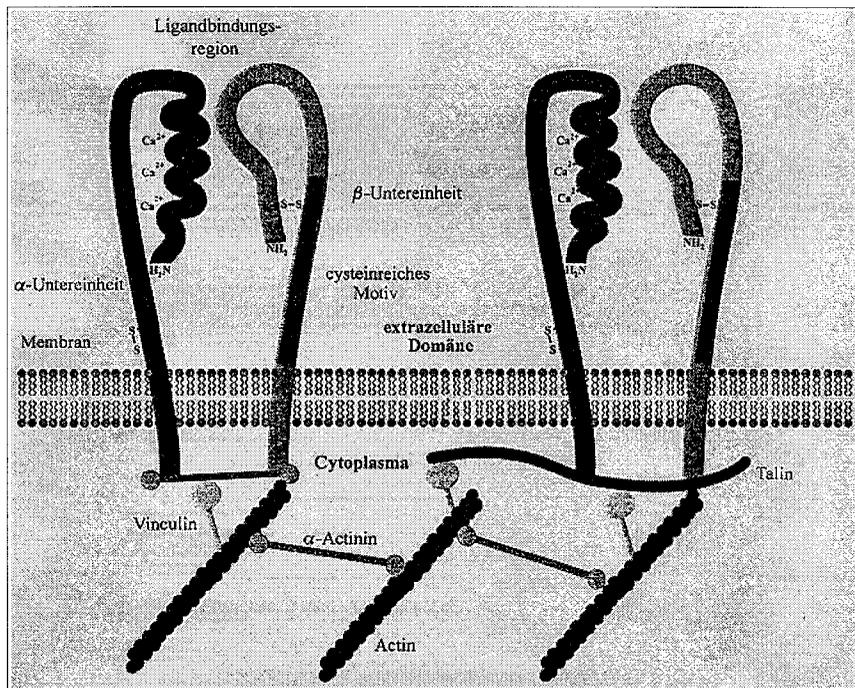


Abb. 15: Schematische Darstellung der Integrine.<sup>[64]</sup>

Es gibt eine große Zahl unterschiedlicher Integrine. Bekannt sind 8  $\beta$ - und 15  $\alpha$ -Untereinheiten. Neun Integrine binden über die RGD-Sequenz an den Liganden:  $\alpha_5\beta_1$ ,  $\alpha_3\beta_1$ ,  $\alpha_2\beta_1$ ,  $\alpha_V\beta_5$ ,  $\alpha_V\beta_6$ ,  $\alpha_V\beta_3$ ,  $\alpha_{LR}\beta_3$  und  $\alpha_{IIb}\beta_3$ .

Integrine, die bei der Bildung fester Kontakte und bei der Gewebeorganisation zum Einsatz kommen, werden in Tumorzellen in geringem Maße exprimiert. Integrine, die hauptsächlich an der Migration durch das Gewebe beteiligt sind, werden hingegen verstärkt gebildet. Vor allem  $\alpha_V\beta_3$ -Integrin (Vitronectin-Rezeptor),<sup>[125]</sup> das die Bindung an extrazelluläre Matrixproteine bewirkt, wird auf vielen Tumorzellarten,<sup>[126]</sup> wie Osteosarkomen, Neuroblastomen, Lungen-, Brust-, Prostata- und Blasenkarzinomen sowie Glioblastomen und invasiven Melanomen exprimiert. Auch im Knochenstoffwechsel spielen integrinvermittelte Zelladhäsionsvorgänge eine Rolle.<sup>[127,128]</sup> So wird die Osteoclastenoberfläche an extrazelluläre Knochenmatrixproteine wie Osteopontin oder Knochen-Sialoprotein über das  $\alpha_V\beta_3$ -Integrin angebunden. Aus diesem Grund ist die Entwicklung von  $\alpha_V\beta_3$ -Antagonisten sowohl für die Inhibierung der tumorinduzierten Angiogenese (Neubildung von Blutgefäßen),<sup>[129,130]</sup> als auch für die Inhibierung von Knochenabbau wichtig.<sup>[131,132,133]</sup>

### 3.2. Entwicklung von $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten

Die RGD-Sequenz ist sogar in Schlangengiften, wie z.B. in Kistrin,<sup>[134,135]</sup> Echistatin<sup>[136,137]</sup> oder Flavordin<sup>[138]</sup> vorhanden. Bei den meisten dieser „Disintegrine“ handelt es sich um Toxine, die in die Blutgerinnungskaskade eingreifen und Blutungen hervorrufen, die Herz- und Kreislaufversagen zur Folge haben.<sup>[139]</sup> Strukturuntersuchungen der Disintegrine deuten darauf hin, daß die hohe Aktivität auf der guten Anpassungsfähigkeit der zur Blockierung der Integrine benötigten RGD-Sequenz beruht. Die Konformation der RGD-Sequenz in natürlichen Matrixproteinen während der Bindung an den Rezeptor konnte noch nicht aufgeklärt werden.<sup>[64]</sup> Für das Design neuer selektiver Wirkstoffe können deshalb keine Aussagen gemacht werden.

Als erster  $\alpha_v\beta_3$ -Antagonist wurde 1987 von *Pierschbacher et al.*<sup>[140]</sup> ein cyclisches RGD-Peptid eingesetzt. Es handelte sich dabei um ein Cycloheptapeptid, dessen Ring durch eine Disulfidbrücke gebildet wird. Allerdings war seine biologische Wirkung schwach und erst 1991 wurde ein RGD-Cyclopeptid von *Kessler et al.*<sup>[75]</sup> entwickelt, dessen Wirkung 100mal stärker war: c[Arg-Gly-Asp-DPhe-Val] (**43**). Das Cyclopentapeptid **43** hat einen  $IC_{50}$  von nur 2 nM und eine ausgezeichnete Selektivität ( $IC_{50} (\alpha_{IIb}\beta_3/Fb) = 3300$  nM) (Abb. 16).

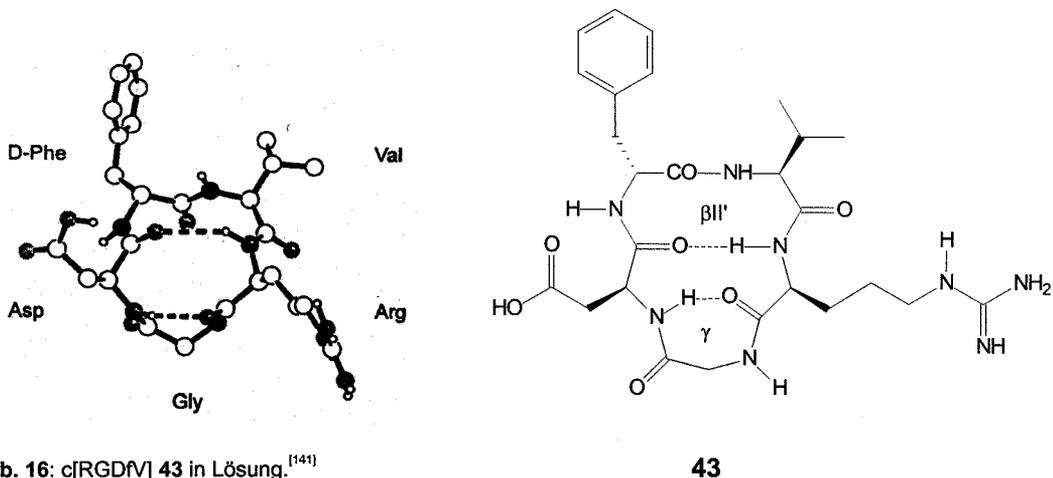


Abb. 16: c[RGDFV] **43** in Lösung.<sup>[141]</sup>

Das Cyclopeptid **43** wurde durch „spatial screening“ gefunden. Man synthetisierte eine Bibliothek stereoisomerer cyclischer Peptide, mit denen die optimale Struktur (matched-Fall = bioaktive Konformation) für die einzelnen Rezeptorsubtypen eingegrenzt werden konnte.<sup>[71,76,142]</sup> Die Konformation von **43** ist durch eine  $\beta II'$ - und  $\gamma$ -Schleife eingeschränkt, wobei die  $\beta II'$ -Schleife durch die D-Aminosäure induziert wird. Besonders die geknickte Konformation der RGD-Sequenz am Glycin ( $\gamma$ -Schleife) ist für die hohe Selektivität verantwortlich (Abb. 17). *Kessler et al.*<sup>[76,143]</sup> nutzten das Peptid **43** als Leitstruktur für umfangreiche Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen (SAR).

### 3. Entwicklung der RGD-Peptide

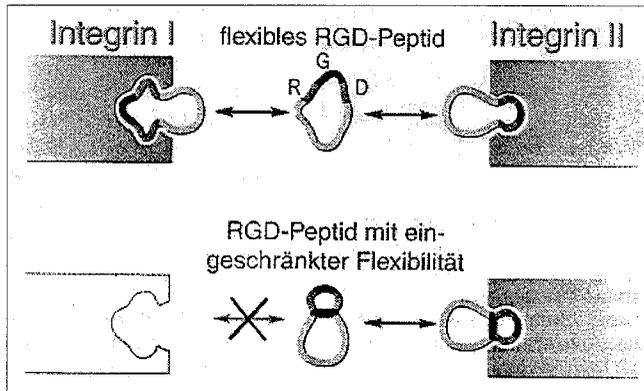


Abb. 17: Selektivität durch Einschränkung der Konformation.

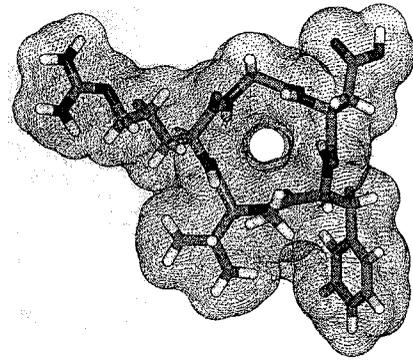
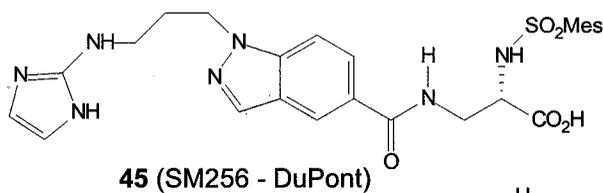


Abb. 18: Raumaufüllung von 44.

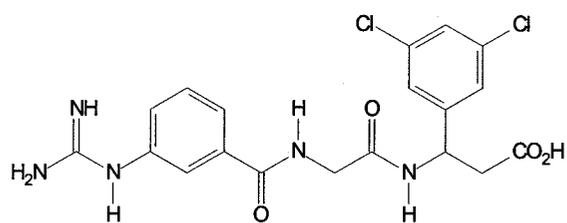
Die Aktivität von **43** konnte weiter erhöht werden durch *N*-Methylierung der Peptidbindung von Valin. Das so modifizierte Cyclopeptid **44** (EMD121974, Merck KGaA, Darmstadt) hat einen  $IC_{50}$ -Wert von 0.58 nM und befindet sich bereits in der klinischen Phase II als Krebsmedikament.<sup>[144]</sup> Mittlerweile hat jedes bekannte Pharmaunternehmen mehrere  $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten in der Entwicklung.<sup>[145]</sup> Beispielsweise entwickelte DuPont den auf Indazol basierenden Inhibitor **45** ( $IC_{50}$  = 0.057 nM) und SmithKline Beecham den auf 2-Benzazepin basierenden Antagonisten **46** ( $IC_{50}$  = 12 nM). Monsanto/Searle entwickelte die Antagonisten **47** ( $IC_{50}$  = 1.1 nM) und **48** ( $IC_{50}$  = 0.56 nM).



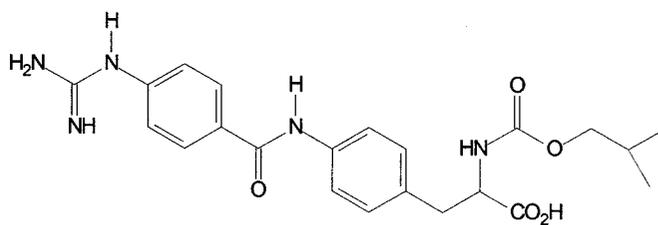
**45** (SM256 - DuPont)



**46** (SB267268 - SmithKline Beecham)



47 (SC68448 - Monsanto/Searle)



48 (SC69000 - Monsanto/Searle)

Abb. 19: Industriell entwickelte  $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten.



## III. Spezieller Teil

### 4. Ziele der Arbeit

Die Substitution von Aminosäuren im *Kessler*'schen Cyclopeptid c(RGD<sup>D</sup>FV) (**43**) durch  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin soll die Möglichkeit eröffnen, mehr Informationen über die Struktur-Aktivitäts-Beziehung dieses  $\alpha_v\beta_3$ -Antagonisten zu bekommen. Der Einbau von  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin macht durch weitere Umsetzung mit spezifisch ausgewählten Nucleophilen eine Reihe von Derivaten möglich, die für das räumliche Screening („spatial screening“) geeignet erscheinen.

Die Modifizierung der Seitenketten von Arginin und Asparaginsäure ist besonders attraktiv, da die Säure- und Guanidinogruppe entscheidend für die Wechselwirkungen mit den Integrinrezeptoren sind. Der NMR-spektroskopisch ermittelte Abstand zwischen den  $\beta$ -C-Atomen der Asp- und Arg-Seitenketten in **43** liegt bei ca. 0.69 nm. *Giannis et al.*<sup>[146]</sup> folgern daraus, daß **43** weiter optimiert werden kann, da für die Erkennung durch den Fibrinogen-Rezeptor ein größerer Abstand als optimal gilt (0.75 – 0.85 nm). *Kessler et al.*<sup>[64]</sup> beurteilt den Abstand ebenfalls als entscheidend für die Aktivität und führt die Distanz von 0.69 nm auf die stark geknickte  $\gamma$ -Schleife zurück, in der sich die RGD-Wirksequenz befindet (Abb. 20).

Diese Schleifenstruktur kann nur durch Austausch einer Aminosäure verändert und so der Abstand erhöht werden. Der Austausch würde jedoch zu sinkender Aktivität führen, da sich jede einzelne Aminosäure als wichtig erwiesen hat. Die Substitution von Arginin oder Asparaginsäure durch  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin bietet hier einen Ausweg. Unter Erhalt der Schleifenstruktur sollen die Seitenketten verlängert und die Aktivität des Wirkstoffes gesteigert werden.

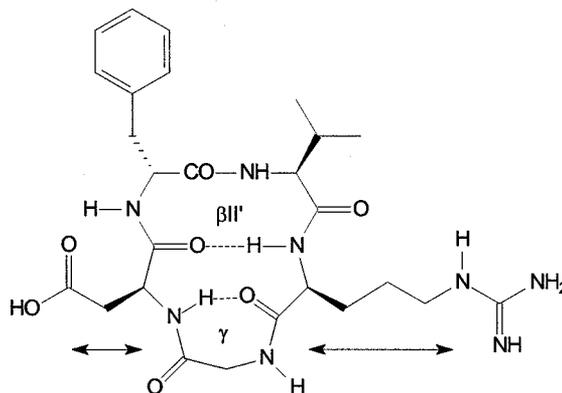


Abb. 20: Seitenketten als Variationsmöglichkeit in **43**.

#### 4. Ziele der Arbeit

Das durch Substitution der Asparaginsäure erhaltene Derivat **49** soll mit vier Carbonsäuren (**50 a-d**) umgesetzt werden, deren Säuregruppe von einer nucleophilen Gruppe jeweils unterschiedlich weit entfernt ist (Alkylkette = Spacer). Analog soll das durch Substitution von Arginin erhaltene Derivat **52** mit vier Guanidinoderivaten (**53 a-d**) umgesetzt werden, deren Alkylketten ebenfalls unterschiedlich lang sind.

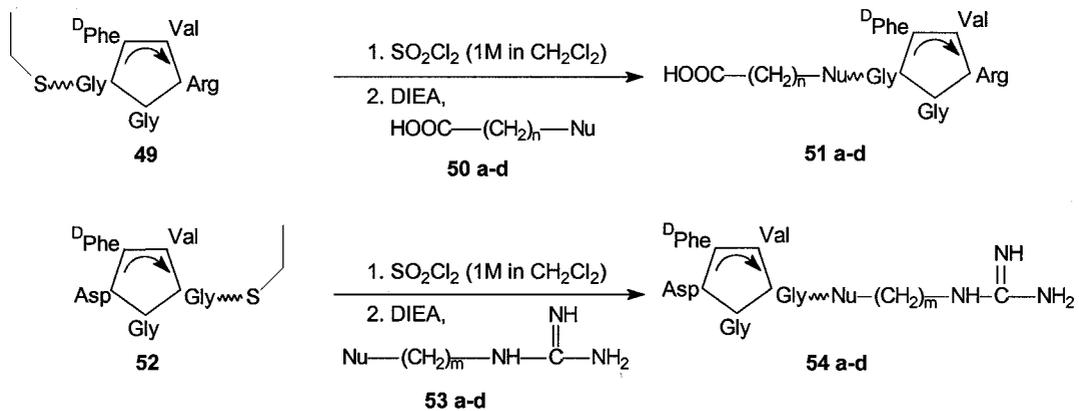


Abb. 21: Variation der Seitenketten.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist es, die Möglichkeiten der *Steglich*'schen Peptidchemie (siehe 5.  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin zur Synthese modifizierter Peptide) an der Festphase zu erweitern. Es muß dazu ein Trägermaterial mit einem passenden Linker gefunden werden, das die C-terminale Anknüpfung eines  $\alpha$ -(Ethylthio)peptids erlaubt und den Reaktionsbedingungen für dessen Umsetzung (SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Nucleophil - meist ein Thiol, DIEA) standhält (**55**  $\rightarrow$  **56**), ohne daß das Peptid vom Polymer abgespalten wird. Auch die weitere Kupplung von Aminosäuren an das derivatisierte Peptid **56** sollte möglich sein (**56**  $\rightarrow$  **57**). Es muß deshalb - z.B. durch HCl/Dioxan - das relativ stabile Hydrochlorid bei der Entfernung der Boc-Schutzgruppe erzeugt werden,<sup>[147]</sup> ohne daß der Linker beeinflusst wird. Die Abspaltung vom Trägermaterial (TFA / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1) darf das Peptid nicht beschädigen (**57**  $\rightarrow$  **58**).

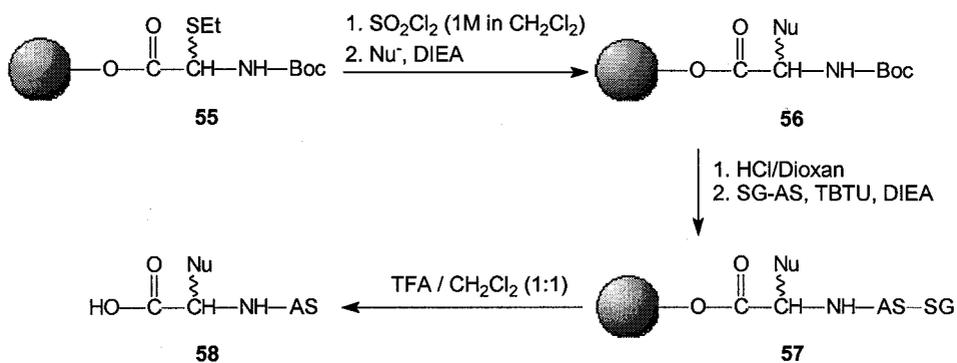


Abb. 22: *Steglich*'sche Peptidchemie an der Festphase.

## 5. Verwendung von $\alpha$ -(Ethylthio)glycin zur Synthese modifizierter Peptide

Peptide und Proteine steuern als Neurotransmitter, Neuromodulatoren und Hormone eine Vielzahl physiologischer Prozesse. Sind diese Vorgänge pathologisch relevant, so bieten sich Ansatzpunkte für die Medizin. Physiologisch aktive Peptide, die als natürliche Wirkstoffe von zentraler Bedeutung sind, weisen jedoch bei der Anwendung als Medikament gravierende Mängel auf. Bei oraler Applikation ist ihre Bioverfügbarkeit aufgrund schlechter Resorption gering und ihre Lebensdauer kurz, da sie in Magen, Serum und Leber durch enzymatische Abbauprozesse rasch metabolisiert werden.<sup>[148]</sup> Die Spezifität eines rein peptidisch aufgebauten Wirkstoffes ist darüber hinaus oft noch nicht optimal.

Der Wunsch, diese Nachteile zu umgehen und von biologisch aktiven Peptiden zu therapeutisch nutzbaren Wirkstoffen zu gelangen, führt zur Entwicklung modifizierter Peptide (Peptidmimetica). Attraktiv erscheint vor allem die Modifizierung pharmazeutisch interessanter Peptide ohne *de-novo*-Synthese, d.h. die Erzeugung zahlreicher Peptide ausgehend von einem gemeinsamen Vorläufer. Die Synthese fokussierter Peptidmimetica-Bibliotheken sollte die Entwicklung eines Wirkstoffes deutlich beschleunigen.

Eine flexible Möglichkeit zur Peptidmodifizierung, die in unserem Arbeitskreis entwickelt wurde, basiert auf  $\alpha$ -(Ethylthio)glycyl-Peptiden **61**. Das  $\alpha$ -C-Atom des Glycyl-Peptids **59** wird durch NBS bromiert. Die Eliminierung zum Dehydroglycyl-Peptid **60** wird durch Zugabe einer Base verursacht, und durch nucleophile Addition von Ethanthiol gelangt man zu **61**.<sup>[149,150,151,152]</sup>

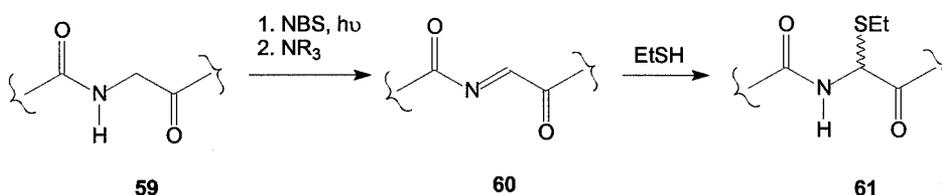


Abb. 23: Synthese von  $\alpha$ -(Ethylthio)glycyl-Peptid **61** durch Bromierung von Glycin.

Alternativ kann ein Seryl-Peptid **62** in abs. Essigsäureethylester mit einem Überschuß an Bleitetraacetat in Gegenwart von Molekularsieb 4Å in einer der *Criegee*-Diolsplaltung<sup>[153]</sup> analogen Reaktion unter Verlust von Formaldehyd in das reaktive  $\alpha$ -(Acetoxy)peptid **63** überführt werden. Durch Eliminierung von Essigsäure und Addition von Ethanthiol erhält man das  $\alpha$ -(Ethylthio)glycyl-Peptid **61**.<sup>[151,154,155]</sup>

5. Verwendung von  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin zur Synthese modifizierter Peptide

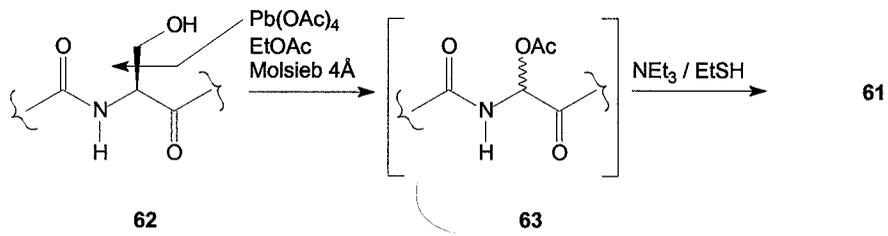


Abb. 24: Synthese von  $\alpha$ -(Ethylthio)glycyl-Peptid **61** durch oxidative Spaltung von Serin.

Die stabile Lagerform **61** wird durch Umsetzung mit  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  in das reaktive Glycin- $\alpha$ -Kation-Equivalent  $\alpha$ -Chlorglycin überführt, welches bei Zugabe einer tertiären Stickstoffbase Chlorwasserstoff verliert. Das so gewonnene Dehydroglycyl-Peptid **60** addiert *in situ* eine Vielzahl von Nucleophilen und eröffnet dadurch den Zugang zu den modifizierten Peptiden und Aminosäuren **64**, meist als Gemisch beider Stereoisomeren.<sup>[151,156,157,158,159]</sup>

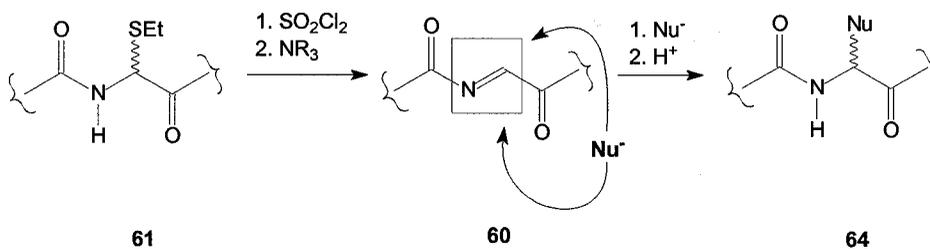


Abb. 25: Prinzip der Peptidmodifizierung über  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin nach Steglich.

Stark<sup>[147, 150]</sup> gelang erstmals die Darstellung von D,L- $\alpha$ -(Ethylthio)glycin-methylester (**66**) durch *N*-terminale Entschützung von **65** und die Derivatisierung zum Dipeptid durch Kupplung mit einer weiteren Aminosäure. Eine Isolierung oder *in situ*-Kupplung ist unmöglich, da sich das instabile Intermediat **66** sofort zersetzt. Das *N,S*-Acetal spaltet sich in Ethanthiol und Glyoxylsäureimin **67**, welches anschließend in das Glyoxylsäurederivat **68** und Ammoniak zerfällt.<sup>[160,161]</sup>

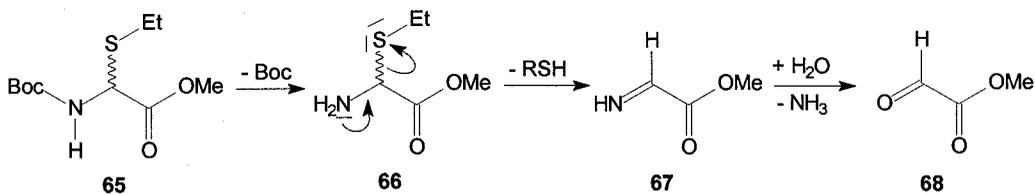


Abb. 26: Zerfall von ungeschützten *N,S*-Acetalen.

Die Stabilisierung von **66** gelingt durch Überführung in das entsprechende Hydrochlorid **69**. In ihm ist das freie Elektronenpaar am Stickstoff blockiert, und der Zerfall wird unterbunden. Das Salz erhält man aus *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-D,L- $\alpha$ -(ethylthio)glycin-methylester (**65**) durch Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels 2N HCl in Eissigsäureethylester oder 4N HCl in Dioxan. Die *in situ*-Kupplung des freigesetzten Amins ist in sehr guten Ausbeuten möglich.

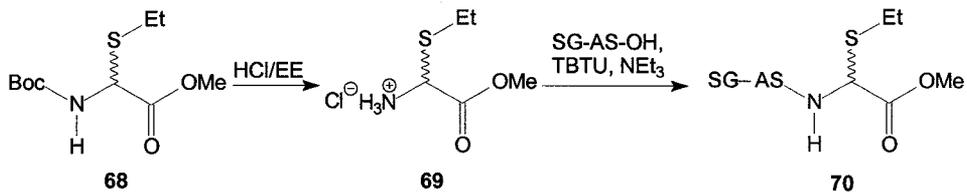


Abb. 27: Stabilisierung von freien *N,S*-Acetalen als Hydrochlorid und Kupplung zum Dipeptid.

Die Methode von Stark<sup>[147]</sup> macht den Einsatz von Seryl-Dipeptiden für den Aufbau von längeren Peptiden, die  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin enthalten sollen, überflüssig.



## 6. Modifizierung von c(RGDfV) (43) mittels $\alpha$ -(Ethylthio)glycin

### 6.1. Vergleich von Boc- und Fmoc-Chemie

Grundsätzlich stellt sich bei der Synthese eines Peptids an der Festphase (SPPS = Solid Phase Peptide Synthesis) die Frage, ob die Boc- (*tert*-Butyloxycarbonyl) oder Fmoc- (9-Fluorenylmethoxycarbonyl) Strategie angewendet werden soll, d.h. ob der *N*-Terminus der zur Synthese eingesetzten Aminosäuren durch die Boc- oder Fmoc-Schutzgruppe geschützt wird.<sup>[162]</sup>

Merrifield wendete die Boc-Strategie an und entfernte Boc-Schutzgruppen mit 25-proz. TFA.<sup>[163,164,165]</sup> Das kann zu säurekatalysierten Nebenreaktionen führen. Am Ende der Synthese wird das Peptid vom Harz abgespalten und Seitenkettenschutzgruppen entfernt. In den meisten Fällen benötigt man hierfür Hydrogenfluorid (HF) oder Trifluormethansulfonsäure (TFMSA) - sehr starke Säuren, die spezielle Apparaturen (Teflon) und Erfahrung im Umgang erfordern.

Im Unterschied zur Boc-Strategie setzt die Fmoc-Strategie orthogonale Schutzgruppen ein.<sup>[166,167,168]</sup> Die Fmoc-Schutzgruppe kann durch 20 -proz. Piperidinlösung abgespalten werden und die Seitenkettenschutzgruppen durch TFA. Die Abspaltung vom Harz kann bei bestimmten Harzen (z.B. 2-Chlortrityl-Harz, Sieber Amid-Harz)<sup>[11]</sup> sogar schon durch 1 -proz. TFA erreicht werden, so daß die Seitenkettenschutzgruppen erhalten bleiben. Ein weiterer Vorteil ist, daß bei der Entschützung abgespaltene Fmoc-Schutzgruppen im UV sichtbar sind. Diese Detektion erlaubt das „real-time monitoring“ bei der „continuous flow“-Methode. Bei der „continuous flow“-Methode befindet sich das Harz in einer Säule und die Reagenzien werden kontinuierlich in einem Kreislauf durch die Säule gepumpt. Im Unterschied dazu wird mit der Boc-Strategie nur „batch“-Synthese betrieben, d.h. die Reagenzien befinden sich mit dem Harz in einem Gefäß und werden nach der Reaktion abfiltriert.<sup>[169]</sup>

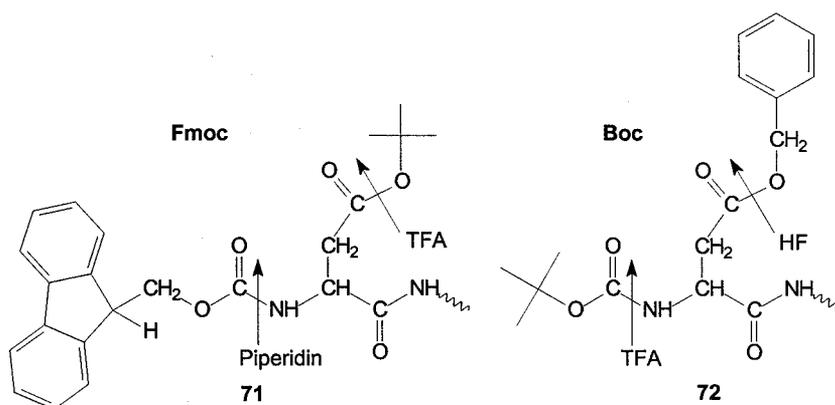


Abb. 28: Schutzgruppenstrategien in der SPPS.

## 6. Modifizierung von c(RGDV) (43) mittels $\alpha$ -(Ethylthio)glycin

---

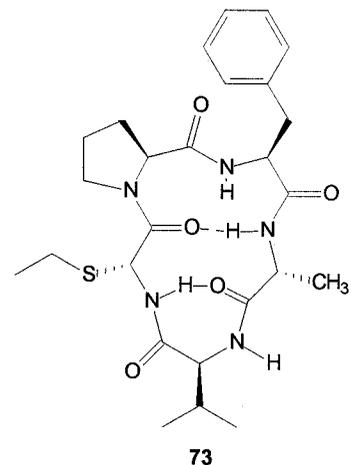
In dieser Arbeit werden beide Strategien angewendet. Nur aus *N-tert*-Butyloxycarbonyl-D,L- $\alpha$ -(ethylthio)glycin lässt sich durch Entfernung der Boc-Schutzgruppe das stabile Hydrochlorid erzeugen, und die Verwendung relativ mild abspaltbarer Seitenkettenschutzgruppen aus der Fmoc-Chemie erleichtert Synthesen erheblich.

## 6.2. Asparaginsäure-Modifizierung von c(RGD<sup>D</sup>FV) (43)

### 6.2.1. Cyclopeptidsynthese mit dem Kaiser-Harz (19)

Die Synthese von c[FV<sup>D</sup>RG<sup>D,L</sup>G(SEt)] (**49**) soll zunächst am *para*-Nitrobenzophenonoxim-Harz (Kaiser-Harz) (**19**) versucht werden (siehe 2.3.2. Cyclopeptidsynthese an der Festphase).<sup>[85-97]</sup> Es ist das einzige Aktivesterharz, das die Abspaltung vom Harz und die Cyclisierung des Peptides in einem Schritt ermöglicht. Die Abspaltung geschieht generell durch nucleophile Addition.

Paulitz<sup>[158,170]</sup> gelang mit diesem Harz sogar die diastereoselektive Synthese des Cyclopentapeptids c[V<sup>D</sup>G(SEt)PF<sup>D</sup>A] (**73**). Die sterisch sehr anspruchsvollen Aminosäuren in diesem Cyclopeptid führen dazu, daß sich bei der abspaltenden Cyclisierung nur das Isomer mit D-(Ethylthio)glycin abspalten läßt. Wird nicht cyclisierend mit Hydrazinhydrat abgespalten, so entsteht ein Diastereomerenmisch, in dem D- und L-(Ethylthio)glycin im Verhältnis 1:1 vorliegen.



Die Synthese des Cyclopentapeptids **49** beginnt mit der Beladung des Harzes durch das Dipeptid BocGlyGly(SEt)OH (**74**). Sukzessive Verlängerung des harzgebundenen Peptids nach der Boc-Strategie (5 eq. AS, 4.9 eq. TBTU, 5 eq. HOBt, 10 eq. DIEA) mit BocArg<sup>Tos</sup>OH, BocValOH und Boc<sup>D</sup>PheOH führt zu **76**. Anschließend wird die letzte Boc-Schutzgruppe entfernt und cyclisierend abgespalten.

6. Modifizierung von c(RGDfV) (43) mittels  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin

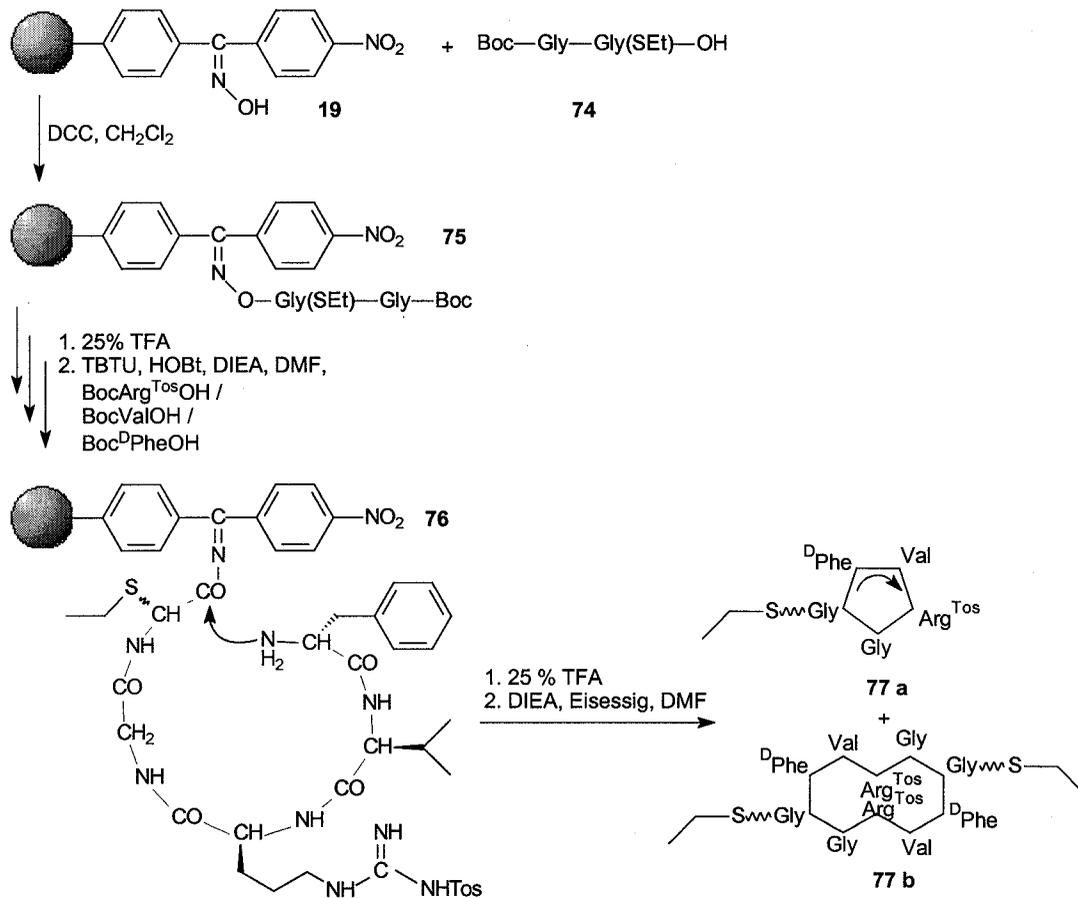


Abb. 29: Synthese von c[FVR<sup>Tos</sup>G<sup>D,L</sup>(SEt)] (77 a) am Kaiser-Harz (19).

Leider entsteht bei der Abspaltung nicht nur das Cyclopentapeptid, sondern auch das Dimer – das Cyclodecapeptid. Offensichtlich kann die Abspaltung intra- und intermolekular erfolgen, d.h. der N-Terminus des harzgebundenen, linearen Pentapeptids kann neben seinem eigenen Linker auch andere erreichen. Dieses Verhalten wurde auch schon bei anderen Peptidsynthesen am Kaiser-Harz beobachtet. Die Dimerisierung ist bei Tetra-, Penta- und Hexapeptiden bekannt und von ihrer Aminosäuresequenz abhängig.<sup>[171,172]</sup> Um durch einen Verdünnungseffekt die Dimerbildung zu unterdrücken, werden Synthesen mit einer geringeren Harzbeladung durchgeführt. Statt 1 mmol/g wird eine Beladung von 0,8, 0,5 und 0,2 mmol/g gewählt. Dadurch kann ein Verhältnis Monomer/Dimer von 9:1 (bei 0,2 mmol/g) erreicht werden (Abb. 30). Allerdings sinkt durch die geringere Beladung die Gesamtausbeute soweit (10 % bezogen auf 100 % funktionalisiertes Polymer), daß der Nutzen der Festphasensynthese verloren geht.

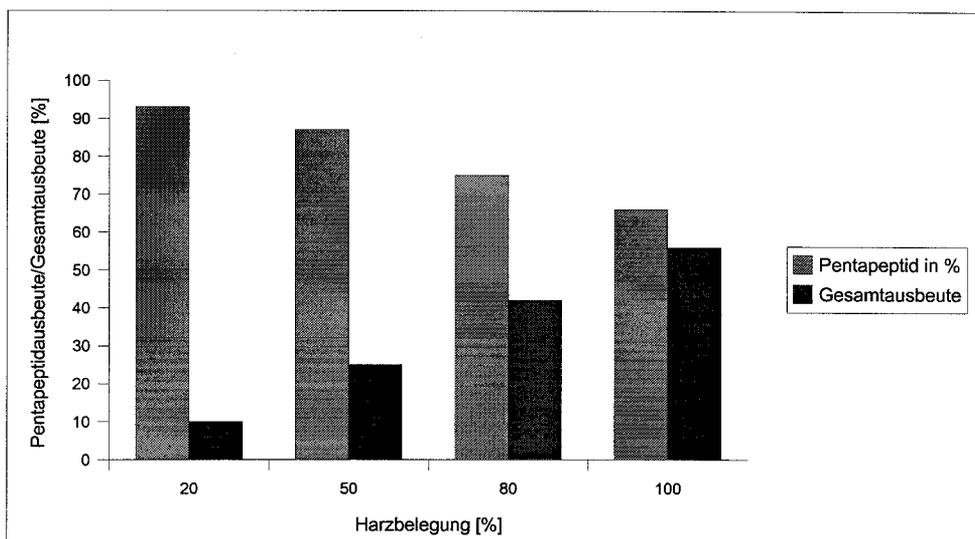


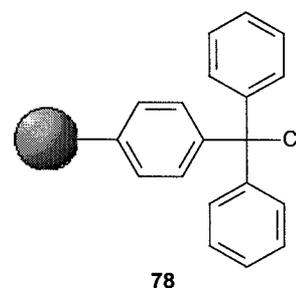
Abb. 30: Verdünnungsversuche am Kaiser-Harz (19).

Die Boc-Strategie erfordert bei dieser Synthese außerdem den Einsatz der Tosyl-Schutzgruppe für die Argininseitenkette. Die Tosyl-Schutzgruppe kann jedoch nur schwer nach der Synthese entfernt werden. Man benötigt HF/Anisol oder  $\text{Na}/\text{NH}_3$ .<sup>[173]</sup> Aus diesem Grund und wegen der Dimerproblematik muß eine andere Synthesestrategie gewählt werden. Gut abspaltbare Schutzgruppen für die Argininseitenkette gibt es in der Fmoc-Chemie, und durch die daraus notwendig werdende Verwendung eines anderen Harzes findet auch die Dimerbildung nicht mehr statt.

## 6.2.2. Synthese mit dem TCP-Harz (78)

### 6.2.2.1. Einleitung

Das TCP-Harz (Tritylchlorid-Harz) (78) kann durch seine Chloridfunktion Imino-, Guanidino-, Carboxamido-, Thiol- oder Hydroxylgruppen immobilisieren, die sich milde (max. 50 -proz. TFA) wieder abspalten lassen.<sup>[174]</sup> Die milden Abspaltbedingungen beruhen auf der Stabilität des entstehenden Tritylkations. Darüber hinaus sind Tritylkationen sehr schwache Elektrophile, die nicht zu alkylierenden Nebenreaktionen neigen. Substituenten (-Cl, -OMe) an den Phenylgruppen können die Säureempfindlichkeit des Harzes weiter erhöhen. Aufgrund dieser Eigenschaften findet das TCP-Harz (78) auch außerhalb der Peptidsynthese Anwendung.<sup>[175,176,177,178]</sup>



Das TCP-Harz (78) wird in der Fmoc-Peptidsynthese häufig verwendet, weil die Beladung des Harzes ohne Aktivierung der Aminosäure durchgeführt werden kann. Die Racemisierungsmöglichkeit (Abb. 31) wäre somit bei der geplanten Fragmentkondensation zu Beginn der Synthese ausgeschlossen.<sup>[162]</sup>

## 6. Modifizierung von c(RGDFV) (43) mittels $\alpha$ -(Ethylthio)glycin

Bei der Aminosäurekupplung wird die Säuregruppe aktiviert, wodurch die Acidität des H-Atoms am  $\alpha$ -C-Atom erhöht wird. Normalerweise spielt dieser Weg der Epimerisierung aber keine Rolle. Nur beim Phenylglycin ist eine zusätzliche Enolstabilisierung möglich.

Ein anderer Racemisierungsmechanismus verläuft über Oxazolombildung (Abb. 31). Oft findet dieser Mechanismus bei Fragmentkondensationen statt. Das aktivierte Peptidfragment **79** abstrahiert HX (X = Kupplungsreagenz), und das gebildete Oxazolombildung kann durch Keto-Enol-Tautomerie racemisieren. Der eigentliche Kupplungspartner öffnet den Oxazolombildung wieder und koppelt dadurch zum nicht mehr enantiomerenreinen Peptid **81**. Bei der Synthese von c[FVRG<sup>D,L</sup>-G(SET)] (**49**) wird als erstes ebenfalls eine Fragmentkondensation eingesetzt. Allerdings wird am C-Terminus  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin verwendet, wodurch eine eventuell stattfindende Epimerisierung obsolet wird.

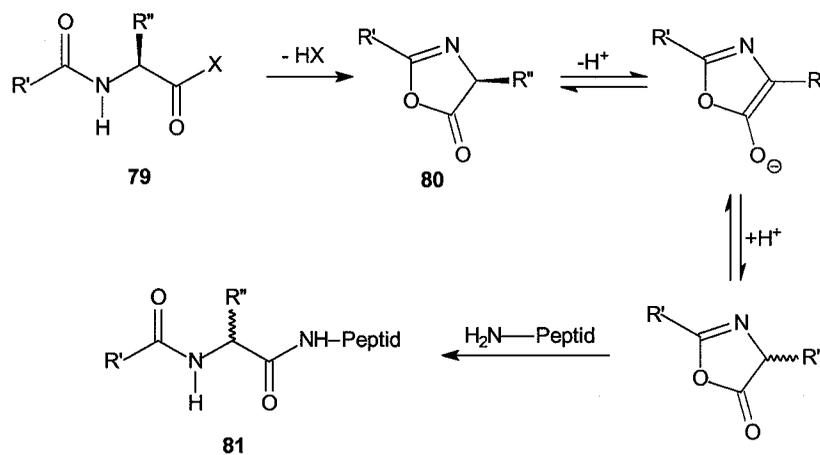


Abb. 31: Epimerisierung via Oxazolombildung.

Eine andere häufig auftretende Nebenreaktion ist die Diketopiperazinbildung (Abb. 32). Sie wird durch den hohen sterischen Anspruch des Trityl-Linkers beim TCP-Harz (**78**) unterdrückt. Die Diketopiperazinbildung führt zum thermodynamisch stabilen Dipeptidcyclus **83** (6-Ring). Besonders leicht bilden sich Diketopiperazine, die Glycin, Prolin und eine Aminosäure der L-Reihe und eine der D-Reihe enthalten.<sup>[45]</sup>

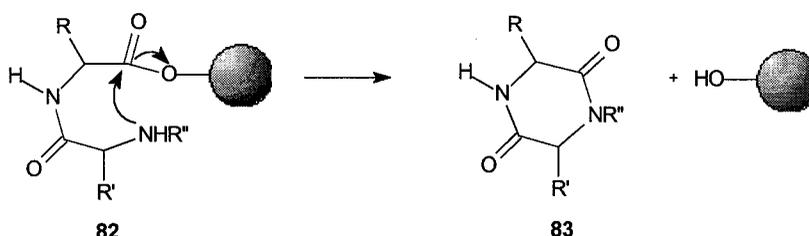


Abb. 32: Diketopiperazinbildung am Harz.

## 6.2.2.2. Wahl der Argininseitenketten-Schutzgruppe

Ein weiteres Problem bei der RGD-Synthese bereitet Arginin. Das zur Kupplung aktivierte Arginin (**84**) kann durch einen intramolekularen Angriff des N<sup>6</sup>-Atoms an der aktivierten Säuregruppe ein  $\delta$ -Lactam (**85**) bilden. Man unterdrückt die Reaktion durch Zugabe von HOBt bei der Kupplung oder durch eine Guanidinoschutzgruppe.

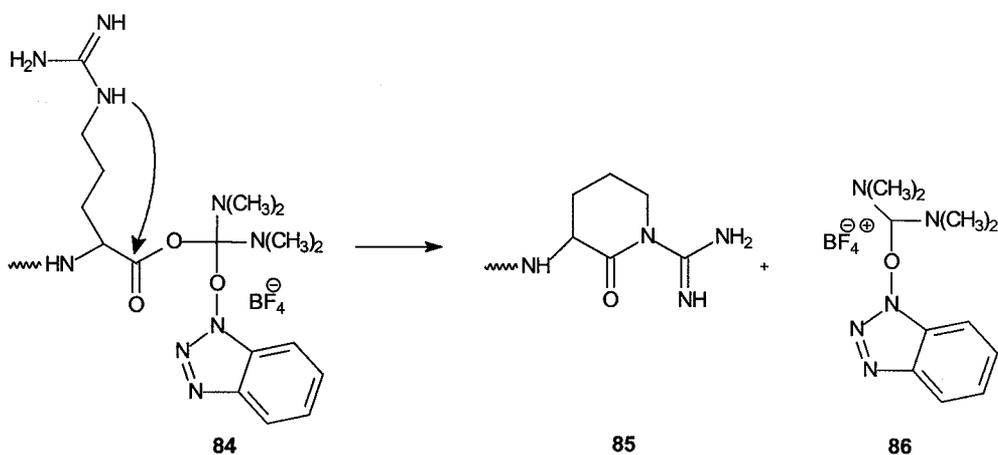


Abb. 33:  $\delta$ -Lactambildung von Arginin.

Natürlich wird eine Guanidino-Schutzgruppe auch zur Verhinderung einer ungewollten Aminosäurekupplung benötigt. Für die Synthese von c[<sup>P</sup>FVRG<sup>D,L</sup>G(SET)] (**49**) wird die 2,2,4,6,7-Pentamethyl-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl (Pbf)-Schutzgruppe (**87**) verwendet.<sup>[179]</sup> Diese von *Carpino* entwickelte Schutzgruppe kann durch 95 -proz. TFA innerhalb von 20 Min. abgespalten werden. Ähnliche Eigenschaften besitzt die 2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl (Pmc) – Schutzgruppe (**88**), deren Abspaltung etwas länger dauert, weil der cyclische 6-Ringether weniger Elektronendonoreigenschaft hat als der 5-Ringether.<sup>[180]</sup> Beide Schutzgruppen bieten einen großen Vorteil gegenüber der Tosylschutzgruppe (**89**), die härtere Abspaltungsbedingungen verlangt (HF/Anisol oder Na/NH<sub>3</sub>).<sup>[171]</sup> Die Mesitylen-2-sulfonyl (Mts)-Schutzgruppe (**90**) kann ebenfalls nur unter harten Bedingungen entfernt werden (HF, TFMSA).<sup>[11]</sup>

Die Tos- und Mts-Schutzgruppe sind Schutzgruppen aus der Boc-Chemie, während die Pbf- oder Pmc-Schutzgruppe in der Fmoc-Chemie Anwendung finden. Die alternativ zu verwendende Z-Schutzgruppe wird in der Regel durch Hydrierung (Pd/C) abgespalten. Hinsichtlich der Automatisierbarkeit einer Reaktion ist dies problematisch. Die Boc-Schutzgruppe kommt für diese Synthese nicht in Frage, da sie durch die Abspaltbedingungen des Peptids vom Harz gefährdet ist (5 -proz. TFA).

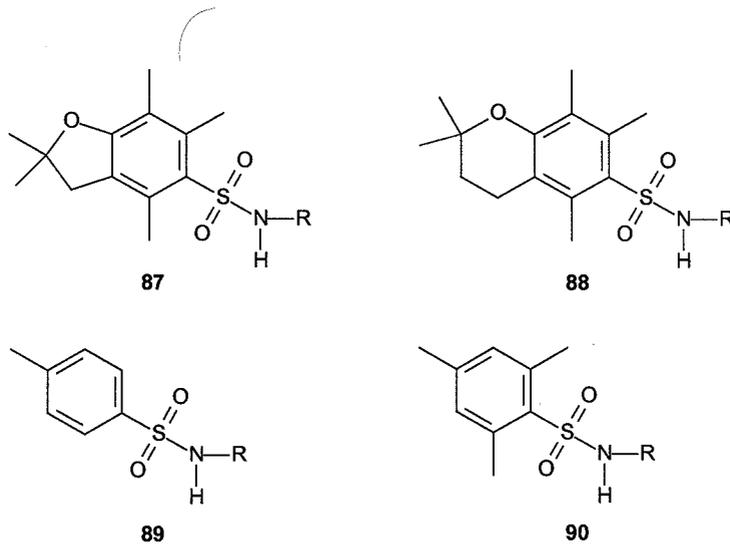


Abb. 34: Auswahl von Schutzgruppen für die Argininseitenkette.

### 6.2.2.3. Synthese von $c$ [<sup>D</sup>FVRG<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CO<sub>2</sub>H)] (98 a-d)

Man beginnt mit der Herstellung des Dipeptids FmocGlyGly(SEt)OH (**92**) (Abb. 35), da in der Fmoc-Chemie nicht das Hydrochlorid aus dem Boc-geschützten  $\alpha$ -(Ethylthio)glycyl-Peptid erzeugt werden kann. Man synthetisiert aus *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-D,L- $\alpha$ -(ethylthio)glycin-methylester (**68**) durch Umsetzung mit 2N HCl in Essigsäuremethylester das Hydrochlorid **69** (1 eq.). Man kuppelt in Acetonitril mittels TBTU (1 eq.) und DIEA (2 eq.) mit 9-Fluorenylmethoxycarbonylglycin (1 eq.) zum Dipeptid **91**. Die Verseifung des Dipeptids erfolgt durch Titration mit LiOH (1 M in THF) und wird mit Hilfe eines Farbumschlages von Phenolphthalein angezeigt.

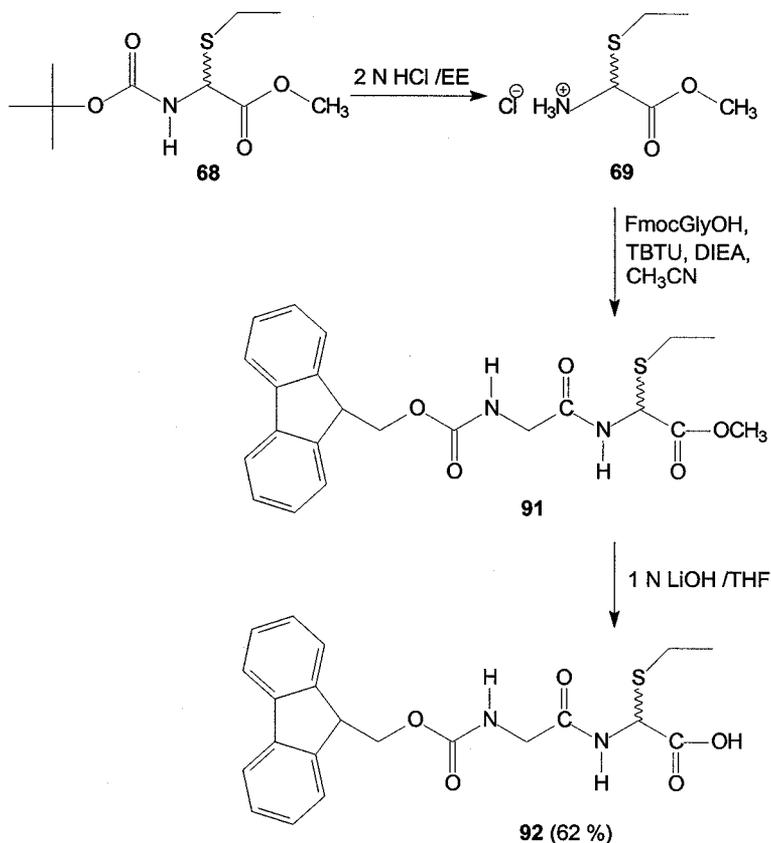


Abb. 35: Synthese von FmocGlyGly(SET)OH (**92**).

Man erreicht in Dichlormethan mit DIEA eine Beladung des TCP-Harzes (**78**) durch das Dipeptid **92** von 0.6 mmol/g (Abb. 36). Die Verlängerung des Peptids **93** geschieht durch Entschützung mit 20 -proz. Piperidin in DMF und anschließende Kupplung der entsprechenden Fmoc-Aminosäure (jeweils 5 eq. FmocArg<sup>Pbf</sup>OH, FmocValOH, Fmoc<sup>D</sup>PheOH). Die Kupplungen werden in DMF unter Verwendung von 4.9 eq. TBTU, 5 eq. HOBT und 10 eq. DIEA durchgeführt. Nach Entfernung der letzten Fmoc-Schutzgruppe wird das lineare Pentapeptid **94** durch 5 -proz. TFA in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> innerhalb von 1 h abgespalten und man erhält nach HPLC-Reinigung **95**. Die Cyclisierung wird in einer 5×10<sup>-3</sup> M Lösung in DMF mit PyBOP (1.2 eq.), HOBT (1.2 eq.) und DIEA (5 eq.) durchgeführt. Man erhält c[FVR<sup>Pbf</sup>G<sup>D,L</sup>-G(SET)] (**96**) in einer Gesamtausbeute von 64 %.

**96** wird als Ausgangsmaterial für weitere Modifizierungen benutzt (Abb. 37). Man erzeugt durch Chlorierung mit SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> das α-Chlorglycyl-Peptid und erhält mittels DIEA das Dehydroglycyl-Peptid, welches mit Mercaptoessigsäure, Mercaptopropionsäure, Mercaptobuttersäure und Mercaptovaleriansäure umgesetzt wird. Allein die Thiofunktion addiert sich an das Dehydroglycyl-Peptid, und man erhält die Cyclopeptide **97 a-d** nach HPLC-Reinigung in Ausbeuten von 80-86 %. Die Entfernung der Pbf-Schutzgruppe funktioniert quantitativ mit 95/2.5/2.5 TFA/H<sub>2</sub>O/TIPS. Triisopropylsilan und Wasser dienen als „Scavenger“, um Nebenreaktionen zu vermeiden.

6. Modifizierung von c(RGDFV) (43) mittels  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin

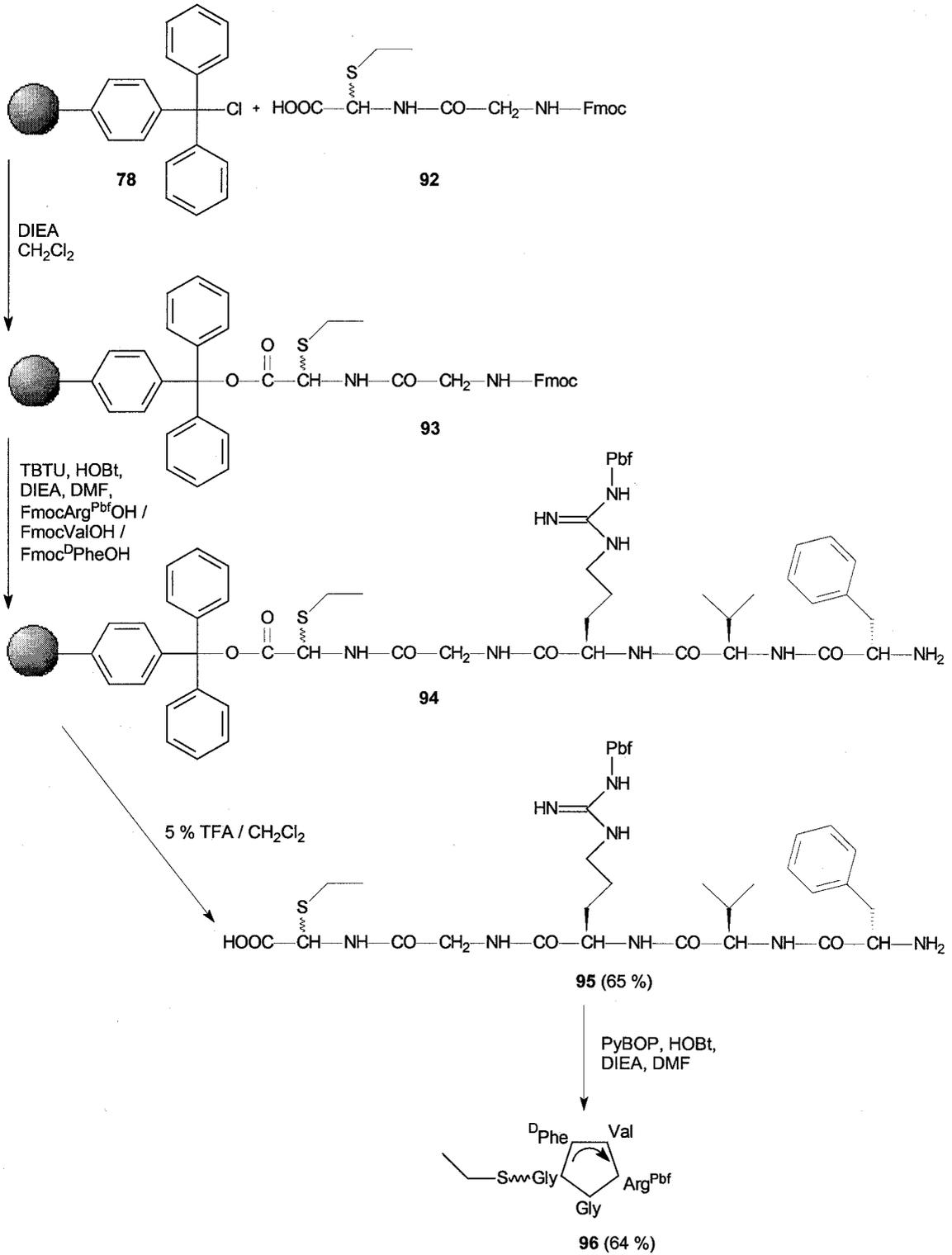


Abb. 36: Synthese von c[<sup>D</sup>FVR<sup>Pbf</sup>G<sup>D,L</sup>G(SET)] (**96**).

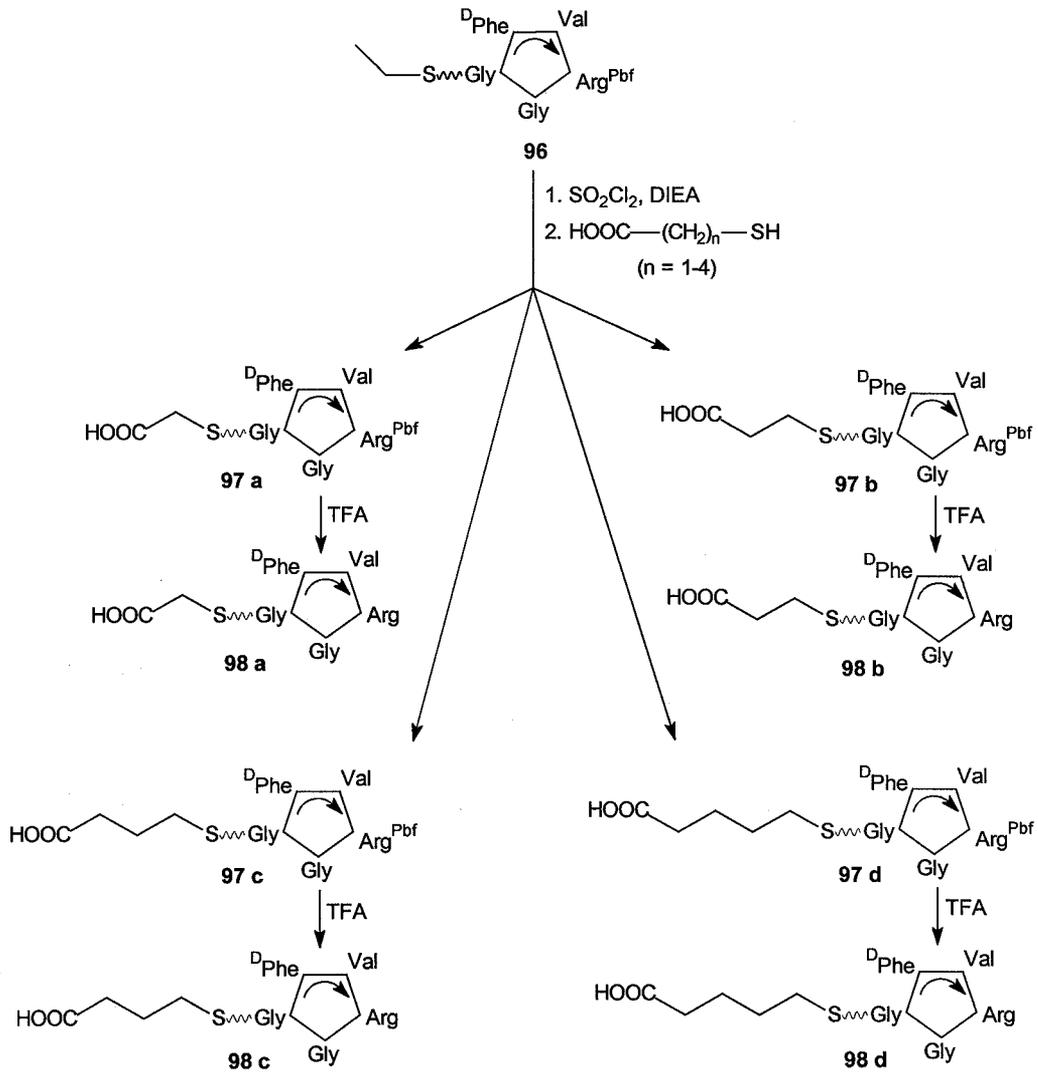


Abb. 37: Synthese von  $c[\text{D-FVRG}^{\text{D,L}}\text{-G}(\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H})]$  (98 a-d).



## 6.3. Arginin-Modifizierung von c(RGD<sup>D</sup>FV) (43)

### 6.3.1. Synthese von Thiolen

Die Thiole für die Umsetzung mit c[GD<sup>D</sup>FV<sup>D,L</sup>-G(SET)] (52) müssen synthetisiert werden. Man geht hierzu von den entsprechenden Aminoalkoholen (107 a-d) aus und guanidiert die Aminofunktion (Abb. 42). Es sind eine Reihe von Reagenzien bekannt, die Amine in geschützte Guanidinogruppen verwandeln, wie z.B. *N,N'*-Bis-Boc/Z-1-carboxamidinopyrazol (99),<sup>[181,182,183]</sup> *N,N'*-Bis-Boc/Z-S-methylisothioharnstoff (100)<sup>[184,185,186,187]</sup> und *N,N'*-Bis-Boc/Z-S-isothioharnstoff mit Mukaiyama's Reagenz (101).<sup>[188,189]</sup>

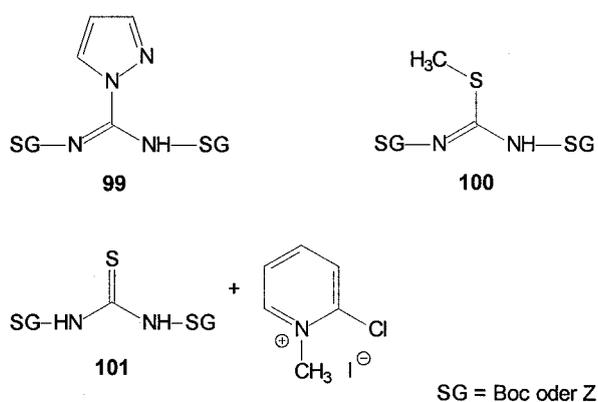
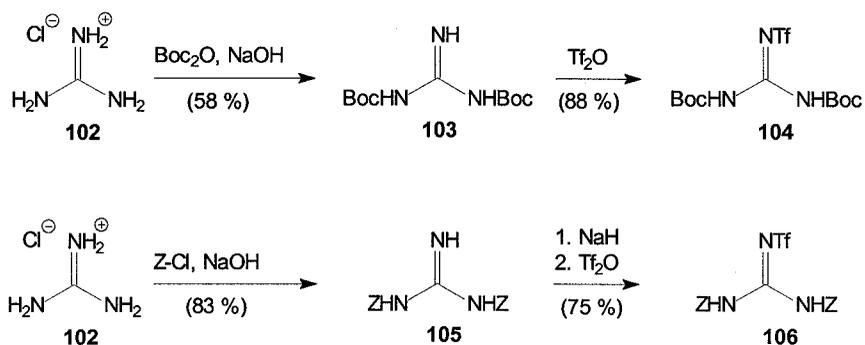


Abb. 38: Auswahl von Guanidierungsreagenzien.

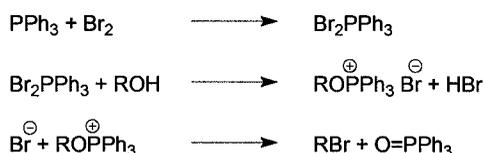
Die Reaktionsbedingungen und die Selektivität der Guanidierungsreagenzien sind verschieden. Der nucleophile Angriff des Amins ist oft entscheidend: Ist er zu langsam, bildet sich instabiles Carbodiimid.

Eine neuere Guanidierungsmethode verwendet *N,N'*-Bis-Boc-*N''*-triflylguanidin (104) oder *N,N'*-Bis-Z-*N''*-triflylguanidin (106) und erzielt hohe Ausbeuten bei milden Reaktionsbedingungen. Die von *Goodman et al.*<sup>[190]</sup> entwickelten Reagenzien werden aus Guanidinhydrochlorid (102) hergestellt. 102 wird unter stark alkalischen Bedingungen zweifach geschützt und dann mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid zu den Guanidierungsreagenzien 104 und 106 umgesetzt. *Goodman et al.* verglichen 104/106 mit 99, 100 und 101 bei der Guanidierung von Benzylamin. Nur 101 ergibt nach 5 Min. bei Raumtemperatur so gute Ausbeuten (99 %) wie 104/106. Allerdings ist mit 104/106 die Guanidierung von sekundären und aromatischen Aminen in besseren Ausbeuten möglich.

Abb. 39: Synthese der Guanidierungsreagenzien **104** und **106** nach Goodman et al.

Die Aminoalkohole Ethanolamin (**107 a**), Propanolamin (**107 b**), Butanolamin (**107 c**) und Pentanolamin (**107 d**) werden mit 0.9 eq. *N,N'*-Bis-*Z-N''*-triflylguanidin (**106**) und 1 eq. Triethylamin in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  umgesetzt (Abb. 42). Man erhält die *N*-[*N'*, *N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)carboxamidino]-1-amino-*m*-hydroxyalkane ( $m = 2-5$ ) (**108 a-d**) in Ausbeuten von über 90 %.

Die Alkoholgruppe wird nun in eine Thiolgruppe überführt. Dazu werden die Alkohole (**108 a-d**) mittels Triphenylphosphan und Brom bei 0 °C bromiert.<sup>[191]</sup> Der Mechanismus der Bromierung ist in Abb. 40 zu sehen.<sup>[192]</sup> Es bildet sich ein 1:1-Addukt aus Triphenylphosphan und Brom. Der Alkohol verdrängt das Bromid-Ion aus dem pentavalenten Addukt, und es entsteht ein Alkoxyphosphonium-Ion. Das Bromid-Ion greift nucleophil das Phosphonium-Ion an und verdrängt Triphenylphosphanoxid. Die treibende Kraft für die Reaktion ist die Bildung der P=O-Bindung im letzten Schritt. Es entsteht als Nebenprodukt HBr. Aus diesem Grund wurde die Guanidinogruppe *Z*-geschützt und nicht Boc-geschützt eingeführt.

Abb. 40: Mechanismus der Bromierung mit  $\text{Br}_2\text{PPh}_3$ .

Da die Bromide (**109 a-d**) teilweise instabil sind, werden sie nach wässrigem Aufarbeiten schnell in die Thiole (**110 a-d**) überführt (Abb. 42). Dies geschieht bei RT mittels Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) und Hexamethyldisilylthian in THF und anschließender Hydrolyse.<sup>[193]</sup> Der Mechanismus ist in Abb. 41 dargestellt. Es wird zunächst *in situ* bei -10 °C aus TBAF (1.1. eq.) und Hexamethyldisilylthian (1.2 eq.) Tetrabutylammoniumtrimethylsilylthiolat gebildet, welches mit Alkylbromiden bei RT reagiert. Beim wässrigen Aufarbeiten entsteht schließlich das Thiol.

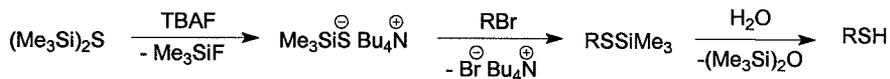


Abb. 41: Mechanismus der Trimethylsilylthioxy-Deshalogenierungsreaktion zur Thiol-Synthese.

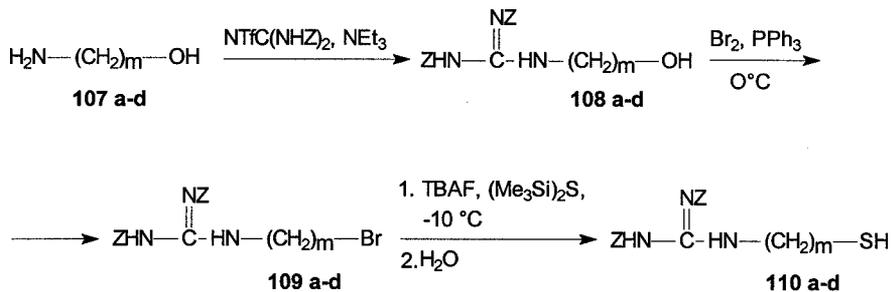


Abb. 42: Synthese der *N*-[*N'*, *N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)carboxamidino]-1-amino-*m*-mercapto-alkane ( $m = 2-5$ ) (**110 a-d**).

Die Gesamtausbeuten liegen aufgrund der instabilen Bromide **109 a** und **109 b** bei 10 % bzw. 12 % für **110 a** und **110 b**. Die Derivate **110 c** und **110 d** können hingegen in Ausbeuten von 57 % und 64 % synthetisiert werden.

### 6.3.2. Synthese von Aminen

Dehydroglycyl-Peptide können prinzipiell neben Thiolen auch Alkohole und Amine addieren. Man erhält allerdings mit Thiolen die besten Resultate, da der Schwefel das stärkste Nucleophil in dieser Reihe ist. Der Einsatz diverser Stickstoffverbindungen ermöglicht aber die Synthese interessanter, neuartiger Nucleophile. Es sind Nucleophile herstellbar, deren Alkylkette (Spacer) zwischen der Guanidinofunktion und der eigentlichen nucleophilen Gruppe – der Aminogruppe – besonders klein ist. Der Verzicht auf den Spacer führt zu *N'*, *N''*-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)guanidin (**103**) oder *N'*, *N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)guanidin (**105**).

Die nächste Möglichkeit ist die Verwendung von Hydrazin. Man guanidiert einfach *Z*-geschütztes Hydrazin (**111**) durch *N,N'*-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)-*N''*-triflylguanidin (**104**) und erhält *N*-[*N''*, *N'''*-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)carboxamidino]-*N'*-[benzyloxycarbonyl]hydrazin (**112**). Die *Z*-Schutzgruppe wird durch Hydrierung entfernt, und man erhält *N*-[*N''*, *N'''*-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)carboxamidino]hydrazin (**113**).

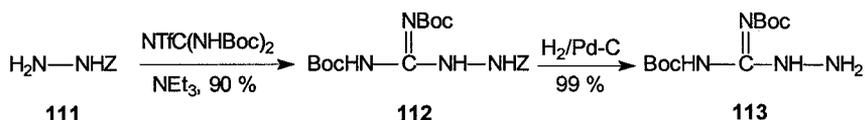


Abb. 43: Synthese des Hydrazinderivats **113**.

## 6. Modifizierung von *c*(RGDFV) (43) mittels $\alpha$ -(Ethylthio)glycin

Diaminomethan ist der kleinstmögliche Grundbaustein mit einem Kohlenstoffatom und instabil. Allerdings lässt sich Diaminomethan in geschützter Form herstellen.<sup>[194]</sup> Man geht von Boc-Glycin (**114**) aus und führt es mit Bis(*p*-nitrophenyl)phosphorylazid in sein Säureazid **115** über. In einer Curtius-Reaktion<sup>[195,196]</sup> reagiert **115** in Gegenwart von Benzylalkohol zum Diaminomethan **116**. Durch Hydrierung unter Zugabe von HCl erhält man das einfach Boc-geschützte Diaminomethanhydrochlorid **117**. **117** ist als Hydrochlorid stabil, aber zersetzt sich sofort bei Zugabe von Base.

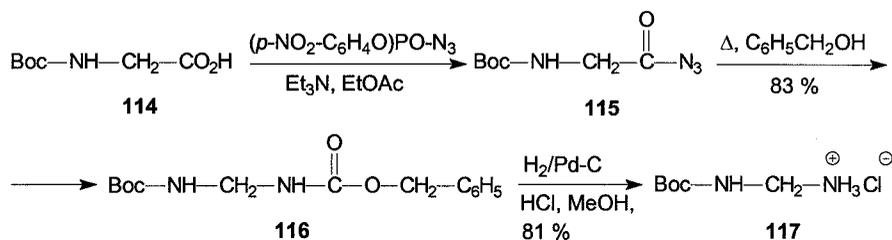


Abb. 44: Synthese von *N*-[(*tert*-Butyloxycarbonyl)amino]methylamin-Hydrochlorid (**117**).

*N*-[(*tert*-Butyloxycarbonyl)amino]methylamin-Hydrochlorid (**117**) wird durch *N,N'*-Bis(benzyloxycarbonyl)-*N''*-triflylguanidin (**106**) guanidiert und anschließend die Boc-Schutzgruppe mit HCl/Essigsäure-ethylester entfernt, so daß wieder ein Hydrochlorid **119** entsteht.

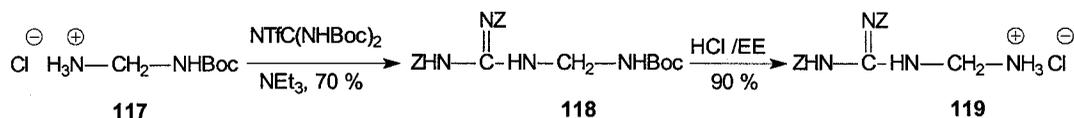


Abb. 45: Synthese des Diaminomethan-Derivats **119**.

Als längstes Diaminoalkan wird *N*-Benzyloxycarbonyldiaminoethan (**120**) durch **104** guanidiert und danach die Z-Schutzgruppe entfernt. Man erhält *N*-[*N''*, *N'''*-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)-carboxamidino]diaminoethan (**122**).

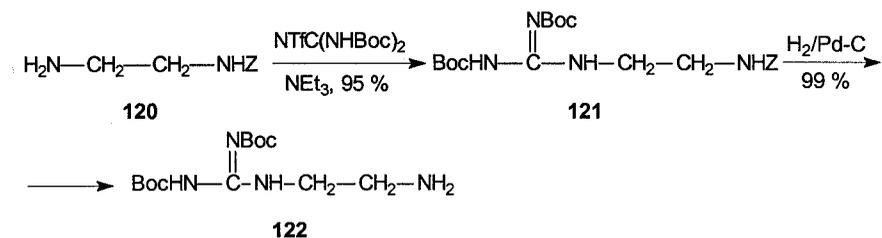


Abb. 46: Synthese des Diaminoethan-Derivats **122**.

Die hergestellten Nucleophile **113**, **119** und **122** zerfallen innerhalb weniger Stunden. Darüber hinaus sind auch die durch Addition an die Dehydroglycylpeptide erhaltenen Produkte instabil. Die

Zersetzung wird durch Abspaltung des  $\alpha$ -C-NH-Atoms eingeleitet (Abb. 47). *Heidl*<sup>[197]</sup> konnte entstandenes *tert*-Butyloxycarbonylamin isolieren. Tripodale Peptid-Templates sind hingegen stabil.<sup>[198,199,200]</sup> Aus diesen Gründen werden nur die Nucleophile **110 a-d** in den weiteren Synthesen eingesetzt.

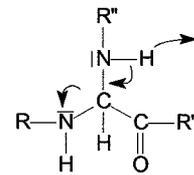
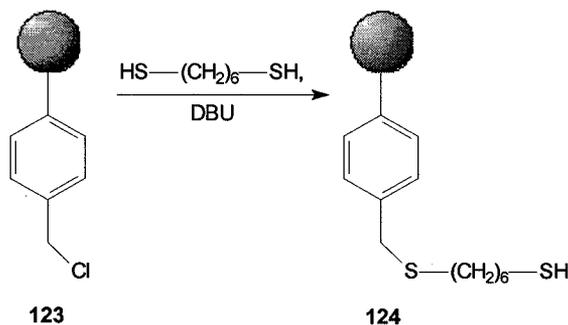


Abb. 47: Zerfall des Aminoaddukts.

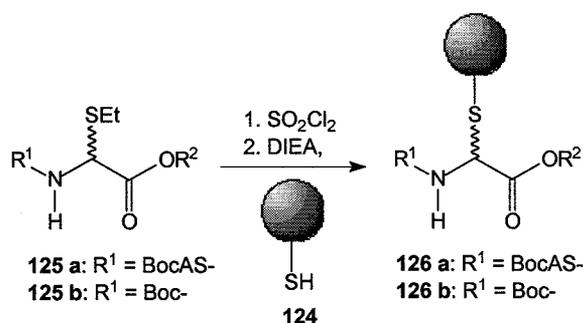
### 6.3.3. Synthese mit dem Thio-Harz (124)

#### 6.3.3.1. Einleitung

Für die Synthese des Cyclopeptids **54 a-d** wird (Thiohexyl)thiomethylpolystyrol (**124**) (Thio-Harz) nach *Paulitz* verwendet.<sup>[170, 172]</sup> Man geht bei der Synthese des Harzes vom *Merrifield*-Polymer (**123**) aus und setzt es in Toluol mit einem zehnfachen Überschuß an Hexandithiol unter Zugabe von zwei Äquivalenten DBU als Base um (Abb. 48).

Abb. 48: Synthese von (Thiohexyl)thiomethylpolystyrol **124**.

Es können nun  $\alpha$ -(Ethylthio)glycyl-Peptide am polymeren Träger befestigt werden, wobei das Thio-Harz (**124**) als Nucleophil und damit neue Seitenkette fungiert. Die Ausbeute des Beladungsschrittes wird durch Vergleich der *N*- mit der *S*-Verbrennungsanalyse bestimmt und ergibt in allen Fällen 70 % bis quantitative Ausbeute.

Abb. 49: Befestigung der ersten Aminosäure am Thio-Harz (**124**).

Wie bereits beschrieben (siehe Abb. 27) entdeckte Stark<sup>[136, 147]</sup> eine Methode,  $\alpha$ -(Alkylthio)glycin direkt *N*-terminal zu entschützen und im Anschluß daran durch weitere Aminosäuren zu verlängern. Man verwendet eine Chlorwasserstoff-Lösung in Essigsäureethylester oder Dioxan anstelle der bisher üblichen TFA. Die stabilen Hydrochloride können auch aus **126 b** erzeugt und dann *N*-terminal weiter verlängert werden. BocGly(S-Polymer)OR<sup>2</sup> (**126 b**) kann also als stabile Ausgangssubstanz für Peptidsynthesen an der Festphase angesehen werden.

Als C-terminale Schutzgruppen für **126** können der Fluorenylmethyl (Fm)-Ester oder der 4-Nitrobenzyl (NB)-Ester verwendet werden. Beide sind orthogonal zur Boc-Schutzgruppe und können mit Piperidin<sup>[201,202]</sup> oder Morpholin<sup>[203]</sup> in DMF (Fm-Ester) bzw. äußerst milde mit SnCl<sub>2</sub> × 2 H<sub>2</sub>O in DMF (NB-Ester) abgespalten werden.<sup>[170, 172]</sup> Die Abspaltung der Fm-Ester verläuft analog der Fmoc-Abspaltung. Die NB-Esterspaltung ist in Abbildung 50 zu sehen: SnCl<sub>2</sub> × 2 H<sub>2</sub>O in DMF reduziert unter neutralen Bedingungen die aromatische Nitrogruppe zum entsprechenden Amin **128**, und der NB-Ester **127** fragmentiert spontan zur Säure **129** und Chinonmethidimin **130**.

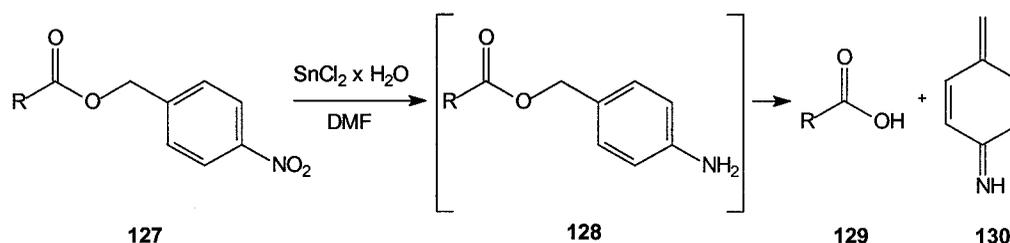


Abb. 50: Fragmentierende Abspaltung der NB-Ester unter neutralen Bedingungen.

Der NB-Ester wird aus der entsprechenden Säure, Alkohol und DIEA (jeweils 1 eq.) unter Zusatz von 1.5 eq. TBTU als dehydratisierendes Agens in Ausbeuten von  $\geq 80$  % gewonnen.<sup>[204]</sup> Er ist besonders interessant, da er auch orthogonal zur Fmoc-Schutzgruppe ist. Das wird in dieser Arbeit bei der Synthese der Cyclopeptide **54 a-d** genutzt.

Die Verlängerung des Peptids über den C-Terminus kann allerdings nur einmal ohne Racemisierungsfahr (siehe Abb. 31) durchgeführt werden, weil beim ersten Mal nur das ohnehin schon racemische  $\alpha$ -(Alkylthio)glycyl-Peptid betroffen wäre.

Die Cyclisierung eines Peptids am Thio-Harz (**124**) ist ebenfalls möglich und wird in dieser Arbeit angewendet. Das *N*- und C-terminal entschützte lineare Peptid wird dabei mit PyBOP und DIEA in DMF umgesetzt (Abb. 51). Ammonium-basierende Kupplungsreagenzien (z.B. TBTU) sind bekannt dafür, daß sie freie Amine bei der On-Resin-Cyclisierung blockieren können („Capping“) (Abb. 52).<sup>[205]</sup> Es entstehen *N*-terminal guanidierte Peptide **133**.

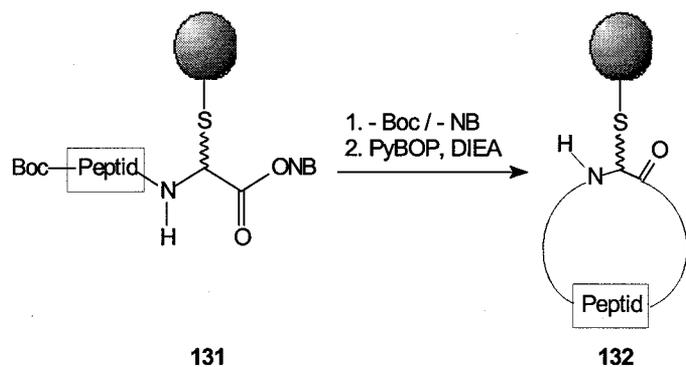


Abb. 51: On-Resin-Cyclisierung.

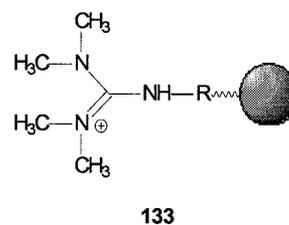
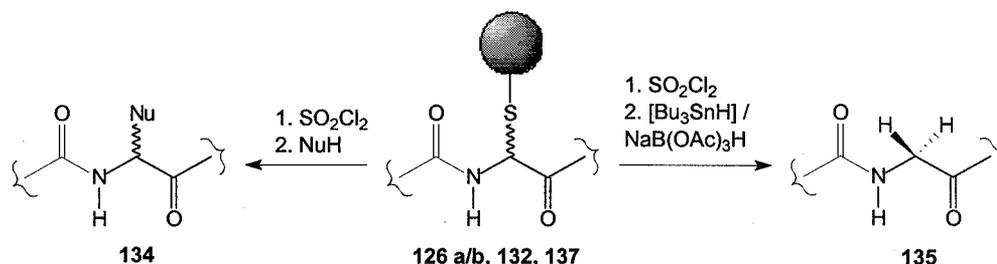


Abb. 52: Capping durch TBTU.

Die Abspaltung der am Thio-Harz (**124**) synthetisierten Peptide geschieht durch Sulfurylchlorid. Das Peptid wird chloriert, eliminiert HCl und addiert das gewünschte Nucleophil.

Ein weiterer interessanter Weg ist die Verwendung des polymergebundenen (Alkylthio)glycyl-Peptids als „traceless linker“, d.h. im Zielmolekül verbleibt außer einem Wasserstoffatom keine Spur vom Linker. Man erhält auf diese Weise ein Glycyl-Peptid **135**, also auch nur ein Diastereomer. Die Peptide werden mit  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  vom Harz abgespalten und das gebildete  $\alpha$ -Chlorglycyl-Peptid mit 10 mol-%  $^t\text{Bu}_3\text{SnH}$  und einem Überschuß  $\text{NaB}(\text{OAc})_3\text{H}$  zum Glycyl-Peptid reduziert.<sup>[206]</sup>

Abb. 53: Abspaltung vom Thio-Harz (**124**).

Die synthetischen Möglichkeiten am Thio-Harz (**124**) werden durch Abb. 54 zusammenfassend dargestellt. Das beste Startmaterial ist **126 b** mit  $\text{R}^2 = \text{NB}$ , welches *N*-terminal durch Standard-Methoden zu **131** verlängert werden kann. *C*-terminal gelangt man durch Fragmentkupplung zu **136**. Bei Kombination von *C*- und *N*-terminaler Kupplung kann die Position der späteren Modifizierung im Peptid **137** frei gewählt werden. Die Cyclisierung am Harz führt zu **132**. Die so aufgebauten Peptide **126 a/b**, **132** und **137** können dann in einer kombinierten Aktivierungs-/Abspaltungsreaktion durch Umsetzung mit Sulfurylchlorid gleichzeitig vom Polymer gelöst und für die Einführung einer neuen Seitenkette mit Nucleophilen vorbereitet werden.



### 6.3.3.2. Wahl der Asparaginsäure-Seitenkettenschutzgruppe

Es wird die *t*-Butylschutzgruppe eingesetzt. Geschützte Aspargyl-Peptide (**138**) können in einer Nebenreaktion Aspartimide bilden (Abb. 55).<sup>[196,207]</sup> Der Stickstoff einer Amidbindung des Peptidrückgrats kann die Carbonylfunktion der geschützten Asparaginsäure-Seitenkette angreifen, und es bildet sich das 5-Ring-Aspartimid **139**. Nun kann es zur Ringöffnung bei der Fmoc-Entfernung kommen und durch Piperidinaddition entstehen **140** und **141**. Wird der Ring von **139** in einem späteren Schritt in Lösung hydrolysiert, entstehen die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Aspartyl-Peptide **142** und **143**. Die Aspartimidbildung kann durch Zugabe von HOBT beim Entschützen mit Piperidin unterdrückt werden, oder Piperidin wird durch DBU ersetzt.

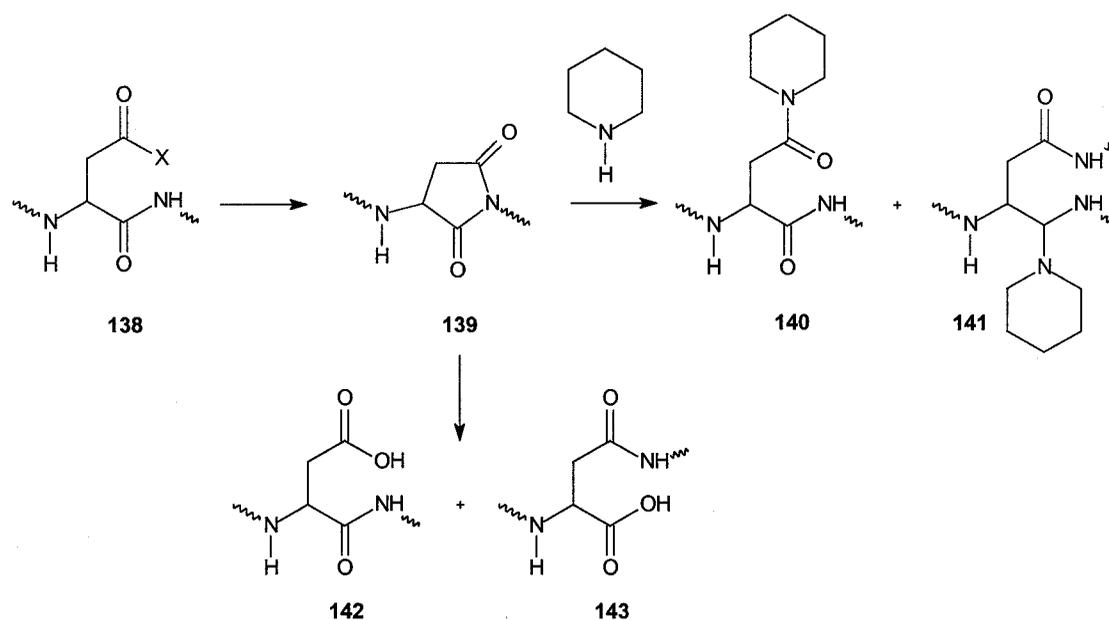


Abb. 55: Aspartimidbildung von (*tert*-Butyl)asparagyl-Peptiden (**138**).

### 6.3.3.3. Synthese von $c[GD^D FV^{D,L}G(S(CH_2)_m NHC(NH)NH_2)]$ (**150 a-d**)

Die Synthese von  $c[GD^{O^tBu} FV^{D,L}G(SPolymer)]$  (**148**) beginnt mit der Beladung von (Thiohexyl)-thiomethylpolystyrol **124** durch *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-D,L- $\alpha$ -(ethylthio)glycin-4-nitrobenzylester (**125 b**) (0.8 - 1.2 mmol/g) (Abb. 56). Es folgt die Entfernung der Boc-Schutzgruppe mit HCl/Dioxan, und das entstandene Hydrochlorid **144** wird durch BocValOH und Boc<sup>D</sup>PheOH verlängert (5 eq. AS, 4.9 eq. TBTU, 5 eq. HOBT, 10 eq. DIEA – Entschützen durch 25 % TFA). Danach wird das Peptid mit den zwei Fmoc-Aminosäuren FmocAsp<sup>O<sup>t</sup>Bu</sup>OH und FmocGlyOH verlängert. Die Fmoc-Schutzgruppen werden durch 20 -proz. Piperidin entfernt. Das lineare Peptid **146** wird *N*- und *C*-terminal ( $SnCl_2 \times 2 H_2O$ ) entschützt und mit 3 eq. PyBOP, 3 eq. HOBT und 5.5 eq. DIEA in DMF cyclisiert.

6. Modifizierung von c(RGDfV) (43) mittels  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin

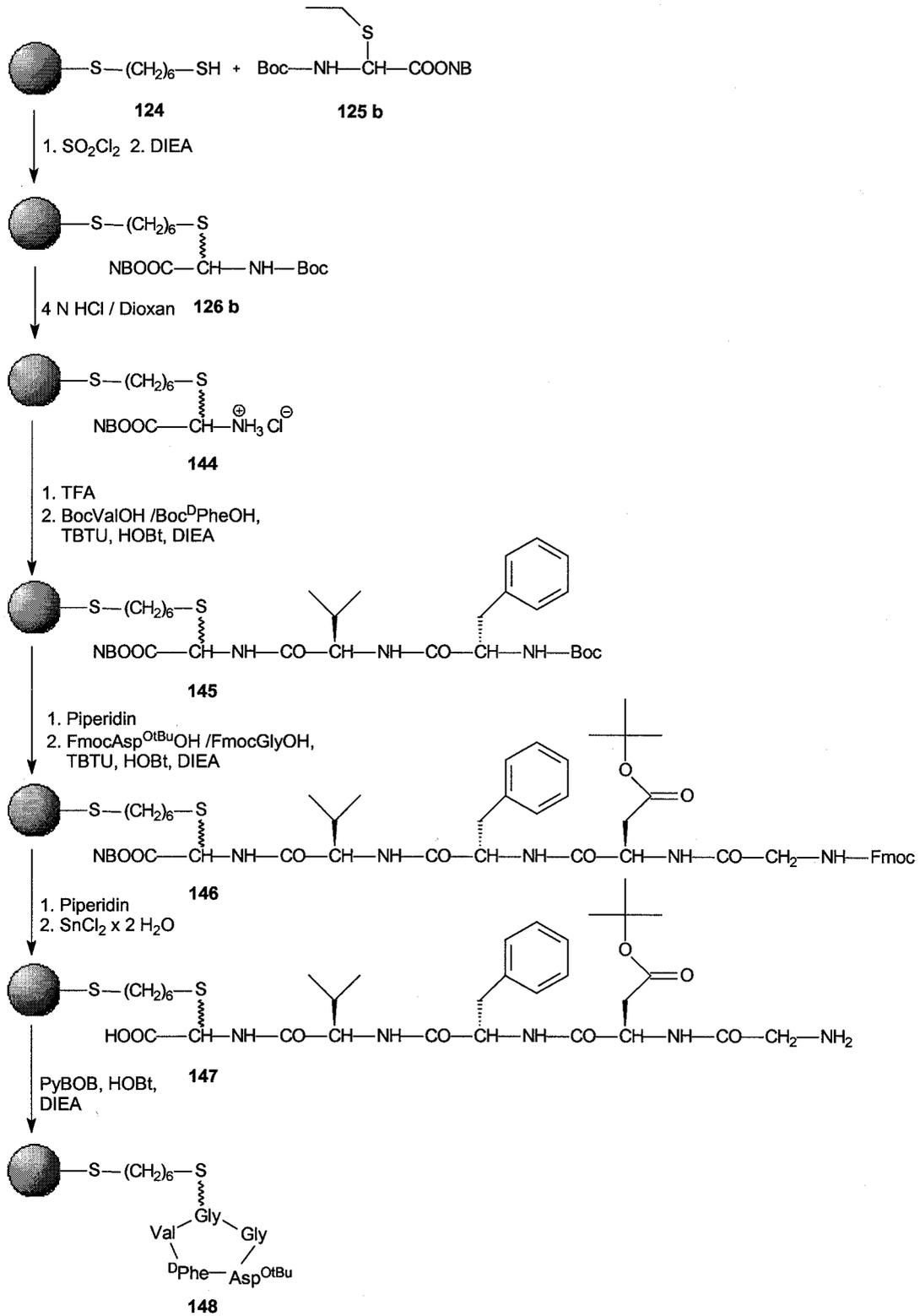


Abb. 56: Synthese von c[GD<sup>OtBu</sup>D<sup>Phe</sup>V<sup>D,L</sup>G(SPolymer)] (148).

Abspaltung des cyclisierten Peptids **148** wird mit 2 eq. 1 M  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  durchgeführt, und die Zugabe von 4 eq. DIEA ermöglicht die nucleophile Addition der *N*-[*N'*, *N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-*m*-thio-alkane (**110 a-d**) (1.2 eq). Die Entfernung der Seitenketten-schutzgruppen von **149 a-d** geschieht mit 33 -proz. HBr in Eisessig/TIPS/Wasser (95/2.5/2.5), und man erhält in ca. 40 % Gesamtausbeute die Cyclopeptide **150 a-d**.

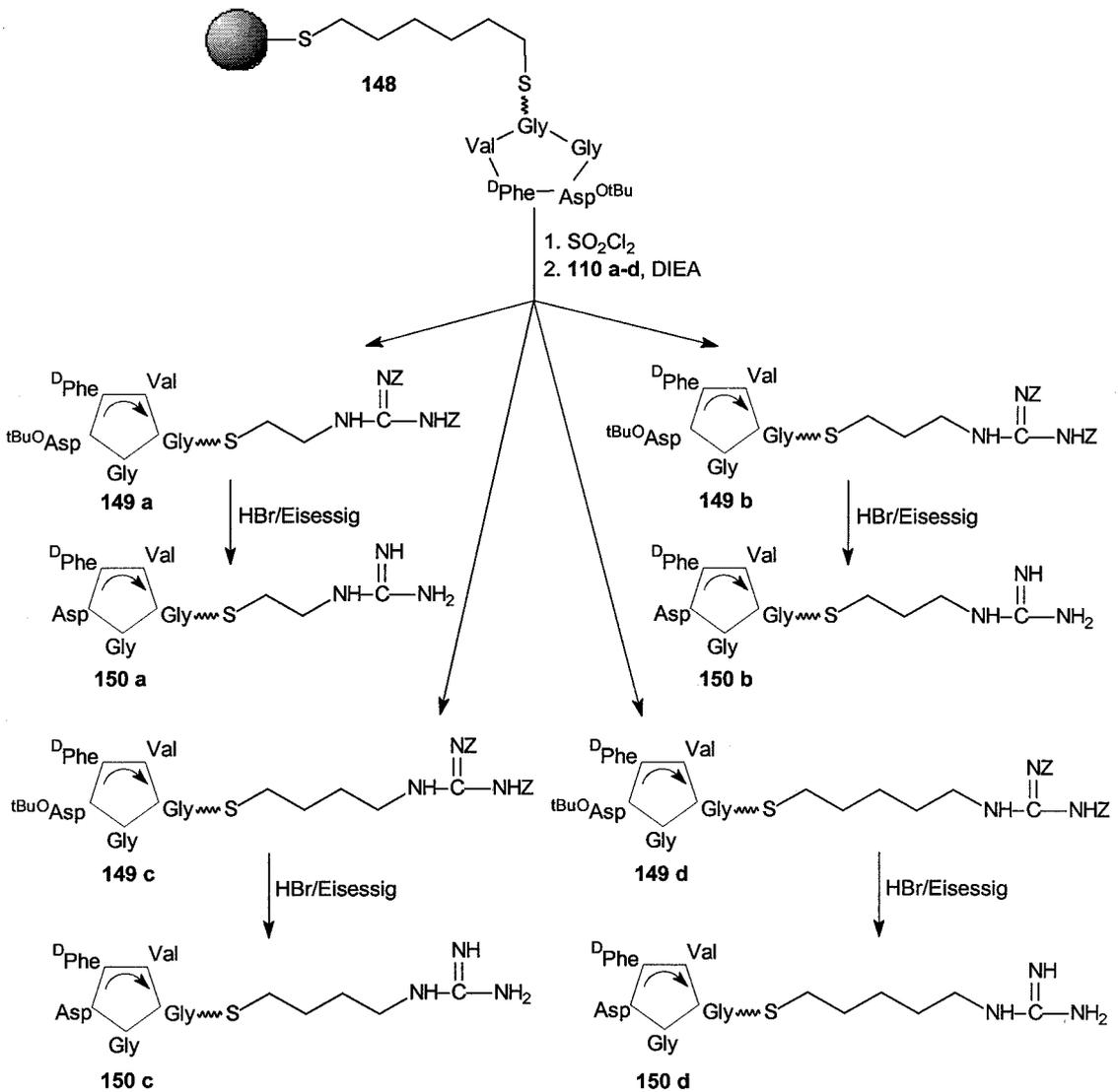


Abb. 56: Synthese von  $c[\text{GD}^{\text{D}}\text{FV}^{\text{D,L}}\text{G}(\text{S}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2)]$  (**150 a-d**).



## 7. SAR-Untersuchung

### 7.1. Strukturberechnung

#### 7.1.1. Einleitung

Die Computerchemie ist ein wichtiges Hilfsmittel in der Wirkstoffsuche.<sup>[208]</sup> In vielen Fällen ist der Ausgangspunkt die Röntgenstruktur eines Proteinkristalls. Ist das aktive Zentrum des Proteins bekannt, so kann man in virtuellen Substanzbibliotheken per Computer screenen oder durch *de novo*-Design zu potentiellen Wirkstoffen gelangen. Um überhaupt virtuell screenen zu können, muß die räumliche Orientierung der pharmakophoren Gruppen eines Moleküls berechnet werden („Molecular Modelling“). Dann muß die Bindungsaffinität der pharmakophoren Gruppen in der Proteintasche abgeschätzt werden. Für dieses „Protein-structure-based design“ oder „rational design“ verwendet man „Docking“-Programme, wie z.B. FlexX<sup>[209]</sup> oder GOLD<sup>[210]</sup>. Beispiele für die erfolgreiche Anwendung dieser Methode sind Inhibitoren für Cathepsin D<sup>[211]</sup>, Plasmeypsin II<sup>[212]</sup>, Thrombin<sup>[213]</sup>, T-Zellen Kv1.3 Kaliumkanäle<sup>[214]</sup> oder Enterotoxin<sup>[215]</sup>.

In dieser Arbeit sollen die Konformationen der synthetisierten Cyclopeptide **98 a,d** und **150 a,d** untersucht werden, um bessere Aussagen über die Struktur-Aktivitäts-Beziehung (SAR) der Moleküle machen zu können. Die Affinität der pharmakophoren Gruppen ist bereits eingehend von *Kessler et al.*<sup>[64,71,76]</sup> untersucht worden.

Man kann die energetisch günstigste Konformation eines Moleküls berechnen, indem man eine geometrische Anordnung sucht, bei der alle Kräfte, die auf die Atome wirken, gleich Null sind. Ob der so gefundene stationäre Punkt auf der Energiehyperfläche des Moleküls ein Minimum ist, wird durch Berechnung der zweiten Ableitung der Energie bestimmt. Die einfache Suche nach einem Minimum ausgehend von einer vorgegebenen Startkonformation führt aber im allgemeinen nicht zum gesuchten globalen Minimum. Eine „Monte-Carlo-Suche“ erweitert das Verfahren, indem der Computer per Zufallsgenerator viele Startstrukturen erzeugt, diese minimiert, miteinander vergleicht und neu gefundene Strukturen speichert. Die Suche nach dem globalen Minimum entspricht dann einem zufallsgesteuerten, umfassenden Überprüfen der Hyperfläche, und das Auffinden des globalen Minimums ist nur eine Frage der Anzahl an Simulationsschritten. Als Konvergenzkriterium bei solchen Konformationssuchen dient die Häufigkeit, mit der die einzelnen Minima gefunden werden.

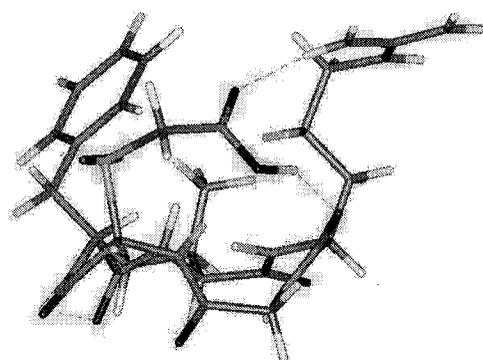
Eine leistungsfähige Implementierung der Monte-Carlo-Konformationssuche ist das Programm „MacroModel“ von *Still et al.*<sup>[216]</sup> Zum Beispiel führt eine Monte-Carlo-Konformationssuche bei Cyclooctan unter Verwendung des MM2-Krauffeldes zu vier Konformationsminima: Boot-Sessel-, Boot-Boot-, Kronen- und Sessel-Konformation.<sup>[217]</sup> Eine exakte Konformationsanalyse, die auch

Subtypen wie die Twistformen fände, müßte natürlich per ab-initio-Rechnung durchgeführt werden. Alle bisher erwähnten Molecular Modeling Verfahren bestimmen die Molekülstruktur am absoluten Nullpunkt in der Gasphase. Sollen aber auch Lösemittleffekte berücksichtigt und das dynamische Verhalten bei höheren Temperaturen betrachtet werden, sind zusätzliche Verfahren erforderlich. Eine Möglichkeit zur Simulation gelöster Moleküle ist die von *Still et al.* entwickelte GB/SA-Methode,<sup>218</sup> bei der im Unterschied zu vielen anderen Modellen keine diskreten Solvens-Moleküle, sondern ein Kontinuum zum Einsatz kommt, das den durchschnittlichen Lösemiteleinfluß auf die erreichbare Moleküloberfläche berücksichtigt. Dieses GB/SA-Modell ist in MacroModel implementiert und führt zur Berechnung besonders „guter“ Minima.

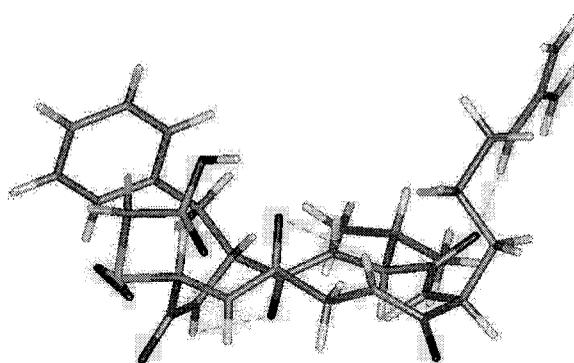
Darüber hinaus kann „Simulated Annealing“ verwendet werden. Stark vereinfacht ausgedrückt wird das Molekül dabei mathematisch auf eine vorgegebene Temperatur erwärmt, über einen bestimmten (mathematischen) Zeitraum equilibriert, und abschließend wieder auf 0 K abgekühlt. In vielen Fällen werden Konformationen erhalten, die sehr nah am globalen konformativen Minimum des Moleküls liegen.

### 7.1.2. Strukturberechnung synthetisierter Cyclopeptide

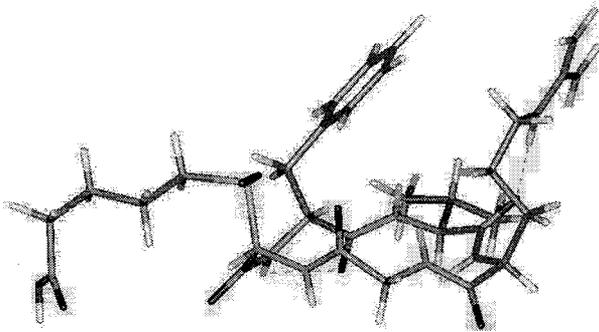
Die günstigsten Konformationen der Cyclopeptide **98 a,d** und **150 a,d** werden per Monte-Carlo-Konformationssuche mit dem Programm MacroModel berechnet. Man verwendet, das für Peptide günstige Kraftfeld Amber und läßt 5000 Konformationen pro Molekül in DMSO (GB/SA-Modell) berechnen. Anschließend werden die Ergebnisse durch Simulated Annealing verbessert. Abbildung 57 zeigt die gefundenen Konformationen. Es werden für alle Cyclopeptide die D- und L-Form berechnet, da sie im Verhältnis 1:1 bei der Synthese entstehen.



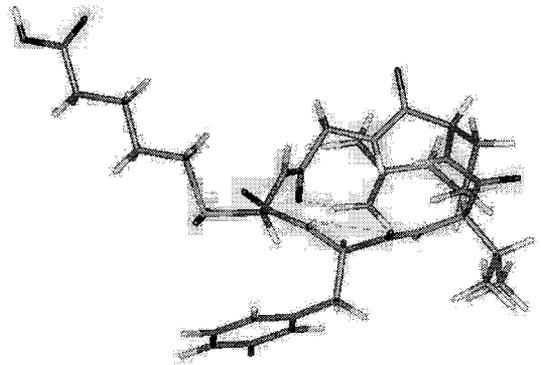
**98 a** (L-Konfiguration)



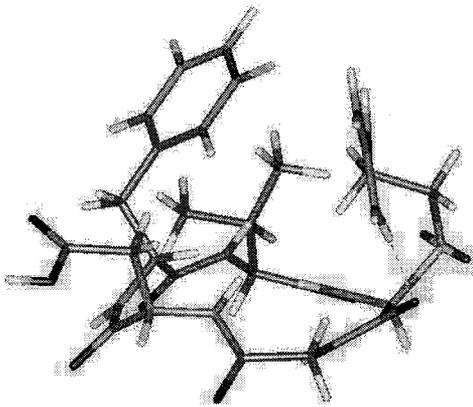
**98 a** (D-Konfiguration)



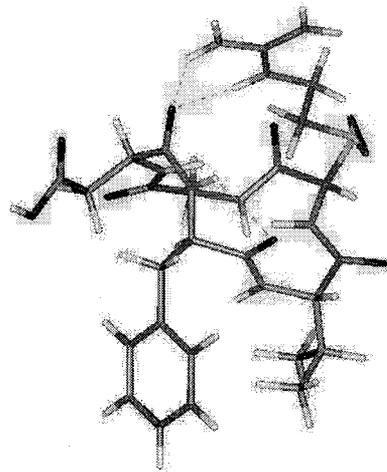
98 d (L-Konfiguration)



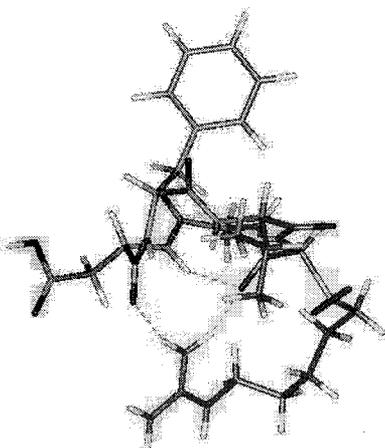
98 d (D-Konfiguration)



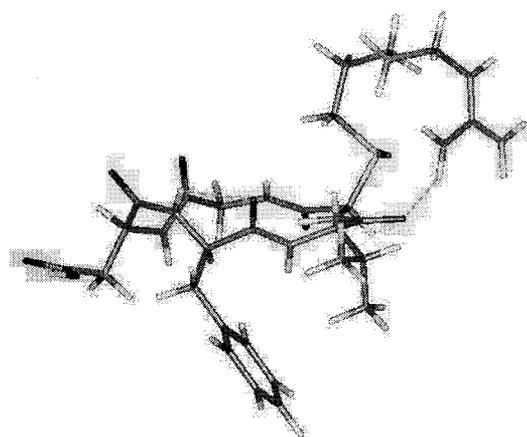
150 a (L-Konfiguration)



150 a (D-Konfiguration)



150 d (L-Konfiguration)



150 d (D-Konfiguration)

Abb. 57: Darstellung der durch MacroModel berechneten günstigsten Konformationen für D-/L-98 a,d und D-/L-150 a,d.

## 7.2. Biologische Testung und Schlußfolgerungen

Die biologische Wirkung der synthetisierten Inhibitoren **98 a-d** und **150 a-d** wurde in einem „enzyme-linked immunosorbent assay“ (ELISA) getestet.<sup>[219]</sup> In dieser kompetitiven Zelladhäsionsuntersuchung wird die Menge an Peptid bestimmt, die notwendig ist 50 % der Ligandenbindung zu blockieren ( $IC_{50}$ ). Die Bindung des Liganden Fibrinogen zu gereinigtem  $\alpha_V\beta_3$ -Integrin wird durch die RGD-Peptide gehemmt und die Stärke der Hemmung durch Messung der optischen Dichte bestimmt (Read-out). Die gemessenen Werte sind in Tabelle 3 zu sehen.

Peptid	$IC_{50}$ [ $\mu$ M]
c(RGDfV) ( <b>43</b> )	0.03
<b>98 a</b>	10.0
<b>98 b</b>	> 100
<b>98 c</b>	> 100
<b>98 d</b>	> 100
<b>150 a</b>	10.0
<b>150 b</b>	> 100
<b>150 c</b>	> 100
<b>150 d</b>	> 100

Tab. 3:  $IC_{50}$ -Werte der  $\alpha_V\beta_3$ -Hemmung.

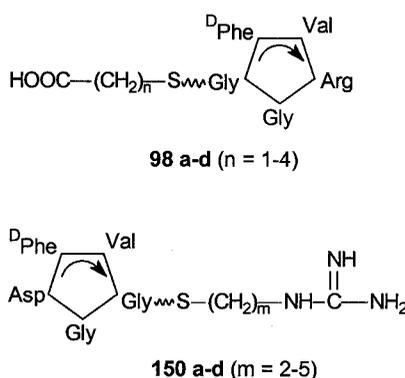


Abb. 58: Zielmoleküle **98a-d** und **150 a-d**.

Man erkennt lediglich bei den Cyclopeptiden eine gewisse Hemmung, die die kürzesten Seitenketten besitzen (**98 a** und **150 a**). Allerdings kann die Aktivität des *Kessler*'schen Cyclopeptids c(RGDfV) (**43**) nicht erreicht werden. Obwohl es sich bei den getesteten Peptiden um Diastereomerenmische handelt, kann die Aussage gemacht werden, daß eine Verlängerung der Arginin- oder Asparaginsäure-Seitenkette keine Steigerung der Aktivität bewirkt. Man kann aufgrund der mit MacroModel berechneten Strukturen vermuten, daß die längeren Seitenketten beweglicher als die kürzeren sind. Eine größere Beweglichkeit ist ungünstiger für eine Bindung an einen Rezeptor als eine definierte starre Struktur. Es können sogar intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden, die den pharmakophoren Gruppen eine vollkommen andere Orientierung geben und die Schleifenstruktur des Cyclopeptids verändern. Die Rigidität des Cyclopeptidsystems nimmt also durch die Beweglichkeit der Seitenketten ab. Ein räumliches Screening (spatial screening) ist mit den synthetisierten Cyclopeptiden nicht möglich. Die direkte Modifizierung der funktionellen Gruppen oder strukturell rigide Peptidmimetica sind dafür eventuell besser geeignet.

Auch andere Arbeitsgruppen haben durch Variation des Abstandes Säuregruppe-Guanidinogruppe SAR-Untersuchungen durchgeführt. *McDowell et al.*<sup>[220]</sup> (Genentech, Inc.) modifizierten am Benzodiazepindion **151** die Seitenketten und *Peyman*<sup>[221]</sup> (Aventis Pharma) verwendete Purin als Grundgerüst, um **152** herzustellen. Die in Tabelle 4 aufgeführten  $IC_{50}$ -Werte zeigen, daß beide Arbeitsgruppen bei Verlängerung der Seitenketten eine Abschwächung der Aktivität feststellen mußten.

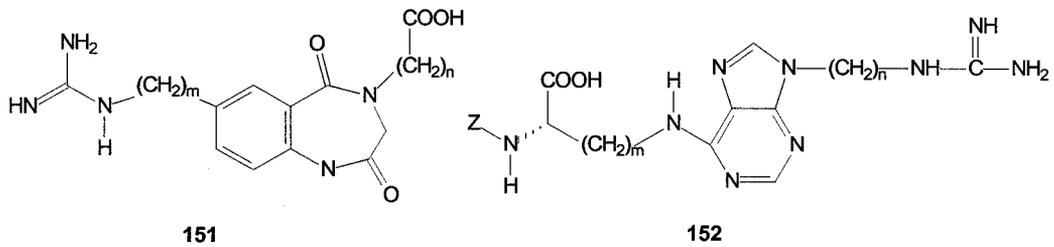


Abb. 59: Vergleichbare  $\alpha_v\beta_3$ -Inhibitoren.

Verbindung	<i>m</i>	<i>n</i>	$IC_{50}$ [ $\mu$ M]
<b>151 a</b>	5	2	55.0
<b>151 b</b>	5	3	> 100
<b>152 a</b>	1	4	0.17
<b>152 b</b>	1	5	0.65

Tab. 4:  $IC_{50}$ -Werte der  $\alpha_v\beta_3$ -Hemmung von Vergleichsverbindungen.



## 8. Verwendung von $\alpha$ -(Ethylthio)glycin an der Festphase

### 8.1. Einleitung

Die Peptidchemie nach *Steglich et al.* (siehe 5. Verwendung von  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin zur Synthese modifizierter Peptide) war bisher an der Festphase nicht ohne Einschränkungen möglich. *Paulitz* (siehe 6.3.3. Peptidsynthese mit dem Thio-Harz (124) ) benutzte ein Thio-Harz, um die Vorteile der Festphasenchemie und die der Aminosäuremodifizierung durch  $\alpha$ -(Thioalkyl)glycin zu kombinieren.

Die Modifizierung des Peptids bedeutet bei dieser Methode die gleichzeitige Abspaltung vom Harz, d.h. die Modifizierung muß der letzte Schritt der Peptidsynthese am Harz sein. Die Fortsetzung der Synthese am Harz ist nicht möglich und somit auch keine Automatisierung des Prozesses.

Außerdem liegt nach der Abspaltung ein Gemisch aus Produkt, Nucleophil und Hünig-Base vor, das säulenchromatographisch gereinigt werden muß.

Wenn das  $\alpha$ -(Thioalkylpolymer)glycin an einer bestimmten Stelle eines linearen Peptids sein soll, kann es notwendig sein, die C-terminale Fragmentkondensation anzuwenden. Diese kann meist nur einmal angewendet werden, da es bei jeder weiteren C-terminalen Verlängerung zur Racemisierung der aktivierten Aminosäure kommen kann. Außerdem muß das Fragment zuerst synthetisiert werden. Die Position des  $\alpha$ -(Thioalkylpolymer)glycins kann daher problematisch sein.

Würde die Modifizierung ohne Abspaltung vom Harz stattfinden, könnte einerseits die Position des  $\alpha$ -(Thioalkyl)glycins frei gewählt werden und andererseits könnte man bei der Modifizierung die Vorteile der Festphasensynthese besser nutzen.

Ziel ist es also, ein Harz zu finden, das die Modifizierung eines  $\alpha$ -(Ethylthio)glycins zuläßt, ohne daß die C-terminal an das Polymer befestigte Peptidkette vom Harz getrennt wird. Das Harz bzw. der Linker sollte nicht durch  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  (1 M in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), Base (DIEA) oder das verwendete Nucleophil angegriffen werden. Der Einsatz von  $\text{HCl}$ /Dioxan sollte ebenfalls möglich sein, um mit dem  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin-Hydrochlorid arbeiten zu können. Es ist sonst die Synthese von Peptidfragmenten erforderlich. Außerdem ist ein Harz wünschenswert, das Boc- und Fmoc-Chemie erlaubt, da man dann in der Schutzgruppenwahl für die Seitenketten flexibler ist.

## 8.2. Polymere in der Festphasenchemie

Merrifield verwendete erstmals Polystyrol, das mit 2 % Divinylbenzol quervernetzt wurde. Die Funktionalisierung wurde mit (Chlormethyl)methylether durchgeführt (Abb. 60).<sup>[222]</sup>

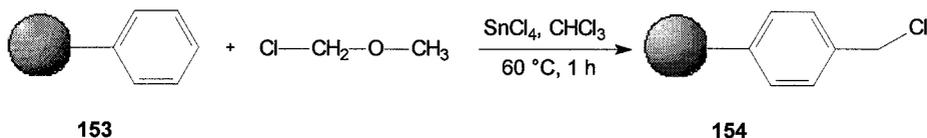


Abb. 60: Chlormethylierung von quervernetztem Polystyrol.

Anderer Funktionalitäten können durch Suspensionspolymerisation von technischem Divinylbenzol in Toluol gewonnen werden. Technisches Divinylbenzol besteht aus etwa 45 % Ethylvinylbenzol (155) und 55 % Divinylbenzol (156). Unter den Reaktionsbedingungen bleiben einige Vinylgruppen unvernetzt und können mit einer Vielzahl von Reagenzien zu den Harzen 158 nach anti-Markovnikov funktionalisiert werden (Abb. 61).<sup>[223]</sup>

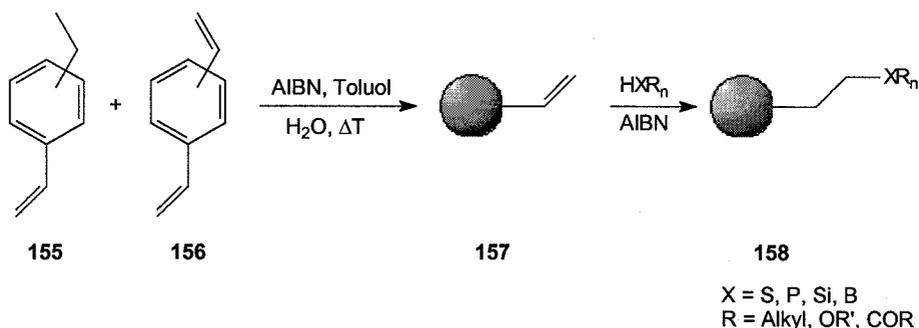


Abb. 61: Synthese und Funktionalisierung von (Vinyl)polystyrol.

Die Funktionalisierung des Polymers ist entscheidend für das Quellvermögen des Harzes. Ein besonders gut quellbares Harz ist das PEG-PS-Conjugat 161 (Tentagel® – Fa. Rapp Polymere, Tübingen). Bei diesem Polymer macht die Polystyrolbasis nur noch 30 % aus. Zu 70 % besteht das Polymer aus dem Polyethylenglykol-Linker, der wiederum verschiedene Endgruppen haben kann. Es handelt sich um ein Pfropfcopolymer, das aus dem Kaliumsalz 160 von Poly(styrylmethyl-tetraethylenglycolether) (159) hergestellt wird (Abb. 62). Die PEG-Kette des Kronenethers wird auf ca. 3000 Da verlängert.<sup>[224]</sup>

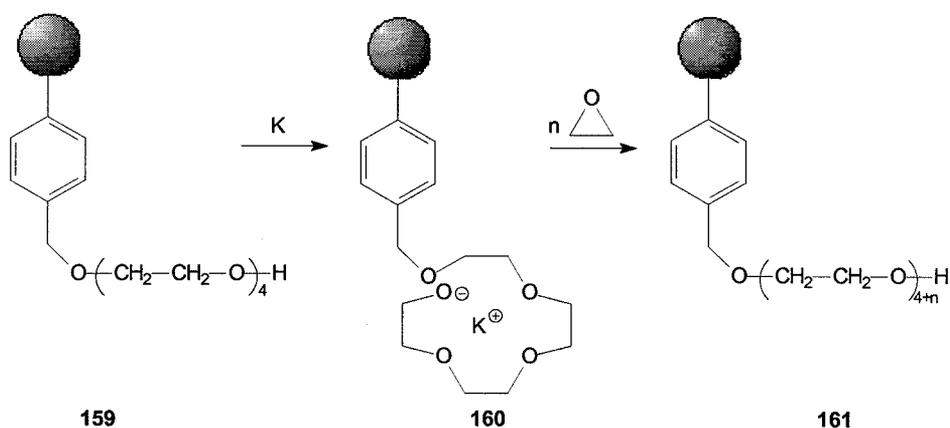


Abb. 62: Synthese von Pfropfcopolymeren aus vernetztem PS und linearen PEG.

### 8.3. Harzwahl

Es werden mit einer Auswahl von Harzen (Abb. 63) Vorversuche durchgeführt, die bei der Wahl eines geeigneten Trägermaterials helfen sollen. Es handelt sich bei diesen Harzen in der Regel um Polymere, deren Basis-Matrizen durch Suspensionspolymerisation von Styrol mit Vinylbenzylchlorid und Divinylbenzol gewonnen werden.<sup>[11]</sup> Als einziges PEG-PS-Harz wird das Tentagel S HMB-Harz (**166**) verwendet. Die Linker bestimmen den Einsatzbereich der Harze. Das Oxim-Harz (**19**) und das Merrifield-Harz (**154**) sind für die Boc-Chemie geeignet, der Rest der Harze für die Fmoc-Chemie.

In einer ersten Versuchsreihe werden die Harze 1 Stunde in 1 M  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  bei RT geschüttelt und danach die Chloraddition an die Harze durch Elementaranalyse bestimmt. Die Chloraddition ist natürlich nur zur groben Abschätzung der Einsatzmöglichkeit brauchbar, da auch Reaktionen stattfinden können, die zwar die Eigenschaften des Harzes verändern, aber nicht mit einer Addition von Chlor in Verbindung stehen. In einer zweiten Versuchsreihe werden die Harze denselben Bedingungen ausgesetzt. Allerdings sind sie mit Fmoc-Glycin beladen, und es soll der Grad der Aminosäureabspaltung durch die Behandlung mit Sulfurylchlorid gravimetrisch bestimmt werden. Tabelle 5 listet die literaturbekannten Abspaltbedingungen<sup>[11]</sup> der Harze und die Meßergebnisse auf.

## 8. Verwendung von $\alpha$ -(Ethylthio)glycin an der Festphase

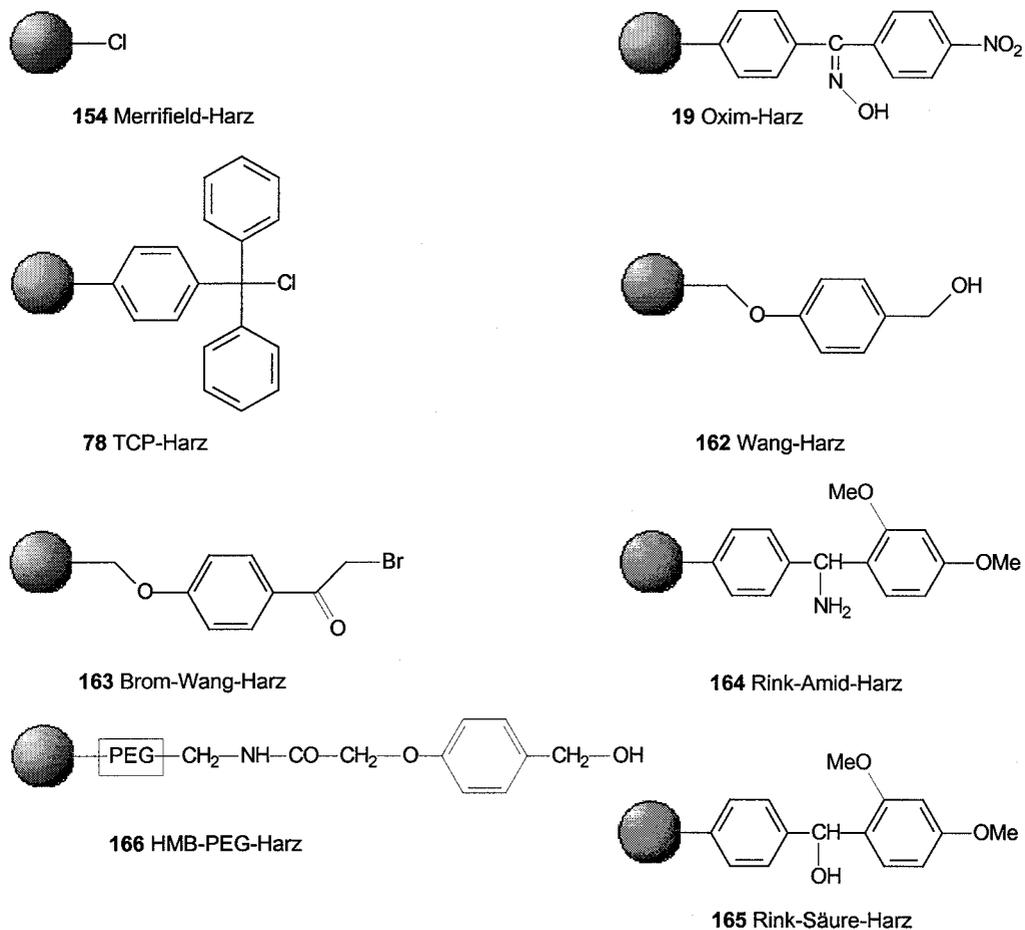


Abb. 63: Ausgewählte Harze für die Vorversuche.

Harz	Abspaltbedingungen	Chloraddition	AS-Abspaltung
Merrifield-Harz (154)	0.5 eq. NaOMe in MeOH, Rf, 12 h	5%	35%
Oxim-Harz (19)	99 % Eisessig in DMF, 24 h	1%	45%
TCP-Harz (78)	5 % TFA/DCM, 60 Min.	0%	100%
Wang-Harz (162)	50 % TFA/DCM, 30 Min.	2%	11%
Brom-Wang-Harz (163)	350 nm-Belichtung, 32 h	4%	15%
Rink-Amid-Harz (164)	50 % TFA/DCM 15 Min.	5%	100%
Rink-Säure-Harz (165)	10 % AcOH in DCM, 4h	7%	100%
Tentagel S HMB-Harz (166)	1 eq. 1.0 M NaOMe in MeOH, 30 Min.	0%	100%

Tab. 5: Vorversuche zur Harzwahl.

Nach den Resultaten der Vorversuche wird das Wang-Harz (162) zur weiteren Bearbeitung ausgewählt.

## 8.4. Verwendung von $\alpha$ -(Ethylthio)glycin am Wang-Harz (162)

Das Wang-Harz<sup>[225]</sup> (**162**) oder Hydroxymethylphenoxy (HMP)-Harz wird in der Fmoc-Peptidsynthese (SPPS = Solid Phase Peptide Synthesis) benutzt, aber auch in der Organischen Chemie an der Festphase (SPOS = Solid Phase Organic Synthesis). Eine Vielzahl von Synthesen wurden mit diesem Harz bereits durchgeführt, z.B.: Acylierung mit  $\text{MgCl}_2/\text{RCOCl}$ <sup>[226]</sup> oder Epoxidöffnung mit  $\text{LiClO}_4$ .<sup>[227]</sup>

### 8.3.1. Entschützungsbedingungen

Da *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-D,L- $\alpha$ -(ethylthio)glycin (**167**) in der Peptidsynthese am Wang-Harz eingesetzt werden soll, wird die Verträglichkeit des Wang-Harzes mit HCl/Dioxan getestet. **167** (2 eq.) wird mit DIC (2 eq.)/ DMAP (0.1 eq.)/  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  an das Wang-Harz gekuppelt (0.5 – 0.6 mmol/g) und mit 1.5 N, 2 N oder 4 N HCl/Dioxan unterschiedlich lange behandelt. Dann kuppelt man Boc-Valin (5 eq. AS, 4.9 eq. TBTU, 5 eq. HOBt, 10 eq. DIEA) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  innerhalb von 1 h an das Harz. Nach Abspaltung des Dipeptids mit TFA/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:1) wird die Ausbeute bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 64 zu sehen. Das Wang-Harz kann mit 4 N HCl/Dioxan behandelt werden. Die maximal mögliche Entschützung ist nach 120 Min. erreicht.

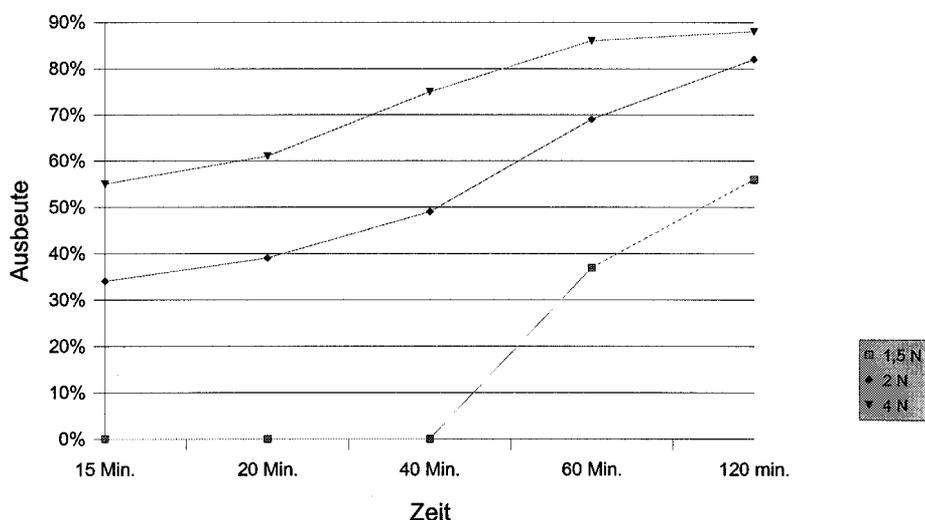


Abb. 64: Entschützungsversuche mit HCl/Dioxan.

### 8.3.2. Synthese von Dipeptiden

*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-D, L- $\alpha$ -(ethylthio)glycin (**167**) soll am Wang-Harz (**162**) mit  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  (1 M in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) modifiziert und anschließend Boc-Valin angekuppelt werden. Es wird eine Boc-Aminosäure benutzt, da die Boc-Schutzgruppe gleichzeitig beim Abspalten des Peptids vom Harz entfernt wird. Fmoc-Peptide sind oft schwerlöslich und könnten daher nur schwer vom Harz abgewaschen werden.

## 8. Verwendung von *a*-(Ethylthio)glycin an der Festphase

Das mit **167** beladene Trägermaterial **168** wird 1 h mit  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  (5 eq., 1 M in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) geschüttelt und danach mit dem entsprechenden Nucleophil (5 eq.) und DIEA (10 eq.) in 12 h zu **171 a-d** umgesetzt. Die N-terminale Entschützung zum Hydrochlorid **172 a-d** geschieht in 2 h mit 4.4 N HCl/Dioxan und die Aminosäurekupplung unter Standardbedingungen (5 eq. AS, 4.9 eq. TBTU, 5 eq. HOBt, 10 eq. DIEA) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Man erhält die freien Dipeptide in Ausbeuten von 30 bis 60 %.

Produkt	Ausbeute
ValGly(S- $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ) ( <b>174 a</b> )	54%
ValGly(S- $\text{CH}_2$ -Ph) ( <b>174 b</b> )	31%
ValGly(S- $\text{CH}_2$ - $\text{CO}_2$ -Et) ( <b>174 c</b> )	48%
ValGly(S- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{CH}_3$ ) ( <b>174 d</b> )	54%
ValGly(O- $\text{CH}_2$ -Ph- $\text{NO}_2$ ) ( <b>175</b> )	60%

Tab. 6: Am Wang-Harz synthetisierte Dipeptide.

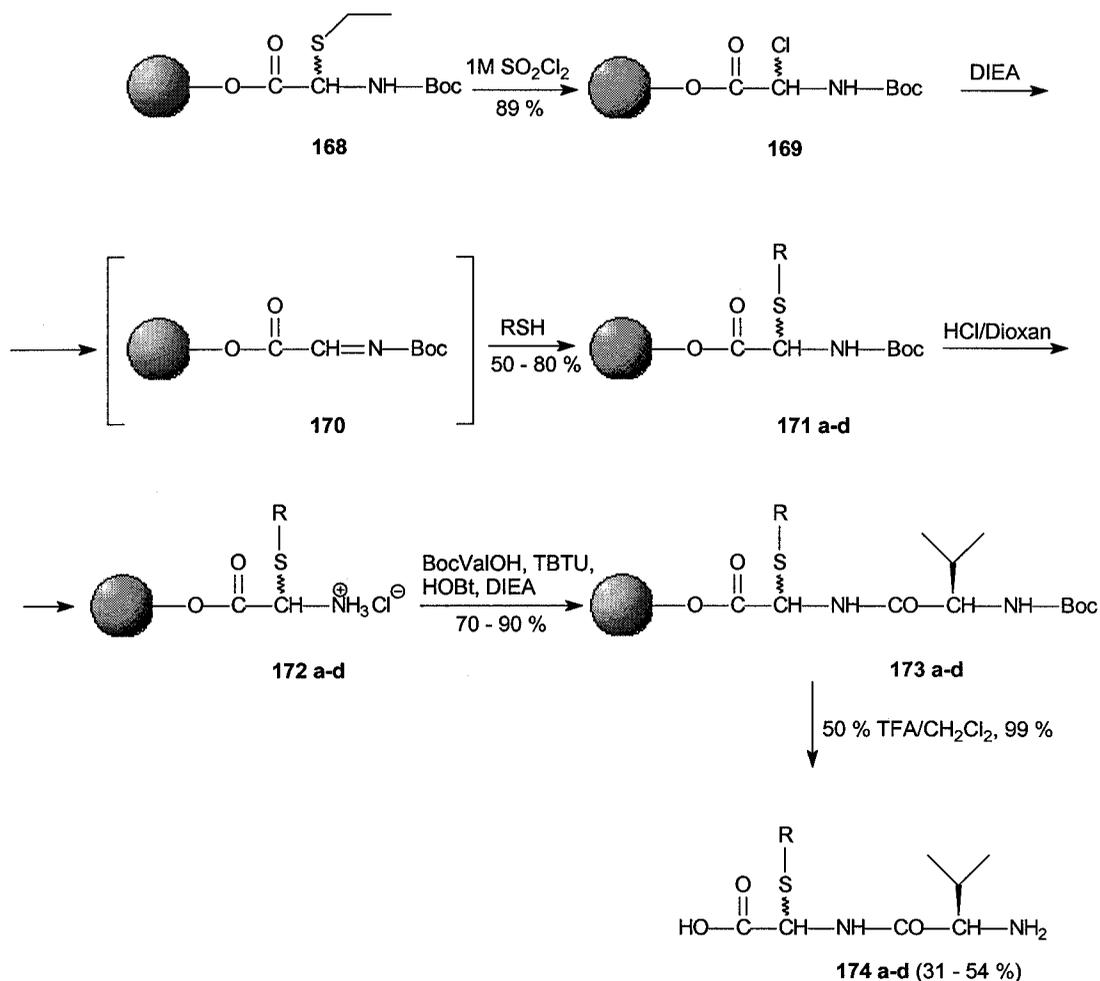


Abb. 65: Peptidsynthese am Wang-Harz.

Das mit **167** beladene Wang-Harz **168** kann als stabile Lagerverbindung angesehen werden.  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin kann an jeder Stelle einer Synthese verwendet werden. Die eigentliche Modifizierung kann auch erst nach Kupplung weiterer Aminosäuren geschehen, so daß Mehrfachmodifizierungen denkbar sind. Da die Boc-Schutzgruppe mit HCl/Dioxan entfernt werden kann, ist es möglich am Wang-Harz (**162**) (Fmoc-Harz) Boc- und Fmoc-Chemie zu betreiben. Die erhaltenen polaren Dipeptide können mit Diethylether ausgefällt werden, so daß oft keine weitere Reinigung notwendig ist. Erstmals ist durch die Verwendung der neuen Synthesestrategie die Peptidchemie nach *Steglich et al.* vollautomatisch möglich.

### 8.3.3. Kombinatorische Chemie

Es sollen die Möglichkeiten der neuen Methode anhand einer Split-and-Mix-Synthese<sup>[25,26,27]</sup> unter Beweis gestellt werden (Abb. 66). Das *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-D, L- $\alpha$ -(ethylthio)glycyl-Polymer **168** wird hierzu in drei getrennten Gefäßen mit jeweils einem anderen Nucleophil zu **176 a-c** derivatisiert. Man vereinigt die drei Produkte und füllt mit der Mischung wieder drei Gefäße, in denen jeweils eine andere Aminosäure an **176 a-c** gekuppelt wird. Zum Entschützen und Abspalten werden die Mischungen wieder vereinigt und man erhält die neun Produkte **178 a-i**, die auch massenspektroskopisch nachgewiesen werden können.

8. Verwendung von  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin an der Festphase

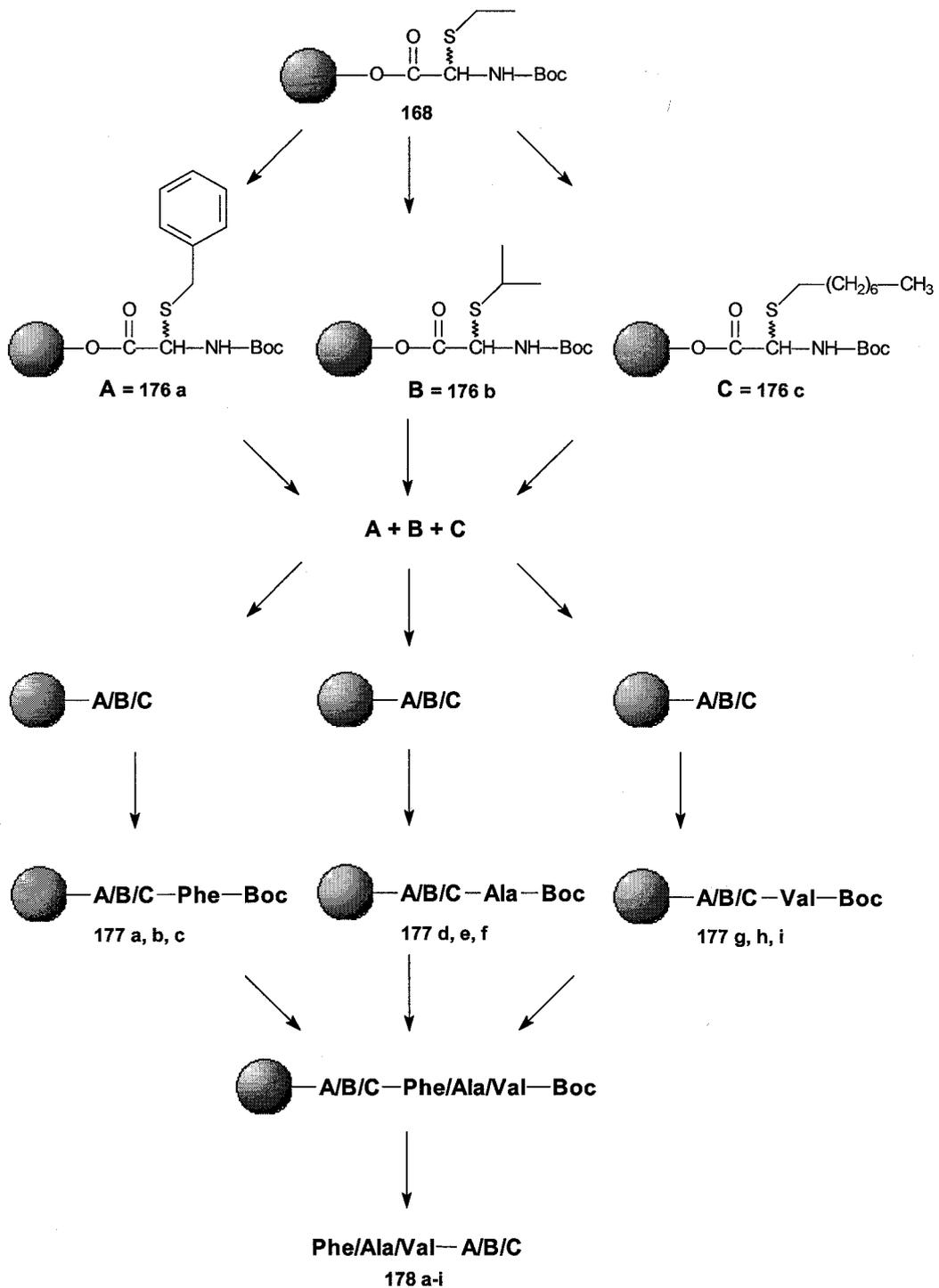


Abb. 66: Split-and-Mix-Synthese unter Verwendung der entwickelten Methode.

## 9. Zusammenfassung der Harzversuche

Die Synthese des Cyclopentapeptids  $c[\text{D}^{\text{FVR}}\text{TosG}^{\text{D,L}}\text{G}(\text{SEt})]$  (**77 a**) mit dem Kaiser-Harz (**19**) liefert neben dem einfach cyclisierten Produkt auch das Cyclodecapeptid (Monomer/Dimer = 2:1). Bei der abspaltenden Cyclisierung kann also der *N*-Terminus des harzgebundenen, linearen Pentapeptids neben seinem eigenen Linker auch andere erreichen. Durch eine geringere Harzbeladung (Verdünnung) kann die Dimerisierung unterdrückt werden (Monomer/Dimer = 9:1), allerdings sinkt die Gesamtausbeute dadurch soweit (10 %), daß der Nutzen der Festphasensynthese verloren geht.

Die diastereoselektive Synthese von  $c[\text{V}^{\text{D}}\text{G}(\text{SEt})\text{PF}^{\text{D}}\text{A}]$  (**73**) mit dem Kaiser-Harz (**19**) durch *Paulitz*<sup>[158, 170]</sup> gelang durch die Wahl sterisch anspruchsvoller Aminosäuren und kann daher nicht verallgemeinert werden.

Die Modifizierung der Asparaginsäure gelingt schließlich durch die Synthese von  $c[\text{D}^{\text{FVR}}\text{PbfG}^{\text{D,L}}\text{G}(\text{SEt})]$  (**96**) mit dem TCP-Harz (**78**) (64 % Ausbeute). Das Fmoc-Harz ermöglicht den Schutz der Guanidinogruppe des Arginins mit der mild abspaltbaren Pbf-Gruppe. Ein weiterer Vorteil ist die racemesierungsfreie Beladung des Harzes und die Unterdrückung der Diketo-piperazinbildung durch den hohen sterischen Anspruch des Trityl-Linkers.

Die weitere Umsetzung zu  $c[\text{D}^{\text{FVRG}}\text{D,LG}(\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H})]$  (**98 a-d**) ist in Ausbeuten von 80-86 % erfolgreich.

Die Modifizierung des Arginins wird durch die Synthese von  $c[\text{GD}^{\text{D}}\text{FV}^{\text{D,L}}\text{G}(\text{S}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2)]$  (**150 a-d**) mit dem Thio-Harz (**124**) verwirklicht. Die Seitenkettenbefestigung ermöglicht die Verwendung der Boc- und Fmoc-Strategie in einer Synthese. Zu Beginn der Synthese wird Boc-Chemie verwendet, da BocGly(S-Polymer)ONB (**126 b**) zunächst mit HCl/Dioxan entschützt werden muß und der Einsatz von Dipeptiden so vermieden wird. Es kann mit preisgünstigen Boc-Aminosäuren verlängert werden. Dann wird die Fmoc-Methode eingesetzt, so daß die Seitenkette der Asparaginsäure mit der mild abspaltbaren <sup>1</sup>Butylgruppe geschützt werden kann.

Da die Cyclisierung am Harz erfolgt und die Abspaltung und Modifizierung in einem Schritt durchgeführt wird, spart man sich aufwendige HPLC-Reinigungsschritte. Die Gesamtausbeuten liegen um 40 %.

Das Thio-Harz (**124**) kombiniert die Vorteile der Festphasenchemie und die der Aminosäuremodifizierung mittels  $\alpha$ -(Thioalkyl)glycin. Die Vorteile des Thio-Harzes (**124**) innerhalb der Peptidchemie nach *Steglich et al.*<sup>[149-152]</sup> werden durch die Synthese von **150 a-d** bewiesen.

## 9. Zusammenfassung der Harzversuche

---

Die Arbeit mit dem Thio-Harz (**124**) unterliegt Einschränkungen, die durch die Verwendung des Wang-Harzes (**162**) gelöst werden können. Die Modifizierung von  $\alpha$ -(Thioalkyl)glycin gelingt ohne Abspaltung vom Harz, und die Position des  $\alpha$ -(Thioalkyl)glycins kann frei gewählt werden. Boc- und Fmoc-Chemie sind am Wang-Harz (**162**) genauso wie am Thio-Harz (**124**) möglich.

Erst die neu entwickelte Synthesestrategie am Wang-Harz erlaubt vollautomatische Peptidchemie nach *Steglich et al.*

## IV. Experimenteller Teil

### 10. Analytik, Allgemeine Arbeitsmethoden

#### <sup>1</sup>H-NMR-Spektren:

<sup>1</sup>H-NMR-Spektren wurden mit den Geräten ARX 300 (300 MHz) und AMX 600 (600 MHz) der Firma Bruker aufgenommen. Die Angaben der chemischen Verschiebung  $\delta$  bezüglich des inneren Standards TMS erfolgt in ppm, die der Kopplungskonstanten  $J$  in Hz. Die Signalmultiplizität wird wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipl. Verbreiterte Signale werden mit br gekennzeichnet.

#### <sup>13</sup>C-NMR-Spektren:

<sup>13</sup>C-NMR-Spektren wurden mit den Geräten AMX 300 (75 MHz) und AMX 600 (150 MHz) der Firma Bruker aufgenommen. Die Angabe der chemischen Verschiebung  $\delta$  bezüglich des inneren Standards TMS erfolgt in ppm.

#### Massenspektren:

Das MS-System bestand aus einem MAT 95Q Sektorfeld-Quadrupol-Hybridgerät (Finnigan MAT, Bremen) mit kombinierter EI/CI-Quelle und Datensystem ICIS II bzw. aus einem MAT 90 Sektorfeldgerät (Finnigan MAT, Bremen) mit offener EI-Quelle und Datensystem ICIS II.

Im ersten Fall wurden FAB-Proben auf einem Stahl-Target in 2-Nitrobenzylalkohol-, Glycerin- oder Thioglycerin-Matrix gelöst und mit einem Cs<sup>+</sup> - Ionenstrahl von 20 kV Energie ionisiert (DIP/FIB). Im zweiten Fall wurden FAB-Proben auf einem Kupfer-Target in 2-Nitrobenzylalkohol-, Glycerin- oder Thioglycerin-Matrix gelöst und mit einem Ar - Atomstrahl von 4 kV Energie ionisiert (DIP/FIB).

Im EI- und CI-Modus betrug die Quellentemperatur 200 °C und die Elektronenenergie 70 eV.

ESI-MS wurde mit einem quellengekoppelten API-Interface II der Firma Finnigan mit ESI und APCI Kopf durchgeführt. Die Spraykapillarenspannung betrug 2.5 kV und die Heizerkapillarentemperatur 250 °C. Als Lösungsmittel wurde Acetonitril mit einer Flußrate von 200 µl/min bei einem Sheathgasdruck von ungefähr 5 bar Stickstoff verwendet. Jeweils 5µl Probenlösung wurden über eine 2 cm C18-Vorsäule injiziert.

### **IR-Spektren:**

IR-Spektren wurden mit einem 1420 Infrared Spectrometer der Firma Perkin-Elmer (Worwork, USA) aufgenommen. Werden polymergebundene Moleküle als KBr-Preßling vermessen, muß zuerst eine sehr kleine Menge Polymer zerrieben, dann erst KBr zugegeben und der Preßling wie üblich präpariert werden.

### **Schmelzpunkte:**

Schmelzpunkte wurden mit einem Reichert Thermovar Mikroheiztisch aufgenommen. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert.

### **Elementaranalysen:**

Die Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium des Institutes für Organische Chemie der LMU München durchgeführt.

### **Analytische Dünnschichtchromatographie:**

Es wurden DC-Fertigplatten (Kieselgel 60 F254) der Firma Merck verwendet. Zum Anfärben dienten je nach Erfordernis Sprüh- oder Tauchreagenzien von Ninhydrin, Kaliumpermanganat oder Cer/Molybdätdiphosphorsäure.

### **Säulenchromatographie:**

Die Flash-Chromatographie wurde an Kieselgel der Korngröße 0.04 – 0.06 nm der Firma Merck durchgeführt.

### **Analytische Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie:**

Anlage der Firma Waters, ausgerüstet mit 510 HPLC Pumpe, Waters 996 Photodiode Array Detector, Waters 717plus Autosampler (10 °C) und Säulenofen K5 (Fa. Techlab, Erkerode; 20 °C). Zur Auswertung diente ein Rechner NEC Image 466 mit Millenium Version 2.10. Als Trennsäule diente eine Nucleosil 100-RP-18, 5 µM (Säulendimension 4 x 250 nm). Als Laufmittel wurde ein Gradientensystem aus H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN + 0.1-proz. TFA bei einer Flußrate von 1 ml/min verwendet.

### **Präparative Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie**

Anlage der Firma Merck-Hitachi, ausgerüstet mit einem 655A Variable Wavelength UV-Monitor, einem D-2000 Chromato Integrator und einer L-6200 Intelligent Pump. Dabei wurde eine Säule Nucleosil 100-RP-18, 7 µM (Säulendimension 16 x 250 nm). Als Laufmittel wurde das

Gradientensystem  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$  (9:1) + 0.1-proz. TFA  $\rightarrow$   $\text{CH}_3\text{CN}$  + 0.1-proz. TFA in 30 Min. bei einer Flußrate von 3 ml/min verwendet.

### Allgemeine Arbeitsmethoden

Alle Reaktionen mit  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  und die anschließenden Modifizierungen wurden unter absoluten Bedingungen durchgeführt. Die verwendeten Lösemittel wurden in p.a. Qualität bezogen. MeOH, EtOH und i-PrOH wurden über Molekularsieb  $3\text{\AA}$  getrocknet,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  über Molekularsieb  $4\text{\AA}$ . DMF wurde mittels Durchleiten von Argon und Aufbewahren über Molekularsieb  $4\text{\AA}$  trocken und frei von Dimethylamin gehalten. Absolutes Toluol wurde von Fluka bezogen. Für Reaktionen unter absoluten Bedingungen wurde  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  von Sicapent® und THF von Kalium destilliert. Hünig-Base (DIEA) wurde durch Destillieren von KOH und Ninhydrin getrocknet und von sekundären Aminen befreit. Sulfurylchlorid wurde als 1M Lösung in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  von Aldrich bezogen. TBTU und in der Seitenkette geschützte Aminosäuren wurden von Bachem bezogen, andere in der Seitenkette geschützte Aminosäuren, Merrifield-Harz und PyBOP von Novabiochem. Bio-Beads SX-1 wurden von der Fa. Bio-Rad bezogen.

Alle Verbindungen wurden durch NMR-Spektren sowie Elementaranalyse und / oder hochaufgelöstes Massenspektrum charakterisiert. Weil die Peptide generell als amorphe, nicht kristalline Feststoffe anfielen, sind die angegebenen Schmelzpunkte als Erweichungspunkte zu verstehen. Reaktionen, an denen polymere Träger beteiligt sind, dürfen nicht unter magnetischem Rühren durchgeführt werden, weil die Polymerpartikel zwischen Magnetrührstab und Glaswand zerrieben werden können. Stattdessen wurden die Suspensionen durch Schütteln bewegt. Die Festphasensynthese von Peptiden wurde mit dem ACT 90 von Advanced ChemTech durchgeführt.

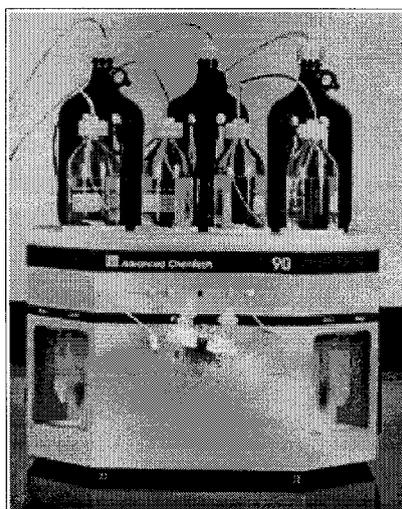


Abb. 67: ACT 90 – Synthesizer.

Die Beladung modifizierter Harze kann nach Formel 1 berechnet werden:

$$C_P = \frac{C_S}{[C_S * (M_P - M_S) * 10^{-3} + 1]}$$

**Formel 1:** Berechnung der Beladung modifizierter Harze;  $C_S$  = Beladung des Startmaterials,  $C_P$  = Beladung des Produkt-Harzes,  $M_S$  = Masse des befestigten Startmoleküls und  $M_P$  = Masse des am Ende befestigten Produktes.

## 11. Allgemeine Arbeitsvorschriften

### AAV 1: Bromierung von Glycinderivaten, Generierung des Acylimins und Umsetzung mit Nucleophilen<sup>[149-152]</sup>

50.0 mmol des Glycinderivates werden unter Absolutbedingungen in 300 ml  $\text{CCl}_4$  gelöst, 50.0 mmol NBS [177.99] zugeben und unter Rühren mit einer 500 W Halogenlampe belichtet. Sind im Edukt thermolabile Schutzgruppen (z.B. Boc) vorhanden, muß die Temperatur während der Reaktion mittels Wasserkühlung auf Raumtemperatur gehalten werden. Die Reaktion ist beendet, wenn das entstehende Succinimid aufschwimmt und alles NBS (setzt sich im Reaktionsgefäß unten ab) verbraucht ist. Das Succinimid wird über eine Glasfritte entfernt, das Filtrat am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das  $\alpha$ -Bromglycinderivat wird in 300 ml absolutem THF gelöst, das Nucleophil (50.0 – 60.0 mmol) zugegeben, mit Trockeneis/Aceton auf  $-78^\circ\text{C}$  gekühlt und mit 60.0 mmol Triethylamin versetzt. Man entfernt das Kühlbad und läßt unter Rühren auf Raumtemperatur kommen. Nach 2 Stunden wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, das Produkt in 300 ml Essigsäureethylester gelöst, je zweimal mit 1.1 M  $\text{KHSO}_4$ -Lösung, gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und mit gesättigter  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Das nach dem Entfernen des Lösungsmittels erhaltene Produkt wird bei Bedarf durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt.

### AAV 2: Abspaltung der Boc-Schutzgruppe von geschwefelten Glycinderivaten<sup>[147]</sup>

10.0 mmol des geschwefelten Glycinderivates werden in 10.0 ml einer 2 N Lösung von  $\text{HCl}$  in Essigsäureethylester gelöst und unter Argon über Nacht gerührt. Fällt das entstehende Hydrochlorid aus der Reaktionslösung aus, wird es abfiltriert, mit wenig trockenem Essigsäureethylester gewaschen und im HV getrocknet. Fällt das Produkt nicht aus, wird die Reaktionsmischung im Vakuum zur Trockene ingedampft und das erhaltene Hydrochlorid als Rohprodukt weiter umgesetzt.

### AAV 3: Abspaltung von Methylester-Schutzgruppen

10.0 mmol des Esters werden in 50.0 ml THF gelöst und 10.0 ml Wasser zugegeben. Bei  $0^\circ\text{C}$  werden 20.0 mmol  $\text{LiOH}$  zugefügt und 1 h gerührt. Man verdünnt mit 50.0 ml Wasser und extrahiert einmal mit Essigsäureethylester. Die organische Phase wird verworfen, die wäßrige mit 1.1 M  $\text{KHSO}_4$ -Lösung auf pH 2 angesäuert und viermal mit je 50.0 ml Essigester extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird die freie Säure als Rückstand erhalten.

Eine andere Methode wird bei der Verseifung von Fmoc-geschützten Methylestern angewendet. 10.0 mmol des Esters werden in 50.0 ml THF und 10.0 ml Wasser gelöst und eine Spatelspitze Phenolphthalein zugegeben. Man tropft LiOH als 1 M Lösung in THF langsam zu, bis die Lösung nicht mehr entfärbt wird. Die folgende Aufarbeitung geschieht, wie oben beschrieben.

#### AAV 4: Peptid-/Estersynthese in Lösung mit TBTU

1.00 mmol der Carbonsäure, 1.00 mmol der nucleophilen Komponente und 1.00 mmol TBTU [321.08] werden in 1 ml abs. CH<sub>3</sub>CN suspendiert und auf 0 °C gekühlt. 2.00 mmol Triethylamin [101.19, d 0.72] werden zugeben und 60 Minuten gerührt. Die Mischung wird mit 200 ml gesättigter wässriger NaCl-Lösung versetzt und dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden nacheinander zweimal mit 10-proz. wässriger Citronensäure, mit Wasser, zweimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, mit Wasser und mit gesättigter wässriger NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über MgSO<sub>4</sub> wird das Lösemittel im Vakuum entfernt. Man erhält das Produkt oft direkt in reiner Form, ansonsten reinigt man durch Flash-Chromatographie an Kieselgel.

Zur Kupplung der aus AAV2 erhaltenen geschwefelten Glycinderivat-Hydrochloride wird obige Vorschrift in anderer Reihenfolge durchgeführt. Die Carbonsäure wird mit TBTU [321.08] und Triethylamin [101.19, d 0.72] in Acetonitril bei 0 °C vorgelegt, 1 Minute gewartet („pre-activation“) und dann das Hydrochlorid spatelweise zugeben. Die weitere Durchführung erfolgt wie oben beschrieben.

#### AAV 5: Kupplung der Aminosäuren an der Festphase nach der HOBt/TBTU-Methode

Die Peptidkupplung an der Festphase erfolgt im allgemeinen nach der HOBt/TBTU-Methode. Es ist die Vorgehensweise für die Fmoc- und Boc-Strategie (in Klammern) in Tab. 7 angegeben.

Schritt [Nr.]	Funktion	Reagenz	Zeit
1	Waschen (5 mal)	DMF (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	
2	Entschützen	20 -proz. Piperidin/DMF (25 -proz. TFA/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	5 Min.
3	Entschützen	20 -proz. Piperidin/DMF (25 -proz. TFA/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	25 Min.
4	Waschen (5 mal)	DMF (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	
5	Kupplung	Fmoc-AS-OH/ TBTU/HOBt/DIEA/DMF	60 Min.
6	Waschen (5 mal)	DMF	
7	Waschen (3 mal)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	

Tab. 7: Kupplungsprotokoll bei der Festphasen-Synthese nach der Fmoc/(Boc)-Strategie.

Die Aminosäurekupplung wird mit 5 eq. Aminosäure, 4.90 eq TBTU [321.08] und 5 eq. HOBT [135.13] und 10 eq. DIEA [129.24; d 0.74] in 5.00 ml DMF(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)/g Harz durchgeführt. Bei der Kupplung von Peptidfragmenten wird die Reaktionszeit von 1 h auf 24 h verlängert. Die Vollständigkeit der Kupplung wird mittels Kaiser-Test überprüft. Fällt dieser positiv aus, wird fünfmal mit DMF(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) gewaschen und die Kupplung wiederholt. Wasch- und Entschützungs-schritte werden jeweils mit 15 ml Lösungsmittel/g Harz durchgeführt.

#### **AAV 6: Cyclisierung in Lösung mit PyBOP**

Zu einer  $5 \times 10^{-3}$  M Lösung des Peptids in DMF werden 1.2 eq. PyBOP [520.39], 1.2 eq. HOBT [135.13] und 5 eq. DIEA [129.24, d 0.74] zugegeben. Der Reaktionsverlauf wird mittels HPLC verfolgt. Das Lösungsmittel wird nach vollständigem Abreagieren des Edukts im Vakuum eingengt und mit Wasser ausgefällt. Die endgültige Reinigung erfolgt über präparative HPLC.

#### **AAV 7: Umsetzung von $\alpha$ -(Ethylthio)glycyl-Peptiden mit SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und Nucleophilen<sup>[149-152]</sup>**

Das  $\alpha$ -(Ethylthio)glycyl-Peptid wird in einem ausgeheizten Schlenk-Rohr unter absoluten Bedingungen in trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml / mmol) gelöst und bei 0° C mit 1.2 eq einer 1M SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Lösung in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt. Nach 30 min Rühren werden alle flüchtigen Bestandteile im Vakuum in eine Kühlfalle destilliert und der Rückstand im Hochvakuum vollständig getrocknet. Der Feststoff wird in trockenem THF (50 ml / mmol) gelöst und bei - 78 °C mit 1.2 eq. des Nucleophils und 2 eq. DIEA [129.24; d 0.74] versetzt. Innerhalb 12 h wird unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmt, mit dem doppelten Volumen Essigsäureethylester versetzt und nacheinander zweimal mit 10-proz. wäßriger Citronensäure, zweimal mit gesättigter wäßriger NaHCO<sub>3</sub> Lösung, mit Wasser und mit gesättigter wäßriger NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über MgSO<sub>4</sub> wird das Lösemittel im Vakuum entfernt.

#### **AAV 8: Abspaltung von Seitenkettenschutzgruppen**

Abspaltung der Pbf-Schutzgruppe erfolgt mit TFA/ TIPS/ Wasser (95/2.5/2.5) innerhalb von 1.5 – 3.0 h. Abspaltung der <sup>t</sup>Butyl- und Z-Schutzgruppe erfolgt mit 33-proz. HBr in Eisessig/TIPS/Wasser (95/2.5/2.5) innerhalb von 1.5 – 3.0 h. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingengt und das Peptid mit kaltem Diethylether ausgefällt. Die endgültige Reinigung erfolgt über präparative HPLC.

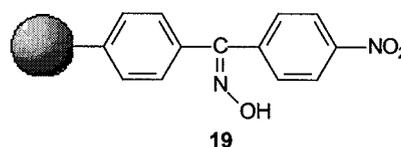


## 12. Asparaginsäure-Modifizierung von c(RGDfV) (43)

### 12.1. Cyclopeptidsynthese mit dem Kaiser-Harz (19)

#### Beladen des Kaiser-Harzes (19)<sup>[11]</sup>

Zu 1.00 g Kaiser-Harz (19) (Beladung: 1.00 mmol/g) werden entsprechend der gewünschten Beladung 0.09 - 0.59 g (0.30 - 2.00 mmol) BocGlyGly(SET)OH (74) [292.35], 0.06 g - 0.41 g (0.30 - 2.00 mmol) DCC [206.33] und 10.0 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/g gegeben und 12 h geschüttelt. Man



gibt 0.19 ml (2.00 mmol) Essigsäureanhydrid [102.09, d 1.09] und 0.16 ml (2.00 mmol) Pyridin [79.10, d 0.98] zu und schüttelt 30 Minuten („capping“). Das beladene Harz 75 wird dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und je zweimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (1:1), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und EtOH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Substitution des Harzes 75 wird gravimetrisch bestimmt und liegt je nach gewünschter Beladung bei 0.10 - 0.60 mmol/g.

#### Kupplung der Aminosäuren

Die Kupplung der Aminosäuren (0.50 - 3.00 mmol) BocArg<sup>Tos</sup>OH [428.50] (0.21 - 1.29 g), BocVal-OH [217.26] (0.11 - 0.65 g) und Boc<sup>D</sup>PheOH [265.30] (0.13 - 0.80 g) erfolgt unter Einsatz von 0.16 - 0.93 g (0.50 - 2.90 mmol) TBTU [321.08], 0.07 - 0.41 g (0.50 - 3.00 mmol) HOBt [135.13] und 0.17 - 1.05 ml (1.00 - 6.00 mmol) DIEA [129.24, 0.74] nach AAV 5.

#### Cyclisierende Abspaltung vom Kaiser-Harz (19)

Das polymergebundene Pentapeptid wird mit 25-proz. TFA in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 x 5 min, 1 x 25 min) zu 76 entschützt und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x), i-PrOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x), i-PrOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x) und DMF gewaschen. Eine Lösung von 0.04 - 0.21 ml (2 eq., 0.20 - 1.20 mmol) DIEA [129.24; d 0.74] und 0.01 - 0.07 ml (2 eq., 0.20 - 1.20 mmol) 99.8-proz. Eisessig [60.05, d 1.05] in 15 ml DMF/g Harz wird zum Harz 76 gegeben und 24 h geschüttelt. Anschließend wird filtriert und dreimal mit DMF gewaschen. Das Lösungsmittel wird entfernt und der ölige Rückstand mit H<sub>2</sub>O versetzt. Das Cyclopeptid c<sup>[D]FVR<sup>Tos</sup>G<sup>D,L</sup>G(SET)] (77 a) fällt als weißer Niederschlag aus, wird abzentrifugiert, getrocknet und die Gesamtausbeute bezogen auf die ursprüngliche Funktionalisierung mit Oximgruppen bestimmt. Das Verhältnis Cyclopenta-/Cyclodecapeptid wird mittels analytischer HPLC bestimmt.</sup>

## 12.2. Synthese von <sup>D</sup>FVR<sup>Pbf</sup>G<sup>D,L</sup>-G(SET) (96) mit dem TCP-Harz (78)

### *N*-tert-Butyloxycarbonyl-D,L-α-(ethylthio)glycinmethylester (68) – BocGly(SET)OMe

*N*-tert-Butyloxycarbonyl-D,L-α-(ethylthio)glycinmethylester (68) wird nach der AAV 1 aus 9.46 g (50.0 mmol) *N*-tert-Butyloxycarbonyl-glycin-methylester [189.21], 8.95 g (50.0 mmol) NBS [177.99], 4.44 ml (60.0 mmol) Ethanthiol [62.13, d 0.84] und 8.36 ml (60.0 mmol) Triethylamin synthetisiert. Man erhält ein blaßgelbes Öl. Ausbeute: 11.2 g (45.0 mmol) = 90 %.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) δ 1.28 (dd, 3H, *J* = 7.2 Hz), 1.46 (s, 9H), 2.62-2.75 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 5.34 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 5.52 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz).

<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) δ 14.60, 25.06, 28.31, 52.98, 55.16, 80.64, 154.18, 169.79.

MS (FAB) *m/z* (%) 250 ([M+H]<sup>+</sup>, 29).

Summenformel C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub>S (249.32).

### α-(Ethylthio)glycin-methylester-Hydrochlorid (69) – Gly(SET)OMe × HCl

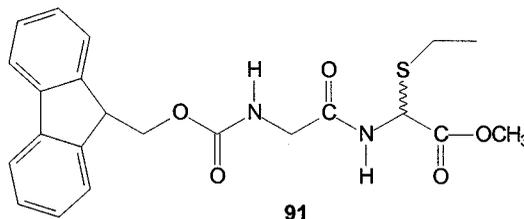
Das Hydrochlorid 69 wird aus 11.2 g (45.0 mmol) 68 nach AAV 2 erzeugt. Man erhält einen farblosen Feststoff. Ausbeute: 7.52 g (40.5 mmol) = 90 %.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS) δ 1.28 (dd, 3H, *J* = 7.4 Hz), 2.62-2.75 (m, 1H), 3.08 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 5.21 (s, 1H), 9.18 (br, 3H).

Summenformel C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>2</sub>ClS (185.67).

### 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-glycin-D,L-α-(ethylthio)glycinmethylester (91)

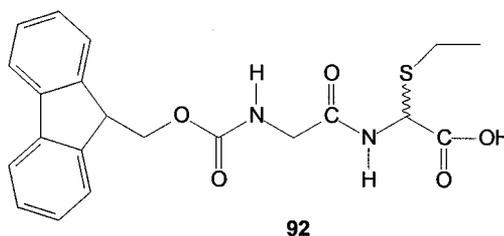
Die Kupplung von 2.97 g (10.0 mmol) 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-glycin [297.31] und 1.86 g (10.0 mmol) α-(Ethylthio)glycin-methylester-hydrochlorid (69) [185.66] geschieht mit 3.21 g (10.0 mmol) TBTU [321.08] und 2.81 ml (20.0 mmol) Triethylamin [101.19, d 0.72] nach der AAV 4. Ausbeute: 12.1 g (28.4 mmol) = 70 % farbloser Feststoff.



<b><sup>1</sup>H-NMR:</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 1.18 (t, 3H, J = 7.2 Hz), 2.65-2.75 (m, 2 H), 3.56-3.75 (m, 5 H), 3.90-4.15 (m, 3H), 5.47 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 7.31-7.50 (m, 4 H), 7.59 (t, 1H, J = 6.0 Hz), 7.73 (d, 2H, J = 6.9 Hz), 7.89 (d, 2H, J = 7.5 Hz), 8.83 (d, 1H, J = 8.4 Hz).
<b><sup>13</sup>C-NMR:</b>	(75.47 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 14.60, 24.20, 43.25, 46.81, 52.89, 65.92, 120.26, 125.40, 127.24, 127.80, 140.89, 144.00, 156.65, 169.19.
<b>MS (EI)</b>	m/z (%) 428 ([M] <sup>+</sup> , 100).
<b>Summenformel</b>	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S (428.50).

### 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-glycin-D,L-α-(ethylthio)glycin (92)

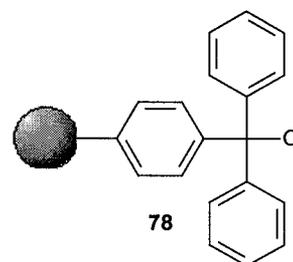
92 wird nach AAV 3 aus 4.28 g (10.0 mmol) 91 hergestellt. Ausbeute: 4.10 g (9.90 mmol) = 99 % farbloser Feststoff.



<b><sup>1</sup>H-NMR:</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 1.18 (t, 3H, J = 7.2 Hz), 2.65-2.75 (m, 2 H), 3.70 (d, 2 H, J = 6.0 Hz), 3.90-4.15 (m, 3H), 5.47 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 7.31-7.50 (m, 4 H), 7.59 (t, 1H, J = 6.0 Hz), 7.73 (d, 2H, J = 6.9 Hz), 7.89 (d, 2H, J = 7.5 Hz), 8.83 (d, 1H, J = 8.4 Hz).
<b><sup>13</sup>C-NMR:</b>	(75.47 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 14.67, 24.12, 43.32, 46.81, 53.06, 65.92, 120.27, 125.41, 127.26, 126.28, 140.90, 144.01, 156.66, 168.98, 170.00.
<b>MS (EI)</b>	m/z (%) 414 ([M] <sup>+</sup> , 10).
<b>Summenformel</b>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S (414.47).

### Beladen des TCP-Harzes (78)<sup>[11]</sup>

4.15 g (10.0 mmol) 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-glycin-D,L-α-(ethylthio)glycin (92) [414.47] und 4.36 ml (25.0 mmol) DIEA [129.24; d 0.74] werden in 25.0 ml Dichlormethan gelöst und zu 5.00 g TCP-Harz (78) (1.00 - 2.00 mmol/g) gegeben. Nach 60 Min. gibt man 5.00 ml Methanol zu, um nicht reagierte Tritylchlorid-Gruppen zu verethern. Nach weiteren 20 Min. Schütteln wird das beladene Harz 93 mit Dichlormethan, DMF und Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Substitution von 93 wird gravimetrisch bestimmt und liegt bei 0.50 – 0.60 mmol/g.



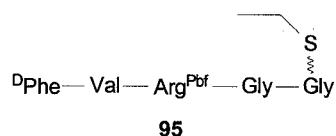
### Kupplung der Aminosäuren

Nach der AAV 5 werden 8.11 g (12.5 mmol) FmocArg<sup>Pbf</sup>OH [648.77], 4.24 g (12.5 mmol) FmocValOH [339.39] und 4.84 g (12.5 mmol) Fmoc<sup>D</sup>PheOH [387.43] unter Einsatz von jeweils 3.95 g (12.3 mmol) TBTU [321.08], 1.91 g (12.5 mmol) HOBT [153.13] und 4.36 ml (25.0 mmol) DIEA [129.24, 0.74] gekuppelt.

### Abspaltung vom TCP-Harz (78)

Die Abspaltung des Peptids vom Harz erfolgt nach der Abspaltung der letzten Fmoc-Schutzgruppe. Es wird mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5×) gewaschen und danach mit 5 -proz. TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 60 Min. geschüttelt. Abfritten und Waschen mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×) liefert ein Filtrat. Dieses wird am Rotationsverdampfer eingengt und das Peptid durch Zugabe von kaltem Ether ausgefällt. Der entstandene weiße Niederschlag wird abzentrifugiert und mittels HPLC gereinigt. Man erhält ein farbloses Öl. Ausbeute: 1.38 g (1.63 mmol) = 65 %.

### <sup>D</sup>FVR<sup>Pbf</sup>G<sup>D,L</sup>G(SET) (95)



**<sup>1</sup>H-NMR:** (300.13 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 0.68 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz), 0.69 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz), 1.14 (m, 3H), 1.41 (m, 6H), 1.54 (br, 2H), 1.64 (br, 2H), 1.91 (m, 1H), 2.00 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.57 (br, 2H), 2.82 (br, 2H), 2.96 (s, 3H), 3.02 (m, 2H), 3.22 (br, 1H), 3.39 (br, 1H), 3.74 (br, 1H), 3.82 (br, 1H), 4.07 (br, 1H), 4.19 (br, 2H), 4.91 (br, 1H), 6.88 (br, 2H), 7.28 (m, 5H), 7.65 (br, 1H), 7.81 (br, 1H), 8.11 (br, 1H), 8.16 (br, 1H), 8.40 (br, 1H), 8.48 (br, 1H), 8.53 (br, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR:** (75.47 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 12.50, 14.72, 14.86, 17.75, 18.05, 19.19, 19.25, 19.33, 19.56, 23.52, 24.81, 28.37, 28.71, 36.13, 39.75, 40.26, 42.44, 44.20, 52.32, 53.85, 54.12, 56.02, 62.10, 86.28, 116.49, 124.43, 126.38, 128.30, 129.07, 129.62, 131.62, 135.66, 137.30, 137.49, 157.63, 168.41, 169.58, 170.64, 172.27.

**MS (ESI):** *m/z* (%) 847 ([M+H]<sup>+</sup>, 100), 869 ([M+Na]<sup>+</sup>, 3).

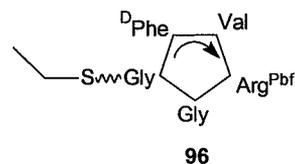
**HRMS (ESI)** ber. für C<sub>39</sub>H<sub>59</sub>N<sub>8</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub> 847.3846 ([M+H]<sup>+</sup>), gef. 847.3844.

**Summenformel:** C<sub>39</sub>H<sub>58</sub>N<sub>8</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub> (847.05).

### 12.3. Synthese von $c[{}^D\text{FVRG}{}^D\text{-L}\text{G}(\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H})]$ (98 a-d)

#### $c[{}^D\text{FVR}{}^{\text{Pbf}}\text{G}{}^D\text{-L}\text{G}(\text{SEt})]$ (96)

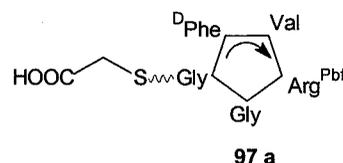
96 wird durch Cyclisierung in Lösung aus 0.85 g (1.00 mmol) 95 nach der AAV 6 hergestellt. Es werden dazu 0.62 g (1.20 mmol) PyBOP [520.39], 0.18 g (1.20 mmol) HOBt [153.13], 0.87 ml (5.00 mmol) DIEA [129.24, d 0.74] und 200 ml DMF benötigt. Nach HPLC-Reinigung erhält man einen weißen Feststoff. Ausbeute: 0.83 g (0.99 mmol) = 99 %.



<b>Schmp.:</b>	280 - 290 °C.
<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / $[\text{cm}^{-1}]$ 3405 (br, s), 2955 (m), 2910 (m), 1685 (s), 1530 (s), 1455 (m), 1375 (w), 1255 (s), 1095 (m), 990 (w), 815 (w), 737 (w), 701 (w), 508 (w).
<b><math>{}^1\text{H-NMR}</math></b>	(600.15 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 0.68 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, Val- $\text{CH}_3$ ), 0.72 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, Val- $\text{CH}_3$ ), 1.16 (t, 3H, $J = 7.8$ Hz, S- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ), 1.26 (m, 1H, Arg- $\text{CH}_2$ ), 1.33 (m, 1H, Arg- $\text{CH}_2$ ), 1.41 (m, 6H, Pbf- $\text{CH}_3$ ), 1.51 (m, 1H, Arg- $\text{CH}_2$ ), 1.66 (m, 1H, Arg- $\text{CH}_2$ ), 1.99 (m, 1H, Val- $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 2.00 (s, 3H, Pbf- $\text{CH}_3$ ), 2.42 (s, 3H, Pbf- $\text{CH}_3$ ), 2.47 (s, 3H, Pbf- $\text{CH}_3$ ), 2.57 (m, 2H, S- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2.81 (m, 1H, Phe- $\text{CH}_2$ ), 2.96 (br, 2H, Pbf- $\text{CH}_2$ ), 3.02 (m, 2H, Arg- $\text{CH}_2$ ), 3.13 (m, 1H, Phe- $\text{CH}_2$ ), 3.82 (m, 2H, Gly- $\alpha\text{-H}$ ), 3.89 (m, 1H, Val- $\alpha\text{-H}$ ), 4.22 (m, 1H, Arg- $\alpha\text{-H}$ ), 4.57 (m, 1H, Phe- $\alpha\text{-H}$ ), 5.50 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz, Gly(SEt)- $\alpha\text{-H}$ ), 6.38 (br, 1H, Guanidin-NH), 6.67 (br, 1H, Guanidin-NH), 7.18 (t, 1H, $J = 6.6$ Hz, Gly-NH), 7.22 (m, 5H, arom. H), 7.34 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, Val-NH), 7.96 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz, Phe-NH), 8.02 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, Arg-NH), 8.81 (t, 1H, $J = 6.6$ Hz, $-\text{CH}_2\text{-NH-C}(\text{NH})\text{NH-}$ ), 8.84 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz, Gly(SEt)-NH).
<b><math>{}^{13}\text{C-NMR}</math></b>	(150.93 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 12.42, 14.92, 14.96, 17.73, 17.92, 19.09, 19.20, 19.23, 19.34, 23.92, 24.87, 28.47, 28.76, 36.13, 39.90, 40.30, 42.64, 44.11, 52.46, 54.25, 54.64, 56.12, 61.13, 86.46, 116.43, 124.47, 126.51, 128.30, 129.16, 129.31, 131.58, 134.32, 137.30, 137.45, 157.62, 168.54, 169.37, 170.72, 171.21.
<b>MS (ESI)</b>	$m/z$ (%) 829 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100), 852 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 1).
<b>HRMS (ESI)</b>	ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{57}\text{N}_8\text{O}_8\text{S}_2$ 829.3741 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), gef. 829.3785.
<b>Summenformel:</b>	$\text{C}_{39}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_8\text{S}_2$ (829.04).

**c[<sup>D</sup>FVR<sup>Pbf</sup>G<sup>D,L</sup>G(SCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)] (97 a)**

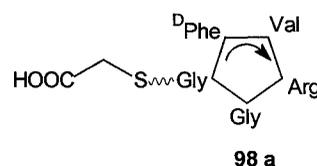
Nach der AAV 7 wird 0.08 g (0.10 mmol) **96** [829.04] mit 0.12 ml (0.12 mmol) einer 1M SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Lösung in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt. Das chlorierte Peptid wird mit 8.58 µl (0.12 mmol) Thioessigsäure [76.11, d 1.07] und 34.9 µl (0.20 mmol) DIEA [129.24, d 0.74] umgesetzt. Man erhält nach HPLC-Reinigung **97 a** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 73.0 mg (0.09 mmol) = 85 %.



<b>Schmp.:</b>	240 - 250 °C.
<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / [cm <sup>-1</sup> ] 3400 (br, s), 2962 (m), 2929 (m), 1663 (s), 1531 (s), 1455 (m), 1381 (w), 1261 (s), 1097 (m), 995 (w), 930(w), 803 (w), 745 (w), 701 (w), 507 (w).
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(600.15 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 0.72 (m, 6H), 1.46 (m, 2H), 1.60 (m, 2H), 1.88 (m, 1H), 2.46 (m, 6H), 2.68 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.97 (m, 2H), 3.04 (m, 3H), 3.05 (m, 4H), 3.66 (m, 2H), 3.77 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 4.26 (m, 1H), 4.68 (m, 1H), 5.70 (d, 1H, <i>J</i> = 9.0 Hz), 7.04 (m, 1H), 7.12 (t, 1H, <i>J</i> = 6.6 Hz), 7.20 (m, 5H), 7.26 (d, 1H, <i>J</i> = 8.4 Hz), 7.70 (m, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.07 (m, 1H), 8.11 (m, 1H), 8.18 (d, 1H, <i>J</i> = 8.4 Hz), 8.45 (d, 1H, <i>J</i> = 9.0 Hz).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(150.93 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 16.89, 18.01, 19.32, 25.24, 29.66, 30.98, 31.45, 32.05, 33.39, 34.49, 35.99, 37.20, 38.57, 40.90, 41.35, 42.46, 44.98, 47.77, 49.07, 50.12, 53.94, 55.45, 85.85, 120.11, 123.62, 126.55, 127.86, 128.12, 128.21, 129.45, 129.55, 137.05, 137.31, 162.54, 167.43, 169.58, 170.56, 171.67, 173.67.
<b>MS (ESI)</b>	<i>m/z</i> (%) 859 ([M+H] <sup>+</sup> , 5).
<b>HRMS (ESI)</b>	ber. für C <sub>39</sub> H <sub>55</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> S <sub>2</sub> 859.3483 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 859.3484.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> S <sub>2</sub> (859.02).

**c[<sup>P</sup>FVRG<sup>D,L</sup>G(SCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)] (98 a)**

Man erhält **98 a** aus 73.0 mg (0.09 mmol) **97 a** nach der AAV 8 als farblosen Feststoff. Ausbeute: 51.6 mg (0.09 mmol) = 100 %.

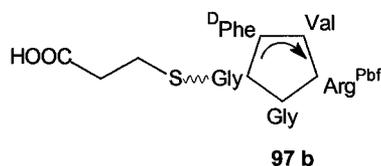


<b>Schmp.:</b>	250 - 260 °C.
<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / [cm <sup>-1</sup> ] 3435 (br, s), 2968 (m), 2929 (m), 1658 (s), 1545 (s), 1455

	(m), 1408 (w), 1370 (w), 1245 (m), 1157 (w), 1106 (m), 995 (w), 852 (w), 806 (w), 783 (w), 734 (w), 700 (w), 670 (w), 569 (m), 507 (w).
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(600.15 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 0.69 (d, 3H, <i>J</i> = 6.6 Hz), 0.70 (d, 3H, <i>J</i> = 6.3 Hz), 1.50 (m, 2H), 1.65 (m, 2H), 1.95 (m, 1H), 2.97 (m, 2H), 3.16 (m, 2H), 3.51 (m, 2H), 3.77 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 4.26 (m, 1H), 4.71 (m, 1H), 5.63/5.87 (2d, 1H, <i>J</i> = 9.2 Hz/ 9.7 Hz), 6.85 (m, 1H), 7.16 (t, 1H, <i>J</i> = 6.6 Hz), 7.22 (m, 5H), 7.33 (s, 1H), 7.49 (br, 2H), 7.73 (s, 1H), 8.26 (d, 1H, <i>J</i> = 8.4 Hz), 8.41 (d, 1H, <i>J</i> = 8.4 Hz), 8.58 (s, 1H), 8.70 (d, 1H, <i>J</i> = 9.0 Hz).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(150.93 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 18.05, 19.29, 25.38, 29.79, 30.03, 33.15, 36.53, 42.25, 52.28, 52.96, 54.65, 55.74, 56.29, 61.26, 70.03, 115.48, 118.94, 126.36, 128.27, 129.26, 157.07, 167.22, 168.85, 169.78, 171.18, 174.23.
<b>MS (ESI)</b>	<i>m/z</i> (%) 607 ([M+H] <sup>+</sup> , 100); 629 ([M+Na] <sup>+</sup> , 8).
<b>HRMS (ESI)</b>	ber. für C <sub>26</sub> H <sub>39</sub> N <sub>8</sub> O <sub>7</sub> S 607.2662 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 607.2696.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>26</sub> H <sub>38</sub> N <sub>8</sub> O <sub>7</sub> S (606.69).

**c[<sup>D</sup>FVR<sup>Pbf</sup>G<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)] (97 b)**

Nach der AAV 7 wird 0.08 g (0.10 mmol) **96** [829.04] mit 0.12 ml 0.12 mmol) einer 1M SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Lösung in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt. Das chlorierte Peptid wird mit 10.4 µl (0.12 mmol) 3-Mercaptopropionsäure [106.14, d 1.22] und 34.9 µl (0.2 mmol) DIEA [129.24, d 0.74] umgesetzt. Man



erhält nach HPLC-Reinigung **97 b** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 75.1 mg (0.09 mmol) = 86 %.

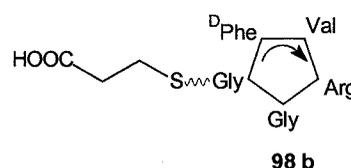
<b>Schmp.:</b>	240 - 250 °C.
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(600.15 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 0.72 (m, 6H), 1.46 (m, 2H), 1.60 (m, 2H), 1.87 (m, 1H), 2.46 (m, 6H), 2.58 (m, 2H), 2.68 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.96 (m, 2H), 3.04 (m, 3H), 3.05 (m, 4H), 3.53 (m, 2H), 3.77 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 4.28 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 5.70 (d, 1H, <i>J</i> = 9.0 Hz), 7.02 (m, 1H), 7.20 (m, 5H), 7.33 (m, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.15 (m, 1H), 8.20 (m, 1H), 8.24 (d, 1H, <i>J</i> = 8.4 Hz), 8.48 (br, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(150.93 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 17.20, 18.11, 19.12, 25.04, 29.56, 31.28, 32.15, 33.90, 34.59, 35.26, 36.89, 37.28, 38.50, 39.99, 40.95, 41.15, 43.35, 44.24, 45.71, 47.57, 49.27, 54.14, 58.03, 86.06, 120.01, 123.72, 126.35, 127.56, 128.02, 128.11, 129.15, 129.35, 130.68, 132.12, 157.14, 162.57, 167.53, 170.56, 171.87, 173.47.

## 12. Asparaginsäure-Modifizierung von c(RGDfV) (43)

<b>MS (ESI)</b>	m/z (%) 873 ([M+H] <sup>+</sup> , 5).
<b>HRMS (ESI)</b>	ber. für C <sub>40</sub> H <sub>57</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> S <sub>2</sub> 873.3639 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 873.3568.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> S <sub>2</sub> (873.05).

### c[<sup>D</sup>FVRG<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)] (98 b)

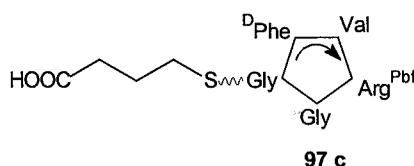
Man erhält **98 b** aus 75.1 mg (0.09 mmol) **97 b** nach der AAV 8 als farblosen Feststoff. Ausbeute: 53.4 mg (0.09 mmol) = 100 %.



<b>Schmp.:</b>	250 - 260 °C.
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(600.15 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 0.69 (d, 3H, <i>J</i> = 6.6 Hz), 0.76 (d, 3H, <i>J</i> = 6.3 Hz), 1.51 (m, 2H), 1.69 (m, 2H), 1.95 (m, 1H), 2.60 (m, 2H), 2.90 (m, 2H), 2.97 (m, 2H), 3.60 (m, 2H), 3.80 (m, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.30 (m, 1H), 4.69 (m, 1H), 5.63/5.81 (2d, 1H, <i>J</i> = 9.2 Hz/ 9.7 Hz), 6.85 (m, 1H), 7.18 (m, 1H), 7.22 (m, 5H), 7.33 (s, 1H), 7.41 (br, 2H), 7.80 (s, 1H), 8.28 (d, 1H, <i>J</i> = 8.5 Hz), 8.51 (d, 1H, <i>J</i> = 10.0 Hz), 8.67 (s, 1H), 8.75 (m, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(150.93 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 18.53, 19.24, 25.50, 26.93, 28.46, 29.28, 29.88, 34.66, 36.43, 52.58, 53.02, 54.91, 55.60, 56.25, 61.34, 68.34, 115.52, 118.74, 126.38, 128.31, 129.27, 157.12, 167.22, 168.70, 169.67, 171.05, 174.25.
<b>MS (ESI)</b>	m/z (%) 621 ([M+H] <sup>+</sup> , 94).
<b>HRMS (ESI)</b>	ber. für C <sub>27</sub> H <sub>41</sub> N <sub>8</sub> O <sub>7</sub> S 621.2819 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 621.2834.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>27</sub> H <sub>40</sub> N <sub>8</sub> O <sub>7</sub> S (620.72).

### c[<sup>D</sup>FVR<sup>Pbf</sup>G<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H)] (97 c)

Nach der AAV 7 wird 0.08 g (0.10 mmol) **96** [829.04] mit 0.12 ml (0.12 mmol) einer 1M SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Lösung in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt. Das chlorierte Peptid wird mit 13.9 µl (0.12 mmol) 4-Mercaptobuttersäure [120.16, d 1.16] und 34.9 µl (0.20 mmol) DIEA [129.24, d 0.74] umgesetzt. Man erhält nach HPLC-Reinigung **97 c** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 71.0 mg (0.08 mmol) = 80 %.

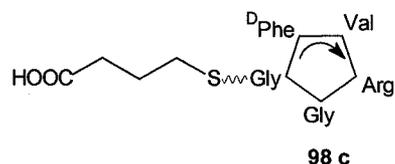


<b>Schmp.:</b>	240 - 250 °C.
----------------	---------------

<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(600.15 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 0.72 (m, 6H), 1.48 (m, 2H), 1.67 (m, 2H), 1.90 (m, 1H), 2.38 (m, 2H), 2.46 (m, 6H), 2.67 (s, 3H), 2.84 (s, 3H), 2.91 (m, 2H), 2.94 (m, 2H), 3.00 (s, 3H), 3.05 (m, 4H), 3.55 (m, 2H), 3.70 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 4.25 (m, 1H), 4.64 (d, 1H, <i>J</i> = 9.0 Hz), 5.72 (d, 1H, <i>J</i> = 9.0 Hz), 7.07 (m, 1H), 7.12 (t, 1H, <i>J</i> = 7.0 Hz), 7.20 (m, 5H), 7.43 (m, 1H), 7.69 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.00 (m, 1H), 8.13 (m, 1H), 8.21 (m, 1H), 8.52 (br, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(150.93 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 16.90, 18.21, 19.38, 25.20, 28.51, 28.74, 29.64, 30.99, 31.89, 32.33, 33.39, 34.48, 35.99, 37.14, 38.17, 40.72, 41.25, 43.12, 44.62, 47.50, 49.16, 53.71, 54.62, 58.55, 85.16, 120.15, 123.39, 126.50, 127.15, 128.15, 128.82, 129.46, 129.55, 136.85, 137.17, 157.04, 162.32, 167.10, 170.54, 171.25, 174.07.
<b>MS (ESI)</b>	<i>m/z</i> (%) 887 ([M+H] <sup>+</sup> , 6).
<b>HRMS (ESI)</b>	ber. für C <sub>41</sub> H <sub>59</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> S <sub>2</sub> 887.3796 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 887.3753.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>41</sub> H <sub>59</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> S <sub>2</sub> (887.07).

**c<sup>[D]FVRG<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H)] (98 c)</sup>**

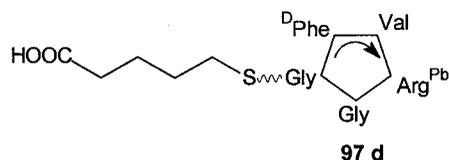
Man erhält **98 c** aus 71.0 mg (0.08 mmol) **97 c** nach der AAV 8 als farblosen Feststoff. Ausbeute: 50.9 mg (0.08 mmol) = 100 %.



<b>Schmp.:</b>	250 - 260 °C.
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(600.15 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 0.68 (d, 3H, <i>J</i> = 6.6 Hz), 0.72 (d, 3H, <i>J</i> = 6.3 Hz), 1.49 (m, 4H), 1.68 (m, 2H), 1.95 (m, 1H), 2.27 (m, 2H), 2.97 (m, 2H), 3.10 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.77 (m, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.27 (m, 1H), 4.62 (d, 1H, <i>J</i> = 8.6 Hz), 5.65/5.80 (2d, 1H, <i>J</i> = 9.2 Hz/ 9.7 Hz), 6.90 (m, 1H), 7.16 (t, 1H, <i>J</i> = 6.6 Hz), 7.22 (m, 5H), 7.31 (s, 1H), 7.55 (br, 2H), 7.61 (s, 1H), 8.29 (d, 1H, <i>J</i> = 9.0 Hz), 8.47 (d, 1H, <i>J</i> = 8.4 Hz), 8.58 (m, 1H), 8.85 (m, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(150.93 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 18.05, 19.05, 19.29, 24.75, 29.01, 29.67, 30.03, 32.74, 33.15, 36.53, 45.43, 52.96, 54.65, 55.74, 56.29, 61.26, 65.97, 118.94, 126.38, 126.36, 128.27, 129.26, 157.12, 169.06, 169.35, 171.24, 171.31, 174.28.
<b>MS (ESI)</b>	<i>m/z</i> (%) 635 ([M+H] <sup>+</sup> , 100); 657 ([M+Na] <sup>+</sup> , 2).
<b>HRMS (ESI)</b>	ber. für C <sub>28</sub> H <sub>43</sub> N <sub>8</sub> O <sub>7</sub> S 635.2976 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 635.2962.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>28</sub> H <sub>42</sub> N <sub>8</sub> O <sub>7</sub> S (635.75).

**c[<sup>D</sup>FVR<sup>Pbf</sup>G<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CO<sub>2</sub>H)] (97 d)**

Nach der AAV 7 wird 0.08 g (0.10 mmol) **96** [829.04] mit 0.12 ml 0.12 mmol) einer 1M SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Lösung in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt. Das chlorierte Peptid wird mit 14.4 µl (0.12 mmol) 4-Mercaptovaleriansäure [134.19, d 1.12] und 34.9 µl (0.20 mmol) DIEA [129.24, d 0.74] umgesetzt. Man erhält nach HPLC-Reinigung **97 d** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 73.9 mg (0.08 mmol) = 82 %.



**Schmp.:** 240 - 250 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600.15 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 0.73 (m, 6H), 1.50 (m, 2H), 1.60 (m, 2H), 1.93 (m, 1H), 2.19 (m, 4H), 2.43 (m, 2H), 2.46 (m, 6H), 2.69 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.91 (m, 2H), 2.96 (m, 2H), 3.00 (s, 3H), 3.05 (m, 2H), 3.66 (m, 2H), 3.75 (m, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.27 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 5.71 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 7.04 (m, 1H), 7.12 (t, 1H, *J* = 7.8 Hz), 7.20 (m, 5H), 7.26 (m, 1H), 7.85 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz), 7.90 (s, 1H), 7.97 (m, 1H), 8.10 (m, 1H), 8.19 (d, 1H, *J* = 6.6 Hz), 8.61 (br, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (150.93 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 18.20, 19.36, 23.49, 23.67, 23.99, 25.23, 26.05, 28.27, 28.69, 29.02, 31.46, 33.03, 33.34, 34.44, 35.98, 37.21, 37.72, 38.35, 40.88, 42.15, 52.46, 52.92, 53.65, 55.38, 57.90, 86.12, 118.08, 120.11, 122.95, 126.53, 128.21, 129.21, 129.32, 129.34, 137.49, 138.24, 153.22, 157.11, 169.51, 171.10, 171.69, 174.53.

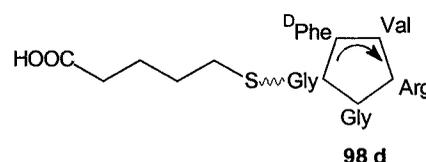
**MS (ESI)** *m/z* (%) 901 ([M+H]<sup>+</sup>, 100); 923 ([M+Na]<sup>+</sup>, 2).

**HRMS (ESI)** ber. für C<sub>42</sub>H<sub>61</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub> 901.3952 ([M+H]<sup>+</sup>), gef. 901.4018.

**Summenformel:** C<sub>42</sub>H<sub>60</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub> (901.10).

**c[<sup>D</sup>FVRG<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CO<sub>2</sub>H)] (98 d)**

Man erhält **98 d** aus 73.9 mg (0.08 mmol) **97 d** nach der AAV 8 als farblosen Feststoff. Ausbeute: 53.2 mg (0.08 mmol) = 100 %.



**Schmp.:** 250 - 260 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600.15 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 0.68 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz), 0.72 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz), 1.50 (m, 4H), 1.69 (m, 2H), 1.95 (m, 1H), 2.21 (m, 4H), 2.55 (m, 1H), 2.97 (m, 2H), 3.06 (m, 2H), 3.66 (m, 2H), 3.80 (m, 1H), 4.17 (m, 2H),

4.23 (m, 1H), 4.68 (m, 1H), 5.65/5.83 (2d, 1H,  $J = 9.1$  Hz/  $9.6$  Hz), 6.95 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.19 (m, 5H), 7.33 (s, 1H), 7.49 (br, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.26 (m, 1H), 8.45 (d, 1H,  $J = 7.2$  Hz), 8.55 (s, 1H), 8.80 (m, 1H).

 **$^{13}\text{C-NMR}$** 

(150.93 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  19.11, 23.56, 24.95, 28.36, 29.34, 30.72, 33.13, 34.56, 35.23, 35.72, 40.55, 41.83, 52.45, 52.69, 55.32, 56.29, 60.95, 75.03, 117.48, 119.41, 126.30, 128.95, 129.19, 158.28, 162.25, 167.34, 170.50, 171.36, 174.20.

**MS (ESI)**

m/z (%) 648 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).

**HRMS (ESI)**

ber. für  $\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{N}_8\text{O}_7\text{S}$  649.3132 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), gef. 649.3148.

**Summenformel:**

$\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_8\text{O}_7\text{S}$  (648.77).



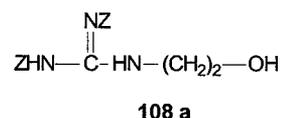
## 13. Arginin-Modifizierung von c(RGDfV) (43)

### 13.1. Synthese der Thiole (110 a-d)

#### *N*-[*N'*,*N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-2-hydroxyethan (108 a)

Man gibt 3.01 ml (1 eq., 50.0 mmol) Ethanolamin (107 a) [61.08, d 1.02]

zu einer Lösung aus 20.7 g (0.9 eq., 45.0 mmol) *N*,*N'*-Bis(benzyloxycarbonyl)-*N''*-trifluormethansulfonyl-guanidin (106) [459.39] und 7.03 ml (1



eq., 50.0 mmol) Triethylamin [101.19, d 0.72] in 200 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und rührt

bei RT 30 Min.<sup>[190]</sup> Es werden 300 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> zugegeben und mit 2M NaHSO<sub>4</sub>-Lösung, ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet mit NaSO<sub>4</sub> und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhält ohne weitere Reinigung 108 a als farbloses Öl. Ausbeute: 17.6 g (47.5 mmol) = 95 %.

**IR** (KBr)  $\tilde{\nu}$  /[cm<sup>-1</sup>] 3412 (br, m), 3333 (s), 3064 (m), 2955 (m), 1729 (s), 1654 (s), 1583 (s), 1498 (w), 1437 (s), 1383 (s), 1302 (s), 1263 (s), 1206(s), 1060 (s), 965 (w), 810 (w), 769 (m), 741 (s), 696 (m), 674 (w), 581 (w).

**<sup>1</sup>H-NMR** (300.13 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS)  $\delta$  3.33 (m, 2H), 3.42 (m, 2H), 5.11 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 7.36 (m, 10H), 8.42 (br, 1H), 11.57 (br, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75.48 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS)  $\delta$  31.02, 36.32, 43.44, 59.18, 66.66, 67.98, 128.18, 128.37, 128.69, 128.85, 128.91, 135.50, 137.21, 153.09, 155.63, 163.37.

**MS (FAB)** *m/z* (%) 372 ([M+H]<sup>+</sup>, 100).

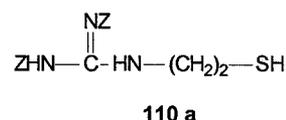
**HRMS (FAB)** ber. für C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> 372.1559 ([M+H]<sup>+</sup>), gef. 372.1540.

**EA** ber. für C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> C 61.45 H 5.70 N 11.31  
gef. C 61.00 H 5.62 N 11.16.

**Summenformel:** C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> (371.39).

#### *N*-[*N'*,*N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-2-mercaptoethan (110 a)

Man gibt zu einer Lösung von 12.4 g (1 eq., 47.4 mmol) Triphenylphosphin [262.30] und 2.44 ml (1 eq., 47.4 mmol) Brom [159.81, d



3.11] in 200 ml abs. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> bei 0 °C 16.7 g (0.95 eq., 45.0 mmol) 108

a [371.39] und rührt 1 h.<sup>[191]</sup> Die Lösung wird mit 10 -proz. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-

Lösung und Wasser gewaschen. Man trocknet über MgSO<sub>4</sub> und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum.

### 13. Arginin-Modifizierung von c(RGDfV) (43)

Das bromierte Rohprodukt **109 a** wird sofort in ca. 200 ml abs. THF gelöst und bei -10 °C mit 11.3 ml (1.2 eq., 54.0 mmol) Hexamethylsilylthian [178.45, d 0.85] und 49.5 ml (1.1 eq., 49.5 mmol) TBAF (1M in THF) versetzt.<sup>[193]</sup> Man rührt die Lösung bei RT 12 h. Die Lösung wird mit ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Petrolether/EtOAc 3:1 als Eluens. Man erhält **110 a** als farbloses Öl. Ausbeute: 1.74 g (4.50 mmol) = 10 %.

<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / [cm <sup>-1</sup> ] 3412 (br, w), 3340 (s), 3093 (w), 2938 (w), 1725 (s), 1645 (s), 1582 (s), 1497 (w), 1459 (s), 1426 (m), 1445 (m), 1383 (s), 1324 (s), 1245 (s), 1202(s), 1142 (s), 1056 (s), 987 (w), 802 (w), 742 (m), 729 (s), 696 (m), 677 (w), 594 (w).
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 3.33 (m, 2H), 3.42 (m, 2H), 5.11 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 7.36 (m, 10H), 8.57 (m, 1H), 11.57 (s, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 31.01, 36.34, 43.84, 66.77, 67.99, 128.11, 128.23, 128.39, 128.52, 128.65, 128.69, 128.83, 128.89, 135.46, 137.17, 152.88, 155.49, 163.28.
<b>MS (FAB)</b>	m/z (%) 388 ([M+H] <sup>+</sup> , 10).
<b>HRMS (FAB)</b>	ber. für C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S 387.1252 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 387.1260.
<b>EA</b>	ber. für C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S    C 58.90    H 5.46    N 10.85 gef.                            C 58.91    H 5.41    N 10.84.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S (387.45).

### N-[N',N''-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-3-hydroxypropan (108 b)

Man gibt 3.80 ml (1 eq., 50.0 mmol) Propanolamin (**107 b**) [75.11, d 0.99] zu einer Lösung aus 20.7 g (0.9 eq., 45.0 mmol) N,N'-Bis(benzyloxycarbonyl)-N''-trifluormethansulfonyl-guanidin (**106**) [459.39] und 7.03 ml (1 eq., 50.0 mmol) Triethylamin [101.19, d 0.72] in 200 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und rührt bei RT 30 Min.<sup>[190]</sup> Es werden 300 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> zugegeben und mit 2M NaHSO<sub>4</sub>-Lösung, ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet mit NaSO<sub>4</sub> und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhält ohne weitere Reinigung **108 b** als farbloses Öl. Ausbeute: 18.5 g (48.0 mmol) = 96 %.

<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 1.61 (m, 2H), 3.60 (m, 4H), 5.11 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 7.36 (m, 10H), 8.52 (br, 1H), 11.55 (br, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 31.09, 31.67, 36.10, 58.94, 66.65, 67.90,

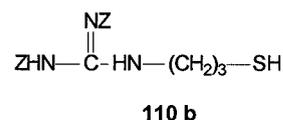
128.14, 128.33, 128.65, 128.67, 128.81, 128.89, 135.52, 137.25, 152.95, 155.40, 162.64, 163.37.

<b>MS (FAB)</b>	m/z (%) 386 ( $[M+H]^+$ , 100).		
<b>HRMS (FAB)</b>	ber. für $C_{20}H_{24}N_3O_5$ 386.1716 ( $[M+H]^+$ ), gef. 386.1685.		
<b>EA</b>	ber. für $C_{20}H_{23}N_3O_5$	C 62.33	H 6.01 N 10.90
	gef.	C 61.92	H 6.29 N 10.54.
<b>Summenformel:</b>	$C_{20}H_{23}N_3O_5$ (385.41).		

### ***N*-[*N'*,*N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-3-mercaptopropan (110 b)**

Man gibt zu einer Lösung von 12.4 g (1 eq., 47.4 mmol)

Triphenylphosphan [262.30] und 2.44 ml (1 eq., 47.4 mmol) Brom



[159.81, d 3.11] in 200 ml abs.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  bei 0 °C 17.3 g (0.95 eq., 45.0 mmol) **108 b** [385.41] und rührt 1 h.<sup>[191]</sup> Die Lösung wird mit 10 -proz.

$\text{K}_2\text{CO}_3$ -Lösung und Wasser gewaschen. Man trocknet über  $\text{MgSO}_4$  und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum.

Das bromierte Rohprodukt **109 b** wird sofort in ca. 200 ml abs. THF gelöst und bei -10 °C mit 11.3 ml (1.2 eq., 54.0 mmol) Hexamethylsilylthian [178.45, d 0.85] und 49.5 ml (1.1 eq., 49.5 mmol) TBAF (1M in THF) versetzt.<sup>[193]</sup> Man rührt die Lösung bei RT 12 h. Die Lösung wird mit ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Petrolether/EtOAc 3:1 als Eluens. Man erhält **110 b** als farbloses Öl. Ausbeute: 2.17 g (5.40 mmol) = 12 %.

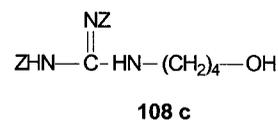
**$^1\text{H-NMR}$**  (300.13 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ , TMS)  $\delta$  1.75 (m, 2H), 2.44 (m, 2H), 3.31 (m, 2H), 5.10 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 7.36 (m, 10H), 8.40 (m, 1H), 11.56 (s, 1H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75.48 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ , TMS)  $\delta$  30.19, 33.94, 36.20, 67.62, 68.60, 127.90, 128.23, 128.39, 128.73, 128.98, 129.21, 129.67, 129.81, 137.23, 137.97, 138.71, 158.85, 162.82.

<b>MS (EI)</b>	m/z (%) 401 ( $[M]^+$ , 3).		
<b>HRMS (EI)</b>	ber. für $C_{20}H_{23}N_3O_4S$ 401.1409 ( $[M]^+$ ), gef. 401.1420.		
<b>EA</b>	ber. für $C_{20}H_{23}N_3O_4S$	C 59.83	H 5.77 N 10.47
	gef.	C 59.99	H 5.77 N 10.04.
<b>Summenformel:</b>	$C_{20}H_{23}N_3O_4S$ (401.48).		

**N-[N',N''-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-4-hydroxybutan (108 c)**

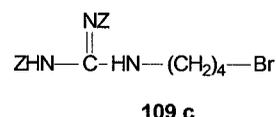
Man gibt 4.61 ml (1 eq., 50.0 mmol) Butanolamin (**107 c**) [89.14, d 0.97] zu einer Lösung aus 20.7 g (0.9 eq., 45.0 mmol) N,N'-Bis(benzyloxycarbonyl)-N''-trifluormethansulfonyl-guanidin (**106**) [459.39] und 7.03 ml (1 eq., 50.0 mmol) Triethylamin [101.19, d 0.72] in 200 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und rührt bei RT 30 Min.<sup>[190]</sup> Es werden 300 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> zugegeben und mit 2M NaHSO<sub>4</sub>-Lösung, ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet mit NaSO<sub>4</sub> und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhält ohne weitere Reinigung **108 c** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 18.4 g (46.0 mmol) = 92 %.



<b>Schmelzpunkt</b>	75 °C
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 1.44 (m, 4H), 3.32 (m, 4H), 5.01 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 7.36 (m, 10H), 8.52 (br, 1H), 11.57 (br, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 25.61, 29.98, 60.70, 66.67, 67.93, 128.36, 128.68, 128.90, 135.51, 137.26, 153.05, 155.40, 163.41.
<b>MS (FAB)</b>	m/z (%) 400 ([M+H] <sup>+</sup> , 100).
<b>HRMS (FAB)</b>	ber. für C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> 400.1872 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 400.1878.
<b>EA</b>	ber. für C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> C 63.15 H 6.31 N 10.52 gef. C 62.92 H 6.32 N 10.42.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> (399.44).

**N-[N',N''-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-4-brombutan (109 c)**

Man gibt zu einer Lösung von 12.4 g (1 eq., 47.4 mmol) Triphenylphosphin [262.30] und 2.44 ml (1 eq., 47.4 mmol) Brom [159.81, d 3.11] in 200 ml abs. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> bei 0 °C 18.0 g (0.95 eq., 45.0 mmol) **108 c** [399.44] und rührt 1 h.<sup>[191]</sup> Die Lösung wird mit 10 -proz. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser gewaschen. Man trocknet über MgSO<sub>4</sub> und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Ausbeute: 13.5 g (29.3 mmol) = 65 % (farbloses Öl).

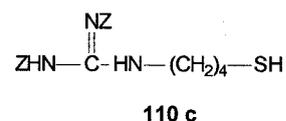


<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 1.74 (m, 2H), 1.91 (m, 2H), 3.34 (m, 4H), 5.12 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 7.36 (m, 10H), 8.32 (br, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 28.08, 30.25, 33.32, 40.56, 67.57, 68.60, 128.49, 128.79, 128.84, 129.10, 129.20, 134.97, 137.15, 154.29, 156.45, 164.08.
<b>MS (FAB)</b>	m/z (%) 462 ([M+H] <sup>+</sup> , 3).

**Summenformel**  $C_{21}H_{24}BrN_3O_4$  (462.34).

***N*-[*N'*,*N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-4-mercaptobutan (110 c)**

Das Bromid **109 c** wird sofort in ca. 200 ml abs. THF gelöst und bei -10 °C mit 7.38 ml (1.2 eq., 35.2 mmol) Hexamethylsilylthian [178.45, d 0.85] und 32.2 ml (1.1 eq., 32.2 mmol) TBAF (1M in THF) versetzt.<sup>[193]</sup>



Man rührt die Lösung bei RT 12 h. Die Lösung wird mit ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Petrolether/EtOAc 3:1 als Eluens. Man erhält **110 c** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 11.6 g (27.8 mmol) = 95 %.

**Schmelzpunkt** 69 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (300.13 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , TMS)  $\delta$  1.53 (m, 4H), 3.32 (m, 4H), 5.01 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 7.36 (m, 10H), 8.42 (br, 1H), 11.58 (br, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75.48 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , TMS)  $\delta$  24.57, 28.07, 31.44, 40.91, 67.54, 68.56, 128.50, 128.78, 128.82, 129.09, 135.00, 137.18, 154.30, 156.39, 164.10.

**MS (FAB)**  $m/z$  (%) 416 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).

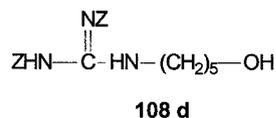
**HRMS (FAB)** ber. für  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  416.1644 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), gef. 416.1672.

**EA** ber. für  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  C 60.70 H 6.06 N 10.11  
gef. C 60.44 H 6.06 N 9.99.

**Summenformel**  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  (415.50).

***N*-[*N'*,*N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-4-hydroxypentan (108 d)**

Man gibt 5.16 ml (1 eq., 50.0 mmol) Pentanolamin (**107 d**) [103.16, d 1.00] zu einer Lösung aus 20.7 g (0.9 eq., 45.0 mmol) *N,N'*-Bis(benzyloxycarbonyl)-*N''*-trifluormethansulfonyl-guanidin (**106**) [459.39] und 7.03 ml (1 eq., 50.0 mmol) Triethylamin [101.19, d 0.72] in 200 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und



rührt bei RT 30 Min.<sup>[190]</sup> Es werden 300 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  zugegeben und mit 2M  $\text{NaHSO}_4$ -Lösung, ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen. Man trocknet mit  $\text{NaSO}_4$  und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhält ohne weitere Reinigung **108 d** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 19.9 g (48.0 mmol) = 96 %.

**Schmelzpunkt** 87 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (300.13 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , TMS)  $\delta$  1.18 (q, 2H,  $J = 6.3$  Hz), 1.29 (q, 2H,  $J =$

### 13. Arginin-Modifizierung von *c*(RGDFV) (43)

6.2 Hz), 1.40 (t, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 3.22 (q, 2H,  $J = 6.1$  Hz), 3.30 (t, 2H,  $J = 6.3$  Hz), 4.95 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 7.36 (m, 10H), 8.31 (br, 1H), 11.57 (br, 1H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  23.18, 28.71, 32.48, 60.89, 66.68, 67.94, 128.33, 128.68, 128.89, 135.51, 137.27, 153.05, 155.40, 163.40.

**MS (FAB)**  $m/z$  (%) 414 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).

**HRMS (FAB)** ber. für  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_5$  414.2029 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), gef. 414.2020.

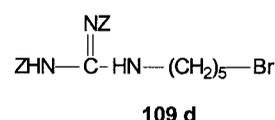
**EA** ber. für  $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5$  C 63.41 H 6.58 N 10.16

gef. C 63.65 H 6.45 N 10.16.

**Summenformel**  $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5$  (413.47).

### *N*-[*N'*,*N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-4-brompentan (109 d)

Man gibt zu einer Lösung von 12.4 g (1 eq., 47.4 mmol) Triphenylphosphin [262.30] und 2.44 ml (1 eq., 47.4 mmol) Brom [159.81, d 3.11] in 200 ml abs.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  bei 0 °C 18.6 g (0.95 eq., 45.0 mmol) **108 d**



[413.47] und rührt 1 h.<sup>[191]</sup> Die Lösung wird mit 10 -proz.  $\text{K}_2\text{CO}_3$ -Lösung

und Wasser gewaschen. Man trocknet über  $\text{MgSO}_4$  und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum.

Ausbeute: 15.0 g (31.5 mmol) = 70 % (farbloses Öl).

**$^1\text{H-NMR}$**  (300.13 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  1.49 (q, 2H,  $J = 6.5$  Hz), 1.60 (q, 2H,  $J = 6.1$  Hz), 1.88 (t, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 3.39 (q, 2H,  $J = 6.7$  Hz), 3.41 (t, 2H,  $J = 5.1$  Hz), 5.12 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 7.36 (m, 10H), 8.33 (br, 1H).

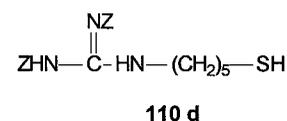
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  25.73, 28.51, 32.60, 33.73, 41.26, 67.59, 68.59, 128.31, 128.51, 128.79, 128.83, 128.92, 129.09, 129.19, 129.40, 134.98, 137.14, 154.29, 156.35, 163.98.

**MS (FAB)**  $m/z$  (%) 476 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 4).

**Summenformel**  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{BrN}_3\text{O}_4$  (476.37).

### *N*-[*N'*,*N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-4-mercaptopentan (110 d)

Das Bromid **109 d** wird sofort in ca. 200 ml abs. THF gelöst und bei -10 °C mit 7.94 ml (1.2 eq., 37.8 mmol) Hexamethylsilylthian [178.45, d 0.85] und 34.7 ml (1.1 eq., 34.7 mmol) TBAF (1M in THF)



versetzt.<sup>[193]</sup> Man rührt die Lösung bei RT 12 h. Die Lösung wird mit

ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt

durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Petrolether/EtOAc 3:1 als Eluens. Man erhält **110 d** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 12.8 g (29.9 mmol) = 95 %.

<b>Schmelzpunkt</b>	55 °C
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 1.49 (q, 2H, <i>J</i> = 6.5 Hz), 1.60 (q, 2H, <i>J</i> = 6.1 Hz), 1.88 (t, 2H, <i>J</i> = 7.1 Hz), 3.39 (q, 2H, <i>J</i> = 6.7 Hz), 3.44 (t, 2H, <i>J</i> = 5.4 Hz), 5.12 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 7.36 (m, 10H), 8.30 (br, 1H), 11.58 (br, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 24.77, 25.74, 25.89, 28.52, 28.81, 32.60, 33.72, 33.90, 41.21, 41.33, 67.54, 68.55, 128.29, 128.51, 128.78, 128.82, 129.09, 129.18, 129.38, 129.80, 135.00, 137.18, 154.30, 156.35, 164.08.
<b>MS (FAB)</b>	<i>m/z</i> (%) 430 ([M+H] <sup>+</sup> , 19).
<b>HRMS (FAB)</b>	ber. für C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S 430.1800 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 430.1773.
<b>EA</b>	ber. für C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S    C 61.52    H 6.34    N 9.78 gef.                            C 61.34    H 6.34    N 9.58.
<b>Summenformel</b>	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S (429.53).

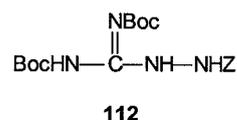
## 13.2. Synthese der Amine (113, 119, 122)

### *N*-[*N*'',*N*''']-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)-carboxamidino]-*N*'-[benzyloxycarbonyl]hydrazin (**112**)

Man gibt 1.66 g (1 eq., 10.0 mmol) *N*'-Benzyloxycarbonylhydrazin (**111**)

[166.17] zu einer Lösung aus 3.52 g (0.9 eq., 9.00 mmol) *N,N*'-Bis(*tert*-butyloxy-carbonyl)-*N*''-trifluormethansulfonyl-guanidin (**104**) [391.36] und 1.41 ml (1 eq., 10.0 mmol) Triethylamin [101.19, *d* 0.72] in 40 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und rührt bei

RT 30 Min.<sup>[190]</sup> Es werden 60.0 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> zugegeben und mit 2M NaHSO<sub>4</sub>-Lösung, ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet mit NaSO<sub>4</sub> und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhält ohne weitere Reinigung **112** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 3.68 g (9.00 mmol) = 90 %.

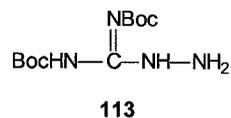


<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / [cm <sup>-1</sup> ] 3320 (br, m), 3044 (m), 2981 (m), 2934 (w), 1764 (s), 1710 (s), 1648 (s), 1538 (m), 1441 (m), 1392 (w), 1369 (m), 1317 (m), 1251 (m), 1157 (m), 1106 (m), 1057 (m), 880 (w), 808 (w), 770 (w), 753 (w), 697 (w), 664 (w), 611 (m), 582 (w).
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 1.41 (s, 9H), 1.45 (s, 9H), 5.11 (s, 2H), 7.37 (m, 5H), 9.01 (br, 1H), 9.45 (br, 1H), 11.03 (br, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 28.2, 66.14, 79.65, 80.41, 83.94, 117.83,

	122.01, 128.25, 128.73, 137.18, 151.24, 152.91, 153.82.
<b>MS (ESI)</b>	m/z (%) 409 ([M+H] <sup>+</sup> , 100), 431 ([M+Na] <sup>+</sup> , 9).
<b>HRMS (ESI)</b>	ber. für C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> Na 431.1906 ([M+Na] <sup>+</sup> ), gef. 431.1890.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> (408.45).

***N*-[*N*'',*N*''']-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)-carboxamidino]hydrazin (113)**

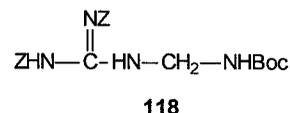
Man löst 3.68 g (9.00 mmol) **112** in 50.0 ml abs. DMF und gibt eine Spatelspitze Pd/C zu. Die Lösung wird 12 h unter H<sub>2</sub>-Atmosphäre gerührt und über Celite abfiltriert. Das Lösungsmittel wird über Vakuum entfernt und man erhält einen farblosen Feststoff. Ausbeute: 2.44 g (8.90 mmol) = 99 %.



<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / [cm <sup>-1</sup> ] 3314 (br, m), 2981 (m), 2934 (w), 1764 (s), 1710 (s), 1648 (s), 1538 (m), 1441 (m), 1392 (w), 1369 (m), 1317 (m), 1251 (m), 1157 (m), 1106 (m), 1057 (m), 880 (w), 808 (w), 770 (w), 664 (w), 611 (m).
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 1.46 (s, 18H), 8.44 (br, 1H), 8.93 (br, 1H), 11.89 (br, 2H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 27.9, 80.31, 83.94, 152.71, 153.22, 156.82.
<b>MS (ESI)</b>	m/z (%) 274 ([M+H] <sup>+</sup> , 100).
<b>HRMS (ESI)</b>	ber. für C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> 275.1719 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 275.1737.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> (274.32).

***N*-[*N*'',*N*''']-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-*N*'-[*tert*-butyloxycarbonyl]diaminomethan (118)**

Man gibt 1.83 g (1 eq., 10.0 mmol) *N*'-[*tert*-butyloxycarbonyl]diaminomethan-Hydrochlorid (**117**) [182.65] zu einer Lösung aus 4.13 g (0.9 eq., 9.00 mmol) *N,N'*-Bis(benzyloxycarbonyl)-*N*''-trifluormethansulfonylguanidin (**106**) [459.39] und 1.41 ml (1 eq., 10.0 mmol) Triethylamin [101.19, *d* 0.72] in 40 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und rührt bei RT 30 Min.<sup>[190]</sup> Es werden 60.0 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> zugegeben und mit 2M NaHSO<sub>4</sub>-Lösung, ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet mit NaSO<sub>4</sub> und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhält ohne weitere Reinigung **118** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 3.20 g (7.00 mmol) = 70 %.

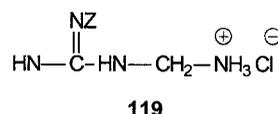


<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / [cm <sup>-1</sup> ] 3447 (s), 3333 (m), 3261 (m), 3206 (m), 3044 (m), 2981 (m), 1725 (s), 1682 (s), 1608 (s), 1479 (m), 1493 (s), 1332 (w), 1253 (m),
-----------	---

	1157 (m), 1052 (m), 955 (w), 847 (w), 790 (m), 753 (w), 699 (w), 609 (w), 564 (m).
<sup>1</sup> H-NMR	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 1.39 (s, 9H), 4.58 (br, 2H), 5.06 (s, 2H), 5.22 (s, 2H), 7.35 (m, 10H), 8.95 (br, 2H), 11.54 (br, 1H).
<sup>13</sup> C-NMR	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 28.45, 47.53, 60.12, 66.95, 68.15, 79.12, 113.54, 117.82, 122.00, 126.36, 127.82, 128.21, 128.40, 128.52, 128.76, 128.92, 135.47, 137.12, 153.02, 156.04, 156.72.
MS (EI)	m/z (%) 456 ([M] <sup>+</sup> , 4).
HRMS (EI)	ber. für C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> 456.2009 ([M] <sup>+</sup> ), gef. 456.2037.
Summenformel:	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> (456.49).

#### *N*-[*N*'',*N*''']-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]diaminomethan Hydrochlorid (119)

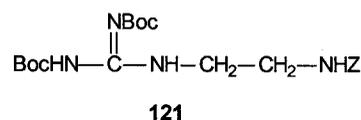
Man löst 3.20 g (7.00 mmol) **118** in 50.0 ml 4.4 N HCl/Dioxan und rührt 1h. Das Lösungsmittel wird über Vakuum entfernt und man erhält einen farblosen Feststoff. Ausbeute: 2.06 g (6.30 mmol) = 90 %.



IR	(KBr) $\tilde{\nu}$ / [cm <sup>-1</sup> ] 3410 (br, s), 3044 (m), 1768 (s), 1690 (m), 1595 (s), 1498 (w), 1455 (w), 1404 (m), 1205 (s), 1019 (w), 972 (w), 909 (w), 753 (m), 697 (w), 582 (w).
<sup>1</sup> H-NMR	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 4.82 (s, 2H), 5.06 (s, 2H), 5.22 (s, 2H), 7.35 (m, 10H), 8.38 (br, 1H), 8.55 (br, 1H), 9.53 (br, 3H).
<sup>13</sup> C-NMR	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) δ 67.65, 70.82, 79.12, 128.21, 128.40, 128.52, 128.76, 128.92, 135.10, 154.24, 155.21.
MS (ESI)	m/z (%) 328 ([M-CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> +H] <sup>+</sup> , 100).
HRMS (ESI)	ber. für C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 328.1297 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 328.1324.
Summenformel:	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (327.33).

#### *N*-[*N*'',*N*''']-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)-carboxamidino]-*N*'-[benzyloxycarbonyl]diaminoethan (121)

Man gibt 1.94 g (1 eq., 10.0 mmol) *N*'-Benzyloxycarbonyldiaminoethan (**120**) [194.23] zu einer Lösung aus 3.52 g (0.9 eq., 9.00 mmol) *N,N'*-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)-*N*''-trifluormethansulfonyl-guanidin (**104**) [391.36] und 1.41 ml (1 eq.,



10 mmol) Triethylamin [101.19, d 0.72] in 40.0 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und rührt bei RT 30 Min.<sup>[190]</sup> Es werden

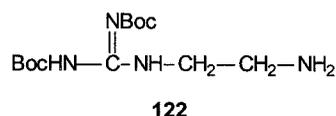
### 13. Arginin-Modifizierung von c(RGDfV) (43)

60.0 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> zugegeben und mit 2M NaHSO<sub>4</sub>-Lösung, ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Man trocknet mit NaSO<sub>4</sub> und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man erhält ohne weitere Reinigung **121** als farblosen Feststoff. Ausbeute: 4.15 g (9.50 mmol) = 95 %.

<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / [cm <sup>-1</sup> ] 3447 (s), 3333 (m), 3261 (m), 3206 (m), 3045 (m), 2981 (m), 1725 (s), 1682 (s), 1608 (s), 1479 (m), 1493 (s), 1332 (w), 1253 (m), 1157 (m), 1052 (m), 955 (w), 847 (w), 790 (m), 750 (w), 698 (w), 609 (w), 564 (m).
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 1.39 (s, 9H), 1.47 (s, 9H), 3.13 (m, 2H), 3.41 (m, 2H), 5.01 (s, 2H), 7.34 (m, 5H), 8.38 (br, 2H), 11.50 (br, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 27.52, 28.12, 41.56, 65.90, 78.33, 82.82, 127.66, 127.55, 128.21, 137.01, 151.87, 155.51, 156.25, 163.02.
<b>MS (EI)</b>	m/z (%) 436 ([M] <sup>+</sup> , 10).
<b>HRMS (EI)</b>	ber. für C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> 436.2322 ([M] <sup>+</sup> ), gef. 436.2350.
<b>EA</b>	ber. für C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> C 57.78 H 7.39 N 12.84 gef. C 57.55 H 7.35 N 12.78.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> (436.50).

### *N*-[*N''*,*N'''*-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)-carboxamidino]diaminoethan (**122**)

Man löst 4.15 g (9.50 mmol) **121** in 50.0 ml abs. DMF und gibt eine Spatelspitze Pd/C zu. Die Lösung wird 12 h unter H<sub>2</sub>-Atmosphäre gerührt und über Celite abfiltriert. Das Lösungsmittel wird über Vakuum entfernt und man erhält einen farblosen Feststoff. Ausbeute: 2.84 g (9.40 mmol) = 99 %.

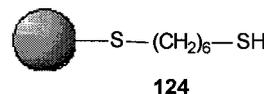


<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / [cm <sup>-1</sup> ] 3447 (s), 3333 (m), 3261 (m), 3206 (m), 2981 (m), 1725 (s), 1682 (s), 1608 (s), 1479 (m), 1493 (s), 1332 (w), 1253 (m), 1157 (m), 1052 (m), 955 (w), 847 (w), 790 (m), 609 (w), 564 (m).
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(300.13 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 1.40 (m, 18H), 3.05 (m, 2H), 3.38 (m, 2H), 4.36 (br, 1H), 6.01 (br, 2H), 8.43 (br, 1H), 11.21 (br, 1H).
<b><sup>13</sup>C-NMR</b>	(75.48 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , TMS) $\delta$ 28.42, 40.08, 41.56, 78.30, 79.63, 83.92, 153.11, 156.91, 162.90, 165.52.
<b>MS (FAB)</b>	m/z (%) 303 ([M+H] <sup>+</sup> , 43).
<b>HRMS (FAB)</b>	ber. für C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> 303.2032 ([M+H] <sup>+</sup> ), gef. 303.2077.
<b>Summenformel:</b>	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> (302.37).

### 13.3. Synthese von $c[\text{GD}^{\text{D}}\text{FV}^{\text{D,L}}\text{G}(\text{S}(\text{CH}_2)_m\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2)]$ (150 a-d) mit dem Thio-Harz (124)

#### Synthese des (Thiohexyl)thiomethylpolystyrol-Harzes (124)

Merrifield-Harz (123) (10.0 g, 1.39 mmol/g Beladung) wird unter Argon in abs. Toluol suspendiert und mit 20.9 ml (10 eq, 139 mmol) 1,6-Hexandithiol [150.30, d 1.00] und 4.23 ml (2 eq, 27.8 mmol) DBU [152.24, d 1.02] versetzt. Nach Schütteln über 12 h wird das Harz auf einer Glasfritte gesammelt, mit DMF (4 x 15 ml) und EtOH (3 x 15 ml) gewaschen und im Vakuum getrocknet. IR-Spektren (KBr) zeigen das vollständige Verschwinden der Banden bei 872 und 1118  $\text{cm}^{-1}$ . Elementaranalyse berechnet für vollständige Monosubstitution: S, 7.70. Gefunden: S, 7.87 (1.22 mmol/g Beladung).



#### Beladen des Thio-Harzes mit BocGly(SEt)ONB (125 b)

9.04 g (2 eq, 24.4 mmol) *N-tert*-Butyloxycarbonyl-DL- $\alpha$ -(ethylthio)glycin-4-nitrobenzylester (125 b) [370.42] wird in abs.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  unter Argon gelöst, 18.3 ml (1.5 eq, 18.3 mmol) 1M  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wird bei 0 °C zugegeben und die Mischung bei 0 °C 1 h gerührt. Alle flüchtigen Bestandteile werden in eine Kühlfalle destilliert, der Rückstand im HV getrocknet und in abs. THF aufgenommen. 5.32 ml (2.5 eq., 30.5 mmol) DIEA [129.24, d 0.74] und 10 g Thio-Harz (124) (1.0 eq, 12.2 mmol) werden zugegeben und die resultierende Suspension 12 h geschüttelt. Das Harz 126 b wird auf einer Glasfritte gesammelt, mit DMF (3 x 15 ml/g) und MeOH (3 x 15 ml/g) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Man erhält das beladene blaßgelbe Harz 126 b mit 0.80 – 1.20 mmol/g Beladung.

#### N-terminales Entschützen

Die Boc-Schutzgruppe wird mit 4.4 M HCl in Dioxan (1 x 1 min, 1 x 40 min, 15 ml/g) abgespalten. Anschließend wäscht man das Harz 144 mit Dioxan,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2x), *i*-PrOH,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2x), *i*-PrOH,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x) und DMF (jew. 15 ml/g). Alle anderen *N*-terminalen Boc-Gruppen, die in der Synthese vorkommen werden mit 25 % TFA in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 x 1 min, 1 x 30 min, 15 ml/g) entfernt.

#### Aminosäurekupplung am Harz 144

Die Kupplung von 13.0 g (60.0 mmol = 1.20 mmol/g Harz x 5 eq.) BocValOH [217.26], 15.8 g (60.0 mmol) Boc<sup>D</sup>PheOH [265.30], 24.7 g (60.0 mmol) FmocAsp<sup>O<sup>t</sup>Bu</sup>OH [411.45] und 17.8 g (60.0 mmol) FmocGlyOH [297.31] erfolgt unter Einsatz von jeweils 18.9 g (58.8 mmol) TBTU [321.08], 8.11 g (60.0 mmol) HOBt [135.13] und 20.9 ml (120 mmol) DIEA [129.24, 0.74] nach AAV 5.

### Spaltung des 4-Nitrobenzylesters

Das Peptid-4-nitrobenzylester-Harz **146** wird mit 1 M SnCl<sub>2</sub> x 2 H<sub>2</sub>O in DMF (15 ml/g) versetzt. Man schüttelt 4.5 h, wobei sich Lösung und Harzpartikel zitronengelb färben. Waschen mit DMF (3x), EtOH (2x) und DMF (3x) (jew. 15 ml/g) entfernt die Färbung, die bei Luftkontakt wiederkehrt. Die IR-Spektren (KBr) zeigen das Verschwinden der Banden bei 1740, 1520 und 1345 cm<sup>-1</sup> und eine Intensivierung der Bande bei 1717 cm<sup>-1</sup>.

### Kondensation zum harzgebundenen Cyclopeptid **148**

Der lineare Vorläufer **146** wird nacheinander C- und N-terminal entschützt. Die Reihenfolge des Abspaltens hat keinen Einfluß auf Reinheit und Ausbeute der später abgespaltenen Produkte. Cyclisiert wird durch Zugabe von 19.1 g (3 eq., 36.6 mmol) PyBOP [520.39], 4.95 g (3 eq., 36.6 mmol) HOBt [135.13] und 11.7 ml (5.5 eq., 67.1 mmol) DIEA [129.24, d 0.74] in DMF (15 ml/g). Nach 12 h Schütteln ist der Kaiser-Test negativ und die Cyclisierung demnach komplett. Das Harz **148** wird mit DMF, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH 1:1 (2x), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x) und MeOH (2x) (jew. 15 ml/g) gewaschen und im Vakuum getrocknet.

### Vorschrift für die aktivierende Abspaltung mit SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

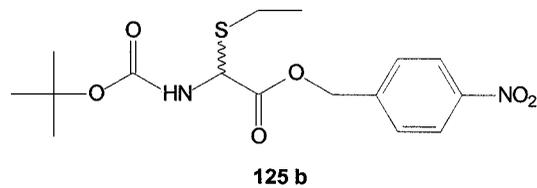
Für die vier geplanten Umsetzungen wird jeweils ein Viertel des Harzes **148** unter Argon in einem Schlenk-Rohr in abs. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> suspendiert, auf 0° C gekühlt und mit 6.00 ml (2eq., 6.00 mmol) 1 M SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt. Die Mischung wird 1 h bei 0 °C gerührt und dann alle flüchtigen Bestandteile in eine Kühlfalle destilliert.

### Vorschrift für die Addition von Nucleophilen an das α-Chlorglycyl-Peptid

Der aus der aktivierenden Abspaltung resultierende Rückstand wird in abs. THF, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> oder DMF suspendiert und durch eine Umkehrfritte unter Argon filtriert. Die α-Chlorglycyl-Peptid enthaltende Lösung wird mit 2.09 ml (4 eq., 12.0 mmol) DIEA [129.24, d 0.74] versetzt, 5 min bei Raumtemperatur gerührt und dann 1.2 eq. des gewünschten Nucleophils zugegeben. Man läßt 12 h Rühren und entfernt das LM im Vakuum. Man erhält das rohe modifizierte Peptid, das durch präparative HPLC gereinigt wird.

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-D,L- $\alpha$ -(ethylthio)glycin-4-nitrobenzylester (125 b)**

4.99 g (20.0 mmol) *N*-tert-Butyloxycarbonyl-D,L- $\alpha$ -(ethylthio)glycin [235.29] (aus **68** nach AAV 3 hergestellt) wird in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml/mmol) gelöst und mit 3.07 g (1 eq., 20.0 mmol) 4-Nitrobenzylalkohol [153.14], 6.42 g (1 eq., 20.0 mmol) TBTU [321.08] und 3.43 ml (1 eq., 20.0

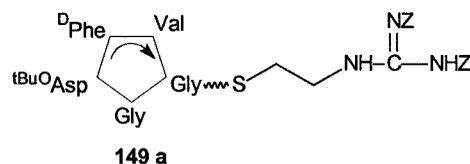


mmol) DIEA [129.24, d 0.74] versetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur werden weitere 3.21 g (0.5 eq., 10.0 mmol) TBTU zugegeben und noch 12 h gerührt. Die organische Phase wird sukzessive mit 10-proz. wässriger Citronensäure-Lösung, mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, mit Wasser und mit gesättigter wässriger Kochsalz-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Man erhält den rohen Ester, der durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Petrolether/EtOAc 3:1 als Eluens gereinigt wird. Man erhält **125 b** als blaßgelben Feststoff. Ausbeute: 5.63 g (15.2 mmol) = 76%.

<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	(300 MHz, CDCl <sub>3</sub> , TMS) $\delta$ 1.28 (dd, 3H, <i>J</i> = 7.5 Hz), 1.46 (s, 9H), 2.62-2.75 (m, 2H), 5.25-5.40 (m, 4H), 7.55 (d, 2H, <i>J</i> = 8.7 Hz), 8.24 (d, 2H, <i>J</i> = 8.7 Hz).
<b><sup>13</sup>C NMR</b>	(75.5 MHz, CDCl <sub>3</sub> , TMS) $\delta$ 14.60, 25.12, 28.25, 55.19, 65.88, 80.93, 123.87, 128.33, 142.30, 147.89, 154.13, 168.92.
<b>MS (ESI)</b>	<i>m/z</i> (%) 409 ([M+K] <sup>+</sup> , 100), 393 ([M+Na] <sup>+</sup> , 60).
<b>EA</b>	ber. für C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S    C 51.88    H 5.99    N 7.56    S 8.66. gef.                            C 51.87    H 6.09    N 7.50    S 8.78.
<b>Summenformel</b>	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S (370.42).

**c[GD<sup>OTBu</sup>D<sup>D</sup>FV<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHC(NZ)NHZ] (149 a)**

Man setzt 25 % des an 10.0 g Thio-Harz (**124**) synthetisierten  $\alpha$ -Chlorglycyl-Peptids mit 1.39 g (1.2 eq., 3.60 mmol) *N*-[*N'*,*N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carbox-amidino]-1-amino-2-mercaptoethan (**110 a**) [387.45] und 2.09 ml (4 eq., 12.0 mmol) DIEA

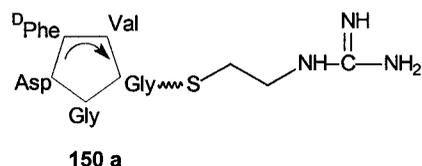


[129.24, d 0.74] um (s.o.) und erhält nach HPLC-Reinigung **149 a** als farblosen Feststoff. Gesamtausbeute: 0.69 g (0.75 mmol) = 25 %.

<b>Schmp.:</b>	210 - 220 °C.
<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / $[\text{cm}^{-1}]$ 3405 (br, s), 3340 (s), 3093 (m), 2955 (m), 1725 (s), 1685 (s), 1582 (s), 1517 (s), 1459 (s), 1426 (m), 1445 (m), 1380 (s), 1324 (s), 1255 (s), 1202(s), 1142 (s), 1056 (s), 990 (w), 812 (w), 737 (m), 701 (m), 677 (w), 594 (w).
<b><math>^1\text{H-NMR}</math></b>	(300.13 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 0.70-0.80 (m, 6H, Val-CH(CH $_3$ ) $_2$ ), 1.33 (s, 9H, AspOtBu), 2.01 (m, 1H, Val-CH(CH $_3$ ) $_2$ ), 2.67 (m, 2H, Asp-CH $_2$ ), 3.26 (m, 1H, Phe-CH $_2$ ), 3.33 (m, 2H, Guanidin-S(CH $_2$ ) $_2$ ), 3.42 (m, 2H, Guanidin-S(CH $_2$ ) $_2$ ), 3.84 (m, 1H, Val- $\alpha$ -H), 3.98 (m, 1H, Gly- $\alpha$ -H), 4.50 (m, 1H, Asp- $\alpha$ -H), 4.56 (m, 1H, Phe- $\alpha$ -H), 5.11 (s, 2H, Z-CH $_2$ ), 5.19 (s, 2H, Z-CH $_2$ ), 5.45/5.22 (2d, 1H, $J$ = 12.0 Hz/10.5 Hz, Gly(SR)- $\alpha$ -H), 7.20 (m, 5H, Phe-aromat. H), 7.36 (m, 10H, Z-aromat. H), 7.70 (d, 1H, $J$ = 10.2 Hz, Phe-NH), 7.87 (d, 1H, $J$ = 10.2 Hz, Asp-NH), 8.23 (d, 1H, $J$ = 10.2 Hz, Val-NH), 8.57 (m, 1H, Guanidin-NH), 8.60 (m, 1H, Gly-NH), 8.77 (d, 1H, $J$ = 9.0 Hz, Gly(SR)-NH), 11.57 (s, 1H, Guanidin-NH).
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math></b>	(75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 18.05, 21.46, 23.50, 26.22, 26.31, 31.01, 36.34, 43.84, 46.23, 46.26, 52.96, 54.65, 55.74, 56.29, 66.77, 67.99, 68.06, 69.41, 124.47, 128.11, 128.23, 128.35, 128.56, 128.65, 128.73, 128.83, 128.84, 128.89, 128.97, 135.46, 137.17, 152.88, 155.49, 157.62, 163.28, 164.89, 168.54, 169.37, 170.72.
<b>MS (ESI)</b>	m/z (%) 917 ([M+H] $^+$ , 100).
<b>Summenformel:</b>	C $_{45}$ H $_{56}$ N $_8$ O $_{11}$ S (917.04).

### c[GD $^{\text{D}}$ FV $^{\text{D}}$ -L-G(S(CH $_2$ ) $_2$ NHC(NH)NH $_2$ )] (150 a)

Man erhält **150 a** aus 0.69 g (0.75 mmol) **149 a** nach der AAV 8 als farblosen Feststoff. Ausbeute: 0.38 g (0.64 mmol) = 85 %.



<b>Schmp.:</b>	230 - 240 °C.
<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / $[\text{cm}^{-1}]$ 3400 (br, s), 3335 (s), 3090 (w), 2945 (m), 1725 (s), 1685 (s), 1580 (s), 1520 (s), 1460 (s), 1424 (m), 1443 (m), 1381 (s), 1329 (s), 1255 (s), 1211(s), 1147 (s), 1051 (s), 993 (w), 812 (w), 750 (m), 702 (m), 678 (w), 595 (w).
<b><math>^1\text{H-NMR}</math></b>	(300.13 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 0.69-0.76 (m, 6H), 2.01 (m, 1H), 2.65 (m, 2H), 3.25 (m, 1H), 3.30 (m, 2H), 3.45 (m, 2H), 3.82 (m, 1H), 3.93 (m, 1H),

4.50 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 5.44/5.22 (2d, 1H,  $J = 12.0$  Hz/10.5 Hz), 7.20 (m, 5H), 7.35 (br, 2H), 7.66 (d, 1H,  $J = 10.0$  Hz), 7.70 (s, 1H), 7.81 (d, 1H,  $J = 10.2$  Hz), 8.24 (d, 1H,  $J = 10.2$  Hz), 8.56 (m, 1H), 8.62 (m, 1H), 8.77 (d, 1H,  $J = 9.0$  Hz), 11.49 (s, 1H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  19.12, 21.56, 23.23, 26.25, 31.21, 36.35, 46.26, 46.28, 52.26, 54.55, 55.75, 56.32, 66.02, 67.92, 68.01, 124.32, 128.21, 128.59, 128.62, 128.88, 128.96, 135.56, 152.98, 155.25, 157.62, 163.43, 164.55, 166.87.

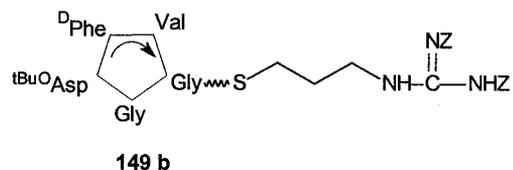
**MS (ESI)**  $m/z$  (%) 593 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).

**HRMS (ESI)** ber. für  $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{O}_7\text{S}$  593.2506 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), gef. 593.2521.

**Summenformel:**  $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_8\text{O}_7\text{S}$  (592.67).

**c[GD<sup>OTBu</sup>D<sup>D</sup>FV<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(NZ)NHZ)] (149 b)**

Man setzt 25 % des an 10.0 g Thio-Harz (**124**) synthetisierten  $\alpha$ -Chlorglycyl-Peptids mit 1.45 g (1.2 eq., 3.60 mmol) *N*-[*N'*,*N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-3-mercaptopropan (**110 b**) [401:48] und 2.09 ml (4 eq., 12.0 mmol)



DIEA [129.24,  $d$  0.74] um (s.o.) und erhält nach HPLC-Reinigung **149 b** als farblosen Feststoff. Gesamtausbeute: 0.64 g (0.69 mmol) = 23 %.

**Schmp.:** 210 - 220 °C.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300.13 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  0.70-0.80 (m, 6H), 1.33 (s, 9H), 1.61 (m, 2H), 2.01 (m, 1H), 2.67 (m, 2H), 3.26 (m, 1H), 3.60 (m, 4H), 3.84 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.56 (m, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 5.45/5.22 (2d, 1H,  $J = 12.0$  Hz/10.5 Hz), 7.20 (m, 5H), 7.36 (m, 10H), 7.70 (d, 1H,  $J = 10.2$  Hz), 7.87 (d, 1H,  $J = 10.2$  Hz), 8.23 (d, 1H,  $J = 10.2$  Hz), 8.57 (m, 1H), 8.60 (m, 1H), 8.77 (d, 1H,  $J = 9.0$  Hz), 11.57 (s, 1H).

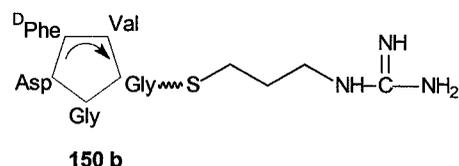
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  18.06, 21.56, 23.53, 26.26, 26.41, 31.21, 33.52, 36.84, 43.79, 46.35, 46.56, 52.43, 54.51, 55.64, 56.24, 66.68, 67.39, 68.06, 69.31, 124.56, 128.26, 128.30, 128.31, 128.56, 128.64, 128.70, 128.75, 128.81, 128.85, 128.96, 135.44, 137.20, 152.73, 155.41, 157.57, 163.34, 164.76, 168.15, 169.24, 170.38.

**MS (ESI)**  $m/z$  (%) 932 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).

**Summenformel:**  $\text{C}_{46}\text{H}_{58}\text{N}_8\text{O}_{11}\text{S}$  (931.07).

**c[GD<sup>D</sup>FV<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(NH)NH<sub>2</sub>)] (150 b)**

Man erhält **150 b** aus 0.64 g (0.69 mmol) **149 b** nach der AAV 8 als farblosen Feststoff. Ausbeute: 0.37 g (0.61 mmol) = 88 %.



**Schmp.:** 230 - 240 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300.13 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 0.69-0.76 (m, 6H), 1.61 (m, 2H), 2.01 (m, 1H), 2.65 (m, 2H), 3.25 (m, 1H), 3.60 (m, 4H), 3.82 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 5.44/5.22 (2d, 1H, *J* = 12.0 Hz/10.5 Hz), 7.20 (m, 5H), 7.35 (br, 2H), 7.66 (d, 1H, *J* = 10.0 Hz), 7.70 (s, 1H), 7.81 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz), 8.24 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz), 8.56 (m, 1H), 8.62 (m, 1H), 8.77 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 11.49 (s, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75.48 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 19.68, 22.16, 23.30, 26.28, 31.17, 34.15, 36.39, 46.16, 46.21, 52.22, 54.85, 55.61, 56.19, 66.15, 67.83, 68.11, 124.33, 128.21, 128.60, 128.63, 128.85, 128.90, 135.54, 152.88, 155.16, 157.61, 163.22, 164.61, 166.77.

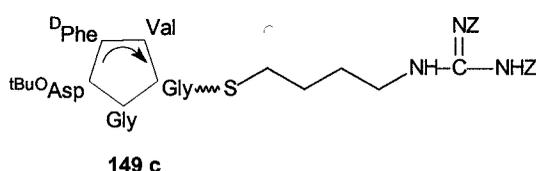
**MS (ESI)** *m/z* (%) 607 ([M+H]<sup>+</sup>, 100).

**HRMS (ESI)** ber. für C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>S 607.2662 ([M+H]<sup>+</sup>), gef. 607.2681.

**Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>38</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>S (606.69).

**c[GD<sup>OTBu</sup>D<sup>D</sup>FV<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHC(NZ)NH<sub>2</sub>)] (149 c)**

Man setzt 25 % des an 10.0 g Thio-Harz (**124**) synthetisierten α-Chlorglycyl-Peptids mit 1.50 g (1.2 eq., 3.60 mmol) *N*-[*N'*,*N''*-Bis(benzyloxycarbonyl)-carboxamidino]-1-amino-4-mercaptobutan (**110 c**) [415.50] und



2.09 ml (4 eq., 12.0 mmol) DIEA [129.24, *d* 0.74] um (s.o.) und erhält nach HPLC-Reinigung **149 c** als farblosen Feststoff. Gesamtausbeute: 0.68 g (0.72 mmol) = 24 %.

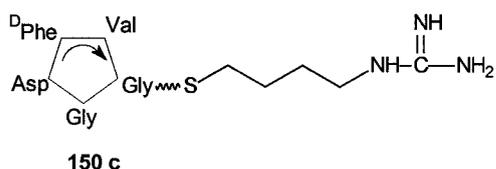
**Schmp.:** 210 - 220 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300.13 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 0.70-0.80 (m, 6H), 1.33 (s, 9H), 1.53 (m, 4H), 2.01 (m, 1H), 2.67 (m, 2H), 3.26 (m, 1H), 3.32 (m, 4H), 3.84 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.56 (m, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 5.45/5.22 (2d, 1H, *J* = 12.0 Hz/10.5 Hz), 7.20 (m, 5H), 7.36 (m, 10H), 7.70 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz), 7.87 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz), 8.23 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz),

8.57 (m, 1H), 8.60 (m, 1H), 8.77 (d, 1H,  $J = 9.0$  Hz), 11.57 (s, 1H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  18.01, 21.31, 23.45, 26.21, 26.39, 28.25, 31.11, 33.59, 36.28, 43.82, 46.19, 46.23, 52.89, 54.57, 55.66, 56.21, 66.80, 67.89, 68.05, 69.31, 124.42, 128.07, 128.24, 128.35, 128.54, 128.62, 128.73, 128.81, 128.84, 128.87, 130.02, 135.39, 137.21, 152.92, 155.42, 157.67, 163.21, 164.85, 168.49, 169.28, 170.19.**MS (ESI)** $m/z$  (%) 945 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).**Summenformel:** $\text{C}_{47}\text{H}_{60}\text{N}_8\text{O}_{11}\text{S}$  (945.10).**c[GD<sup>Phe</sup>FV<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHC(NH)NH<sub>2</sub>)] (150 c)**Man erhält **150 c** aus 0.68 g (0.72 mmol) **149 c**

nach der AAV 8 als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 0.42 g (0.67 mmol) = 93 %.

**Schmp.:**

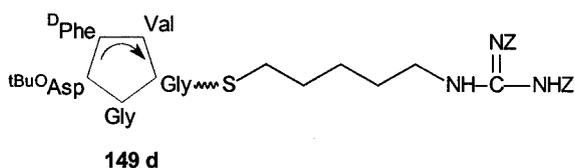
230 - 240 °C.

 **$^1\text{H-NMR}$** (300.13 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  0.69-0.76 (m, 6H), 1.53 (m, 4H), 2.01 (m, 1H), 2.65 (m, 2H), 3.25 (m, 1H), 3.32 (m, 4H), 3.82 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 5.44/5.22 (2d, 1H,  $J = 12.0$  Hz/10.5 Hz), 7.20 (m, 5H), 7.35 (br, 2H), 7.66 (d, 1H,  $J = 10.0$  Hz), 7.70 (s, 1H), 7.81 (d, 1H,  $J = 10.2$  Hz), 8.24 (d, 1H,  $J = 10.2$  Hz), 8.56 (m, 1H), 8.62 (m, 1H), 8.77 (d, 1H,  $J = 9.0$  Hz), 11.49 (s, 1H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  19.22, 21.31, 23.16, 26.27, 28.17, 31.14, 33.85, 36.32, 46.26, 46.24, 52.55, 54.34, 55.50, 56.38, 66.12, 67.88, 68.22, 124.25, 128.22, 128.54, 128.61, 128.88, 128.95, 135.50, 152.93, 155.29, 157.61, 163.44, 164.55, 166.84.**MS (ESI)** $m/z$  (%) 621 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).**HRMS (ESI)**ber. für  $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{N}_8\text{O}_7\text{S}$  621.2819 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), gef. 621.2840.**Summenformel:** $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{N}_8\text{O}_7\text{S}$  (620.72).**c[GD<sup>tBu</sup>FV<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>NHC(NZ)NHZ)] (149 d)**

Man setzt 25 % des an 10.0 g Thio-Harz

**(124)** synthetisierten  $\alpha$ -Chlorglycyl-

Peptids mit 1.55 g (1.2 eq., 3.60 mmol)

 $N$ -[ $N'$ , $N''$ -Bis(benzyloxycarbonyl)-carbox-

### 13. Arginin-Modifizierung von c(RGDfV) (43)

amidino]-1-amino-5-mercaptopentan (**110 d**) [429.53] und 2.09 ml (4 eq., 12.0 mmol) DIEA [129.24, d 0.74] um (s.o.) und erhält nach HPLC-Reinigung **149 d** als farblosen Feststoff. Gesamtausbeute: 0.63 g (0.66 mmol) = 22 %.

**Schmp.:** 210 - 220 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300.13 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 0.70-0.80 (m, 6H), 1.33 (s, 9H), 1.49 (q, 2H, *J* = 6.5 Hz), 1.60 (q, 2H, *J* = 6.1 Hz), 1.88 (t, 2H, *J* = 7.1 Hz), 2.01 (m, 1H), 2.67 (m, 2H), 3.26 (m, 1H), 3.39 (q, 2H, *J* = 6.7 Hz), 3.44 (t, 2H, *J* = 5.4 Hz), 3.84 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.56 (m, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.19 (s, 2H), 5.45/5.22 (2d, 1H, *J* = 12.0 Hz/10.5 Hz), 7.20 (m, 5H), 7.36 (m, 10H, *Z*-aromat. *H*), 7.70 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz), 7.87 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz), 8.23 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz), 8.57 (m, 1H), 8.60 (m, 1H), 8.77 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 11.57 (s, 1H).

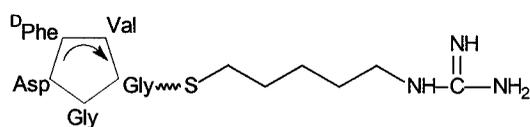
**<sup>13</sup>C-NMR** (75.48 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 18.02, 21.36, 23.46, 24.61, 25.11, 26.12, 26.21, 28.65, 31.11, 36.35, 43.82, 46.21, 46.21, 52.86, 54.45, 55.79, 56.19, 66.72, 67.94, 68.02, 69.51, 124.54, 128.16, 128.23, 128.34, 128.58, 128.64, 128.78, 128.80, 128.89, 128.90, 128.95, 135.41, 137.27, 152.88, 155.44, 157.60, 163.27, 164.88, 168.54, 169.36, 170.42.

**MS (ESI)** *m/z* (%) 959 ([*M*+*H*]<sup>+</sup>, 100).

**Summenformel:** C<sub>48</sub>H<sub>82</sub>N<sub>8</sub>O<sub>11</sub>S (959.12).

### c[GD<sup>D</sup>FV<sup>D,L</sup>G(S(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>NHC(NH)NH<sub>2</sub>)] (**150 d**)

Man erhält **150 d** aus 0.63 g (0.66 mmol) **149 d** nach der AAV 8 als farblosen Feststoff. Ausbeute: 0.36 g (0.56 mmol) = 86 %.



**150 d**

**Schmp.:** 230 - 240 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300.13 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 0.69-0.76 (m, 6H), 1.49 (q, 2H, *J* = 6.5 Hz), 1.60 (q, 2H, *J* = 6.1 Hz), 1.88 (t, 2H, *J* = 7.1 Hz), 2.01 (m, 1H), 2.65 (m, 2H), 3.25 (m, 1H), 3.39 (q, 2H, *J* = 6.7 Hz), 3.44 (t, 2H, *J* = 5.4 Hz), 3.82 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 5.44/5.22 (2d, 1H, *J* = 12.0 Hz/10.5 Hz), 7.20 (m, 5H), 7.35 (br, 2H), 7.66 (d, 1H, *J* = 10.0 Hz), 7.70 (s, 1H), 7.81 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz), 8.24 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz), 8.56 (m, 1H), 8.62 (m, 1H), 8.77 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 11.49 (s, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75.48 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS) δ 19.64, 21.86, 23.24, 24.46, 25.17, 26.22, 28.23, 31.24, 36.42, 46.23, 46.20, 52.30, 54.56, 55.71, 56.26, 66.05, 67.92,

68.05, 124.31, 128.25, 128.46, 128.63, 128.84, 128.91, 135.55, 153.04,  
155.21, 157.55, 163.40, 164.57, 166.63.

**MS (ESI)** m/z (%) 635 ( $[M+H]^+$ , 100).

**HRMS (ESI)** ber. für  $C_{28}H_{43}N_8O_7S$  635.2975 ( $[M+H]^+$ ), gef. 635.2983.

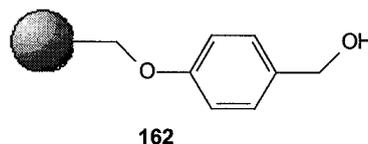
**Summenformel:**  $C_{28}H_{42}N_8O_7S$  (634.75).



## 14. Synthese der Dipeptide mit dem Wang-Harz (162)

### Beladen des Wang-Harzes (162)

2.35 g (2 eq., 10.0 mmol) BocGly(SEt)OH [235.29] (aus **68** nach AAV 3 hergestellt) und 1.35 g (2 eq., 10.0 mmol) HOBt [135.1] werden mit 25.0 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und zu 5.00 g Wang-Harz (**162**) (1 mmol/g) gegeben. Man gibt zu dieser Lösung



1.26 g (2 eq., 10.0 mmol) DIC [126.20] und 0.04 g (0.1 eq., 0.50 mmol) DMAP [87.16]. Nach 3 h Schütteln bei RT wird 0.94 ml (2 eq., 10.0 mmol) Essigsäureanhydrid [102.09, d 1.09] und 0.81 ml (2 eq., 10.0 mmol) Pyridin [79.10, d 0.98] hinzugegeben und 30 Min. geschüttelt. Das Harz wird mit Dichlormethan, DMF und Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Substitution des Harzes wird gravimetrisch bestimmt und liegt bei 0.50 – 0.60 mmol/g.

### Umsetzung mit SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und Nucleophilen

Ein Fünftel des hergestellten α-(Ethylthio)glycyl-Peptid-Harzes werden unter Stickstoff in trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml /g Harz) suspendiert und mit 3.00 ml (5 eq., 3.00 mmol) einer 1M SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Lösung in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt. Nach 60 Min Schütteln wird das Harz mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5x) gewaschen. Man gibt 5 eq. des in wenig CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelösten Nucleophils und 1.05 ml (10 eq., 6.00 mmol) DIEA [129.24, 0.74] hinzu und schüttelt 12 h. Das Harz wird mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5x) gewaschen.

### N-terminales Entschützen

Die Boc-Gly(SEt)-Schutzgruppe wird in 2 h mit 4.4 M HCl in Dioxan (1 x 5 min, 1 x 25 min, 15 ml/g) abgespalten. Anschließend wäscht man mit Dioxan (5x) und CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5x).

### Aminosäurekupplung

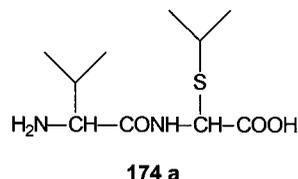
Die Kupplung der Aminosäuren erfolgt nach AAV 5, wobei statt DMF CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> verwendet wird. Man setzt hierzu 0.65 g (5 eq., 3.00 mmol) BocValOH [217.26], 0.94 (4.9 eq., 2.94 mmol) TBTU [321.08], 0.41 g (5 eq., 3.00 mmol) HOBt [135.13] und 1.75 ml (10 eq., 6.00 mmol) DIEA [129.24, d 0.74] ein.

### Abspaltung vom Wang-Harz (162)

Die Abspaltung des Peptids vom Harz erfolgt nach der Abspaltung der letzten Schutzgruppe. Es wird mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5x) gewaschen und danach mit 50 -proz. TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 30 Min. geschüttelt. Abfritzen und Waschen mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x) liefert ein Filtrat. Dieses wird am Rotationsverdampfer eingeeengt und das Peptid durch Zugabe von kaltem Ether ausgefällt. Der entstandene weiße Niederschlag wird abzentrifugiert und mittels HPLC gereinigt.

**L-Valyl-D,L- $\alpha$ -(mercaptoisopropyl)glycin (174 a)**

Die Synthese geschieht nach obiger Vorschrift mit 0.28 ml (5 eq., 3.00 mmol) Isopropylthiol [76.16, d 0.82]. Man erhält **174 a** als farbloses Öl. Ausbeute: 80.5 mg (0.32 mmol) = 54 %.



**IR** (KBr)  $\tilde{\nu}$  / $[\text{cm}^{-1}]$  3275 (s), 2980 (s), 1679 (s), 1530 (s), 1467 (m), 1425 (m), 1366 (m), 1303 (s), 1202 (s), 1146 (s), 1051 (s), 1029 (s), 845 (m), 799 (m), 766 (w), 723 (m), 598 (w), 514 (w).

**$^1\text{H-NMR}$**  (300.13 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  0.89 (m, 6H), 1.19 (m, 6H), 1.95 (m, 1H), 2.76 (m, 1H), 3.82 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz), 5.53 (d, 1H,  $J = 8.7$  Hz), 6.9 (m, 1H), 7.5 (m, 1H), 8.10 (br, 2H).

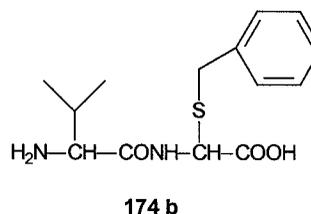
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  18.56, 20.12, 21.45, 24.34, 31.82, 32.21, 56.74, 56.95, 157.52, 172.65.

**MS (FAB)**  $m/z$  (%) 249 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).

**Summenformel**  $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$  (248.34).

**L-Valyl-D,L- $\alpha$ -(mercaptobenzyl)glycin (174 b)**

Die Synthese geschieht nach obiger Vorschrift mit 0.35 ml (5 eq., 3.00 mmol) Benzylmercaptan [124.21, d 1.05]. Man erhält **174 b** als farbloses Öl. Ausbeute: 55.1 mg (0.19 mmol) = 31 %.



**IR** (KBr)  $\tilde{\nu}$  / $[\text{cm}^{-1}]$  3421 (s), 2967 (m), 1680 (s), 1613 (m), 1516 (m), 1454 (w), 1375 (w), 1205 (s), 1135 (s), 1026 (m), 801 (w), 766 (w), 700 (m), 598 (w), 518 (w).

**$^1\text{H-NMR}$**  (300.13 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  0.89 (m, 6H), 1.95 (m, 1H), 2.90 (m, 2H), 3.75 (m, 1H), 5.49 (m, 1H), 6.62 (br, 1H), 6.96 (br, 1H), 7.35 (m, 5H), 8.10 (br, 2H).

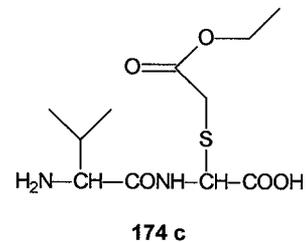
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS)  $\delta$  21.45, 24.34, 34.82, 36.21, 56.74, 56.95, 128.45, 128.98, 130.52, 131.74, 157.52, 172.65.

**MS (FAB)**  $m/z$  (%) 297 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).

**Summenformel**  $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$  (296.38).

**L-Valyl-D,L- $\alpha$ -(ethyl-2-mercaptoacetat)glycin (174 c)**

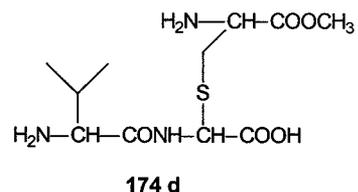
Die Synthese geschieht nach obiger Vorschrift mit 0.33 ml (5 eq., 3.00 mmol) Ethyl-2-mercaptoacetat [120.17, d 1.10]. Man erhält **174 c** als farbloses Öl. Ausbeute: 84.2 mg (0.29 mmol) = 48 %.



<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / $[\text{cm}^{-1}]$ 3250 (s), 2975 (s), 1681 (s), 1531 (s), 1468 (m), 1422 (m), 1369 (m), 1303 (s), 1202 (s), 1136 (s), 1050 (s), 1026 (s), 828 (m), 799 (m), 765 (w), 721 (m), 598 (w), 518 (w).
<b><math>^1\text{H-NMR}</math></b>	(300.13 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 0.89 (m, 6H), 1.20 (m, 3H), 1.95 (m, 1H), 3.40 (m, 2H), 3.76 (m, 1H), 4.09 (q, 2H, $J = 10.8$ Hz), 5.49 (m, 1H), 6.62 (br, 1H), 6.96 (br, 1H), 8.22 (br, 2H).
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math></b>	(75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 14.29, 17.02, 17.91, 18.54, 30.22, 30.99, 32.13, 53.72, 57.33, 61.32, 168.23, 169.30, 169.47.
<b>MS (FAB)</b>	$m/z$ (%) 293 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).
<b>Summenformel</b>	$\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ (292.35).

**L-Valyl-D,L- $\alpha$ -(S-cystyl)glycin (174 d)**

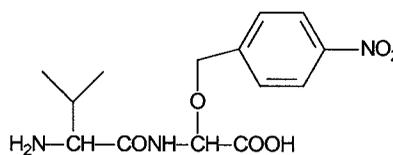
Die Synthese geschieht nach obiger Vorschrift mit 0.51 g (5 eq., 3.00 mmol) L-Cystein-methylester-Hydrochlorid [171.65]. Man erhält **174 d** als farbloses Öl. Ausbeute: 99.6 mg (0.32 mmol) = 54 %.



<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / $[\text{cm}^{-1}]$ 3250 (s), 2975 (s), 1678 (s), 1522 (s), 1436 (m), 1203 (s), 1136 (s), 1026 (s), 1002 (w), 836 (m), 799 (m), 761 (w), 721 (m), 598 (w), 518 (w).
<b><math>^1\text{H-NMR}</math></b>	(300.13 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 0.89 (m, 6H), 1.19 (m, 2H), 1.95 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.76 (m, 1H), 4.57 (m, 1H), 5.49 (br, 1H), 6.25 (br, 1H), 6.90 (br, 2H), 7.22 (br, 1H), 8.15 (br, 2H).
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math></b>	(75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 19.23, 20.45, 22.23, 28.15, 53.28, 55.23, 169.23, 170.01, 173.32.
<b>MS (FAB)</b>	$m/z$ (%) 308 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 17).
<b>Summenformel</b>	$\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ (307.36).

**L-Valyl-D,L- $\alpha$ -(p-nitrobenzylhydroxy)glycin (175)**

Die Synthese geschieht nach obiger Vorschrift mit 0.46 g (5 eq., 3.00 mmol) 4-Nitrobenzylalkohol [153.14]. Man erhält **175** als farbloses Öl. Ausbeute: 117 mg (0.36 mmol) = 60 %.



**175**

<b>IR</b>	(KBr) $\tilde{\nu}$ / $[\text{cm}^{-1}]$ 3432 (s), 2969 (m), 1681 (s), 1613 (m), 1522 (m), 14 (w), 1348 (w), 1205 (s), 1135 (s), 801 (w), 722 (w), 466 (w).
<b><math>^1\text{H-NMR}</math></b>	(300.13 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 0.89 (m, 6H), 1.95 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 4.63 (br, 2H), 5.36 (m, 1H), 7.10 (br, 1H), 7.56 (d, 1H, $J = 12.3$ Hz), 8.16 (d, 2H, $J = 12.3$ Hz), 8.49 (br, 1H).
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math></b>	(75.48 MHz, DMSO- $d_6$ , TMS) $\delta$ 22.24, 23.84, 35.12, 52.11, 54.34, 55.35, 123.87, 128.33, 142.30, 147.89, 158.51, 168.25.
<b>MS (FAB)</b>	$m/z$ (%) 325 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).
<b>Summenformel</b>	$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_6$ (325.32).

## V. Abkürzungsverzeichnis

AcOH	Essigsäure
AS	Aminosäureabspaltung
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
BOP	(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)phosphonium-hexafluorophosphat
Bzl	Benzyl
Clt	2-Chlortrityl
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCE	Dichlorethan
DCM	Dichlormethan
DCU	Dicyclohexylurea (Dicyclohexylharnstoff)
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DIEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-( <i>N, N</i> -Dimethylamino)pyridin
DMF	<i>N, N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNP	2,4-Dinitrophenyl
DVB	Divinylbenzol
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
Fm	Fluorenylmethyl
Fmoc	Flourenylmethoxycarbonyl
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HTS	High Throughput Screening
MALDI	Martix Assisted LASER Desorption Ionisation
MAS	Magic Angle Spinning
NB	4-Nitrobenzyl
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidon
Pbf	2, 2, 4, 6, 7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulphonyl
PEG	Polyethylenglykol
PEGA	Polyethylen Grafted Acrylamid
Pmc	2, 2, 5, 7, 8-Pentamethylchroman-6-sulphonyl
PS	Polystyrol
PyBOP	(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yloxy)tris-pyrrolidino-phosphonium-hexafluorophosphat
Schmp	Schmelzpunkt

SET	Single Electron Transfer
SG	Schutzgruppen
SMART	Single or Multiple Adressable Radiofrequency Tag
SP	Solid Phase
SPPS	Solid Phase Peptid Synthesis
SPOC	Solid Phase Organic Chemistry
TBTU	<i>N</i> -[(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)(dimethylamino)methylen]- <i>N</i> -methylmethanaminium-tetrafluoroborat- <i>N</i> -oxid
TCP	Tritylchlorid
TFA	Trifluoressigsäure
TFE	Trifluorethanol
TFMSA	Trifluormethansulfonsäure
TIPS	Triisopropylsilan
Tos	Toluolsulfonyl
Trt	Tritylchlorid
Z	Benzyloxycarbonyl

**Aminosäuren**

A	Ala	Alanin	M	Met	Methionin
C	Cys	Cystein	N	Asn	Asparagin
D	Asp	Asparaginsäure	P	Pro	Prolin
E	Glu	Glutaminsäure	Q	Gln	Glutamin
F	Phe	Phenylalanin	R	Arg	Arginin
G	Gly	Glycinderivat	S	Ser	Serin
H	His	Histidin	T	Thr	Threonin
I	Ile	Isoleucin	V	Val	Valin
K	Lys	Lysin	W	Trp	Tryptophan
L	Leu	Leucin	Y	Tyr	Tyrosin

## VI. Literaturverzeichnis

- [1] F. W. Sertürner, *Gilbert's Annalen der Physik* **1817**, 25, 56-59.
- [2] W. Sneader, *Drug Discovery*, Wiley, New York **1985**.
- [3] A. Fleming, *Br. J. Exp. Pathol.* **1940**, 10, 226-230.
- [4] F. Himmelweit, *P. Ehrlich – Gesammelte Arbeiten*, Springer Verlag, Berlin **1957**.
- [5] J. N. Langley, *J. Physiol.*, London **1905**, 33, 374-392.
- [6] N. U. Meldrum, F. J. Roughton, *J. Physiol.* **1933**, 80, 113-120.
- [7] W. B. Schwartz, *N. Engl. J. Med.* **1949**, 240, 173-175.
- [8] J. Drews, *Science* **2000**, 287, 1960-1964.
- [9] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
- [10] R. B. Merrifield, *Angew. Chem.* **1985**, 97, 801-812.
- [11] Novabiochem Katalog **2000**.
- [12] V. K. Sarin, S. B. H. Kent, J. P. Tam, R. B. Merrifield, *Anal. Biochem.* **1981**, 117, 147-157.
- [13] J. M. Stewart, J. D. Young, *Solid Phase Peptide Synthesis – A Practical Approach*, IRL Press, Oxford, New York, Tokyo **1989**.
- [14] V. Krchnák, J. Vágner, P. Safár, M. Lebl, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1988**, 53, 2542-2548.
- [15] S. S. Chu, S. H. Reich, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, 5, 1053-1058.
- [16] B. Gisin, *Anal. Chim. Acta* **1972**, 58, 248-249.
- [17] J. S. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 19-46.
- [18] P. H. H. Hermkens, H. C. J. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron* **1996**, 52, 4527-4554.
- [19] E. M. Gordon, M. A. Gallop, D. V. Patel, *Acc. Chem. Res.* **1996**, 116, 11580-11581.
- [20] S. H. DeWitt, A. W. Czarnik, *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 114-122.
- [21] B. J. Egner, G. D. Langley, M. Bradley, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 2652-2653.
- [22] F. Balkenhohl, C. Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2436-2488.
- [23] R. Frank, *Tetrahedron* **1992**, 48, 9217-9232.
- [24] Industrielle Nutzung durch Jerini Bio Tools, Ost-West-Kooperationszentrum, Rudower Chaussee H29, 12489 Berlin, Deutschland.
- [25] „Studies on Possibilities of Systematic Searching for Pharmaceutically Useful Peptides“: Á. Furka, notariell beglaubigtes Dokument Nr. 36237/1982, Budapest, 1982.
- [26] Á. Furka, F. Sebestyén, M. Asgedom, G. Dibo, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1991**, 37, 487-493.
- [27] Á. Furka, *Drug Dev. Res.* **1995**, 36, 1-12.

- [28] K. S. Lam, S. E. Salmon, E. M. Hersh, V. J. Hruby, W. M. Kazmiersky, R. J. Knapp, *Nature* **1991**, 354, 82-84.
- [29] J. M. Kerr, S. C. Banville, R. N. J. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2529-2531.
- [30] R. A. Houghten, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, 82, 5131-5135.
- [31] K. C. Nicolaou, D. Vourloumis, T. Li, J. Pastor, N. Winssinger, Y. He, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2181-2187.
- [32] K. C. Nicolaou, X.-Y. Xiao, Z. Parandoosh, A. Senyei, M. P. Nova, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 2476-2479; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 2289-2291.
- [33] Industrielle Nutzung durch IRORI, 9640 Town Centre Drive, San Diego, CA 92121, USA.
- [34] K. Gerth, N. Bedorf, G. Höfle, H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1996**, 49, 560-563.
- [35] D. M. Bollag, P. A. McQueney, J. Zhu, O. Hensens, L. Koupal, J. Liesch, M. Goetz, E. Lazarides, C. M. Woods, *Cancer Res.* **1995**, 55, 2325-2333.
- [36] G. R. Pettit, J. K. Sirangam, D. L. Herald, J.-P. Xu, M. R. Boyd, Z. Cichacz, Y. Kamano, J. M. Schmidt, K. L. Erickson, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 8257-8261.
- [37] J. Gerald, M. T. Kelly, R. J. Andersen, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 7201-7204.
- [38] J. Kobayashi, T. Nakamura, M. Tsuda, *Tetrahedron* **1996**, 52, 6355-6360.
- [39] N. Fusetani, S. Matsunga, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 1793-1806.
- [40] P. Wipf, *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2115-2134.
- [41] K. Harada, K. Fujii, T. Shimada, M. Suzuki, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 1511-1515.
- [42] H. Morita, T. Kayashita, A. Shishido, K. Takeya, H. Itokawa, M. Shiro, *Tetrahedron* **1996**, 52, 1165-1176.
- [43] H. Morita, T. Kayashita, A. Shishido, K. Takeya, H. Itokawa, *J. Nat. Prod.* **1996**, 59, 280-282.
- [44] C. Auvin, C. Baraguey, A. Blond, F. Lezenven, J.-L. Pousset, B. Bodo, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 2845-2848.
- [45] M. Bodansky, *Principles of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg **1993**.
- [46] D. J. G. White, *Proceedings of an International Conference on Cyclosporin A*, Elsevier, Amsterdam **1982**, 5-19.
- [47] A. Lawen, R. Zoche, *J. Biol. Chem.* **1990**, 265, 11355-11360.
- [48] M. G. Klotz, *Physiol. Plant.* **1988**, 74, 575-582.
- [49] F. Cavelier, F. Andre, E. Pinet, F. Haraux, C. Sigalat, G. Giraut, J. Verducci, *Abstract of the 24<sup>th</sup> Symposium of the European Peptide Society* **1996**, 212.
- [50] A. V. R. Rao, M. K. Gurjar, K. L. Reddy, A. S. Rao, *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2135-2167.
- [51] K. Burgess, D. Lim, C. I. Martinez, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 1162-1163.

- [52] U. Schmidt, M. Kroner, H. Grieser, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 3057-3060, 4407-4408.
- [53] J. K. L. Rinehart, J. B. Gloer, J. C. Cook, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 1857-1859.
- [54] J. K. L. Rinehart, V. Kishore, S. Nagajaran, R. Lake, J. B. Gloer, F. A. Bozich, K.-M. Li, J. R. E. Maleczka, W. L. Todsen, M. H. G. Munro, D. W. Sullins, R. Sakai, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 6846-6848.
- [55] R. Sakai, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 3734-3748.
- [56] U. Schmidt, *Nachr. Chem., Tech. Lab.* **1989**, 37, 1034-1043.
- [57] A. Giannis, T. Kolter, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1303-1326.
- [58] H. Kessler, *Angew. Chem.* **1982**, 94, 509-520.
- [59] J. Rizo, K. M. Gierasch, *Annu. Rev. Biochem.* **1992**, 61, 387-418.
- [60] V. J. Hruby, F. Al-Obeidi, W. Kazmierski, *Biochem. J.* **1990**, 268, 249-262.
- [61] Y. A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov, *Tetrahedron* **1975**, 31, 2177-2209.
- [62] H. Kessler, R. Gratias, G. Hessler, M. Gurrath, M. Müller, *Pure Appl. Chem.* **1996**, 68, 1201-1205.
- [63] J. D. Dunitz, J. Waser, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 5645-5650.
- [64] R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 1440-1456.
- [65] M. Koppitz, M. Huenges, R. Gratias, H. Kessler, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 1280-1300.
- [66] J. A. Smith, L. G. Pease, *CRC Crit. Rev. Biochem.* **1980**, 8, 315-399.
- [67] D. P. Fairlie, M. L. West, A. K. Wong, *Current Medicinal Chemistry* **1998**, 5, 29-62.
- [68] E. G. Hutchinson, J. M. Thornton, *Protein Sci.* **1994**, 3, 2207-2216.
- [69] G. Müller, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2941-2943.
- [70] M. W. McArthur, J. W. Neidigh, S. M. Harris, G. M. Lee, Z. Liu, H. Tong, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 8547-8561.
- [71] H. Kessler, *Angew. Chem.* **1982**, 94, 509-520.
- [72] D. F. Mierke, M. Kurz, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 1042-1049.
- [73] R. Haubner, W. Schmitt, G. Hölzemann, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 7881-7891.
- [74] Y. A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov, *Tetrahedron* **1974**, 30, 1871-1890.
- [75] M. Aumailley, M. Gurrath, G. Müller, J. Calvete, R. Timpl, H. Kessler, *FEBS Letters* **1991**, 291, 50-54.
- [76] M. Gurrath, G. Müller, H. Kessler, M. Aumailley, R. Timpl, *Eur. J. Biochem.* **1992**, 210, 911-921.
- [77] J. Wermuth, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1328-1335.
- [78] N. Nishino, M. Xu, H. Mihara, T. Fujimoto, Y. Ueno, H. Kumagai, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 1479-1482.

- [79] I. Ugi, A. Dömling, *Combinatorial Chemistry – A Practical Approach* **2000**, 287-302.
- [80] M. Fridkin, A. Patchornik, E. Katchalski, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 4646-4648.
- [81] E. Flanigan, G. R. Marshall, *Tetrahedron Lett.* **1970**, *27*, 2403-2406.
- [82] D. L. Marshall, I. E. Liener, *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 867-868.
- [83] W. F. DeGrado, E. T. Kaiser, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1295-1300.
- [84] W. F. DeGrado, E. T. Kaiser, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3258-3261.
- [85] J. T. Jarrett, P. T. Lansbury, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4561-4564.
- [86] S. H. Nakagawa, E. T. Kaiser, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 678-685.
- [87] E. T. Kaiser, *Acc. Chem. Res.* **1989**, *22*, 47-54.
- [88] J. P. T. Lansbury, J. C. Hendrix, A. I. Coffman, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 4915-4918.
- [89] N. Nishino, M. Xu, H. Mihara, T. Fujimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, *65*, 991-994.
- [90] G. Ösapay, A. Profit, J. W. Taylor, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *43*, 6121-6124.
- [91] H. Mihara, S. Yamabe, T. Niidome, H. Aoyagi, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4837-4880.
- [92] M. Xu, N. Nishino, H. Mihara, T. Fujimoto, N. Izumiya, *Chem. Lett.* **1992**, 191-194.
- [93] H. Ishida, M. Suga, K. Donowaki, K. Ohkubo, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5374-5375.
- [94] G. Ösapay, M. Goodman, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1599-1600.
- [95] G. Ösapay, J. W. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6046-6051.
- [96] L. Y. Sklyarov, I. V. Shashkova, *J. Gen. Chem. USSR (Engl. Transl.)* **1969**, *39*, 2714-2718.
- [97] S. S. Isied, C. G. Kuehn, J. M. Lyon, R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2632-2634.
- [98] P. Rovero, L. Quartara, G. Fabbri, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2639-2642.
- [99] A. Trzeciak, W. Bannwarth, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4557-4560.
- [100] J. S. McMurray, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7679-7682.
- [101] D. Andreu, S. Ruiz, C. Carreño, J. Alsina, F. Albericio, M. A. Jiménez, N. d. I. Figuera, R. Herranz, M. T. García-López, R. González-Muñiz, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 19579-19586.
- [102] H. M. Zhong, M. N. Greco, B. E. Maryanoff, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 9326-9330.
- [103] M. Feigel, *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 459-468.
- [104] V. Brandmeier, M. Feigel, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 1365-1376.
- [105] D. S. Kemp, E. T. Sun, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 3759-3760.
- [106] M. Hinds, N. G. J. Richards, J. A. Robinson, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1447-1449.
- [107] H. U. Saragovi, D. Fitzpatrick, A. Raktabutr, H. Nakanishi, M. Kahn, M. I. Greene, *Science* **1991**, *253*, 792-795.
- [108] W. V. Williams, T. Kieber-Emmons, J. v. Feldt, M. I. Greene, D. B. Weiner, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 5182-5190.

- [109] S. J. Singer, *Science* **1992**, *255*, 1671-1677.
- [110] T. A. Springer, *Nature* **1990**, *346*, 425-434.
- [111] A. F. Horwitz, *Spektrum der Wissenschaft* **1998**, *1*, 86-94.
- [112] M. D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, J. Sundelin, P. Lind, P. A. Peterson, *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 9593-9597.
- [113] M. D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, *81*, 5985-5988.
- [114] M. D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, *Nature*, **1984**, *309*, 30-33.
- [115] E. Ruoslahti, M. D. Pierschbacher, *Cell* **1986**, *44*, 517-518.
- [116] E. Ruoslahti, M. D. Pierschbacher, *Science* **1987**, *238*, 491-497.
- [117] R. O. Hynes, *Cell* **1987**, *48*, 549-554.
- [118] C. A. Buck, A. F. Horwitz, *Annu. Rev. Cell Biol.* **1987**, *3*, 179-205.
- [119] S. E. D'Souza, M. H. Ginsberg, E. F. Plow, *Trends Biochem. Sci.* **1991**, *16*, 246-250.
- [120] R. O. Hynes, *Cell* **1992**, *69*, 11-25.
- [121] D. J. Rees, S. E. Ades, S. J. Singer, R. O. Hynes, *Nature* **1990**, *347*, 685-689.
- [122] A. P. Gilmore, K. Burridge, *Nature* **1995**, *373*, 197.
- [123] R. P. Johnson, S. W. Craig, *Nature* **1995**, *373*, 261-264.
- [124] C. A. Otey, F. M. Pavalko, K. Burridge, *J. Cell Biol.* **1990**, *111*, 721-729.
- [125] S. M. Albelda, C. A. Buck, *FASEB J.* **1990**, *4*, 2868-2880.
- [126] R. M. Lafrenie, S. Gallo, T. J. Podor, M. R. Buchanan, F. W. Orr, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* **1994**, *30A*, 2151-2158.
- [127] M. A. Horton, M. L. Taylor, T. R. Arnett, M. H. Helfrich, *Exp. Cell Res.* **1991**, *195*, 368-375.
- [128] G. Shankar, T. R. Gadek, D. J. Burdick, I. Davison, W. T. Mason, M. A. Horton, *Exp. Cell Res.* **1995**, *219*, 364-371.
- [129] P. C. Brooks, S. Strömblad, R. Klemke, D. Visscher, F. H. Sarkar, D. A. Cheresh, *J. Clin. Invest.* **1995**, *96*, 1815-1822.
- [130] A. Giannis, F. Rübsam, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 606-609; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 588-590.
- [131] M. Chorev, R. Dresnerpollak, Y. Eshel, M. Rosenblatt, *Biopolymers* **1995**, *37*, 367-375.
- [132] R. Dresnerpollak, M. Rosenblatt, *J. Cell. Biochem.* **1994**, *56*, 323-330.
- [133] H. Kessler, *Spektrum der Wissenschaft* **2000**, *11*, 48-53.
- [134] M. Adler, R. A. Lazarus, M. S. Dennis, G. Wagner, *Science* **1991**, *253*, 445-448.
- [135] M. Adler, P. Carter, R. A. Lazarus, G. Wagner, *Biochemistry* **1993**, *32*, 282-289.
- [136] C. Dalvit, H. Widmer, G. Bovermann, R. Breckenridge, R. Metternich, *Eur. L. Biochem.* **1991**, *202*, 315-321.
- [137] R. M. Cooke, B. G. Carter, D. M. A. Martin, P. Murray-Rust, M. P. Weir, *Eur. J. Biochem.* **1991**, *202*, 323-328.

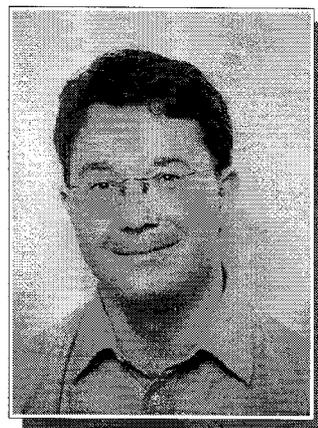
- [138] H. Senn, W. Klaus, *J. Mol. Biol.* **1993**, 232, 907-925.
- [139] A. Stockmann, S. Hess, P. Declerk, R. Timpl, K. T. Preissner, *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 22874-22882.
- [140] M. D. Pierschbacher, E. Ruoslathi, *J. Biol. Chem.* **1987**, 262, 17294-17298.
- [141] H. Kessler, B. Diefenbach, D. Finsinger, A. Geyer, M. Gurrath, S. L. Goodman, G. Hölzemann, R. Haubner, A. Jonczyk, G. Müller, E. G. v. Roedern, J. Wermuth, *Leit. Pept. Sci.* **1995**, 2, 155-160.
- [142] G. Müller, M. Gurrath, H. Kessler, R. Timpl, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 341-343.
- [143] R. Haubner, R. Gratias, B. Diefenbach, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 7461-7472.
- [144] M. A. Dechantsreiter, E. Planker, B. Mathä, E. Lohof, G. Hölzemann, A. Jonczyk, S. L. Goodman, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 3033-3040.
- [145] W. H. Miller, R. M. Keenan, R. N. Willette, M. W. Lark, *DDT* **2000**, 5, 397-408.
- [146] A. Giannis, F. Rübsam, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 606-609.
- [147] C. Stark, Diplomarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität München **1996**.
- [148] J. Gante, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 1780-1802.
- [149] R. Kober, W. Steglich, *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 599-609.
- [150] R. Kober, Dissertation, Universität Bonn **1984**.
- [151] G. Apitz, W. Steglich, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 3163-3166.
- [152] G. Apitz, Dissertation, Universität Bonn **1992**.
- [153] F. A. Carey, R. J. Sundberg, *Organische Chemie*, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo **1995**, 1041-1042.
- [154] W. Oettmeier, *Chem. Ber.* **1970**, 103, 2314-2316.
- [155] G. Apitz, M. Jäger, S. Jaroch, M. Kratzel, L. Schäffeler, W. Steglich, *Tetrahedron* **1993**, 49, 8223-8232.
- [156] M. Jäger, K. Polborn, W. Steglich, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 861-864.
- [157] G. Apitz, M. Jäger, S. Jaroch, M. Kratzel, L. Schäffeler, W. Steglich, *Tetrahedron* **1993**, 49, 8223-8232.
- [158] C. Paulitz, W. Steglich, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 8474-8478.
- [159] W. Steglich, M. Jäger, S. Jaroch, P. Zistler, *Pure & Appl. Chem.* **1994**, 66, 2167-2170.
- [160] V. Niddam, M. Camplo, D. L. Nguyen, J.-C. Chermann, J.-L. Kraus, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 609-614.
- [161] W. D. Kingsbury, J. C. Boehm, R. J. Mehta, S. F. Grappel, C. Gilvarg, *J. Med. Chem.* **1984**, 27, 1447-1451.
- [162] W. C. Chan, P. D. White, *Fmoc solid phase synthesis: a practical approach*, Oxford University Press, Oxford **2000**, 277-327.
- [163] S. B. H. Kent, *Ann. Rev. Biochem.* **1988**, 57, 957-962.

- [164] G. Barany, N. Kneib-Cordnier, D. G. Mullen, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1987**, 705-712.
- [165] J. M. Stewart, J. D. Young, *Solid phase peptide synthesis (2<sup>nd</sup> edn)*, Pierce Chemical Company, Rockford **1984**.
- [166] E. Atherton, H. Fox, D. Harkiss, R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1978**, 539-540.
- [167] G. B. Fields, R. L. Noble, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1990**, 35, 161-164.
- [168] G. Grant, *Synthetic peptides*, W. H. Freeman & Co., New York **1992**.
- [169] W. C. Chan, P. D. White, *Fmoc solid phase synthesis: a practical approach*, Oxford University Press, Oxford **2000**, 287-288.
- [170] C. Paulitz, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München **1998**.
- [171] N. Nishino, M. Xu, H. Mihara, T. Fujimoto, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 1479-1482.
- [172] G. Ösapay, A. Profit, J. W. Taylor, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 6121-6124.
- [173] Y. Kiso, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 1063-1064.
- [174] A. Bernhardt, *J. Peptide Res.* **1997**, 50, 143-149.
- [175] T. M. Fyles, *Can. J. Chem.* **1978**, 56, 1031-1042.
- [176] C. C. Leznoff, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1976**, 251-252.
- [177] C. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 2661-2662.
- [178] C. Gennari, *Tetrahedron* **1998**, 54, 14999-15016.
- [179] L. A. Carpino, H. Shroff, S. A. Triolo, E.-S. M. E. Mansour, H. Wenschuh, F. Albericio, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 7829-7832.
- [180] R. Ramage, J. Green, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 2287-2290.
- [181] M. S. Bernatowicz, Y. Wu, G. R. Matsueda, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 2497-2502.
- [182] M. S. Bernatowicz, Y. Wu, G. R. Matsueda, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 3389-3392.
- [183] M. S. Bernatowicz, Y. Wu, G. R. Matsueda, *Synth. Comm.* **1993**, 23, 3055-3060.
- [184] G. J. Sterk, H. v. d. Goot, H. Timmerman, *Arch. Pharm.* **1986**, 319, 1057-1064.
- [185] R. J. Bergeron, J. S. McManis, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 1700-1703.
- [186] D. R. Kent, W. L. Cody, A. M. Doherty, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8711-8714.
- [187] M. Villarroya, L. Gandía, M. G. López, A. G. García, S. Cueto, J.-L. García-Navio, J. Alvarez-Builla, *Bioorg. & Med. Chem.* **1996**, 4, 1177-1183.
- [188] Y. F. Yong, J. A. Kowalski, M. A. Lipton, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 1540-1542.
- [189] T. Shibnuma, M. Shiono, T. Mukaiyama, *Chem. Lett.* **1977**, 575-582.
- [190] K. Feichtinger, C. Zapf, H. L. Sings, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 3904-3805.
- [191] G. A. Wiley, R. L. Hershkowitz, B. M. Rein, B. C. Chung, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 964-965.
- [192] F. A. Carey, R. J. Sundberg, *Organische Chemie*, VCH-Verlag, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo **1995**, 872.

- [193] J. Hu, M. A. Fox, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4959-4961.
- [194] F. E. DeBons, G. Loudon, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1703-1704.
- [195] T. Curtius, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, *23*, 3023-3041.
- [196] P. A. S. Smith, *Org. React.* **1946**, *30*, 337-449.
- [197] M. Heidl, Mündliche Mitteilung **2000**.
- [198] G. Trojandt, Dissertation, Universität München, **1995**.
- [199] G. Trojandt, U. Herr, K. Polborn, W. Steglich, M. Schmidt, H. Nöth, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 857-860.
- [200] G. Trojandt, U. Herr, K. Polborn, W. Steglich, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1254-1268.
- [201] H. Kessler, R. Siegmeier, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 281-282.
- [202] M. A. Bednarek, M. Bodanszky, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1983**, *21*, 196-201.
- [203] P. Schultheiß-Reimann, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1983**, *95*, 64.
- [204] J. S. Davies, J. Howe, M. L. Breton, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1995**, 2335-2339.
- [205] W. C. Chan, P. D. White, *Fmoc solid phase synthesis: a practical approach*, Oxford University Press, Oxford **2000**, 57.
- [206] E. J. Corey, J. W. Suggs, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 2554-2555.
- [207] J. L. Lauer, C. G. Fields, G. B. Fields, *Lett. Pept. Sci.* **1994**, *1*, 197-198.
- [208] J. Grunenberg, R. Herges, *Nachr. Chem., Tech. Lab.* **1998**, *46*, A28-A37.
- [209] B. Kramer, M. Rarey, T. Lengauer, *Proteins* **1999**, *37*, 228-241.
- [210] G. Jones, P. Willet, R. C. Glen, A. R. Leach, R. Taylor, *J. Mol. Biol.* **1997**, *267*, 727-748.
- [211] E. K. Kick, D. C. Roe, A. G. Skillman, G. Liu, T. J. Ewing, Y. Sun, I. D. Kuntz, J. A. Ellman, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 297-307.
- [212] T. S. Haque, A. G. Skillman, C. E. Lee, H. Habashita, I. Y. Gluzman, T. J. Ewing, D. E. Goldberg, I. D. Kuntz, J. A. Ellman, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1428-1440.
- [213] H. J. Böhm, D. W. Banner, L. Weber, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1999**, *13*, 51-56.
- [214] A. Lew, A. R. Chamberlin, *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 3267-3272.
- [215] W. E. Minke, F. Hong, C. L. Verlinde, W. G. Hol, E. Fan, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 33469-33473.
- [216] F. Mohamadi, N. G. J. Richards, W. C. Guida, R. Liskamp, M. Lipton, C. Caufield, G. Chang, T. Hendrickson, W. C. Still, *J. Comput. Chem.* **1990**, *11*, 440-467.
- [217] E. L. Eliel, S. H. Wilen, *Organische Stereochemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **1998**.
- [218] W. C. Still, A. Tempczyk, R. C. Hawley, T. Hendrickson, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6127-6129.
- [219] Biologische Tests durchgeführt von T. Subikowsky, Knoll AG, Ludwigshafen.
- [220] R. S. McDowell, B. K. Blackburn, T. R. Gadek, L. R. McGee, T. Rawson, M. E. Reynolds, K. D. Robarge, T. C. Somers, E. D. Thorsett, M. Tischler, R. R. Webb II, M.

- C. Venuti, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 5077-5083.
- [221] A. Peyman, J.-F. Gourvest, T. R. Gadek, J. Knolle, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2996-2999.
- [222] R. S. Feinberg, R. B. Merrifield, *Tetrahedron* **1974**, *30*, 3209-3212.
- [223] B. R. Stranix, J. P. Gao, R. Barghi, J. Salha, G. D. Darling, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8987-8993.
- [224] M. Medal, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 117-133.
- [225] S. S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1328-1333.
- [226] D. Y. Kim, K. H. Suh, *Synthetic Commun.* **1999**, *29*, 1271-1275.
- [227] G. Rossé, *J. Comb. Chem.* **1999**, *1*, 397-402.

## Lebenslauf



### **Christian Miksch**

Diplom-Chemiker

\* 10.09.1970 in München

Eltern: Alfons Miksch und

Anneliese Miksch, geb. Jungbauer

### **Schule**

09/1977 – 07/1981

Grundschule in München

09/1981 – 07/1982

Hauptschule in München

09/1982 – 07/1991

Math.-naturw. Gisela-Gymnasium in München

### **Wehrdienst**

07/1991 – 06/1992

**Wehrdienst** im Sanitätslehrbataillon 851

### **Studium**

10/1992 – 05/1995

**Grundstudium der Chemie**, Ludwig-Maximilians-Universität München

06/1995 – 06/1997

**Hauptstudium der Chemie**, Ludwig-Maximilians-Universität München

07/1997 – 04/1998

**Abschluß des Chemie-Studiums**,

Prüfungen, Anfertigung der Diplomarbeit „Modifizierung eines Cyclopeptids mittels  $\alpha$ -(Ethylthio)glycin“ im Arbeitskreis von Prof. Dr. W. Steglich am Institut für Organische Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München

05/1998 – 05/2001

**Forschungstätigkeit zur Promotion**

im Arbeitskreis von Prof. Dr. W. Steglich am Institut für Organische Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München: „Verwendung von  $\alpha$ -(Alkylthio)glycinen zur Festphasensynthese modifizierter Peptide und Synthese von RGD-Cyclopeptiden“

05/1998 – 07/2001

**Wissenschaftlicher Mitarbeiter** am Institut für Organische Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München

*Christian Miksch*

Unterhaching, 01.06.2001