



Universität Hamburg

DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG

---

# Fragmentbasiertes Design, Synthese und Evaluierung von Endothiapepsin-Inhibitoren

Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften  
Fachbereich Chemie, Institut für Organische Chemie  
der Universität Hamburg

## Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium (*Dr. rer. nat.*)

vorgelegt von

M.Sc. Sarah Eckelt

Hamburg 2023

---

**1. Gutachter:** Prof. Dr. Christian B. W. Stark

**2. Gutachter:** Prof. Dr. Chris Meier

**Prüfungskommission:** Prof. Dr. Christian B. W. Stark

Prof. Dr. Wolfgang Maison

Dr. Thomas Hackl

**Datum der Disputation:** 08.12.2023

**Datum der Druckfreigabe:** 08.12.2023

---

Die praktischen Arbeiten der vorliegenden Arbeit wurden im Zeitraum von Juni 2020 bis Dezember 2022 im Institut für Organische Chemie am Fachbereich Chemie im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Christian B. W. Stark durchgeführt.

---

*Für meine Familie*



---

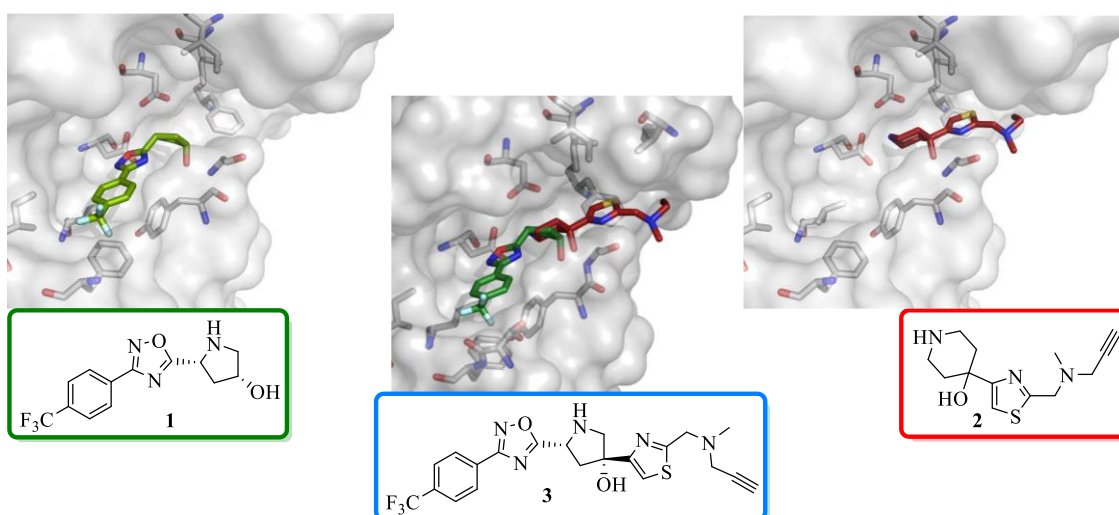
*„Wer immer tut, was er schon kann,  
bleibt immer das, was er schon ist.“*

Henry Ford (1863-1947)

## Kurzfassung

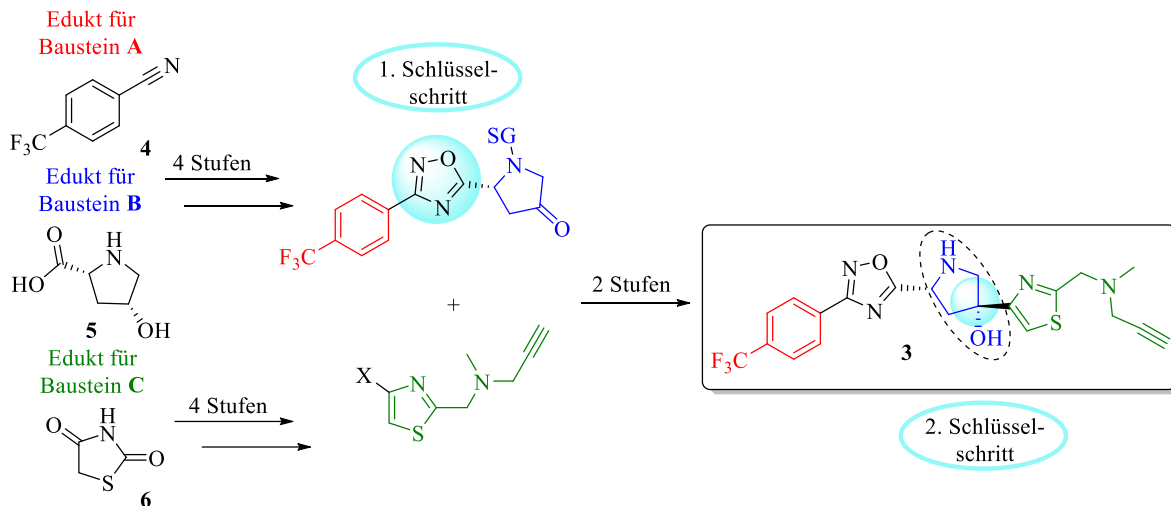
Im Rahmen dieser Dissertation konnten verschiedene Endothiapepsin-Inhibitoren erfolgreich synthetisiert werden, röntgenkristallographisch auf ihre Interaktionen im aktiven Zentrum von Endothiapepsin untersucht werden und abschließend auf ihre enzymatische Aktivität gegenüber Endothiapepsin getestet werden.

Den Ausgangspunkt der Arbeit stellten zwei Fragmente **1** und **2** dar, die aus einem von der Firma *AnalytiCon Discovery GmbH* durchgeführten Fragment-Screening resultierten. Diese Fragmente zeigten in je einer Seite des aktiven Zentrums von Endothiapepsin gute Interaktionen und dazu eine Überlappung ihrer gesättigten *N*-Heterocyclen, weshalb sie zu einer *merged compound* (Zielverbindung **3**) kombiniert werden sollten. Die Zielverbindung **3** könnte einen potenziellen und hochaffinen Inhibitor für Endothiapepsin ergeben.



Die identifizierten Fragmente **1** und **2** aus dem fragmentbasierten Screening und die resultierende Überlagerung beider zu der *merged compound* (Zielverbindung **3**), einem potenziell hochaffinen Endothiapepsin-Inhibitor.

Durch die Synthese von drei verschiedenen Bausteinen **A**, **B** und **C** und der erfolgreichen Verknüpfung dieser untereinander konnte die aus dem Screening resultierende und vorgeschlagene Zielverbindung **3** über zehn konvergente Syntheseschritte dargestellt werden. Die Ausbeute über die längste lineare Synthesesequenz von sechs Stufen betrug dabei 10%. Essenzielle Schlüsselschritte der Syntheseroute stellten die Verknüpfungen der einzelnen Bausteine, die Synthese des 1,2,4-Oxadiazols und eine GRIGNARD-Addition, dar.



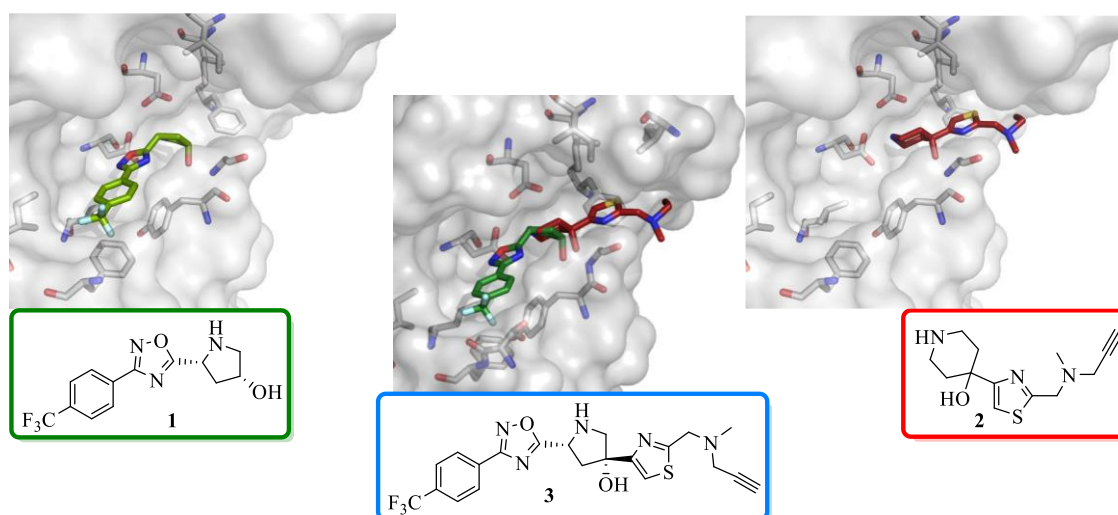
Ausgangspunkt zu der Synthese des potenziellen Endothiaepsin-Inhibitors **3** ausgehend von den drei Edukten der Bausteine **A**, **B** und **C**.

Nach der Darstellung von Zielverbindung **3** und der erfolgreichen röntgenkristallographischen Untersuchung von Co-Kristallen mit Endothiaepsin wurden insgesamt 12 weitere Derivate synthetisiert. Diese wurden systematisch anhand der ursprünglichen Zielverbindung **3** sowohl hinsichtlich der zentralen 1,2,4-Oxadiazol-Einheit als auch bezüglich beider aromatischen Termini (Substituenten am Phenyl-Gerüst und am Thiazol-Gerüst) variiert. Alle 12 weiteren Derivate wurden ebenfalls hinsichtlich ihrer Interaktionen mit Endothiaepsin evaluiert. Zu diesem Zweck wurden röntgenkristallographische Untersuchungen von Co-Kristallen der Derivate in Endothiaepsin durchgeführt. Abschließend wurde die enzymatische Aktivität der Zielverbindung **3** und aller 12 Derivate, sowie der Fragmente **1** und **2** aus dem Fragment-Screening, in einem fluoreszenzbasierten Assay ermittelt und in Relation zu den beobachteten Interaktionen der röntgenkristallographischen Untersuchungen gebracht.

## Abstract

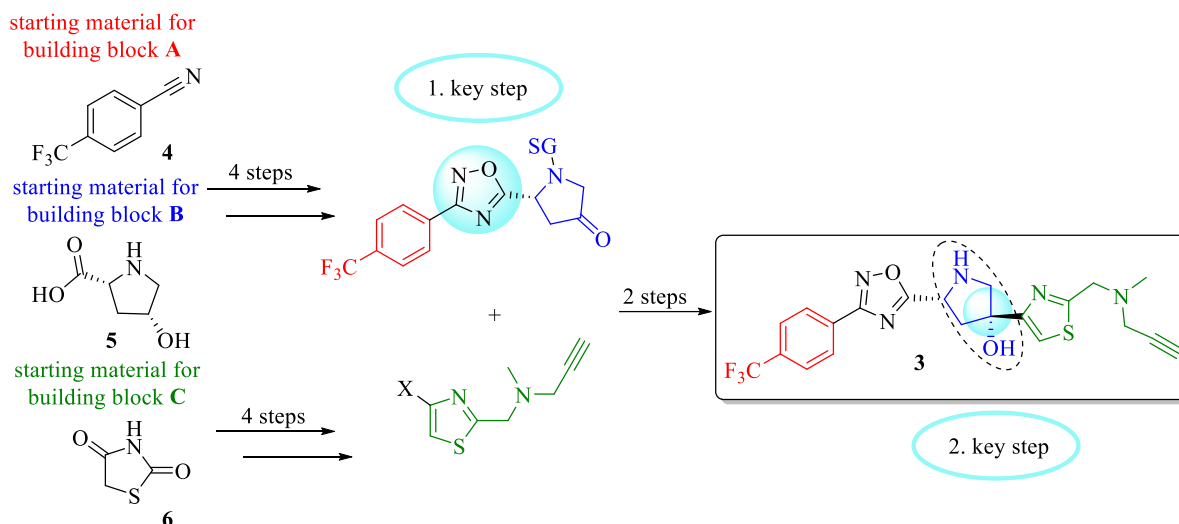
Within the scope of this dissertation, multiple endothiapepsin inhibitors were successfully synthesized, investigated by X-ray crystallography for their interactions in the active site of endothiapepsin and finally tested for their enzymatic activity towards endothiapepsin.

The starting point of this work were fragments **1** and **2**, which were identified as hits in a fragment screening performed by *AnalytiCon Discovery GmbH*. These fragments each exhibited particularly strong interactions on one side of the active site of endothiapepsin. It was therefore proposed that they could be combined to form a merged compound that could be a potentially high-affinity inhibitor of endothiapepsin (target compound **3**).



The identified fragments **1** and **2** from fragment-based screening and the resulting superposition of both to form the potentially high-affinity endothiapepsin inhibitor **3**.

Via the synthesis of three different building blocks **A**, **B** and **C** and the successful merging of these, the proposed target compound **3** resulting from the screening could be obtained over ten convergent steps. The longest linear synthesis sequence over six steps ended up with a yield of 10%. The key steps of the synthetic route were the linkages of the individual building blocks **A**, **B** and **C** through synthesis of the 1,2,4-oxadiazole and a GRIGNARD addition.



Synthetic strategy for the synthesis of the proposed endothiapepsin inhibitor **3** starting from the three reactants of building blocks **A**, **B** and **C**.

After the successful synthesis of the target compound **3** and the successful X-ray crystallographic study of co-crystals with endothiapepsin, a further 12 derivatives were synthesized. These were systematically varied based on the original target compound **3** with respect to the central 1,2,4-oxadiazole moiety and both aromatic terms (substituents on the phenyl backbone and on the thiazole backbone). All 12 derivatives were also evaluated for their interactions with endothiapepsin. For this purpose, X-ray crystallographic studies of co-crystals of the derivatives in endothiapepsin were performed. Finally, the enzymatic activity of target compound **3** and all 12 derivatives, as well as fragments **1** and **2** from fragment screening, was determined in a fluorescence-based assay and related to the observed interactions of the X-ray crystallographic studies.

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	- III -
1. Einleitung .....	- 1 -
1.1. Die Entwicklung der Arzneimittelforschung .....	- 1 -
1.1.1. Anforderungen an Wirk- und Arzneistoffe .....	- 3 -
1.1.2 Strukturbasiertes Wirkstoffdesign .....	- 6 -
1.1.3 Fragmentbasiertes Wirkstoffdesign .....	- 8 -
1.2 Endothiapepsin: Eine Aspartatprotease als Modellenzym .....	- 12 -
1.2.1 Aspartatproteasen als Zielproteine .....	- 12 -
1.2.2 Katalyse.....	- 14 -
1.2.3 Renin und Bluthochdruck .....	- 16 -
1.2.4 Plasmepepsin und Malaria .....	- 19 -
1.2.5 $\beta$ -Sekretase und die Alzheimer-Erkrankung .....	- 23 -
1.2.6 Endothiapepsin.....	- 26 -
1.3 Oxadiazole .....	- 28 -
1.3.1 Das 1,2,4-Oxadiazol-Konstitutionsisomer .....	- 30 -
1.3.2 Das 1,3,4-Oxadiazol-Konstitutionsisomer .....	- 34 -
2. Zielsetzung .....	- 36 -
3. Ergebnisse und Diskussion.....	- 37 -
3.1 Kenntnisstand und die retrosynthetische Analyse von Floxazathin ( <b>3</b> ) .....	- 37 -
3.2 Synthesen zur Zielverbindung Floxazathin ( <b>3</b> ) .....	- 40 -
3.2.1 Synthese des 3,5-disubstituierten 1,2,4-Oxadiazols <b>86</b> .....	- 40 -
3.2.2 Synthese des Thiazols <b>84</b> .....	- 44 -
3.2.3 Verknüpfung des 1,2,4-Oxadiazols <b>86</b> und des Thiazols <b>84</b> .....	- 51 -
3.3 Derivatisierung am Thiazol-Gerüst .....	- 69 -
3.3.1 Ansätze zur späten reduktiven Aminierung .....	- 70 -
3.3.2 Darstellung der Thiazol-Derivate <b>114-116</b> .....	- 75 -
3.4 Derivatisierungen am Phenyl-Gerüst.....	- 82 -
3.4.1 Darstellung der <i>para</i> -substituierten Derivate <b>139-142</b> .....	- 84 -
3.4.2 Darstellung der <i>ortho</i> -( <i>para</i> )-(di)substituierten Derivate <b>143-146</b> .....	- 92 -

---

3.5 Ansätze zur Derivatisierung des 1,2,4-Oxadiazolmotivs .....	- 100 -
3.5.1 Darstellung des 1,3,4-Oxadiazol-Derivates <b>200</b> .....	- 101 -
3.5.2 Ansätze zu acyclischen Amid- und Imidderivaten <b>201-203</b> .....	- 106 -
3.6 Synthese der Fragmente <b>1</b> und <b>2</b> aus dem Screening .....	- 120 -
3.7 Evaluation der enzymatischen Aktivität .....	- 122 -
4. Zusammenfassung und Ausblick .....	- 133 -
4.1 Zusammenfassung .....	- 133 -
4.2 Ausblick .....	- 139 -
5. Experimenteller Teil .....	- 141 -
5.1 Allgemeines .....	- 141 -
5.2 Analytische Methoden und Gerätschaften .....	- 141 -
5.3 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV) .....	- 144 -
5.4 Synthesen von Reagenzien .....	- 148 -
5.5 Spezielle Synthesevorschriften und analytische Daten .....	- 150 -
5.5.1 Synthesen zur Darstellung der Zielverbindung Floxazathin ( <b>3</b> ) .....	- 150 -
5.5.2 Synthesen zur Derivatisierung am Thiazol-Gerüst .....	- 173 -
5.5.3 Synthesen zur Derivatisierung am Phenyl-Gerüst .....	- 193 -
5.5.4 Synthesen zur Derivatisierung des 1,2,4-Oxadiazolmotivs .....	- 243 -
5.5.5 Synthesen zu den Fragmenten <b>1</b> und <b>2</b> .....	- 273 -
5.6 Biochemische Arbeiten .....	- 279 -
5.6.1 Proteingewinnung .....	- 279 -
5.6.2 Affinitätsbestimmung .....	- 279 -
5.7 Kristallisationsarbeiten .....	- 283 -
6. Literaturverzeichnis .....	- 287 -
7. Anhang .....	- 302 -
7.1 Sicherheitshinweise verwendeter Gefahrenstoffe .....	- 302 -
7.2 Entsorgung .....	- 310 -
8. Danksagung .....	- 311 -
9. Eidesstattliche Versicherung .....	- 313 -

**Abkürzungsverzeichnis**

2D (NMR)	zweidimensional	DCE	1,2-Dichlorethan
3D	dreidimensional	DCM	Dichlormethan
$\alpha$	optischer Drehwert	dest.	destilliert
Å	Ångström	DIPEA	Diisopropylethylamin
AI/II/III	Angiotensin I/II/III	DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift	DMD	DUCHENNE-Muskeldystrophie
abs.	absolut	DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
A $\beta$	$\beta$ -Amyloid	DMP	DESS-MARTIN-Periodinan
ACE	Angiotensin- Konversionsenzym	DMS	Dimethylsulfid
AcOH	Essigsäure	DMSO	Dimethylsulfoxid
ADMETox	<i>Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity</i>	DNA	Desoxyribonukleinsäure
APP	Amyloid-Vorläufer Protein	[E]	Enzymkonzentration
ASS	Acetylsalicylsäure	EE	Ethylacetat
a.u.	<i>arbitrary unit</i>	EI	Elektronenstoßionisation
BACE1	<i><math>\beta</math>-site-APP-cleaving enzyme 1</i>	eq.	Äquivalente
Bcl-2	<i>B-cell lymphoma 2</i>	EP	Endothiapepsin
ber.	berechnet	ESI	Elektrosprayionisation
BKR	BOULTON-KATRITZKY- Umlagerung	<i>et al.</i>	<i>et alia</i>
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl	Et	Ethyl
Br-M-	Brom-Metall-	Et <sub>2</sub> O	Diethylether
<i>c</i>	Konzentration	EtOH	Ethanol
Cat D	Cathepsin D	FBDD	<i>fragment-based drug discovery</i>
COSY	<i>correlated spectroscopy</i>	FRET	FÖRSTER- Resonanzenergietransfer
CSA	Camphersulfonsäure	FRIT	<i>fragment hits</i>
CT	Computertomographie	GC	Gaschromatographie
$\delta$	chemische Verschiebung	gef.	gefunden
Da	Dalton	ges.	gesättigt
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid	GHS	<i>Globally Harmonized System</i>
		GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor



HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyl- uroniumhexafluorosphat	MeOH	Methanol
		Mio.	Millionen
HBB	Wasserstoffbrückenbindung	MRH	<i>Monocyclic Rearrangements of Heterocycles</i>
HBTU	2-(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3- tetramethyluronium- hexafluorosphat	MRT	Magnetresonanztomographie
		MS	Massenspektrometrie
		<i>m/z</i>	Masse/Ladungs-Verhältnis
HIV	Humanes Immundefizienz- Virus	n. Chr.	nach Christus
		NCS	<i>N</i> -Chlorsuccinimid
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>	<i>N,N'</i> - DMEDA	<i>N,N'</i> -Dimethylethylendiamin
HRMS	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>	<i>N,N'</i> - DMCDA	<i>N,N'</i> -Dimethylcyclohexan- 1,2-diamin
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>	NFT	Neurofibrillenbündeln
		NIS	<i>N</i> -Iodsuccinimid
HTS	<i>High-Throughput Screening</i>	NMO	<i>N</i> -Methylmorpholin- <i>N</i> -Oxid
Hz	Hertz	NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
IBX	2-Iodoxybenzoesäure	NOESY	<i>Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy</i>
IC <sub>50</sub>	mittlere inhibitorische Konzentration	PCC	Pyridiniumchlorchromat
I-M-	Iod-Metall-	PCR	Polymerase-Kettenreaktion
<sup><i>i</i></sup> Pr	<i>iso</i> -Propyl	PDB	<i>Protein Data Bank</i>
IR	Infrarot	PE	Petrolether
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>	pH	negativer dekadischer Logarithmus der Konzentration der H <sup>+</sup> -Ionen
<i>J</i>	Kopplungskonstante	PM	Plasmeysin
Jhd.	Jahrhundert	ppm	<i>parts per million</i>
Jtd.	Jahrtausend	QSAR	quantitative Struktur- Wirkungsbeziehungen
KK	Kreuzkupplung		
konz.	konzentriert	quant.	quantitativ
Lsg.	Lösung	R	Rest
M	Molar	R <sub>f</sub>	Retentionsfaktor
Me	Methyl		

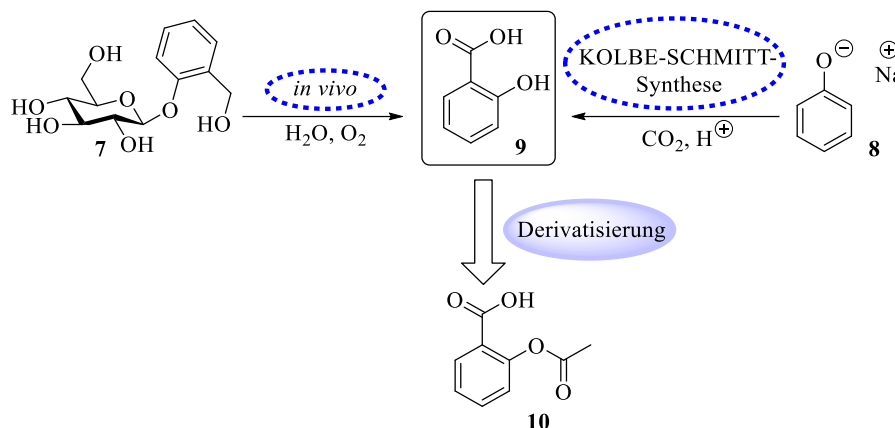
---

RFU	<i>relative fluorescence units</i>
rt	Raumtemperatur
[S]	Substratkonzentration
SAR	Struktur-Aktivitätsbeziehungen
SBDD	<i>Structure-Based Drug Discovery</i>
SEMCl	2-(Trimethylsilyl)- ethoxymethylchlorid
SG	Schutzgruppe
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBTU	2-(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3- tetramethylaminium tetrafluorborat
TCC	Trichlorisocyanursäure
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethyl- piperidinyloxyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilan
TPAP	Tetrapropylammoniumperruthenat
Ts	Tosyl
u.a.	unter anderem
UV	ultraviolett
V	Umsatzrate
v. Chr.	vor Christus
vgl.	vergleiche
WHO	<i>World Health Organisation</i>
z.B.	zum Beispiel

# 1. Einleitung

## 1.1. Die Entwicklung der Arzneimittelforschung

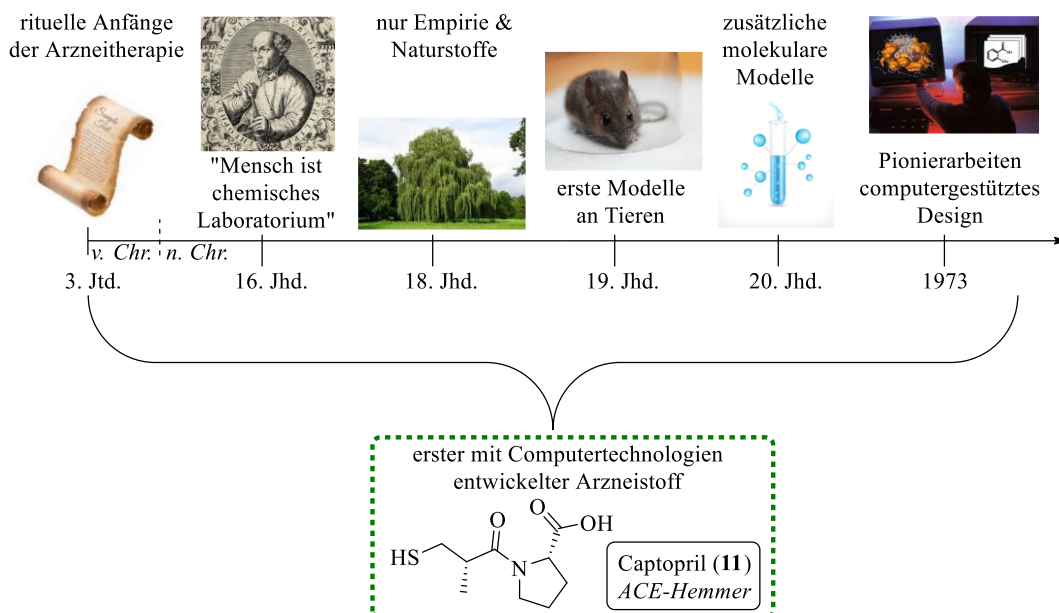
Die Suche nach neuen Wirk- und Arzneistoffen hat sich seit Beginn ihrer Aufzeichnungen stark gewandelt. Erste rituelle Anfänge der Nutzung von Arzneistoffen können durch schriftliche Überlieferungen bereits auf das 3. Jahrtausend v. Chr. datiert werden, die ersten bahnbrechenden Ergebnisse der wissenschaftlichen Arzneimittelforschung folgten hingegen erst im frühen 16. Jahrhundert durch PARACELSDSUS. Dieser betrachtete den Menschen als „chemisches Laboratorium“ und machte Inhaltsstoffe von „Drogen“ für die heilende Wirkung verantwortlich. Trotz der Beobachtungen von PARACELSDSUS basierten bis zum 19. Jahrhundert alle Arzneimitteltherapien auf Empirie unter Verwendung von pflanzlichen Extrakten oder tierischen Inhaltsstoffen und sehr selten auf organischen Reinstoffen.<sup>[1]</sup> Ein bekanntes Arzneibeispiel, an dem leicht eine zeitliche Entwicklung abgelesen werden kann, ist heute als Aspirin® bekannt. Die darin verabreichte Acetylsalicylsäure (ASS (10)) ist das Resultat aus der pharmakologischen Untersuchung verschiedener Derivate der Salicylsäure (9). Deren Vorstufe wurde bereits vor dem 19. Jahrhundert lange Zeit aus Weidenrindenextrakten in Form des Salicins (7) gewonnen, welches im Körper durch Hydrolyse und Oxidation zur wirksamen Salicylsäure (9) wird.<sup>[1,2]</sup> Ausgangspunkt für die industrielle Gewinnung von Salicylsäure war die Entwicklung der KOLBE-SCHMITT-Synthese Mitte des 19. Jahrhunderts.<sup>[3]</sup> Da der Einsatz von Salicylsäure als Wirkstoff jedoch zu Magenreizungen und Erbrechen führt, wurde nach einer schonenderen Alternative gesucht, die mit ASS (10) als Salicylsäure-Derivat gefunden wurde.<sup>[1,2]</sup> Die verschiedenen Wege zur Gewinnung von Salicylsäure (9) und die darauf basierende Derivatisierung zum heute noch verwendeten ASS (10) ist in Schema 1 veranschaulicht. Eine Aufklärung des Wirkungsmechanismus, wie es zur Schmerz- und Fieberlinderung kommt, erfolgte deutlich später durch S. K. BERGSTRÖM, B. I. SAMUELSSON und J. R. VANE, welche 1982 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurden.<sup>[4]</sup>



**Schema 1:** Die verschiedenen Wege zur Gewinnung von Salicylsäure (9) aus dem Naturstoff Salicin (7) (links) und ab Mitte des 19. Jahrhunderts großtechnisch durch die KOLBE-SCHMITT-Synthese (rechts). Durch die Möglichkeit zur Derivatisierung wurde das magenschonendere ASS (10) entdeckt.<sup>[1]</sup>

Große Fortschritte in der wissenschaftlichen Arzneimittelforschung konnten ab dem 19. Jahrhundert verzeichnet werden, als erste Experimente an Tieren als Modelle hinzukamen. Eine Ergänzung der Modelle erfolgte durch molekulare *in vitro*-Testsysteme Mitte des 20. Jahrhunderts. Dabei fand die Prüfung der biologischen Wirksamkeit fortan zuerst im Reagenzglas statt, bevor erfolgsversprechende Wirkstoffe anschließend *in vivo* getestet wurden. Die ersten molekularen Testmodelle waren Enzym-Hemmtests. Dabei konnten die potenziellen Wirkstoffe frei von allen störenden Nebeneffekten untersucht werden, und Zeit sowie Kosten geringer gehalten werden. Zusätzlich konnte dadurch eine bessere Vergleichbarkeit der getesteten Verbindungen untereinander erzielt werden.<sup>[1]</sup> Mit zunehmender Entwicklung von Computern und leistungsfähigerer Software wurden in den letzten Jahrzehnten auch die Ansätze des computergestützten Designs durch experimentelle und theoretische Methoden immer größer. Methoden wie *molecular modelling*, quantitative Struktur-Wirkungsbeziehungen (QSAR) und die Visualisierungsmöglichkeiten im Rahmen der Proteinkristallographie sind bei der heutigen Suche nach neuen Wirkstoffen nicht mehr wegzudenken. Kombiniert mit den Fortschritten der Gentechnik (u.a. die Aufklärung der 3D-Struktur von Desoxyribonukleinsäure (DNA), die Möglichkeit zur Rekombination des Erbguts und die Entwicklung der Polymerase-Kettenreaktion (PCR)) können Wirkstoffe so bereits vor ersten *in vivo*-Tests sehr genau untersucht werden.<sup>[1]</sup> Der erste Arzneistoff, der mit Hilfe dieser Technologien entwickelt wurde, war der Blutdrucksenker Captopril (11), dessen Struktur 1977 veröffentlicht wurde.<sup>[1,5]</sup> Er fungiert als Hemmer des Angiotensin-Konversionsenzym (ACE). Der entscheidende Durchbruch gelang nach der Modellierung des aktiven Zentrums der Carboxypeptidase A, wofür die benötigte Kristallstruktur (3D-Struktur) seit 1967 bekannt ist.<sup>[6]</sup> Die Carboxypeptidase A ist wie ACE selbst eine Zinkprotease, welcher schon damals ein ähnliches aktives Zentrum und ein ähnlicher Katalysemechanismus zugeschrieben wurde.<sup>[7]</sup>

In der nachfolgenden Abbildung 1 ist eine zeitliche Übersicht der zuvor beschriebenen Arzneimittelforschung sowie die Struktur des ersten mit Computertechnologien entwickelten Arzneistoffs Captopril (**11**) gegeben.



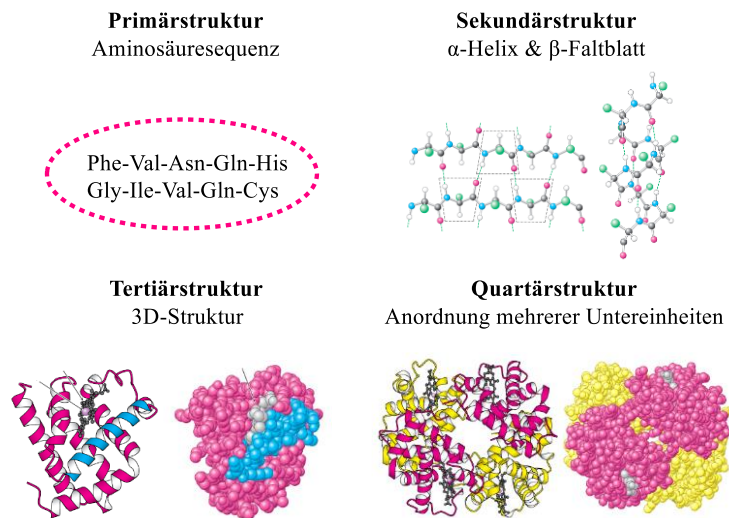
**Abbildung 1:** Zeitliche Übersicht über die Entwicklung der Arzneimittelforschung und die resultierende Struktur des ersten mit Computertechnologien entwickelten Arzneistoffs Captopril (**11**).<sup>[1]</sup>

### 1.1.1. Anforderungen an Wirk- und Arzneistoffe

Naturstoffe haben die Grundlagen für einen Großteil der Arzneistoffe gelegt. Dabei bedient sich die Natur bei biologisch wirksamen Naturstoffen an zwei orthogonalen Prinzipien zur Wirkungsweise, die in ihren Grundzügen auch bei der rationalen Arzneimittelforschung berücksichtigt werden müssen. Zum einen betrifft dieses die Spezifität der Wirkung und zum anderen die ausgeprägte räumliche Trennung der Wirkung.<sup>[1]</sup> Ein zu entwickelnder Wirkstoff muss demnach spezifisch genug sein, um am richtigen Ort wirken zu können. Zudem sollten dadurch Nebenwirkungen möglichst minimiert werden, so dass andere, im Organismus ablaufende Prozesse nicht negativ beeinflusst werden. Bei der gezielten Entwicklung eines Arzneistoffs, muss vorab die Frage geklärt werden, wie dieser überhaupt im Körper wirkt. Um seine Wirkung dann entfalten zu können, muss ein Wirkstoff an ein bestimmtes Zielmolekül binden, welches meistens ein Protein oder seltener auch eine Nukleinsäure ist.<sup>[1]</sup>

Proteine sind die vielseitigsten, über Peptidbindungen verknüpften Makromoleküle in lebenden Systemen und an nahezu allen zellulären Prozessen beteiligt. Sie können Stoffwechselprozesse katalysieren, Moleküle lagern und transportieren, sie unterstützen das Immunsystem, kontrollieren Wachstum sowie Differenzierung und übermitteln Nervenimpulse. Im Falle von katalytisch wirkenden Proteinen wird auch von Enzymen (Biokatalysatoren) gesprochen.<sup>[8,9]</sup>

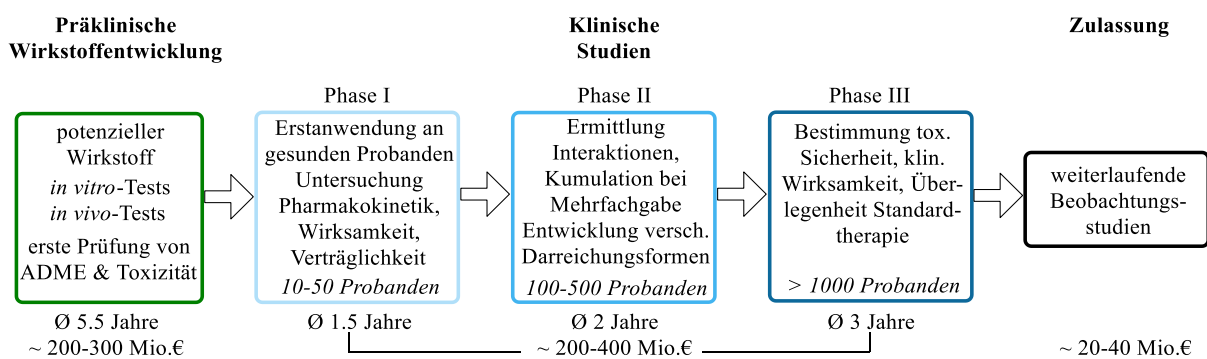
Jedes Protein ist individuell in seiner Struktur und kann grundsätzlich über die vier Proteinstrukturebenen beschrieben werden. Die Primärstruktur beschreibt dabei die Abfolge der Aminosäuresequenz, und die Sekundärstruktur beschreibt die Konformationen lokaler Regionen im Protein. Durch die Primärstruktur wird auch gleichermaßen die Tertiärstruktur inklusive der Form des aktiven Zentrums bei Enzymen bestimmt. Die Tertiärstruktur gibt die räumliche Anordnung der Aminosäurereste innerhalb eines Proteins wieder, wohingegen die Quartärstruktur die räumliche Anordnung verschiedener Untereinheiten beschreibt.<sup>[9,10]</sup> In Abbildung 2 sind die vier Proteinstrukturebenen zur Verdeutlichung graphisch dargestellt.



**Abbildung 2:** Graphische Verdeutlichung der vier Proteinstrukturebenen.<sup>[9]</sup>

Die wichtigsten Voraussetzungen für die Bindung eines Wirkstoffs an ein Zielprotein sind die richtige Größe und Gestalt und die passenden Oberflächeneigenschaften (Hydrophilie vs. Lipophilie), damit spezifische Wechselwirkungen (elektrostatische Interaktionen, Wasserstoffbrückenbindungen (HBBs), VAN-DER-WAALS-Bindungen und hydrophobe Wechselwirkungen) auftreten können. Bei den Ergebnissen der moderneren Arzneimittelforschung liegt durch die computergestützten Methoden ein Schwerpunkt auf der Spezifität und Affinität von Wirkstoffen, jedoch kommt es häufig vor, dass hochaffine und spezifische Wirkstoffe am falschen Wirkort oder gar nicht erst im Körper wirken. Auch sind die möglichen toxischen Eigenschaften eines Wirkstoffs auf den Organismus nicht zu vernachlässigen. Ein weit verbreitetes Konzept zur Beschreibung pharmakokinetischer Eigenschaften ist das ADME-Konzept. Dieses beschreibt alle Vorgänge über die Aufnahme (A für *absorption*), die Verteilung (D für *distribution*), den Metabolismus (M für *metabolism*) und die Ausscheidung (E für *excretion*) eines Wirkstoffs im Körper.<sup>[1]</sup>

Da der experimentelle Aufwand für den Nachweis der pharmakokinetischen Eigenschaften sehr groß und teuer ist, wird er nur für die wenigen Verbindungen durchgeführt, die für eine klinische Entwicklung vorgesehen sind. Dabei besteht die Gefahr, dass erst zu einem späten Zeitpunkt etwaige ungenügende pharmakokinetische Eigenschaften festgestellt werden. Zwar werden heutzutage durch die Ableitung allgemeiner Regeln (z.B. *LIPINSKI's rule of five*),<sup>[11]</sup> die gesammelten Erfahrungen und durch den Einsatz darauf basierender Computermodelle schon bei der Wirkstoffsuche die Pharmakokinetik und die ADME-Parameter berücksichtigt. Wie geeignet ein Wirkstoff jedoch wirklich für die Anwendung im Menschen ist, kann nur durch aufwendige und zeitintensive (prä)klinische Studien festgestellt werden. Der Weg von dem Beschluss zur Entwicklung eines Wirkstoffs bis zur Einführung als Arzneimittel liegt im Durchschnitt bei 12 Jahren.<sup>[12]</sup> Potenzielle Wirkstoffe müssen dabei mehrere Phasen klinischer Studien durchlaufen, bis sie als Arzneimittel zugelassen werden dürfen. Die unterschiedlichen Phasen sind in Schema 2 zusammengefasst.



**Schema 2:** Übersicht über die Phasen von einem potenziellen Wirkstoff bis zur Zulassung als Arzneistoff.<sup>[12,13]</sup>

Durch die vorausgegangenen Erörterungen sollte deutlich geworden sein, dass potente Wirkstoffe für ein bestimmtes Zielmolekül nicht automatisch guten Arzneimitteln entsprechen. Die nachfolgend beschriebenen Ansätze zu strukturbasiertem und fragmentbasiertem Wirkstoffdesign sind zwei Ansätze der modernen präklinischen Wirkstoffentwicklung. Sie verfolgen dabei das Ziel einer möglichst maßgeschneiderten Passform eines Wirkstoffs für ein Zielprotein und einer sehr hohen Spezifität gegenüber diesem. Zwar unterliegen auch diese Ansätze der Gefahr einer verspäteten Feststellung ungenügender pharmakokinetischer Eigenschaften, jedoch wird diese durch die dabei verwendeten Methodiken bestmöglich gering gehalten. Das fragmentbasierte Wirkstoffdesign beruht dabei auf den Grundlagen des strukturbasierten Wirkstoffdesigns.

### 1.1.2 Strukturbasiertes Wirkstoffdesign

Das strukturbasierte Wirkstoffdesign (*structure-based drug discovery*, SBDD) ist ein iterativer Prozess, der erstmalig in den frühen 1970er Jahren beschrieben wurde.<sup>[14,15]</sup> Er setzt das Wissen über die Kristallstruktur eines Zielproteins oder der eines Modellproteins voraus.<sup>[14]</sup> Modellproteine können in enger Beziehung stehende Homologe des Zielproteins sein, deren Kristallstruktur bekannt ist. Sie gehören zur gleichen Proteinfamilie wie das eigentliche Zielprotein und sollten eine möglichst hohe Sequenzhomologie aufweisen, insbesondere am aktiven Zentrum bei Enzymen. Eingesetzt werden sie, da sie häufig Vorteile einer leichteren Zugänglichkeit mit sich bringen (ein Beispiel siehe Kapitel 1.2.6). Sie sind daher vor allem für anfängliche große Screenings geeignet.<sup>[16,17]</sup> Als weitere Möglichkeit können Modelle für ein Zielprotein aus bekannten Proteinen der gleichen Klasse abgeleitet werden (Homologie-modellierung), wobei bei 90% Sequenzidentität Modelle mit sehr kleinen Fehlern erstellt werden können. Die Genauigkeit nimmt mit Abnahme der Sequenzidentität ab, unterhalb von 25-30% Sequenzidentität wird eine Modellierung schwierig.<sup>[1]</sup> Bei der Kristallstrukturanalyse werden allgemein Streuexperimente mit Röntgenstrahlung an Einkristallen durchgeführt, die nach verschiedenen Strukturberechnungs- und Modifikationsverfahren zu Elektronendichtekarten führen. In diese können anschließend die Proteinsequenzen eingefügt werden, was das Wissen über die Sequenzen voraussetzt. Die Kristallisation von Einkristallen für die Streuexperimente setzt dabei viel Erfahrung und Fingerspitzengefühl voraus. Es gelingt bis heute nicht pauschal für alle Proteine, und dauert teilweise Jahre, bis ein Kristall so gut ist, dass er verwendet werden kann. Sie stellt somit den limitierenden Faktor dar.<sup>[1]</sup> Der Ansatz des SBDD und das weitere Vorgehen dabei ist in Abbildung 3 veranschaulicht.

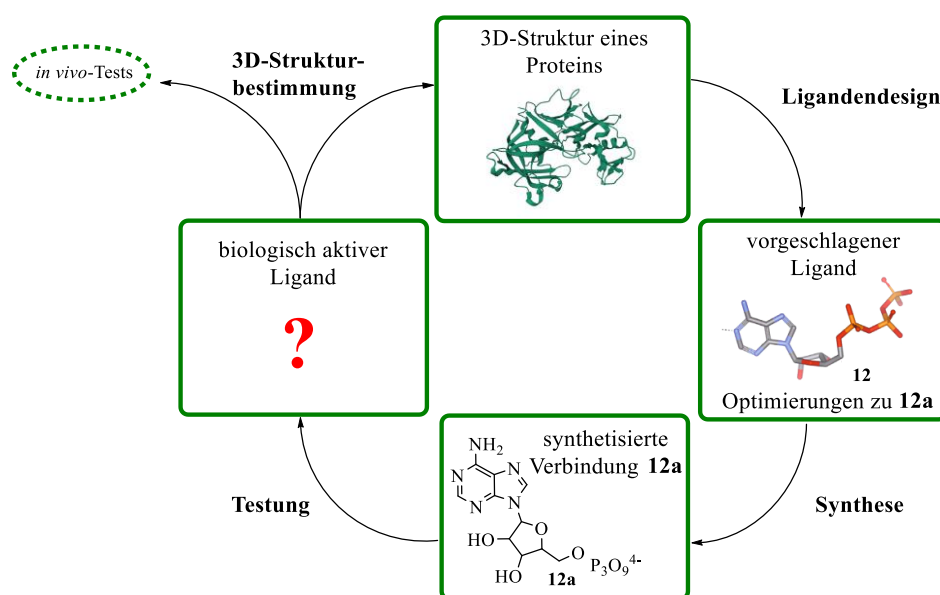
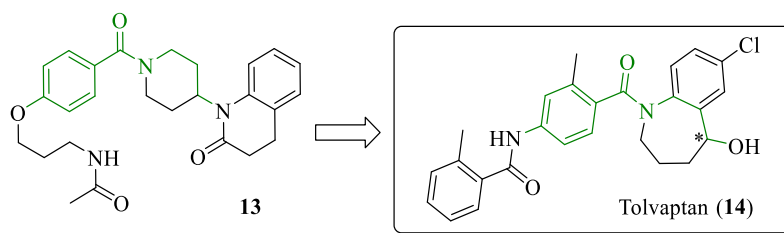


Abbildung 3: Veranschaulichtes Vorgehen des strukturbasierten Wirkstoffdesigns.<sup>[1]</sup>



Im besten Fall enthält die für das SBDD verwendete Proteinkristallstruktur bereits einen komplexierten Liganden (Molekül, welches ein möglicher Wirkstoff ist). So sind Bindungsmodus und Konformation bekannt und essenzielle Aspekte, wie quantitative Struktur-Wirkungsbeziehungen (3D-QSAR) und die Bindungsaffinität, können ermittelt werden. Daraus lassen sich erste wichtige Wechselwirkungen zwischen Protein und Ligand ableiten.<sup>[1,14]</sup> Basierend auf diesen Ergebnissen können dann in weiteren Schritten Optimierungen dieses Liganden mit alternativen funktionellen Gruppen oder komplett neue Liganden *in silicio* für das Protein generiert werden, die im besten Fall zu noch besseren Wechselwirkungen und Spezifitäten führen. Unterstützt wird der Prozess dabei durch Computermethoden. Diese nutzen Informationen aus der Geometrie des aktiven Zentrums der untersuchten komplexierten Proteinstruktur, berücksichtigen die Ähnlichkeit der Molekülform mit anderen, bereits bekannten komplexierten Liganden, und beachten die festgestellten (essenziellen) Interaktionen zwischen Ligand(en) und Protein. Die vorgeschlagene neue Struktur für einen Liganden sollte anschließend auf ihre synthetische Umsetzbarkeit evaluiert werden, dann synthetisiert und auf ihre biologische Aktivität getestet werden. Durch die daraus erhaltenen Ergebnisse lassen sich neue Rückschlüsse für weitere Optimierungen oder folgende *in vivo*-Tests ziehen. Im Anschluss kann der Zyklus bei unzureichenden Ergebnissen von vorne beginnen.<sup>[14]</sup>

Seit der Einführung und Verbreitung automatisierter Testsysteme (*high-throughput screening*, HTS) in den 1990er Jahren hat das strukturbasierte Wirkstoffdesign durch die besonders hohen Durchsätze einen weiteren Aufschwung erfahren. Innerhalb weniger Tage können mehrere hunderttausend Verbindungen aus einer einzelnen Molekül-Bibliothek gescreent werden.<sup>[1]</sup> Die Erfolgsraten für Treffer (*hits*, wechselwirkende Substanzen) liegen dabei bei ~50%.<sup>[18]</sup> Das erste erfolgreiche Beispiel einer derartigen Wirkstoffentwicklung stammt aus dem Jahr 1991.<sup>[19]</sup> Durch das damals erstmalig angewandte Screening und die anschließende Optimierung konnte Tolvaptan (**14**), ein Antagonist für einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor (GPCR), der gegen Störungen des Wasserhaushalts (Hyponatriämie) wirkt, als Wirkstoff identifiziert werden.<sup>[18]</sup> Seit 2015 ist dieser in der EU als Jincarc® zugelassen.<sup>[20]</sup> In Schema 3 ist die aus einem ersten Screening optimierte Struktur **13** und der daraus resultierende Wirkstoff Tolvaptan (**14**) veranschaulicht, wobei die relevante Molekülsequenz des ursprünglichen Screenings farblich hervorgehoben ist.



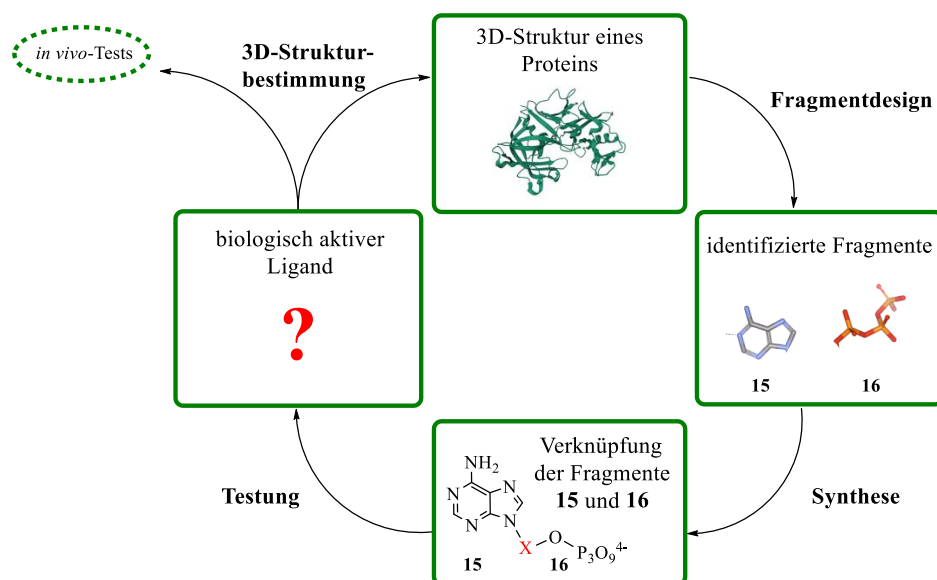
**Schema 3:** Erstes Beispiel für den Erfolg eines *high-throughput screenings*. Gezeigt ist die nach einem ersten Screening optimierte Verbindung **13** und der daraus resultierende Arzneistoff Tolvaptan (**14**) nach weiteren Optimierungen.

### 1.1.3 Fragmentbasiertes Wirkstoffdesign

Fragmentbasiertes Wirkstoffdesign (*fragment-based drug discovery*, FBDD) nutzt einen abgewandelten Ansatz des SBDDs. Den Startpunkt bilden dabei nicht direkt Liganden, sondern deutlich kleinere Moleküle, sogenannte Fragmente.<sup>[21]</sup> Diese Fragmente haben generell weniger als 20 Atome neben Wasserstoffatomen und somit deutlich kleinere Molekulargewichte (100-300 Da) als Liganden.<sup>[21-23]</sup> Für sie gilt abweichend von „*LIPINSKI's rule of five*“ die „*rule of three*“.<sup>[22]</sup> Einen Vorteil, den sich FBDD zunutze macht, ist das Konzept der molekularen Komplexität.<sup>[24]</sup> Je komplexer Moleküle sind, desto mehr Interaktionen können sie mit Zielproteinen eingehen. Interaktionen können sowohl günstig als auch ungünstig sein. Das Risiko einer ungünstigen Interaktion ist bei größeren Molekülen deutlich größer, was schnell zum Ausschluss des Moleküls führen kann. Hinzu kommt, dass bei kleineren Molekülen mit weniger Interaktionen insgesamt mehr Bindungsereignisse an unterschiedlichen Stellen und verschiedenen Zielproteinen auftreten und somit tendenziell höhere Trefferquoten resultieren. Die Bindungsaffinitäten sind bei diesem Ansatz zu Beginn deutlich kleiner, können aber durch verschiedene Ansätze optimiert werden.<sup>[21]</sup> Ein weiterer Vorteil sind die kleineren Fragment-Bibliotheken, die auch von kleinen Unternehmen und Forschungseinrichtungen leichter verwendet werden können. Die meisten Fragment-Bibliotheken bestehen im Vergleich zu HTS-Bibliotheken aus nur einigen tausend Molekülen.<sup>[21]</sup>

Ein Unternehmen, das sich u.a. mit FBDD beschäftigt ist die *AnalytiCon Discovery GmbH*. Diese hat sich seit ihrer Gründung im Jahre 2000 unterschiedliche Bibliotheken basierend auf Naturstoffen, Macrocyclen und synthetischen Fragmenten aufgebaut. Die verschiedenen Bibliotheken umfassen gemeinsam um die 50.000 organische Moleküle. Die *AnalytiCon Discovery GmbH* arbeitet in enger Kooperation mit mehr als 100 verschiedenen Kunden, und hat eigene Forschungsschwerpunkte bei Krebserkrankungen und Radiopharmazeutika für die Krebsdiagnose sowie bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen. Durch ihre vorhandene Fragment-Bibliothek haben sie im Wesentlichen zur Entstehung der dieser Arbeit zugrundeliegenden Idee beigetragen (siehe Zielsetzung in Kapitel 2).<sup>[25]</sup>

Zur Identifizierung von Fragmenten für die Eignung von Bibliotheken gibt es grundsätzlich vier Techniken. Sie können über direkte Affinitätsassays bei hohen Konzentrationen, über NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie sowie über Kristallstrukturanalysen identifiziert werden.<sup>[26]</sup> Der allgemeine Ansatz des FBDD ist in Abbildung 4 skizziert.



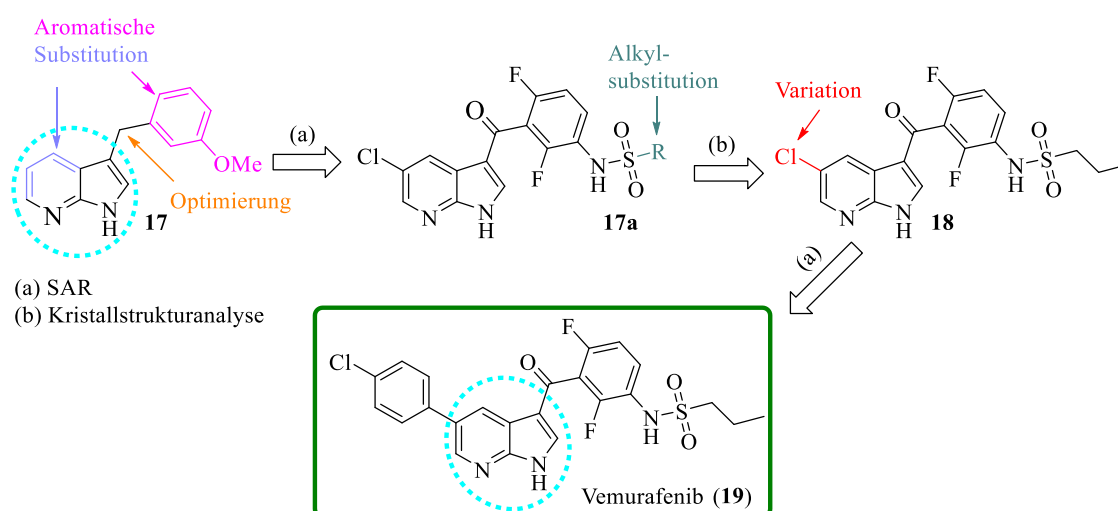
**Abbildung 4:** Veranschaulichtes Vorgehen des fragmentbasierten Wirkstoffdesigns.

Der große Durchbruch des FBDD gelang 1996, als es möglich war, durch Struktur-Aktivitätsbeziehungen mittels NMR-Spektroskopie (SAR-NMR) Aussagen über Bindungen einzelner Fragmente an Proteine zu treffen.<sup>[27]</sup> Dabei werden Fragmente mittels 2D-NMR-Spektroskopie ( $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ -HSQC) auf ihre Bindung zu einem Protein untersucht, die gebunden bzw. ungebunden unterschiedliche Signale im NMR-Spektrum liefern. Durch diese Methode können in kurzer Zeit viele Fragmente untersucht werden. Sie ist sehr empfindlich, erkennt auch schwache Bindungen und gibt die Möglichkeit für Rückschlüsse auf den Ort der Bindung von Fragment und Protein.<sup>[21,27]</sup>

Sind potenzielle Fragmente (*fragment hits*, *frits*) für ein zu untersuchendes Zielprotein gefunden, können diese durch verschiedene Strategien zu potenziell hochaffinen Wirkstoffen kombiniert werden.<sup>[21,28]</sup> Beim *fragment growing* werden schrittweise Atome an ein Fragment addiert. Beim *fragment linking* bzw. *fragment merging* werden zwei oder mehr Fragmente, die an unterschiedliche Stellen eines Zielproteins binden, verknüpft. Häufig ist das *fragment linking* dabei noch mit einer Verknüpfung der Fragmente durch andere kleine Moleküle assoziiert, wohingegen beim *fragment merging* eine direkte Verknüpfung durch überlappende Bereiche stattfinden kann. Die Abgrenzung zwischen den Begrifflichkeiten ist allerdings nicht klar definiert.<sup>[21,23]</sup> Inzwischen haben mehr als 40 aus dem FBDD resultierende Wirkstoffkandidaten

klinische Phasen erreicht, wobei den meisten dieser Ansätze das *fragment growing* zugrunde liegt.<sup>[23]</sup> Zwei der erfolgreichsten zugelassenen Wirkstoffe bis heute sind Vemurafenib (**19**) und Venetoclax (**26**), auf die nachfolgend genauer eingegangen wird.<sup>[21]</sup>

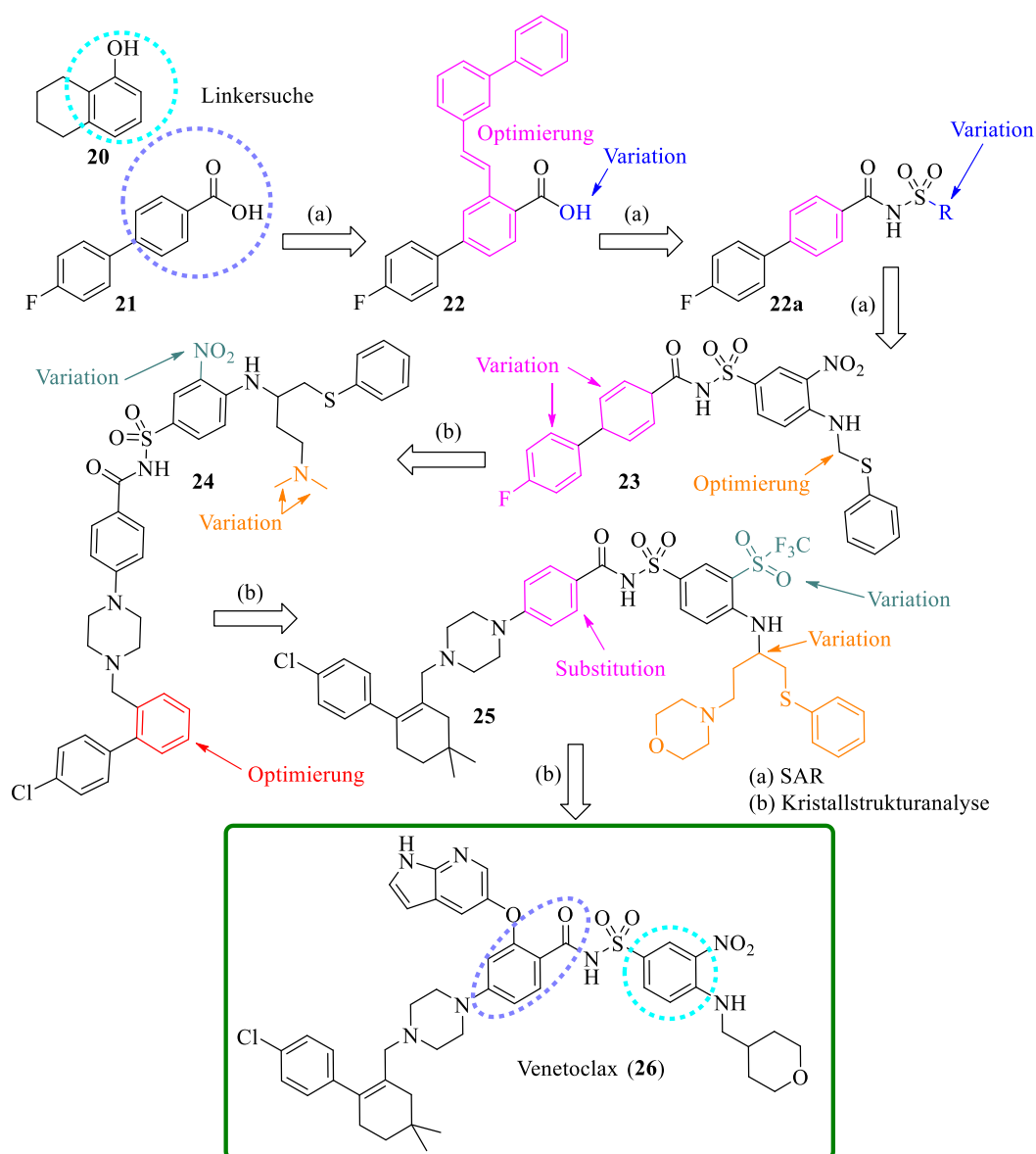
Vemurafenib (**19**) ist ein Proteinkinaseinhibitor zur Behandlung von metastasierenden Melanomen und ist seit 2011 in den USA und seit 2012 in Europa als Zelboraf® zugelassen.<sup>[23,29]</sup> Dieser Wirkstoff ist das Ergebnis des ersten erfolgreichen Ansatzes des FBDDs und basiert auf dem *fragment growing*. Als Schlüsselfragment wurde ein 3-substituierter 7-Azaindolkern **17** identifiziert, der durch schrittweise Diversifizierung zu Vemurafenib (**19**) verfeinert wurde.<sup>[30]</sup> Die Verbindung **19** wurde 2007 patentiert und ursprünglich in einer sechsstufigen Synthese dargestellt.<sup>[30,31]</sup> Eine kürzere Syntheseroute gelang im Anschluss mit vier Stufen, wobei diese gleichzeitig Produktmengen im Dekagramm-Bereich mit einer Gesamtausbeute von 19% lieferte.<sup>[30,32]</sup> In Schema 4 ist die schrittweise Strukturoptimierung zu Vemurafenib (**19**) übersichtlich zusammengefasst.



**Schema 4:** Strukturoptimierung des durch fragmentbasiertes Wirkstoffdesign identifizierten 3-substituierten 7-Azaindolkerns **17** zu Vemurafenib (**19**).<sup>[30]</sup>

Das zweite Wirkstoffbeispiel Venetoclax (**26**) ist ein Inhibitor für das Bcl-2-Protein (*B-cell lymphoma 2*), welches u.a. die Apoptose reguliert und in vielen Krebszellen verschiedener Arten überproduziert wird. Es wird zur Behandlung von chronisch lymphatischer Leukämie seit 2016 in den USA und seit 2018 uneingeschränkt in der EU unter dem Handelsnamen Venclexta® eingesetzt.<sup>[33–35]</sup> Als Schlüsselfragmente wurden durch FBDD ein Tetrahydronaphthol-Fragment **20** und ein *para*-fluoriertes Biarylbenzoesäure-Fragment **21** für jeweils einen Teil des aktiven Zentrums identifiziert, die über die *fragment linking* Strategie verknüpft werden sollten.<sup>[21,34]</sup> Die Optimierung zum Wirkstoff Venetoclax (**26**) war im Vergleich zu Vemurafenib (**19**) deutlich aufwendiger. Zusätzlich mussten hier geeignete Linker

für die Fragmente gefunden werden, die neben den Interaktionen der einzelnen Fragmente auch hinreichend untersucht und angepasst werden mussten. Hinzu kamen die schrittweisen Optimierungen einzelner funktioneller Gruppen.<sup>[34,36]</sup> Aufgrund der Molekülkomplexität und der aufwendigen Untersuchungen der Moleküle dauerte es ausgehend von der Initiierung über 20 Jahre bis zur Zulassung des Wirkstoffes Venetoclax (**26**).<sup>[21]</sup> Die Verbindung **26** wurde 2013 patentiert und konnte in einer konvergenten Synthese mit insgesamt 14 Stufen und einer längsten linearen Syntheseroute von acht Stufen, sowie der Verknüpfung von drei Fragmenten dargestellt werden.<sup>[33,37]</sup> Im Anschluss konnte die Synthese auf elf Schritte mit sieben linearen Schritten (47% Ausbeute über sieben Schritte) als längste Synthesesequenz über die Verknüpfung von drei Fragmenten optimiert werden.<sup>[38]</sup> Die vorgenommene Struktur-optimierung zum Wirkstoff Venetoclax (**26**) ist in Schema 5 übersichtlich veranschaulicht.



**Schema 5:** Strukturoptimierung der durch fragmentbasiertes Wirkstoffdesign identifizierten Fragmente **20** und **21** zu Venetoclax (**26**).<sup>[34,36]</sup>

## 1.2 Endothiapepsin: Eine Aspartatprotease als Modellenzym

### 1.2.1 Aspartatproteasen als Zielproteine

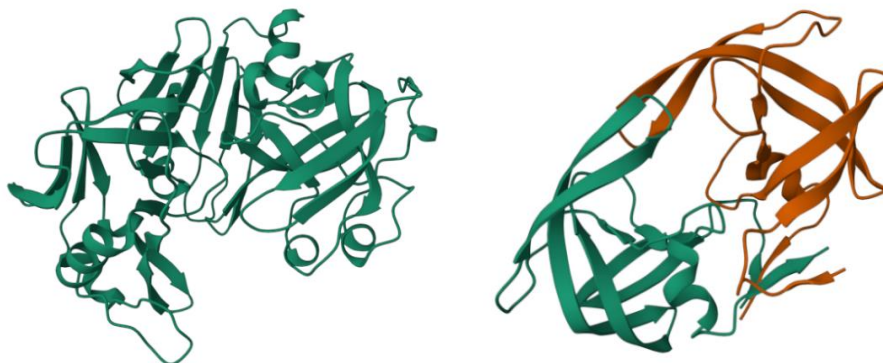
Aspartatproteasen zählen zu der Enzymklasse der Peptidasen (auch Proteasen), welche die Hydrolyse von Peptidbindungen katalysieren.<sup>[39]</sup> Peptidasen stellen eine große Gruppe von Proteinen dar (ca. 2% aller Genprodukte), weshalb sie als therapeutische Zielmoleküle immer wieder in den Fokus der Forschung gelangen.<sup>[39,40]</sup> Bereits 2014 wurden 14% aller bekannten humanen Peptidasen als mögliche Zielproteine für die Arzneimitteltherapie geprüft.<sup>[1]</sup> Sie lassen sich grundsätzlich in Endo- und Exopeptidasen unterteilen. Endopeptidasen spalten bevorzugt Peptidbindungen innerhalb eines Peptidsubstrats und Exopeptidasen endständige Peptidbindungen eines Substrats. Wegen der genaueren Passform eines Substrats für eine innenliegende Peptidspaltung können Endopeptidasen im Vergleich zu Exopeptidasen als deutlich substratspezifischer betrachtet werden. Letztere agieren vergleichsweise substratunspezifisch.<sup>[41]</sup> Aufgrund ihrer strukturellen und mechanistischen Unterschiede lassen sich Peptidasen noch weiter in Serin-, Cystein-, Threonin-, Glutamin-, Asparagin-, Metallo- und Aspartatproteasen klassifizieren.<sup>[39]</sup>

Die Bezeichnung der Aspartatproteasen ist auf die zwei im aktiven Zentrum befindlichen Aspartatreste zurückzuführen, die den Katalyse-Mechanismus aller Aspartatproteasen wesentlich beeinflussen. Sie gehören zu den substratspezifischen Endopeptidasen und sind in Pflanzen, Pilzen, Retroviren und Wirbeltieren sowie dem Menschen zu finden.<sup>[1,39,42]</sup> Im Vergleich zu den Serin-, Cystein- und Metalloproteasen stellen sie eine deutlich kleinere Proteaseklasse dar und umfassen 15 Mitglieder im menschlichen Genom.<sup>[1]</sup> Ihre vergleichsweise geringe Verbreitung ist auf ihre Eigenschaften im aktiven Zentrum zurückzuführen, da dieses bei den Aspartatproteasen ein in der Natur selten vorkommendes saures Milieu erfordert. Dennoch haben sie Schlüsselrollen in vielen physiologischen und pathologischen Prozessen und werden z.B. als Labprodukt bei der Käseherstellung verwendet.<sup>[39,43]</sup> Das dafür gebräuchliche Chymosin wurde ursprünglich aus Kalbsmägen gewonnen.<sup>[44]</sup> Seit den 1990er Jahren kann es ebenfalls gentechnisch gewonnen werden.<sup>[44,45]</sup> Tabelle 1 gibt eine Übersicht über einige Aspartatproteasen und ihrer wesentlichen Funktionen.<sup>[1,42,43]</sup>

**Tabelle 1:** Übersicht über einige Aspartatproteasen und ihrer Funktionen.<sup>[1,42,43]</sup>

Enzym	Funktion
Plasmeypsin	Hämoglobinabbau
β-Sekretase	Proteolytische Veränderung von Membranproteinen
Renin	Regulierung des Blutdrucks
Cathepsin D	Proteolyse in Lyosomen (Gewebeabbau)
Pepsin	Proteinverdauung im Magen
HIV-Protease	Verarbeitung viraler Polyproteine für Virion-Aufbau
Endothiapepsin	Extrazelluläre Proteolyse durch <i>Endothia parasitica</i>

Die meisten eukaryotischen Aspartatproteasen bestehen aus einer einzelnen Peptidkette mit Molekulargewichten von ca. 35.000 Da und einer Länge von ca. 330 Aminosäuren.<sup>[42,46]</sup> Zudem zeigen sie strukturelle Ähnlichkeiten in ihrer Primär- und Tertiärstruktur und erfordern aufgrund ihrer hydrolytischen Aktivität niedrige *pH*-Werte.<sup>[39,43]</sup> Viele von ihnen werden zunächst innerhalb eines Organismus als inaktive Zymogene synthetisiert, die erst durch eine Aktivierung ihre enzymatische Wirkung entfalten können.<sup>[42]</sup> Eine Aktivierung kann bspw. durch andere Proteasen oder durch eine saure autokatalytische Proteolyse erfolgen.<sup>[8,39,47]</sup> Bei Aspartatproteasen mit monomerer Peptidkette bildet diese zwei ähnliche Domänen, wobei jede Domäne einen der im aktiven Zentrum befindlichen Aspartatreste beherbergt. Im Vergleich zu den Zymogenen sind die Aspartate des aktiven Zentrums in den aktiven Aspartatproteasen geometrisch dichter angeordnet. Ein Aspartat liegt ionisiert vor, das andere liegt bei einem optimalen *pH*-Wert nicht ionisiert vor.<sup>[39]</sup> Der detaillierte Katalysemechanismus ist in Kapitel 1.2.2 beschrieben. Retrovirale Aspartatproteasen bestehen hingegen grundsätzlich aus dimeren Peptiden mit zwei identischen Untereinheiten, wobei jede dieser Untereinheiten wiederum sehr ähnlich zu jeweils einer Domäne eukaryotischer Aspartatproteasen aufgebaut ist.<sup>[39]</sup> Beispielhaft sind in Abbildung 5 die Kristallstruktur einer eukaryotischen und einer retroviralen Aspartatprotease gezeigt.

**Abbildung 5:** Die Kristallstruktur von humanem Pepsin (1PSN, links) und die einer HIV-Protease (2P3B, rechts) zur Verdeutlichung der Domänen bzw. Untereinheiten.<sup>[48]</sup>

Erste intensive Untersuchungen innerhalb der Enzymklasse der Aspartatproteasen fanden bereits im 19. Jahrhundert am Verdauungsenzym Pepsin statt, welches in Wirbeltieren vorkommt.<sup>[1,49]</sup> Es wurde 1836 erstmals von T. SCHWANN beschrieben. Er beschrieb 1836 auch bereits eine „eigentümliche Umwandlung durch Salzsäure“, unwissentlich, dass es sich dabei um das Zymogen Pepsinogen handelte.<sup>[50]</sup> 1934 wurde das erste röntgenkristallographische Beugungsmuster von Schweinepepsin, und damit das erste Beugungsmuster einer Aspartatprotease, von J.D. BERNAL und D. CROWFOOT beschrieben.<sup>[42,46,51]</sup> Schweinepepsin war auch gleichermaßen die erste sequenzierte Aspartatprotease.<sup>[46]</sup> Die Bestimmung der 3D-Struktur von Schweinepepsin folgte in den 1970er Jahren durch die Gruppe von A. FEDOROV.<sup>[1,52]</sup> Die Faltung des Rückgrates der Peptidkette wurde anschließend 1984 in derselben Gruppe von A. FEDOROV durch erste Verfeinerungen ergänzend aufgeklärt.<sup>[46,53]</sup>

Bis zu den 1990er Jahren folgten weitere hoch aufgelöste Kristallstrukturen, u.a. für Pepsinogen, die Pilzenzyme Penicillopepsin, Rhizopuspepsin und Endothiapepsin, natürliches und rekombiniertes Chymosin, humanes und in Mäusen vorkommendes Renin und diverse retrovirale Aspartatproteasen, die u.a. auch die HIV-Protease beinhalten.<sup>[42,46]</sup> Heutzutage sind über 20.000 verschiedene Einträge im Zusammenhang mit Aspartatproteasen in der PDB hinterlegt (Stand: Februar 2023).<sup>[54]</sup>

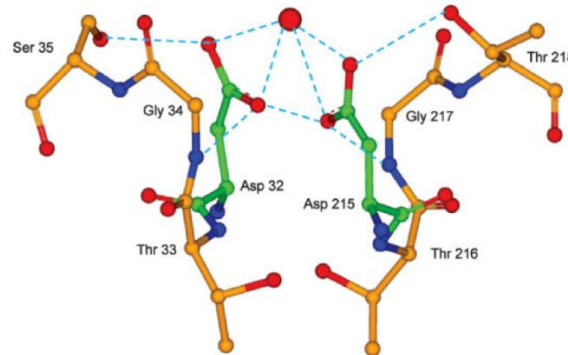
Im folgenden Kapitel wird zunächst der grundlegende Katalyse-Mechanismus aller Aspartatproteasen erläutert. Anschließend wird anhand von drei verschiedenen Erkrankungen (Bluthochdruck, Malaria und der Alzheimer-Erkrankung) die therapeutische Relevanz von Aspartatproteasen als Zielproteine verdeutlicht.

### 1.2.2 Katalyse

Bei allen Aspartatproteasen setzt sich das aktive Zentrum aus zwei ungleich vorliegenden katalytischen Aspartatresten, einem protonierten und einem deprotonierten, zusammen,<sup>[43]</sup> die nach der Pepsin-Nummerierung Asp32 und Asp215 genannt werden. Diese sind bei den meisten Aspartatproteasen von charakteristischen und identischen Aminosäuresequenzen (Thr-Gly-Ser) umgeben und formen eine katalytische Dyade.<sup>[42,55]</sup> Durch ein Netz aus Wasserstoffbrückenbindungen und den Aufbau der zwei Domänen liegen die katalytischen Aspartate in räumlicher Nähe und coplanar zueinander vor.<sup>[55]</sup> Zudem muss eines der beiden Aspartate (Asp32) protoniert vorliegen, wodurch sich das nötige saure Milieu in einem pH-Bereich von 2 bis 4 erklären lässt.<sup>[43]</sup> Zusammen können die Aspartate dadurch als Protonendonator und -akzeptor agieren.<sup>[39]</sup> Zusätzlich zu den Aspartatresten befindet sich zwischen diesen noch ein Wassermolekül („katalytisches Wasser“) im aktiven Zentrum.<sup>[39]</sup>

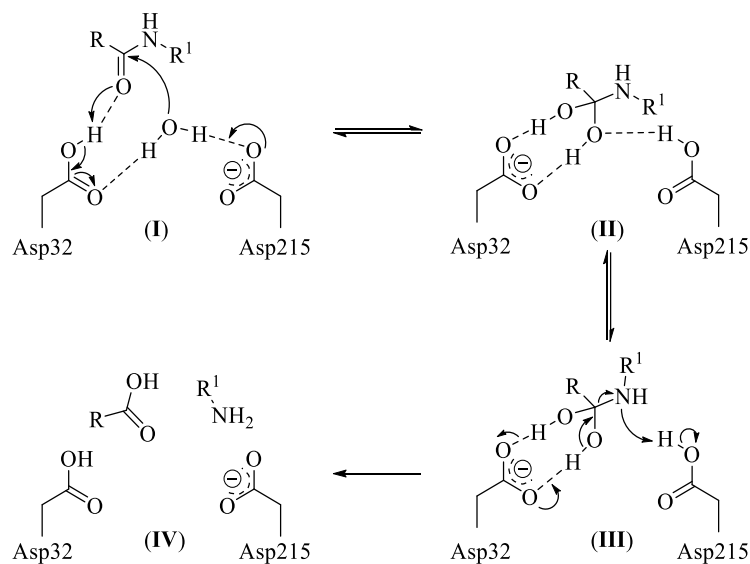


Dieses interagiert durch Wasserstoffbrückenbindungen (HBBs) mit beiden Aspartaten und liegt durch das anfänglich deprotonierte Aspartat (Asp215) polarisiert vor.<sup>[55]</sup> Die räumliche Struktur sowie die bestehenden HBBs im aktiven Zentrum sind in Abbildung 6 veranschaulicht.



**Abbildung 6:** Räumliche Anordnung von Asp32 und Asp215 (grün) im aktiven Zentrum. Das Wassermolekül (rot) koordiniert durch HBBs an die Carboxyl- bzw. Carboxylatgruppe der Aspartate.<sup>[43]</sup>

Der grundlegende Mechanismus der Aspartatproteasen im sauren Milieu wurde mit Kristallstrukturen von Übergangszustand-Analoga im Komplex mit Endothiapepsin aufgeklärt.<sup>[56]</sup> Er lässt sich mittels Säure-Base Katalyse beschreiben oder kann auch als *push-pull* Mechanismus bezeichnet werden.<sup>[39]</sup> Der Mechanismus ist in Schema 6 gezeigt.



**Schema 6:** Der Katalysemechanismus von Aspartatproteasen im sauren Milieu.<sup>[1,55]</sup>

Vor Beginn der Reaktion bildet der protonierte Aspartatrest (Asp32) eine Wasserstoffbrückenbindung zum Carbonyl-Sauerstoffatom des zu spaltenden Peptids aus, wodurch die C=O-Bindung polarisiert wird. Zu Beginn der Peptidspaltung greift das Wasser dann nucleophil am Carbonyl-Kohlenstoffatom des zu spaltenden Peptids an, was durch dessen vorhandene Polarisierung erleichtert wird. Zwischen dem deprotonierten Aspartatrest (Asp215) und dem

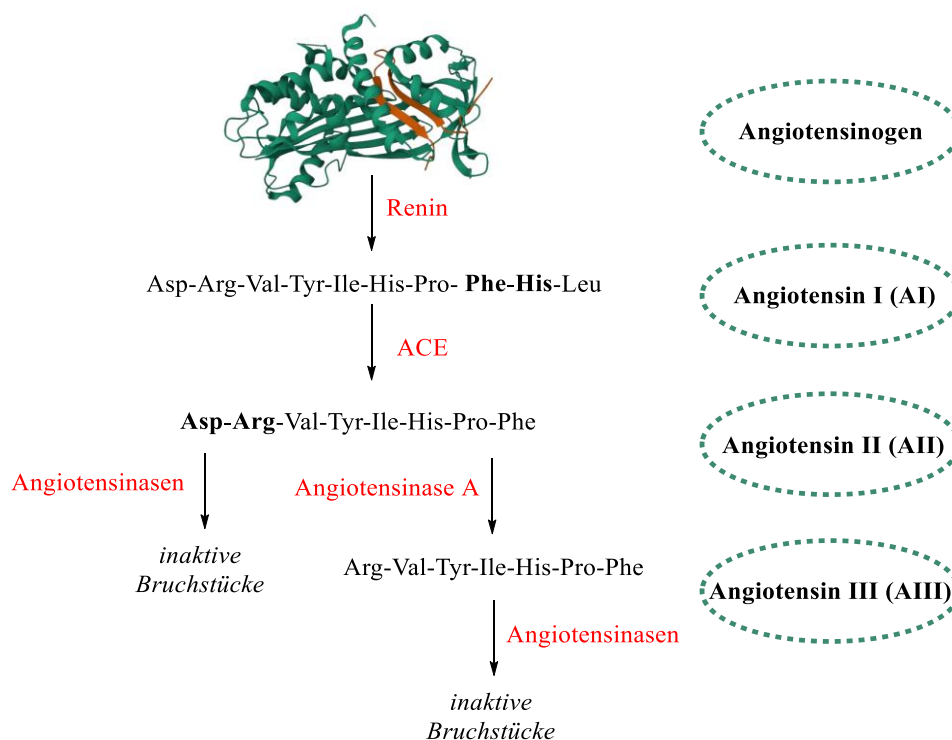
Wassermolekül findet ein Protonentransfer statt, wobei eine HBB erhalten bleibt (**I**). Durch die Übertragung eines Protons auf den ursprünglich deprotonierten Aspartatrest (Asp215) bildet sich ein neutrales, tetraedrisches Intermediat in Form eines geminalen Diols am Peptid aus, welches ebenfalls durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert wird.<sup>[1,39,55]</sup> Die negative Ladung befindet sich nun auf dem anderen Aspartatrest (Asp32) (**II**). Durch Rotation der C-N-Peptidbindung kann die Deprotonierung des zuvor protonierten Aspartats (Asp215) erfolgen. Gleichzeitig erfolgt ein nucleophiler Angriff des deprotonierten Aspartats (Asp32) (**III**) auf ein H-Atom des Diols, sodass es zur Spaltung des tetraedrischen Intermediats kommt und sich die Amino- und Carbonsäure-Spaltprodukte als bessere Abgangsgruppen ausbilden (**IV**).<sup>[1,39,55]</sup> Für die nächste Spaltung nimmt ein neues Wassermolekül die Position zwischen den Aspartaten ein.

### 1.2.3 Renin und Bluthochdruck

Bluthochdruck (Hypertonie) ist eines der größten Risiken für kardiovaskuläre Erkrankungen wie Herzinfarkte, Herzversagen und Schlaganfälle, welche die meisten Todesfälle in der westlichen Welt verursachen. 2021 lagen die Todesfälle durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei mehr als 340.000 in Deutschland, gefolgt von bösartigen Tumorneubildungen (ca. 230.000 Fälle).<sup>[57]</sup> Bluthochdruck schadet zudem den arteriellen Blutgefäßen, den Augen und den Nieren. Um den Gefahren durch erhöhten Bluthochdruck vorzubeugen, stellen die in diesem Zusammenhang fungierenden Enzyme des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems wichtige Zielproteine dar.<sup>[43,58]</sup>

Renin ist eine aus 340 Aminosäuren aufgebaute Aspartatprotease und verfügt über eine ungewöhnlich hohe Substratspezifität.<sup>[1]</sup> Die therapeutische Relevanz von Renin nahm zu, nachdem von D. CUSHMAN und M. A. ONDETTI Ende der 1960er Jahre der erste oral verfügbare ACE-Hemmer Succinyl-L-prolin entwickelt wurde.<sup>[59,60]</sup> Die raschen Weiterentwicklungen des gering wirksamen Succinyl-L-prolins zur ersten Generation der ACE-Inhibitoren Captopril (**12**), Enalaprilat und Lisinopril waren trotz der damals nicht geklärten 3D-Struktur des ACEs sehr erfolgreich.<sup>[43,61]</sup> ACE spielt neben Renin eine wichtige Rolle im körpereigenen Renin-Angiotensin-Aldosteron-System für den Blutdruck und den Salz- und Wasserhaushalt.<sup>[1]</sup> Renin spaltet zuerst das Glycoprotein Angiotensinogen unter Bildung des Dekapeptids Angiotensin I (**AI**), welches dann durch ACE zum blutdrucksteigernden und gefäßverengenden Oktapeptid Angiotensin II (**AII**) gespalten wird. Durch diese Wirkkette wird vermehrt Aldosteron in der Nebennierenrinde produziert, wodurch es zu einem gesteigerten Ionentransport kommt, und das extrazelluläre Flüssigkeitsvolumen erhöht wird. AII wird

anschließend durch die Angiotensinase A zum biologisch ebenfalls noch aktiven Angiotensin III (AIII) abgebaut. Dieses ist nicht mehr gefäßverengend, aktiviert aber weiterhin die Aldosteronproduktion. Durch weitere verschiedene Angiotensinasen erfolgt der Abbau zu inaktiven Bruchstücken. Der beschriebene Ablauf ist graphisch in Abbildung 7 veranschaulicht.<sup>[1,62]</sup>



**Abbildung 7:** Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System. Die Kristallstruktur des Angiotensinogens ist unter 5INW zu finden.<sup>[1,63]</sup>

Während bei ACE-Hemmern lediglich die Spaltung von AI zu AII gehemmt wird, wird durch die Hemmung von Renin bereits zu Beginn des Abbauprozesses eingegriffen. Renin ist verantwortlich für den ersten und geschwindigkeitsbestimmenden Schritt des Abbaus. Zudem wird ohne Renin die Bildung von Angiotensinen grundsätzlich verhindert.<sup>[64]</sup> Die hohe Substratspezifität verhindert die Hemmung anderer Enzyme weitgehend, wodurch es im Vergleich zu den substratunspezifischeren ACE-Hemmern zu geringen Nebenwirkungen kommt.<sup>[1]</sup> Häufig auftretende Nebenwirkungen beim ACE-Hemmer Captopril (**12**) sind z.B. Magen-Darm-Beschwerden, Schwindel, Schlafstörungen, Überempfindlichkeitsreaktionen der Haut, Haarausfall und Atemnot.<sup>[65]</sup>

Seit den 1980er Jahren wurden mehrere Renin-Inhibitoren konzipiert.<sup>[60]</sup> Dabei basierten die ersten Entwicklungen auf der Idee, dass die Inhibitoren einem Teil der Aminosäuresequenz des Angiotensinogens ähneln sollten.<sup>[64]</sup> Schrittweise wurden einzelne Aminosäuren variiert, sodass Abbott (A-64662, Enalkiren (**27**)) und Roche (Ro 42-5892, Remikiren (**28**)) in den

1990er Jahren jeweils einen Inhibitor bis zur klinischen Prüfung bringen konnten (siehe Abbildung 8).<sup>[1,66]</sup> Für Enalkiren (**27**) als erster Renin-Inhibitor konnte gezeigt werden, dass eine Blutdrucksenkung nach intravenöser Gabe eintritt. Jedoch traten Probleme bei dem weiteren klinischen Erprobungsprozess für beide Verbindungen auf, u.a. durch die schlechte orale Bioverfügbarkeit, die kurze Wirkdauer, geringe Halbwertszeiten und die teuren Synthesen. Zudem wurde festgestellt, dass auch das Verdauungsenzym Chymotrypsin die Wirkstoffe zwischen His und Phe bzw. His und dem Phe-Derivat spalten kann.<sup>[1,64]</sup> Die Suche nach möglichen Alternativen führte zwar zu einer Fülle nicht-peptidischer Renin-Inhibitoren, jedoch konnte das Problem der oralen Bioverfügbarkeit nicht gelöst werden.<sup>[1]</sup>

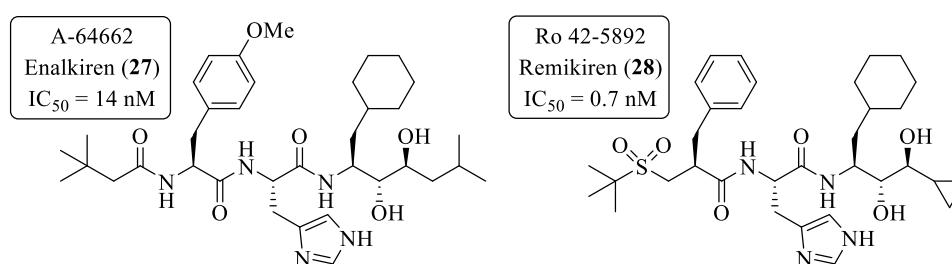
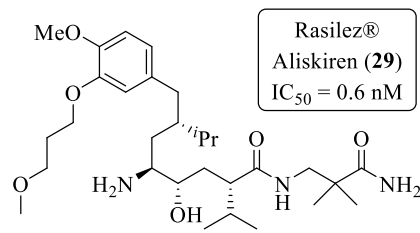


Abbildung 8: Zwei Strukturen potenzieller Renin-Inhibitoren.<sup>[1,58]</sup>

Eine neue Generation von Renin-Inhibitoren wurde basierend auf der Homologiemodellierung unter Zuhilfenahme von Kristallstrukturen fungaler Aspartatproteasen entwickelt. Bevor die Struktur des Renins aufgeklärt wurde, war bereits bekannt, dass eine 20-30%ige Sequenzhomologie zu fungalen Aspartatproteasen vorliegt. Das erste Modell der neuen Renin-Inhibitoren wurde 1984 basierend auf Endothiapepsin veröffentlicht. Nachdem die Aufklärung der 3D-Struktur des Renins Ende der 1980er Jahre erfolgt war, wurden die Proteinreste des Modells schrittweise an die des Renins angepasst. Über verschiedene Optimierungsschritte hinweg, u.a. einem Austausch zu einer Aminogruppe anstelle einer Amidbindung, oder Seitenkettenoptimierungen am Aromaten und an der bestehenden Amidbindung, konnte 2007 der erste und bisher einzige oral bioverfügbare Renin-Inhibitor-Wirkstoff Aliskiren (**29**) unter dem Arzneimittelnamen Rasilez® auf den europäischen Markt gebracht werden.<sup>[1,64,67]</sup> Seine Struktur ist in Abbildung 9 gezeigt. Aliskiren (**29**) ist ein nicht peptidischer, äußerst wirksamer Inhibitor mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 0.6 nM *in vitro*. Er zeigt keine Wirkung gegen andere Aspartatproteasen im Menschen und hat eine Wirkdauer von 24 Stunden nach einmaliger oraler Verabreichung.<sup>[58]</sup> Dadurch stellt er eine gute Alternative zu anderen Arzneimitteln zur Blutdrucksenkung dar.



**Abbildung 9:** Die Struktur des 2007 zugelassenen Renin-Inhibitors Aliskiren (**29**).<sup>[1,58]</sup>

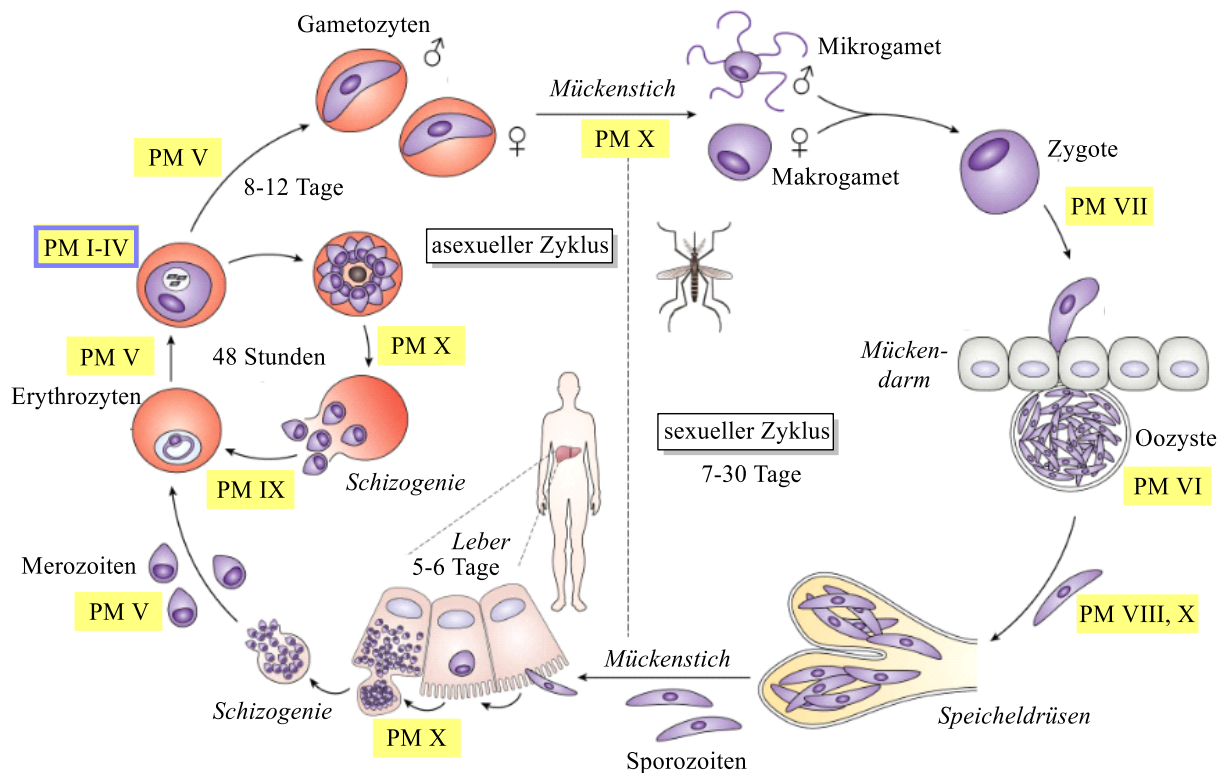
### 1.2.4 Plasmepepsin und Malaria

Malaria ist eine lebensbedrohliche Krankheit, die weltweit jedes Jahr zu mehreren Millionen Infektionsfällen und Tausenden an Todesfällen führt.<sup>[68]</sup> Auch wenn seit dem Jahr 2000 die Fallzahlen und Todesfälle stetig zurückgehen, wurden von der WHO 2021 noch über 600.000 Todesfälle durch Malaria registriert (vgl.: 2000 waren es fast 900.000 Todesfälle).<sup>[69,70]</sup> Die weltweit registrierten Fälle lagen 2021 bei 247 Mio. Fällen, wovon die meisten Malariafälle in Afrika zu verzeichnen sind. 2021 stammten 95% der weltweit registrierten Fälle aus Afrika, aber auch der westpazifische und südamerikanische Raum sind betroffen. Durch den Klimawandel breitet sich die krankheitsübertragende Anopheles-Mücke weiter aus und wird somit einen Anstieg der Fälle auch in der Zukunft begünstigen.<sup>[69,70]</sup>

Die Erkrankung wird von parasitären Einzellern der Familie *Plasmodiidae* ausgelöst.<sup>[68,71]</sup> Die schweren, meist tödlich verlaufenden Fälle werden dabei durch die Art *Plasmodium falciparum* verursacht. Typische Symptome von Malaria sind hohes, schwankendes Fieber mit grippeähnlichen Symptomen. Hinzu können Krampfanfälle und Funktionsstörungen der Organe, was häufig mit Gelbsucht und Niereninsuffizienz verbunden ist, kommen. Zudem können das Gehirn und das Nervensystem beeinflusst werden und es kann zur Blutarmut kommen.<sup>[68,72]</sup>

Der Erreger *Plasmodium falciparum* ist ein einzelliger Eukaryot und wird durch Anopheles-Mücken übertragen. Die Entwicklung der Plasmodien lässt sich grundsätzlich in zwei Zyklen unterteilen. Zuerst findet der sexuelle Zyklus in der Überträgermücke statt, anschließend findet der asexuelle Zyklus im Menschen statt. Im sexuellen Zyklus in der Mücke vereinen sich männliche und weibliche Gametozyten (Mikro- und Makrogameten). Diese entwickeln sich über verschiedene Stufen zu Sporozoiten, welche beim Stich der Mücke durch den Speichel auf den Menschen übertragen werden. Durch den erfolgten Stich gelangen Sporozoiten in die menschliche Blutbahn und dringen in die Leberzellen ein, wo sie sich durch asexuelle Teilung vermehren und sich in der Leber anreichern. Am Ende der hepatischen Schizogonie dringen die entstandenen Merozoiten in Erythrozyten ein, wo sie sich weitervermehren und erneut anreichern. Durch Schizogonie bringen sie die Erythrozyten zum Platzen und befallen

anschließend neue Erythrozyten, was unbegrenzt weiterlaufen kann, bis alle Erythrozyten befallen sind. Während ihres Zyklus ernähren sich die Plasmodien zu 90% durch die Verdauung von Hämoglobin. Die Blutschizogonie ist ausschließlich für die beobachteten Krankheitserscheinungen verantwortlich.<sup>[71]</sup> Der Lebenszyklus ist graphisch in Abbildung 10 veranschaulicht.



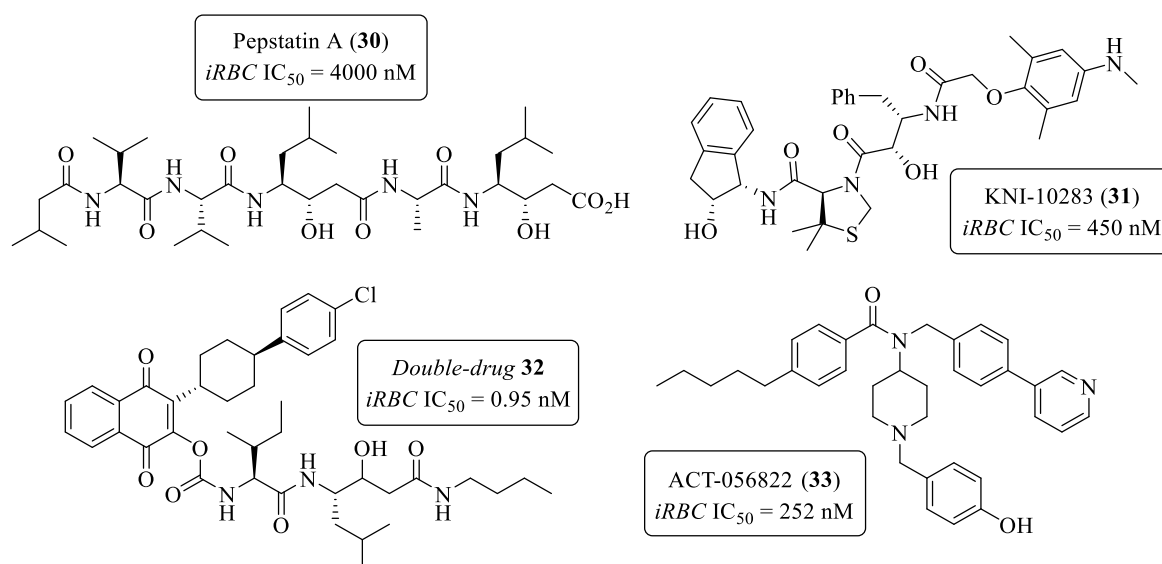
**Abbildung 10:** Lebenszyklus vom Erreger *Plasmodium falciparum* und die Verbreitung im Menschen.<sup>[71,73,74]</sup>

Eine wichtige Rolle bei der Verdauung des Hämoglobins im Parasiten haben neben Cystein- und Metalloproteasen die Plasmepsine (PM).<sup>[1,43]</sup> Plasmepsine sind Aspartatproteasen, die weit in Eukaryoten verbreitet sind. Sie spalten u.a. das Hämoglobin über verschiedene Formen des Plasmepsins, wobei die relevantesten die Isoformen Plasmepsine I bis IV sind. Sie spielen durch die Verdauung und damit verbundene Nahrungsversorgung eine Schlüsselrolle beim Überleben der Plasmodien. Alle vier Plasmepsine sind in ihrer Kristallstruktur aufgeklärt. Durch ihre essentielle Bedeutung für Parasiten stellen sie wichtige Zielproteine für die Malaria-Forschung dar.<sup>[1,73,75]</sup>

Plasmepsin-Inhibitoren werden seit Ende der 1990er Jahre erforscht.<sup>[75]</sup> Eine große Molekülgruppe, an der anfänglich viel geforscht wurde, waren Inhibitoren auf Peptidbasis und Peptidomimetika. Pepstatin A (**30**), ein seit 1970 bekanntes natürlich vorkommendes Pentapeptid, welches eine Reihe von Aspartatproteasen hemmt, wurde dabei als eine der ersten Verbindungen getestet.<sup>[43,76]</sup> Es zeigte eine hohe Affinität gegenüber den Plasmepsinen, war

jedoch wegen des schwachen Eingriffs in das parasitäre Wachstum und seiner Eigenschaft als Peptid ungeeignet für therapeutische Zwecke.<sup>[75]</sup> Andere Ansätze für Peptidomimetika wurden mit unterschiedlichen bioisosteren Gruppen verfolgt, wobei u.a. verschiedene Statine, Hydroxyethylamine und C<sub>2</sub>-symmetrische Diole verwendet wurden. Bioisostere sind sterisch und elektronisch verwandte Gruppen, deren biologische Wirkung im Vergleich zur ursprünglichen funktionellen Gruppe weitestgehend erhalten bleibt. Durch den Austausch einzelner Moleküle oder ganzer Gruppen können teilweise bessere Eigenschaften bezüglich der Stabilität, Löslichkeit, Aktivität, Selektivität und der ADMET<sub>ox</sub>-Eigenschaften erzielt werden.<sup>[1,77]</sup>

Die für die Peptidomimetika verwendeten bioisosteren Verbindungen hatten eine nicht hydrolysierbare Bindung an der Stelle, wo sonst die zu spaltende Peptidbindung saß.<sup>[43,75]</sup> Durch die hohe Sequenzhomologie der PM I bis IV galt das Interesse v.a. Allophenylnorstatin-Verbindungen (KNI), die die PM I bis IV hemmen und stark an PM II binden. Ein Beispiel hierfür stellt Verbindung **31** in Abbildung 11 dar. Durch ihr bioisosteres Rückgrat aus (2*S*,3*S*)-2-Hydroxy-3-amino-4-phenylbuttersäure und Thioprolin ahmen sie die zu schneidende Phe-Leu Bindung in der Hämoglobin- $\alpha$ -Kette nach.<sup>[43]</sup> Diese Wirkstoffe wurden durch adaptive Liganden optimiert, welche neben festen strukturellen Elementen flexible Elemente besaßen und somit verschiedene Regionen in der Zielfamilie der Plasmepepsine erreichen konnten. Dabei wurden über 250 Verbindungen untersucht. Ausreichend große Erfolge waren jedoch nicht zu verzeichnen, da die pharmakokinetischen Eigenschaften und die Hemmung der Plasmodien zur Verbreitung und Ausbildung weiterer infizierter Erythrozyten unzureichend waren.<sup>[43,75]</sup> Ein weiterer Ansatz erfolgte durch „*Double-drugs*“ (bspw. Verbindung **32**). Für diese wurde ein Statin-basierter PM-II Inhibitor über ein flexibles Fragment mit einem Prodrug der bekannten Malaria-Wirkstoffe Primaquin oder Atovaquon verbunden. Durch diese konnte eine gute Inhibierung von PM-II erfolgen, und die Aktivität gegenüber den Plasmodien erhöhte sich merklich. Ausreichend war sie allerdings nicht.<sup>[43]</sup> In der nachfolgenden Abbildung 11 sind einige Strukturen der erwähnten Beispiele gezeigt.



**Abbildung 11:** Strukturen verschiedener Plasmepepsin-Inhibitoren. Der  $IC_{50}$ -Wert wurde aus einem Erythrozyten-Assay ermittelt ( $iRBC = infected\ red\ blood\ cell$ ).<sup>[43,75]</sup>

Neben Peptidomimetika wurde in den letzten 20 Jahren auch an nicht-peptidischen Inhibitoren geforscht (bspw. Verbindung **33**). Dabei wurden mittels HTS diverse funktionelle Gruppen für PM gefunden, u.a. Harnstoffderivate, Guanidine, *N*-Alkoxyamide, Hydrazide und Aminoalkohole. Aminoalkohole und Guanidine lieferten dabei gute Startpunkte für weitere Optimierungen, sodass mehrere gut inhibierende Verbindungen gegen einzelne Plasmepepsine (I, II und IV) im mikromolaren und nanomolaren Bereich identifiziert werden konnten. Ebenso wurden Inhibitoren anderer Aspartatproteasen, v.a. von Renin und den HIV-Proteasen, untersucht, wovon auch einige PM II im nanomolaren Bereich hemmen.<sup>[75]</sup> Die Selektivität musste dabei streng berücksichtigt werden, da eine Homologie der PM II Sequenz von 35% zu Cathepsin D (Cat D) besteht.<sup>[43]</sup> Zudem zeigte sich, dass viele Verbindungen, die erfolgreich PM II hemmen, die Aktivität von PM I und PM IV nicht beeinflussen. Das Zellwachstum der Parasiten konnte in diesen Fällen nicht ausreichend beeinflusst werden.<sup>[75]</sup>

Inzwischen ist bekannt, dass alle vier Plasmepepsine I bis IV gehemmt werden müssen, um einen deutlichen Rückgang im Zellwachstum der Parasiten erreichen zu können. Durch das Ausschalten einzelner Plasmepepsine werden nur geringe Auswirkungen in Form eines verlangsamten Wachstums sichtbar. Einmal deaktivierte Parasiten sind zudem noch immer lebensfähig, weshalb Plasmepepsin-Inhibitoren eine sehr lange Halbwertszeit besitzen müssen, um das Wachstum über die multiplen Zyklen der noch aktiven Parasiten langanhaltend unterdrücken zu können. Auch wurde erkannt, dass das Zusammenspiel der Plasmepepsine und der Falcipain-Cysteinproteasen im Parasiten sehr groß ist. Sie wirken in biochemischen Assays beim Hämoglobinabbau synergistisch. Das Zusammenspiel der Proteasen wird dadurch deutlich, dass die Plasmepepsine I bis IV durch Falcipaine aktiviert werden. Sind die Falcipaine



jedoch in ihrer Funktion eingeschränkt, können sich die Plasmepepsine selbst aktivieren. Inhibitoren der Plasmepepsine würden den Patienten zudem nicht heilen, sondern könnten lediglich einer Verschlechterung des Zustandes vorbeugen, was wiederum eine rechtzeitige Erkennung der Krankheit und Gabe der Wirkstoffe voraussetzt.<sup>[73]</sup>

Durch die erörterten Problematiken und vor allem das komplexe, teilweise ungeklärte Zusammenspiel der Plasmepepsine untereinander und mit den anderen beteiligten Proteasen des Hämoglobinabbaus ist momentan keine klar formulierte Idee zur weiteren Forschung von Plasmepepsin-Inhibitoren in der Malariatherapie vorhanden.<sup>[73]</sup> Die Plasmepepsine bleiben aber weiterhin interessante Zielproteine.

### 1.2.5 $\beta$ -Sekretase und die Alzheimer-Erkrankung

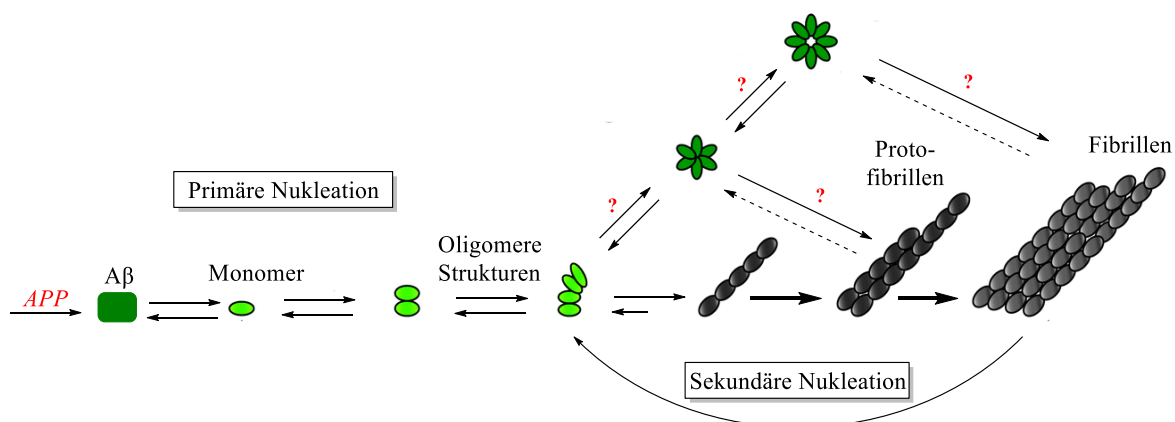
2022 waren weltweit über 55 Mio. Menschen von Demenz betroffen, Hochrechnungen prognostizieren bis 2050 über 139 Mio. Fälle. Dabei macht die Alzheimer-Erkrankung 60-70% der Demenzfälle aus.<sup>[78]</sup> Die Betroffenen verlieren im Verlauf der Erkrankung immer mehr ihrer Gedächtnisfähigkeiten. Hinzu kommen der Verlust von kognitiven Fähigkeiten, Orientierungsprobleme, eine eingeschränkte Lernfähigkeit und Sprachprobleme. Des Weiteren sind oft Persönlichkeitsänderungen und emotionale Ausbrüche zu beobachten. Die meisten Betroffenen sind ab einem gewissen Fortschritt der Erkrankung nicht mehr alleine lebensfähig.<sup>[43,78]</sup>

Eine wichtige Rolle bei der Alzheimer-Erkrankung spielen neben den interzellulären Aggregaten von Neurofibrillenbündeln (NFT) die extrazellulären Aggregate der  $\beta$ -Amyloid-Peptide ( $A\beta$ -Peptide).  $A\beta$ -Peptide sind transmembrane Peptide, die durch eine vermehrte Produktion, Aggregation und Ablagerung für die Entstehung von senilen Plaques sorgen. Diese sind unlöslich und können vom Körper nicht mehr abgebaut werden.<sup>[79]</sup> Senile Plaques lassen sich mit bildgebenden Verfahren (CT und MRT) nachweisen.<sup>[80]</sup> Unter normalen Bedingungen hat das  $A\beta$ -Peptid in geringen Konzentrationen (pM) vermutlich regulierende Funktionen bei der Neurogenese und der synaptischen Plastizität in Gehirnen. Die genaue Funktion ist noch nicht vollständig geklärt. Bei Fehlregulation kommt es hingegen zur Einschränkung vieler biologischer Stoffwechselprozesse, u.a. intrazellulären Signalkaskaden und der Neurotransmitterfreigabe sowie zum neuronalen Zelltod.<sup>[79,81]</sup>

$A\beta$ -Peptide mit Sequenzlängen von 36 bis 43 Aminosäuren werden durch die proteolytische Spaltung vom integralen Membranprotein Amyloid-Vorläufer Protein (APP) erhalten, was zuerst durch die Aspartatprotease BACE1 ( *$\beta$ -site-APP-cleaving enzyme 1*) und anschließend durch die  $\gamma$ -Sekretase erfolgt. Unter gesunden Bedingungen liegt in Gehirnen zu 80%  $A\beta_{40}$  vor,

wohingegen in Alzheimer erkrankten Gehirnen ein Überschuss an  $A\beta_{42}$  vorliegt, welches neurotoxisch ist und schneller zu Amyloid-Plaques aggregiert als  $A\beta_{40}$ .<sup>[79,81]</sup> Die  $A\beta$ -Peptide bilden zunächst verschiedene monomere und lösliche oligomere Strukturen, die zu ähnlichen fibrillären Strukturen führen.<sup>[82]</sup> Durch hydrophobe Interaktionen und Wasserstoffbrücken bilden sich über molekulare Selbstorganisation Protofibrillen höherer Ordnung. Diese werden durch weitere Selbstorganisation zu langen unlöslichen Fibrillen. Neben dieser primären Nukleation findet eine sekundäre Nukleation statt. Sobald eine bestimmte Konzentration an Fibrillen erreicht ist (10 nM), katalysieren diese die Bildung weiterer Oligomere an der Oberfläche.<sup>[79]</sup>

In an Alzheimer erkrankten Gehirnen konnten neben den unlöslichen senilen Plaques v.a. lösliche Oligomere nachgewiesen werden. Da es Berichte über Patienten gibt, bei denen senile Plaques keine kognitiven Beeinträchtigungen oder Symptome einer Demenz hervorrufen,<sup>[83]</sup> wird die Toxizität, die zu den Einschränkungen der Stoffwechselprozesse führt, überwiegend den Oligomeren zugeschrieben. Es wird daher angenommen, dass die Toxizität von der Größe der Aggregationen und der Diffusion der Oligomere abhängig ist.<sup>[81]</sup> Die Nukleation der unlöslichen Fibrillen ist in Abbildung 12 gezeigt.



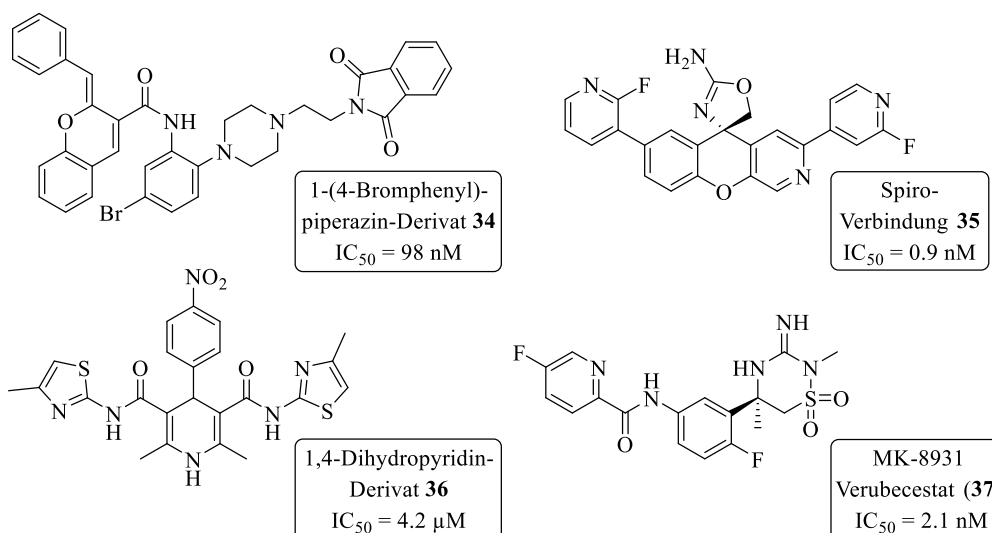
**Abbildung 12:** Bildung der unlöslichen Fibrillen durch Nukleation.<sup>[79,82]</sup>

Ein Ansatzpunkt bei der Alzheimer-Forschung ist die  $\beta$ -Sekretase BACE1, welche die Proteolyse von APP initiiert und somit die Bildung von  $A\beta$  maßgeblich bestimmt.<sup>[79,84]</sup> BACE1 ist eine aus 501 Aminosäuren aufgebaute transmembrane Aspartatprotease, die 1999 von voneinander unabhängigen Forschern um R. VASSAR und R. MIRI entdeckt wurde.<sup>[84,85]</sup> Die höchsten Aktivitäten sind im Gehirn und in neuronalen Zelllinien zu beobachten.<sup>[84,86]</sup> Durch *in vivo*-Testungen an Mäusen wurde festgestellt, dass  $\beta$ -Sekretase-Inhibitoren kaum einen Einfluss auf die normalen physiologischen Funktionen hatten, weshalb angenommen wird, dass sie nur geringe Nebeneffekte im Menschen haben.<sup>[79]</sup>

Nach der Entdeckung von BACE1 wurde bereits in den frühen 2000ern der erste peptidomimetische  $\beta$ -Sekretase-Inhibitor im BACE1-Kristall untersucht, und verschiedene Verbindungen mit einer Hydroxyethylengruppe als bioisostere Gruppe auf ihre biologischen Aktivitäten getestet.<sup>[87]</sup> Aufgrund ihrer Größe, den schlechten oralen Bioverfügbarkeiten oder Problemen beim Durchtritt durch die Blut-Hirn-Schranke zeigte jedoch keine der Verbindungen ausreichende pharmakologische Wirkungen. Spätere Generationen der BACE1-Inhibitoren orientierten sich an kleineren Molekülen, die vielfach durch strukturbasiertes Screening als potenziell wirksame Verbindungen befunden wurden.<sup>[85,88,89]</sup>

2008 gelang die erste Synthese eines Inhibitors, der die Phase 1 einer klinischen Studie bestand. Die Struktur von CTS-211666 wurde bis heute nicht veröffentlicht. Weitere Studien zu Inhibitoren folgten 2012, wobei mehrere Verbindungen Phase 2 der klinischen Studien erreichten.<sup>[90]</sup> Verschiedene Moleküle mit 1-(4-Bromphenyl)piperazin-Motiven (bspw. Verbindung **34**) zeigten starke Interaktionen mit verschiedenen Aminosäureresten von BACE1 und gute biologische Aktivitäten.<sup>[88]</sup> Kompaktere Spiroverbindungen (bspw. Verbindung **35**) zeigten ebenfalls gute inhibierende Wirkungen bei Tests an Ratten, Meerschweinchen und Affen, waren jedoch durch die Inhibition von Cat D nicht ausreichend spezifisch.<sup>[89]</sup> Auch wurden 1,4-Dihydropyridin-Derivate (bspw. Verbindung **36**) mit guten *in vitro*-Ergebnissen synthetisiert, die aufgrund ihrer Eigenschaft, Calciumkanäle zu blockieren, allerdings nicht ausreichend spezifisch waren.<sup>[85]</sup>

Der bisher erfolgreichste Inhibitor für BACE1 ist das 2012 von *Merck* entwickelte MK-8931 (Verubecestat (**37**)). Er erreichte als erster Inhibitor Phase 3 einer klinischen Studie.<sup>[90]</sup> Eine Zulassung erfolgte jedoch bis heute wegen zu großer Nebenwirkungen nicht. Ein deutlicher Rückgang von A $\beta$  konnte zwar beobachtet werden (>60%), jedoch wurde erst in der letzten Studie aus dem Jahr 2020 festgestellt, dass bei mit Verubecestat (**37**) behandelten Patienten im Vergleich zu Patienten, welche eine Placebodosis erhielten, zusätzlich zum Rückgang von A $\beta$  auch ein Abbau von Gehirnschubstanz auftrat.<sup>[91]</sup> Einige der erwähnten Strukturen von BACE1-Inhibitoren sind in Abbildung 13 dargestellt.



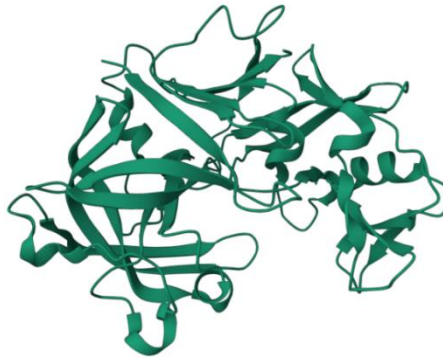
**Abbildung 13:** Verschiedene BACE1-Inhibitoren und ihre IC<sub>50</sub>-Werte in der Zelle.<sup>[79,92]</sup>

Die Relevanz von BACE1-Inhibitoren wird auch am allerneuesten Stand der Forschung deutlich. Anfang 2023 wurde in den Vereinigten Staaten ein neues Alzheimer-Medikament zugelassen.<sup>[93]</sup> Damit gibt es aktuell acht zugelassene Alzheimer-Medikamente weltweit.<sup>[94]</sup> Der neue Arzneistoff Lecanemab (Leqembi™) ist ein Antikörper, der mit hohen Affinitäten an lösliche Aβ-Protofibrillen bindet. In klinischen Testungen zeigten sich bei Patienten in frühen Alzheimerstadien deutlich geringere Konzentrationen der Nachweismarker des Aβ. Die Alzheimer-Krankheit lässt sich durch dieses Medikament immer noch nicht heilen, jedoch kann die Symptomentstehung bei rechtzeitiger Erkennung verzögert werden.<sup>[93]</sup> Lecanemab ist der zweite Arzneistoff, der an Aβ-Aggregate als Antikörper bindet.<sup>[94]</sup>

### 1.2.6 Endothiaepsin

Endothiaepsin (EP) ist eine einkettige, aus 330 Aminosäuren bestehende Aspartatprotease mit einer molekularen Masse von 33.8 kDa. Sie hat ihren natürlichen Ursprung im Pilz *Cryphonectria parasitica*, der für den Kastanienrindenkrebs verantwortlich ist, und kommt im Menschen nicht vor.<sup>[95]</sup>

1968 wurde EP erstmalig isoliert und 1970 röntgenkristallographisch untersucht.<sup>[96]</sup> Die 3D-Struktur wurde mit denen der anderen in Pilzen vorkommenden Aspartatproteasen Rhizopuspepsin und Penicillopepsin veröffentlicht und bis 1977 vervollständigt.<sup>[43]</sup> Die vollständige Aminosäuresequenz wurde 1987 experimentell ermittelt und 1992 durch DNA-Sequenzierung bestätigt.<sup>[97]</sup> EP besitzt alle typischen Strukturmerkmale von Aspartatproteasen und zeigt hohe Homologien zu den Strukturen anderer Aspartatproteasen (Rhizopuspepsin, Penicillopepsin, Pepsin, Renin etc.).<sup>[42,43]</sup>



**Abbildung 14:** 3D-Struktur von Endothiapepsin (4Y58).<sup>[98]</sup>

Durch seine hohe Ähnlichkeit zu anderen Aspartatproteasen ist Endothiapepsin seit seiner Strukturaufklärung ein häufig genutztes Modellenzym. Es wurde zur Aufklärung des Katalysemechanismus von Aspartatproteasen verwendet (siehe Kapitel 1.2.2) und für die Identifikation von Renin-Inhibitoren (siehe Kapitel 1.2.3) genutzt, bevor die Struktur von Renin aufgeklärt war. Weiterhin diente EP als Hilfestellung bei der Forschung an BACE1-Inhibitoren.<sup>[16]</sup>

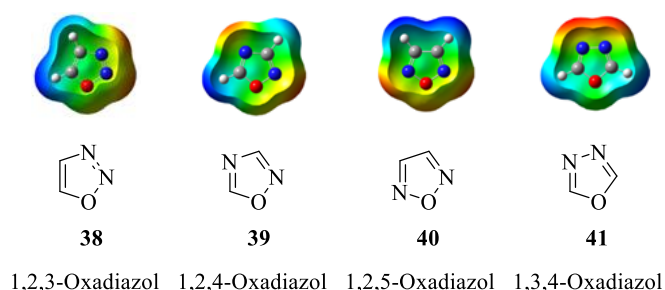
Die  $\beta$ -Sekretase ist nur ein Beispiel, welches die Relevanz von Modellenzymen und besonders EP verdeutlicht. BACE1 hat seine optimale Aktivität bei einem  $pH$ -Wert von 4.5, die bisher bestimmten Kristallisationsbedingungen erfordern jedoch einen  $pH$ -Wert von ungefähr 6.<sup>[99]</sup> 2007 versuchten FOLMER *et al.* mittels HTS, Inhibitoren für BACE1 zu finden.<sup>[28]</sup> Wegen der unterschiedlichen  $pH$ -Optima konnte jedoch keine Kristallstruktur ihres *hits* mit BACE1 erhalten werden, da sie den *hit* bezüglich des Aktivitätsmaximums im saureren Milieu erhielten. Dass sowohl die Kristallisationsbedingungen als auch die Bindungsaffinitäten vom  $pH$ -Wert abhängig sind, ist bekannt. Um dennoch Informationen über den Bindungsmodus ihres Liganden erhalten zu können, verwendeten sie Endothiapepsin als Modell für ihre kristallographische Studie. Dadurch konnten sie erste aussagekräftige Informationen zu den Interaktionen ihres Liganden mit den Aspartatresten des aktiven Zentrums erhalten.<sup>[28]</sup>

Der optimale  $pH$ -Wert für Endothiapepsin liegt sowohl für die Kristallisationsbedingungen als auch für die Aktivität bei einem  $pH$ -Wert von 4.5. Es kristallisiert recht leicht und liefert gute, hochaufgelöste Kristalle (0.9 Å).<sup>[100]</sup> EP ist bei einem  $pH$ -Wert von 4.5 über 20 Tage bei Raumtemperatur aktiv. Es ist preiswert und in großen Mengen durch Umpufferung aus dem Labersatzprodukt Suparen® isolierbar.<sup>[16,17]</sup> Durch die Erfolge, die bereits mit EP erzielt wurden, und der erwähnten hohen Ähnlichkeit zu anderen Aspartatproteasen ist es ein häufig gewähltes Modellenzym auf dem Gebiet der Aspartatproteasen und bietet gerade für die anfänglichen Forschungen von potenziellen Inhibitoren aufgrund seiner guten Handhabungsbedingungen ideale Voraussetzungen.

### 1.3 Oxadiazole

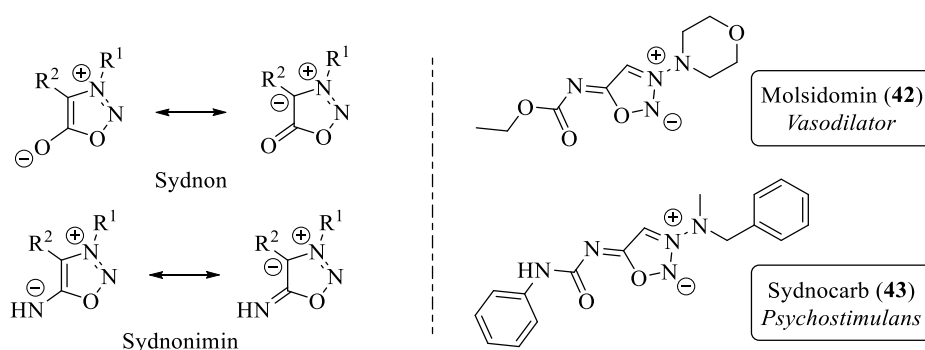
Oxadiazole gehören zu den fünfgliedrigen Heteroaromaten und besitzen neben zwei Kohlenstoffatomen zwei Stickstoff- und ein Sauerstoffatom.<sup>[101]</sup> In den letzten Jahrzehnten haben sie eine immer bedeutendere Rolle bei der Wirkstoffforschung und in der pharmazeutischen Anwendung eingenommen.<sup>[102]</sup> Heterocyclen generell bieten durch ihre vorhandenen Heteroatome die Möglichkeit zur Ausbildung von HBBs, was sich positiv auf die Bindung einer Substanz im aktiven Zentrum auswirken kann. Zusätzlich besitzen sie auch, wie alle aromatischen Substrukturen, die Möglichkeit zur Ausbildung von  $\pi$ - $\pi$ -Interaktionen, was ebenfalls zu einer Zunahme der Bindungsaffinität eines potenziellen Wirkstoffs mit einem Zielmolekül beitragen kann. Zudem sind viele Heterocyclen bioisoster zu bspw. Estern, Amiden, Carbamaten und Hydroxamsäureestern und haben positive Einflüsse auf die Löslichkeit, Polarität und Selektivität im Vergleich zu acyclischen funktionellen Gruppen. Aufgrund dieser Eigenschaft und der daraus resultierenden Vorteile waren Heterocyclen bereits in den vorangegangenen Kapiteln in vielen Arznei- und Wirkstoffbeispielen zu sehen.<sup>[103]</sup>

Bei Betrachtung der verschiedenen Konstitutionsisomere von den Oxadiazolen zeigen diese häufig erhöhte hydrolytische und metabolische Stabilitäten und bessere pharmakokinetische Eigenschaften gegenüber ihren acyclischen Bioisosteren.<sup>[101,104]</sup> Oxadiazole treten als Substrukturen in Verbindungen mit diversen biologischen Wirkungen auf, wie z.B. antimikrobielle, blutdrucksenkende, antimitotische, entzündungshemmende und sedative Wirkungen.<sup>[103]</sup> Es gibt insgesamt vier Konstitutionsisomere der Oxadiazole, deren Strukturen **38-41** inklusive der Elektronendichteverteilung nachfolgend in Abbildung 15 gezeigt sind.<sup>[105]</sup> Im Anschluss wird kurz auf die wenig verbreiteten 1,2,3- und 1,2,5-Oxadiazole eingegangen und darauffolgend detaillierter auf die weiter verbreiteten und für diese Arbeit relevanten 1,2,4- und 1,3,4-Oxadiazole.



**Abbildung 15:** Die vier Konstitutionsisomere der Oxadiazole und die jeweilige Verteilung der Elektronendichte.<sup>[105]</sup>

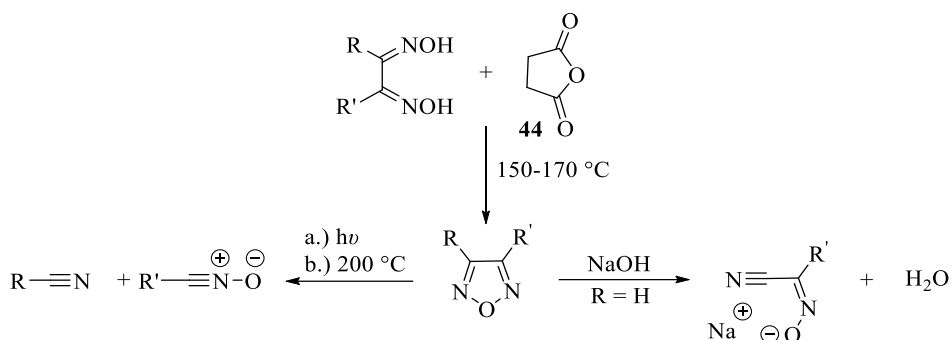
1,2,3-Oxadiazole sind die instabilsten und am wenigsten verbreiteten Vertreter der Oxadiazole. Sie isomerisieren durch die Stellung ihrer Heteroatome auch bei vollständiger Substitution zum stabileren, offenkettigen  $\alpha$ -Diazoketon. Dennoch kann das Strukturmotiv in den stabilen Sydnonen oder Sydnoniminen gefunden werden.<sup>[105]</sup> Sydnone sind die bekanntesten mesoionischen Verbindungen und können pharmazeutische Eigenschaften besitzen, wie die Anwendungen der Sydnonimine Molsidomin (**42**) und Sydnocarb (**43**) seit den 1970er Jahren zeigen.<sup>[105–108]</sup> Sydnone lassen sich generell durch Nitrosierung von Aminosäuren und anschließender Cyclodehydratisierung synthetisieren, Sydnonimine hingegen durch Nitrosierung von  $\alpha$ -Aminonitrilen und anschließender Cyclodehydratisierung.<sup>[105]</sup> In Abbildung 16 sind die Grundgerüste von Sydnonen bzw. Sydnoniminen sowie die Strukturen der erwähnten Arzneistoffe veranschaulicht.



**Abbildung 16:** Allgemeine Strukturen von Sydnonen und Sydnoniminen mit jeweils einer mesomeren Grenzformel und die Strukturen der beiden zugelassenen Arzneistoffe.<sup>[105–107]</sup>

1,2,5-Oxadiazole (Furazane) sind von den drei stabilen Konstitutionsisomeren der Oxadiazole die am wenigsten verbreiteten.<sup>[101]</sup> Im Vergleich zu 1,2,4- und 1,3,4-Oxadiazolen sind die vorhandenen Seitenketten bei 1,2,5-Oxadiazolen vicinal orientiert, weshalb disubstituierte 1,2,5-Oxadiazole eine andere Molekülgeometrie als disubstituierte 1,2,4- und 1,3,4-Oxadiazole haben.<sup>[101]</sup> 1,2,5-Oxadiazole ermöglichen als einziges Konstitutionsisomer der stabilen Isomere die Ausbildung von anellierten bicyclischen Verbindungen. Durch die Stellung ihrer Heteroatome sind sie zudem am stärksten polarisiert.<sup>[109,110]</sup> Auch 1,2,5-Oxadiazolen werden pharmazeutische Eigenschaften nachgesagt. Es wurden bereits unterschiedliche Derivate dieser als wirkungsvolle Inhibitoren für verschiedene Enzyme gefunden, die eine wichtige Rolle bei verschiedenen Krebsformen und Herzleiden haben. Der Durchbruch bei der Entwicklung eines darauf basierenden Arzneistoffes gelang bisher jedoch nicht.<sup>[105,109–112]</sup> Synthetisch können 1,2,5-Oxadiazole durch Dehydratisierung von Glyoxim-Derivaten (siehe Schema 7 (oben)) oder durch Umlagerungen anderer Oxadiazole erhalten werden (siehe Kapitel 1.3.1, Schema 8).<sup>[105]</sup> Bekannt sind v.a. die möglichen Ringspaltungen von 1,2,5-Oxadiazolen, die

durch starke Basen, thermisch ( $> 200\text{ }^\circ\text{C}$ ) und photochemisch erfolgen können. Dabei entstehen bei Thermo- und Photolyse durch die Spaltung einer N-O-Bindung und Spaltung der C-C-Bindung Nitrile und Nitriloxide (siehe Schema 7 (links)) und bei der alleinigen Spaltung der N-O-Bindung durch eine starke Base  $\alpha$ -Oximonoitrile (siehe Schema 7 (rechts)).<sup>[105]</sup>



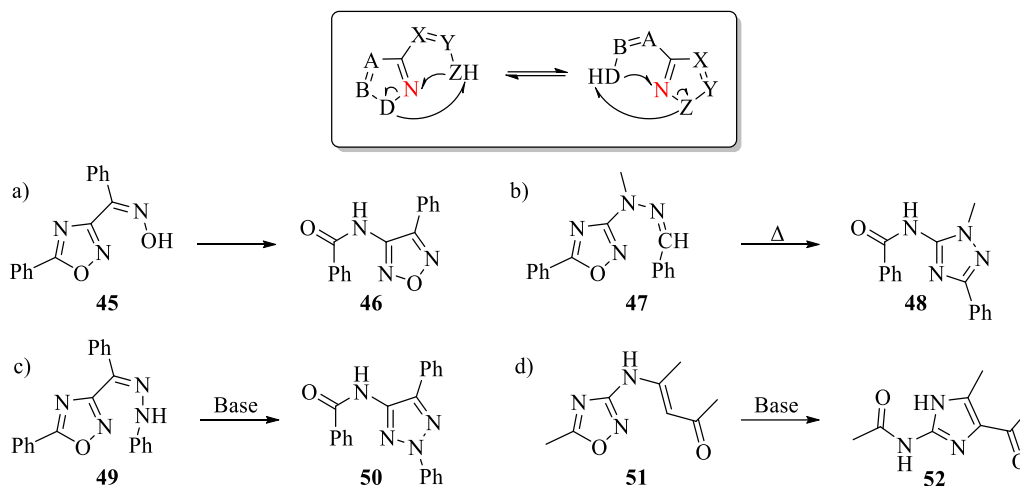
**Schema 7:** Synthese eines 1,2,5-Oxadiazols ausgehend von einem Glyoxim-Derivat (oben) und Dihydrofuran-2,5-dion (**44**), und die gängige Ringspaltung durch Photolyse und Thermolyse (links) sowie die Ringspaltung durch die Verwendung einer starken Base (rechts) mit den jeweiligen resultierenden Produkten.<sup>[105]</sup>

### 1.3.1 Das 1,2,4-Oxadiazol-Konstitutionsisomer

Substituierte 1,2,4-Oxadiazole wurden erstmalig 1884 als „Azoxime“ im Rahmen zur Untersuchung von Amidoximen von F. TIEMANN und P. KRÜGER beschrieben.<sup>[113]</sup> Reines 1,2,4-Oxadiazol ist in unsubstituierter Form instabil, mit zunehmender Anzahl der C-Substituenten steigt jedoch die Stabilität. 1,2,4-Oxadiazole haben eine relativ schwache N-O-Bindung und eine geringe Aromatizität im Vergleich zu ihrem Heterodien-Charakter.<sup>[114,115]</sup>

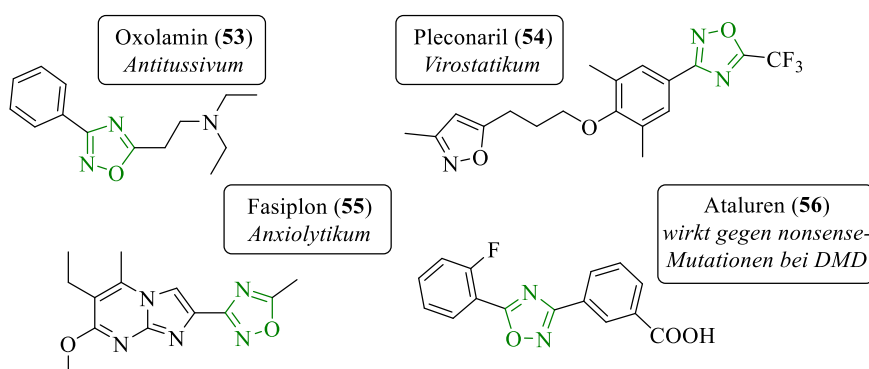
In das Interesse rückten 1,2,4-Oxadiazole erst 80 Jahre nach ihrer Entdeckung, als ihre besondere Neigung zu Umlagerungen beobachtet wurde, die in ihrer vergleichsweise geringen Aromatizität begründet ist.<sup>[114]</sup> Durch die in Schema 8 gezeigte monocyclische BOULTON-KATRITZKY-Umlagerung (BKR, auch MRH für *monocyclic rearrangements of heterocycles*) können sie durch thermische Einwirkung oder durch saure oder basische Katalyse je nach Substitutionsmuster zu anderen fünfgliedrigen Heterocyclen, wie 1,2,5-Oxadiazolen, Imidazolen, oder zu verschiedenen Triazol-Konstitutionsisomeren werden. Voraussetzung dafür ist eine dreiatomige Seitenkette in der C-3-Position mit einem nucleophilen, endständigen Atom. Triebkraft ist dabei die Stabilität des Eduktes bzw. Produktes. Bei der Umlagerung findet eine interne  $S_N$ -Reaktion mit Ringöffnung und Ringschluss um das N-2-Atom statt. Der allgemeine Mechanismus sowie einige Beispiele sind in Schema 8 gezeigt.<sup>[105,115–118]</sup>





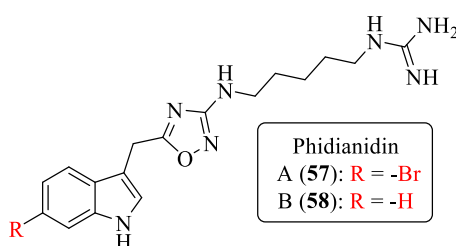
**Schema 8:** Allgemeines Schema der monocyclischen BCR (oben), sowie einige literaturbekannte Beispiele a)-d) zu verschiedenen anderen fünfgliedrigen Heterocyclen.<sup>[105,115–118]</sup>

In den 1990er Jahren wurde mit 1,2,4-Oxadiazolen ein großer Fortschritt im Bereich der Wirkstoffforschung erzielt, da sie als Peptidomimetika und hydrolysestabilere Bioisostere von Estern und Amiden wahrgenommen wurden.<sup>[119,120]</sup> Sie sind seitdem durch ihre leicht abstimmbaren Eigenschaften und ihren verhältnismäßig einfachen synthetischen Zugang aus der Wirkstoffforschung nicht mehr wegzudenken. Inzwischen konnten bereits einige relevante und kommerziell erhältliche Wirkstoffe mit 1,2,4-Oxadiazolen als Arzneistoffe zugelassen werden.<sup>[114,115]</sup> Beispiele sind in Abbildung 17 gezeigt, wobei der erste darauf basierende Wirkstoff Oxolamin (**53**) (Perebron®) bereits vor dem genannten großen Fortschritten in den 1960er Jahren auf den Markt gebracht wurde.<sup>[121]</sup> Auch in anderen Bereichen, wie z.B. den Materialwissenschaften, stellen sie als emissive Materialien und Flüssigkristalle eine relevante Substruktur für verschiedene Forschungsansätze dar.<sup>[114,115]</sup>



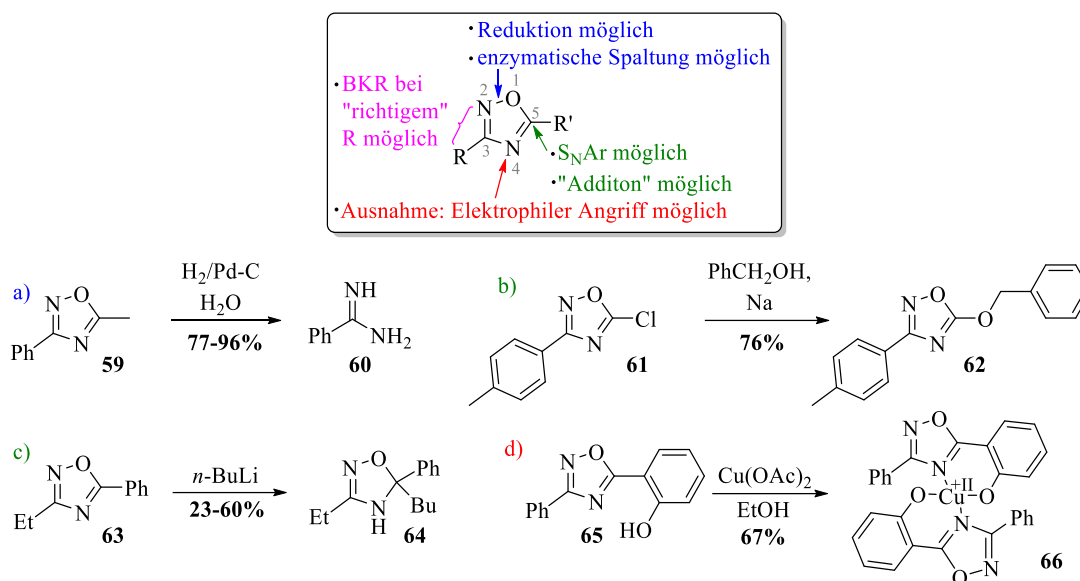
**Abbildung 17:** Einige kommerziell erhältliche Arzneistoffe mit 1,2,4-Oxadiazol-Gerüst und ihre jeweiligen Wirkungen.<sup>[121]</sup>

Zusätzlich zu der weitreichenden Anwendung in Arzneistoffen ist das 1,2,4-Oxadiazol-Gerüst bisher das einzige bekannte in Naturstoffen vorkommende Konstitutionsisomer der Oxadiazole. 2011 wurden aus der Meeresschnecke *Phidiana militaris* zwei 3-substituierte Indolalkaloide isoliert, die in ihrer Seitenkette ein 1,2,4-Oxadiazol-Gerüst tragen.<sup>[122]</sup> Sie sind als Phidianidine A (**57**) und B (**58**) bekannt und zeigen cytotoxisches Verhalten gegen einige Tumorzelllinien sowie eine inhibierende Wirkung auf den Dopamintransporter (DAT).<sup>[122,123]</sup> Dass einige Substrukturen mit 1,2,4-Oxadiazolen gegen einzelne Tumorzelllinien wirksam sein können, wurde bereits 1940 erstmalig gezeigt.<sup>[124]</sup> Die Struktur der Phidianidine A (**57**) und B (**58**) kann aus Abbildung 18 entnommen werden.



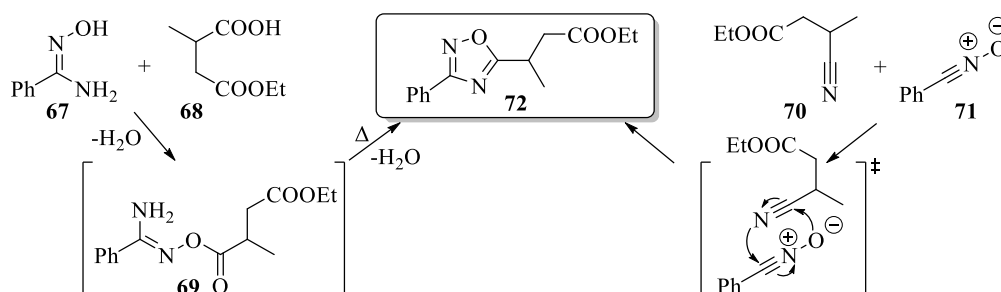
**Abbildung 18:** Strukturen der Phidianidine A (**57**) und B (**58**).<sup>[122]</sup>

1,2,4-Oxadiazole sind durch die Stellung ihrer Heteroatome gegenüber elektrophilen Substitutionen inert. Es gibt wenige Beispiele, bei denen das N-4-Atom elektrophil angegriffen werden kann und so bspw. Komplexverbindungen bildet. Durch die Asymmetrie ihrer Heteroatome übt der elektronenziehende Charakter einen stärkeren Einfluss auf die C-5-Position als auf die C-3-Position aus, weshalb nucleophile Substitutionen nur in C-5-Position stattfinden können. Dadurch werden teilweise Umlagerungen initiiert. Auch kann die Aromatizität in seltenen Fällen durch eine Addition an der C-5-Position verloren gehen. Ein Austausch des vorhandenen C-5-Restes erfolgt nur selten. Die C-3-Position ist vollkommen inert gegenüber nucleophilen Substitutionen. Reduktionen von 1,2,4-Oxadiazolen sind ebenfalls bekannt. Dabei wird unter klassischen Hydrierungsbedingungen die schwache N-O-Bindung wie bei der BKR gespalten, und es bilden sich durch eine *in situ* ablaufende Hydrolyse der entstandenen Acetylamidine Amidine.<sup>[115,125]</sup> Ebenfalls kann es zu einer enzymatischen Spaltung der N-O-Bindung *in vitro* und *in vivo* kommen (Biotransformation). Der Grund für die metabolische Instabilität ist bisher nicht bekannt. Durch die eingeschränkte Reaktivität des 1,2,4-Oxadiazols selbst und die verglichen mit anderen Aromaten leicht zu spaltende N-O-Bindung ist es üblich, die gewünschten Reste bei der Synthese durch die Edukte einzubringen.<sup>[105,120]</sup> Zur Übersichtlichkeit ist in Schema 9 die allgemeine Reaktivität von 1,2,4-Oxadiazolen skizziert, sowie jeweils eine Beispielreaktion gezeigt.



**Schema 9:** Allgemeines Reaktionsschema zur Reaktivität von 1,2,4-Oxadiazolen, sowie einige Beispiele für Reaktionen der jeweiligen Position. Beispiele für die BKR sind in Schema 8 gezeigt.<sup>[105,120]</sup>

Die noch heute gängigste Synthesestrategie zu 1,2,4-Oxadiazolen wurde bereits 1884 von F. TIEMANN und P. KRÜGER beschrieben.<sup>[113,114]</sup> Dabei wird ein Amidoxim, dargestellt aus einem Nitril und Hydroxylamin, mit einer Carbonsäure umgesetzt. Die dabei entstehende *O*-Acylamidoxim-Zwischenstufe reagiert anschließend durch Cyclodehydratisierung zum 3,5-disubstituierten 1,2,4-Oxadiazol.<sup>[104,105]</sup> Eine Umsetzung des Amidoxims und der Carbonsäure kann durch organische Kupplungsreagenzien gezielter erfolgen, die Cyclodehydratisierung erfolgt hingegen regulär unter Kondensationsbedingungen. Auch gibt es inzwischen verschiedene Ansätze unter der Verwendung von Mikrowellenreaktoren, wodurch die Reaktionszeit deutlich verkürzt wird. Die Ausbeuten können bei allen Ansätzen stark variieren (20-90%).<sup>[105,115,120]</sup> Eine Syntheselternative bietet die 1,3-dipolare Cycloaddition von Nitrilen und Nitriloxiden. Die Ausbeuten variieren hier ebenfalls stark (10-90%).<sup>[105,120]</sup> Beide Synthesestrategien sind in Schema 10 gezeigt.



**Schema 10:** Synthese eines 1,2,4-Oxadiazols ausgehend vom Amidoxim **67** und Carbonsäurederivat **68** über die Bildung einer *O*-Acylamidoxim-Zwischenstufe **69** (links) und die Synthese über eine 1,3-dipolare Cycloaddition mit einem Nitril **70** und einem Nitriloxid **71** (rechts).<sup>[115,120]</sup>

### 1.3.2 Das 1,3,4-Oxadiazol-Konstitutionsisomer

1,3,4-Oxadiazole sind wie die 1,2,4-Oxadiazole ebenfalls weit verbreitet.<sup>[101]</sup> Ihre erste Synthese wurde deutlich später im Jahr 1965 publiziert.<sup>[126]</sup> Anders als beim 1,2,4-Oxadiazol ist auch die unsubstituierte Stammverbindung stabil.<sup>[127]</sup> Sie besitzen als einziges Konstitutionsisomer keine direkte N-O-Bindung. Im Vergleich zu den 1,2,4-Oxadiazolen besitzen sie eine höhere Aromatizität neben ihrem Heterodien-Charakter und gehen deshalb keine BKR ein.<sup>[115,126]</sup> Dennoch können sie substituiert geometrisch als praktisch identisch zu substituierten 1,2,4-Oxadiazolen betrachtet werden, da sie in der gleichen Orientierung die Substituenten in ihrer C-2- und C-5-Position ausrichten. Aufgrund derselben allgemeinen Molekülgeometrie wird angenommen, dass sie in ähnlicher Weise an gleiche Substituenten binden können.<sup>[101]</sup> Substituierte 1,3,4-Oxadiazole sind nachweislich besser in Wasser löslich, zeigen eine geringere Lipophilie und teilweise bessere ADME-Eigenschaften als ihre 1,2,4-Analoga. Zudem stellen sie ebenfalls geeignete Bioisostere zu Estern und Amiden dar, so dass sie seit vielen Jahren in der Wirkstoffforschung etabliert sind.<sup>[101,114]</sup> Einige Beispiele für Wirkstoffe mit 1,3,4-Oxadiazol-Gerüst sind in Abbildung 19 gezeigt. Auch für die Pestizid- und Polymerforschung, Optoelektronik, Photovoltaik und lichtemittierende Dioden stellen sie eine relevante Substruktur dar.<sup>[127,128,129]</sup>

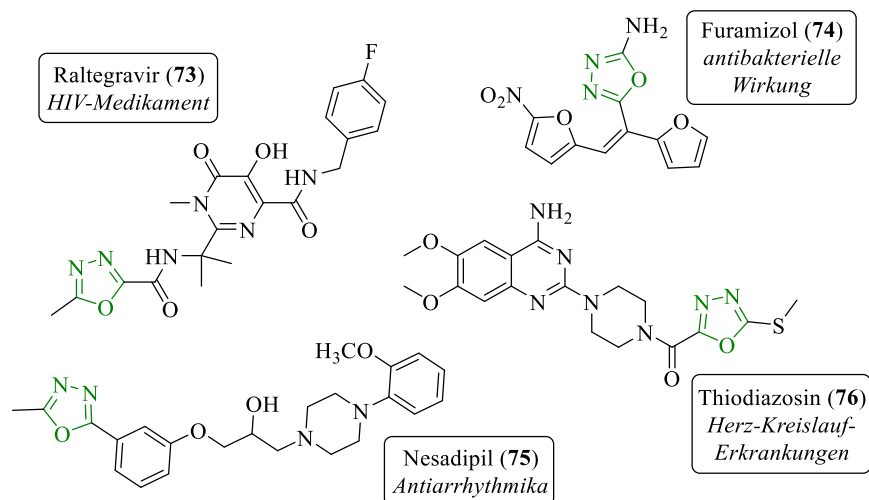
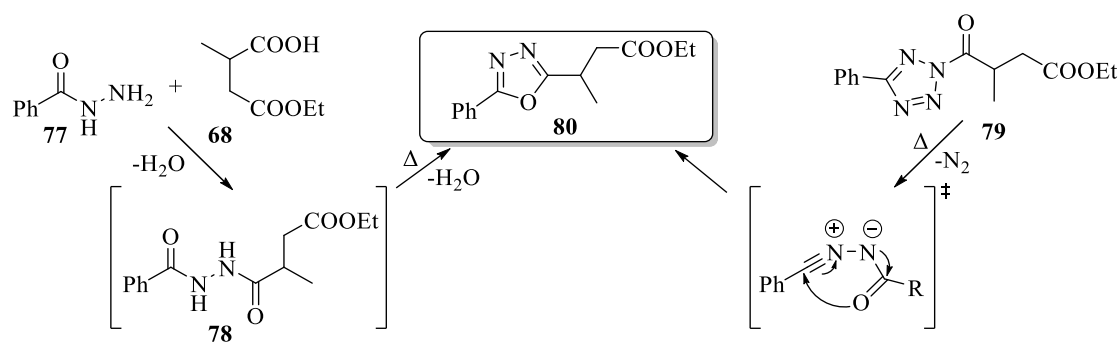


Abbildung 19: Wirkstoffe mit 1,3,4-Oxadiazol-Gerüsten sowie ihre Wirkungsgebiete.<sup>[127]</sup>

1,3,4-Oxadiazole haben wegen der starken Polarisierung durch ihre Heteroatome eine geringere Elektronendichte in ihrer C-2- und C-5-Position, weshalb sie üblicherweise keine elektrophilen aromatischen Substitutionen eingehen. Nucleophile Substitutionen in C-2- oder C-5-Positionen sind ebenfalls unüblich, da die Reaktion mit Nucleophilen generell zu einer Ringöffnung führt. Berichte über die reduktive Spaltung von 1,3,4-Oxadiazolen sind nicht bekannt, und auch für die Biotransformation von 1,3,4-Oxadiazolen gibt es insgesamt nur ein Beispiel in der Literatur.

Beide Beobachtungen sind auf die nicht vorhandene reaktive N-O-Bindung zurückzuführen.<sup>[130]</sup> Auch für 1,3,4-Oxadiazole ist es durch die eingeschränkte Reaktivität mit Elektrophilen und Nucleophilen üblich, die gewünschten Substituenten bereits durch die Synthese mit den Edukten einzubringen.<sup>[105]</sup>

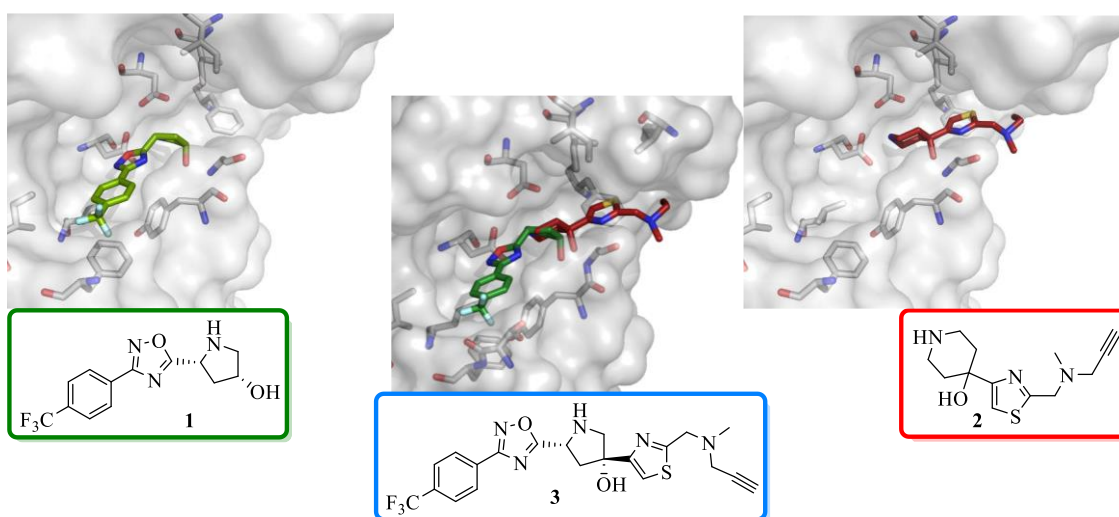
Die konventionelle Synthese von 1,3,4-Oxadiazolen ist die intramolekulare Kondensation von 1,2-Diacylhydrazin-Verbindungen, die durch die Synthese von Hydraziden mit Carbonsäuren entstehen. Die Kondensation verläuft dabei i.d.R. unter harschen Bedingungen. Gängige Reagenzien sind  $P_2O_5$ ,  $POCl_3$ ,  $SOCl_2$ ,  $H_2SO_4$  oder  $BF_3 \cdot OEt_2$ .<sup>[111]</sup> Für die Reaktion von Hydraziden und Carbonsäuren können gängige organische Kupplungsreagenzien verwendet werden.<sup>[129,131]</sup> Eine alternative Syntheseroute kann durch Ringtransformation von 3-acylierten Tetrazolen, Azirinen oder 1,2,4-Oxadiazolen stattfinden. Beide Optionen sind abschließend in Schema 11 gezeigt.<sup>[105,131]</sup>



**Schema 11:** Synthese eines 1,3,4-Oxadiazols ausgehend von einem Hydrazid **77** und einer Carbonsäure **68** über die Bildung einer 1,2-Diacylhydrazin-Zwischenstufe **78** (links) und die Synthese über eine Ringtransformation eines 3-acylierten Tetrazols **79** (rechts).<sup>[105,131]</sup>

## 2. Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit stellte die Synthese von Endothiapepsin-Inhibitoren und die Testung ihrer enzymatischen Aktivität dar. Zu Beginn dieser Arbeiten wurden durch die *AnalytiCon Discovery GmbH* zwei, in verschiedenen Seiten der Bindetasche von Endothiapepsin (EP) gut bindende Fragmente **1** und **2** bei einem Fragment-Screening identifiziert. Diese konnten durch *modelling*, Kristallstrukturanalysen, SAR-NMR-Untersuchungen und *fragment merging* zu einem Vorschlag für einen potenten Inhibitor des Endothiapepsins kombiniert werden, wie in Abbildung 20 gezeigt. Entsprechend des Konzeptes des FBDD wurden für die *merged compound* (Zielverbindung **3**) im Vergleich zu den einzelnen Fragmenten um ein Vielfaches bessere Interaktionen und eine höhere Affinität zum Zielprotein erwartet.



**Abbildung 20:** Die identifizierten Fragmente **1** und **2** aus dem fragmentbasierten Screening und die resultierende Überlagerung beider zu dem potenziell hochaffinen Strukturvorschlag der Zielverbindung **3**, dargestellt im aktiven Zentrum von Endothiapepsin.

Basierend auf Vorarbeiten innerhalb der Gruppe<sup>[132]</sup> sollte eine Synthesestrategie entwickelt werden und die Zielverbindung **3** in ausreichender Menge und Reinheit dargestellt werden. Nach der erfolgreichen Synthese sollten im Rahmen von röntgenkristallographischen Untersuchungen in Kooperation mit der *CrystalsFirst GmbH* dann Evaluierungen der Interaktionen des potenziellen Inhibitors **3** und dem aktiven Zentrum von Endothiapepsin folgen. Um erste Struktur-Aktivitäts-Daten zu erhalten und möglicherweise die Bindungsaffinität noch erhöhen zu können, sollte im Anschluss die Synthese verschiedener Derivate erfolgen. Abschließend sollten Tests zur enzymatischen Aktivität aller Verbindungen erfolgen und in Relation mit den beobachteten Interaktionen der Kristallstrukturdaten gesetzt werden. Bei guter Inhibierung wären so Ausgangspunkte für Inhibitoren anderer, nicht so gut untersuchter bzw. handhabbarer Aspartatproteasen wie BACE1, Renin oder Plasmin geschaffen.

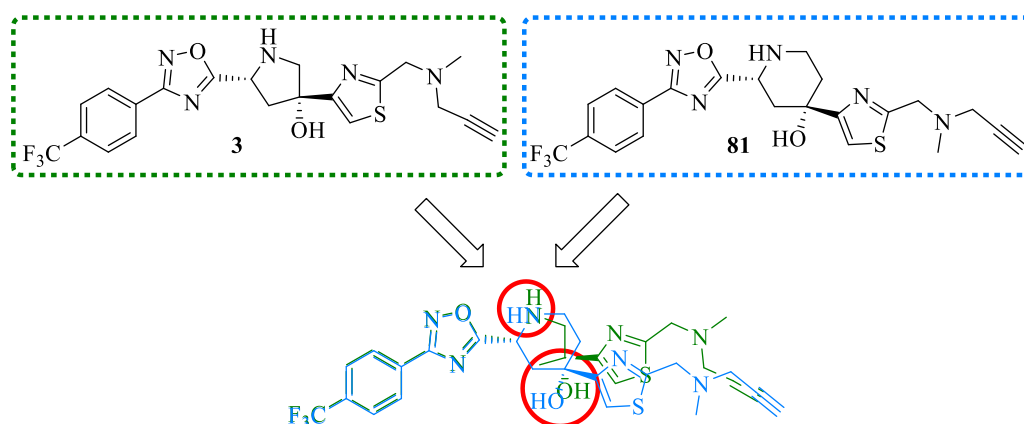
## 3. Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Kenntnisstand und die retrosynthetische Analyse von Floxazathin (3)

Vor Beginn dieser Arbeiten wurde durch die *AnalytiCon Discovery GmbH* ein umfangreiches Fragment-Screening für Endothiapepsin (EP) durchgeführt, bei dem 73 Fragmente mit EP *ge-soaked* und nachfolgend röntgenkristallographisch untersucht wurden. Von den untersuchten Fragmenten zeigten 15 Fragmente eine Bindung im aktiven Zentrum des EPs. Ausgehend von diesen 15 Fragmenten wurden durch nachfolgende Untersuchungen (Kristallstrukturanalysen, *modelling* und SAR-NMR) zwei besonders vielversprechende Fragmente **1** und **2** identifiziert, die in verschiedenen Seiten der Bindetasche von Endothiapepsin (EP) jeweils gute Interaktionen zeigten (siehe Kapitel 2, Abbildung 20).<sup>[133]</sup> Für das Pyrrolidin-Fragment **1** ist dabei neben HBBs des Pyrrolidin-Stickstoffatoms zu den vier Carboxylat-Sauerstoffatomen von Asp35 und Asp219 eine HBB des exocyclischen Hydroxyl-Sauerstoffatoms zum Stickstoffatom des Gly80 zu beobachten. Das N-2-Atom des 1,2,4-Oxadiazol-Gerüsts zeigt zudem eine HBB zum Carbonyl-Sauerstoffatom des Gly221 auf.<sup>[134]</sup> Zusätzlich werden für das Sauerstoffatom des 1,2,4-Oxadiazol-Gerüsts HBBs zum Carbonyl-Sauerstoffatom des Gly221 und zu Asp35 vermutet. Zwischen dem  $\pi$ -System des Phenyl-Gerüsts und Phe116 ist eine T-*Stacking*-Interaktion zu beobachten, und eines der Fluoratome der F<sub>3</sub>C-Gruppe scheint eine schwache Interaktion mit einem Carboxylat-Sauerstoffatom des Ser83 einzugehen.<sup>[133]</sup> Für das Piperidin-Fragment **2** hingegen kann neben HBBs des Piperidin-Stickstoffatoms zu den vier Carboxylat-Sauerstoffatomen von Asp35 und Asp219 ebenfalls eine HBB des exocyclischen Hydroxyl-Sauerstoffatoms zum Stickstoffatom des Gly80 beobachtet werden.<sup>[135]</sup> Der Thiazolylrest zeigt keine direkte Interaktion.

Das *merging* der durch das fragmentbasierte Screening identifizierten Fragmente **1** und **2** zu einer *merged compound* ist dabei grundsätzlich über den Pyrrolidinring oder über den Piperidinring denkbar (siehe Kapitel 2, Abbildung 20). Die daraus resultierenden Strukturen **3** und **81** sind in der nachfolgenden Abbildung 21 (oben) gezeigt. Der Fokus dieser Arbeit wurde dabei auf eine Verknüpfung über den Pyrrolidinring und nicht über den Piperidinring gelegt. Für die Zielverbindung Floxazathin (**3**), deren Name basierend auf den Anfangsbuchstaben der einzelnen Molekülbausteine als Akronym entwickelt wurde, wurden bessere Bindungsmodi im aktiven Zentrum des Endothiapepsins (ermittelt über *modelling* und SAR-NMR) im Vergleich zu Verbindung **81** erwartet.<sup>[133]</sup> Zudem ist Fünfringen grundsätzlich eine höhere Konformationsflexibilität im Vergleich zu Sechsringen und somit eine bessere

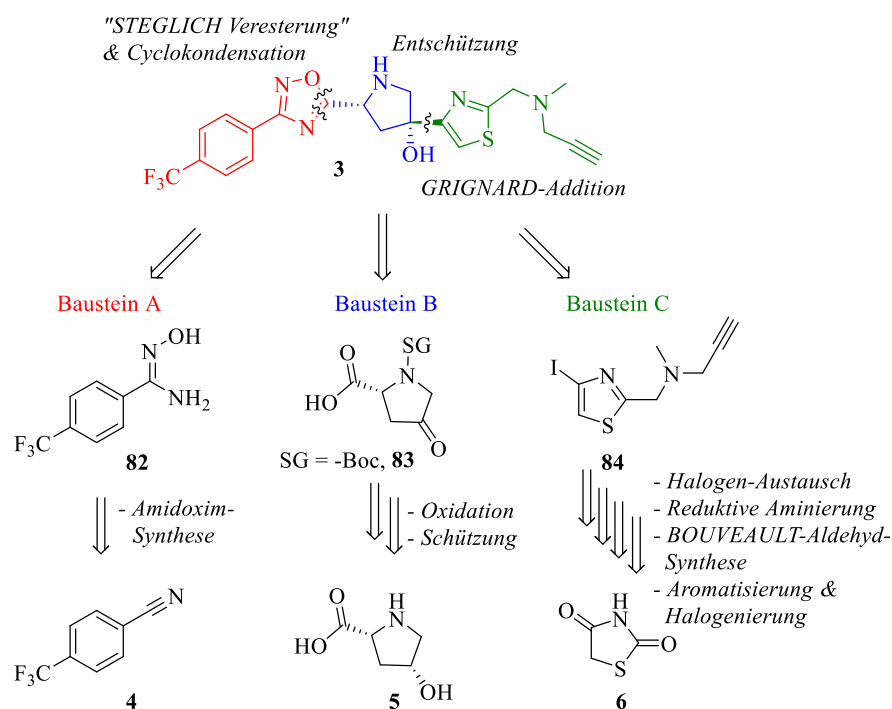
Anpassungsfähigkeit zur Erreichung der gewünschten Bindungspositionen zuzuschreiben.<sup>[133]</sup> Eine Überlagerung der beiden möglichen *merged compounds* **3** und **81** ist ebenfalls in Abbildung 21 (unten) zu sehen. Sie verdeutlicht die Unterschiede, die bei Bindung des N-Atoms des Pyrrolidins bzw. des Piperidins mit den beiden Aspartaten Asp35 und Asp 219 im aktiven Zentrum von EP, v.a. im Bereich des cyclischen Amins und der Hydroxygruppe sowie dem gesamten Thiazolylrest zu erwarten sind. Zudem ist die Zielverbindung Floxazathin (**3**) synthetisch leichter zugänglich, da das 2,4-disubstituierte Pyrrolidin das Strukturmotiv der proteinogenen Aminosäure Prolin besitzt, wohingegen das 2,4-disubstituierte Piperidin nur das Strukturmotiv der nichtproteinogenen Aminosäure Pipecolinsäure besitzt. Pipecolinsäure bildet sich entweder als Zwischenstufe beim Abbau der proteinogenen Aminosäure Lysin oder kann über  $\alpha$ -Desaminierung mit nachfolgender Cyclisierung und Reduktion erhalten werden.<sup>[136]</sup>



**Abbildung 21:** Möglichkeiten der Verknüpfung der beiden Fragmente zu den Verbindungen **3** und **81** und das daraus resultierende *overlay*. Für die Ausrichtung des Pyrrolidinrings (grün) wurden bessere Interaktionen vorhergesagt, ermittelt durch SAR-NMR und *modelling*.

Die Synthese der aus dem Fragment-Screening identifizierten Zielverbindung Floxazathin (**3**) stellte daher die erste Aufgabe der Arbeit dar. Zu Beginn der synthetischen Arbeiten wurde an Ergebnisse aus der Masterarbeit von N. WALTER angeknüpft<sup>[132]</sup>, in welcher bereits gute synthetische Ansätze etabliert werden konnten. Die vollständige röntgenkristallographische Untersuchung von Floxazathin (**3**) gelang jedoch nicht einwandfrei, da es zu einer undefinierten Elektronendichte im Bereich des 1,2,4-Oxadiazols kam, in der keine planare aromatische Struktur mehr erkennbar war. Wegen dieser undefinierten Elektronendichte sollte Floxazathin (**3**) vor der Synthese möglicher Derivate erneut synthetisiert und röntgenkristallographisch auf seine Interaktionen im aktiven Zentrum und im Hinblick auf eine mögliche Instabilität untersucht werden. Der dieser Arbeit zugrunde liegende retrosynthetische Aufbau von Floxazathin (**3**) ist in Schema 12 gezeigt.





**Schema 12:** Retrosynthese von der Zielverbindung Floxazathin (**3**).

Bei genauerer Betrachtung kann Floxazathin (**3**) in drei Bausteine zerlegt werden. Dabei bestehen die Schlüsselschritte der Synthese aus den Verknüpfungen der einzelnen drei Bausteine **A**, **B** und **C**. Das 3,5-disubstituierte 1,2,4-Oxadiazol sollte in einer STEGLICH-analogen Veresterung mit anschließender Cyclokondensation aus dem Amidoxim (Baustein **A**) und dem *N*-geschützten Pyrrolidon (Baustein **B**) synthetisiert werden. Zuvor sollte das Amidoxim **82** dafür nach literaturbekannter Synthese ausgehend vom 4-(Trifluormethyl)benzotrile (**4**) in einem Schritt hergestellt werden, die *N*-geschützte Pyrrolidon-Verbindung **83** sollte ausgehend von *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (**5**) in zwei Schritten dargestellt werden. Um das Thiazol-Gerüst der Zielverbindung **3** einbringen zu können, sollte mittels GRIGNARD-Reaktion eine 1,2-Addition der iodierten Thiazolspezies **84** (Baustein **C**) an das Keton des Pyrrolidons erfolgen. Baustein **C** sollte über vier Syntheseschritte, ausgehend vom kommerziell erhältlichen 2,4-Thiazolidindion (**6**) erhalten werden. Eine detailliertere Beschreibung der einzelnen Syntheseschritte ist jeweils zu Beginn der entsprechenden Kapitel zu finden.

In den folgenden Kapiteln wird zunächst auf die Darstellung der Zielverbindung Floxazathin (**3**), die dabei durchgeführten Optimierungen und die Ergebnisse der Kristallstrukturanalyse eingegangen (Kapitel 3.2). Im Anschluss erfolgen die Diskussionen zu verschiedenen Derivaten von Floxazathin (**3**) und die Synthesen der Fragmente **1** und **2**, sowie die dabei erzielten Ergebnisse (Kapitel 3.3 bis Kapitel 3.6). Als abschließendes Kapitel wird die Evaluation der enzymatischen Aktivität aller synthetisierten Verbindungen diskutiert und

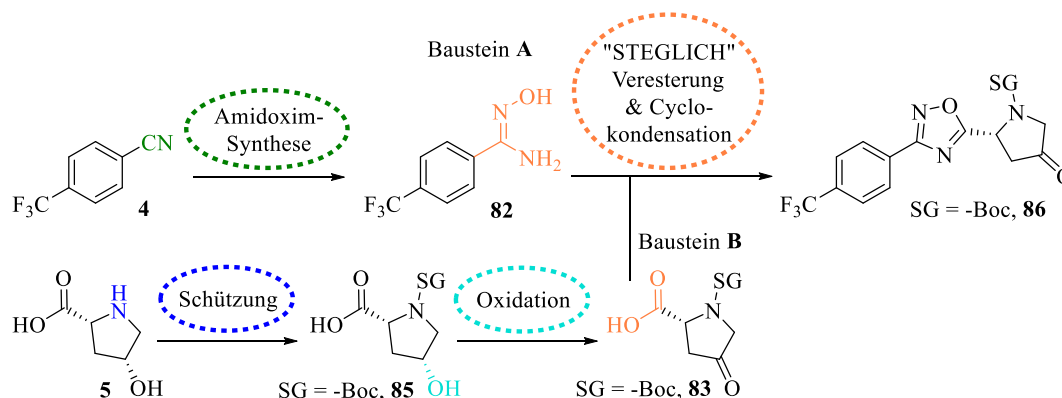
zu den durch die Kristallstrukturanalysen beobachteten Interaktionen in Relation gesetzt (Kapitel 3.7).

### 3.2 Synthesen zur Zielverbindung Floxazathin (3)

Zu Beginn wurden für die Synthese des 1,2,4-Oxadiazols die zwei im Retrosyntheschema (siehe Schema 12) gezeigten Bausteine **A** und **B** synthetisiert. Diese wurden wegen ihrer einfachen Handhabbarkeit, einer leichten Reaktionskontrolle und der weitverbreiteten Beschreibungen in der Literatur zum Aufbau von 3,5-disubstituierten 1,2,4-Oxadiazolen gewählt.<sup>[114]</sup> Alle Reaktionen, die im Rahmen der 1,2,4-Oxadiazolsynthese durchgeführt wurden, sind in Kapitel 3.2.1 erläutert. Ebenfalls sollte das Thiazol-Gerüst (Baustein **C**) synthetisiert werden. Die dazu durchgeführten Synthesen sind in Kapitel 3.2.2 beschrieben. Nach erfolgreicher Darstellung des 3,5-disubstituierten 1,2,4-Oxadiazols und des Iodthiazols sollte abschließend die Verknüpfung dieser Fragmente erfolgen. Die dazu durchgeführten Synthesen sind in Kapitel 3.2.3 beschrieben.

#### 3.2.1 Synthese des 3,5-disubstituierten 1,2,4-Oxadiazols **86**

In Schema 13 ist eine allgemeine Syntheseübersicht zur Darstellung des 3,5-disubstituierten 1,2,4-Oxadiazols **86** gezeigt.

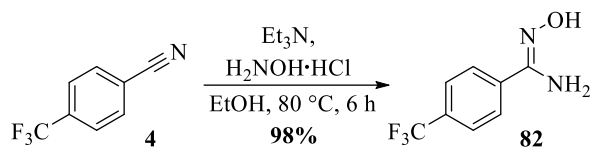


**Schema 13:** Geplante Synthesen der Bausteine **A** und **B** (Verbindung **82** und **83**) sowie des 1,2,4-Oxadiazols **86**.

Zu Beginn der praktischen Arbeiten wurde mit der einstufigen Synthese zum Amidoxim **82** begonnen. Amidoxime sind leicht darzustellende Verbindungen. Sie tragen neben ihrer funktionellen Oximgruppe noch eine Aminogruppe am Oxim-C-Atom.<sup>[137]</sup> Durch verschiedene Studien konnte belegt werden, dass das (*Z*)-Amidoxim-Tautomer am stabilsten ist.<sup>[138]</sup> Somit besitzen Amidoxime bereits die ideale Konfiguration für nachfolgende Ringschlussreaktionen.

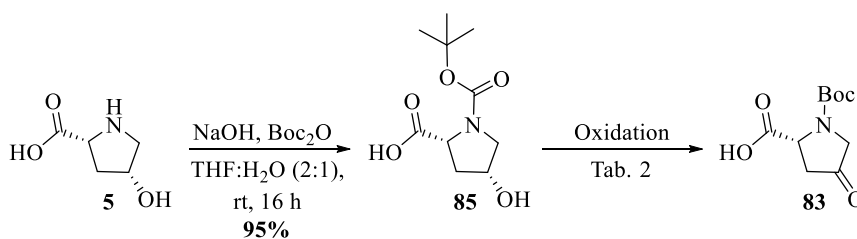
Wie in Schema 14 zu sehen konnte das Amidoxim **82** in einer Ausbeute von 98% isoliert werden. Die Reaktion des kommerziell erhältlichen 4-(Trifluormethyl)benzonitrils (**4**) und

Hydroxylamin-Hydrochlorid verlief dabei so selektiv und sauber, dass das Produkt keiner weiteren Reinigung bedurfte.



**Schema 14:** Darstellung des Amidoxims **82**.

Die zweistufige Synthese der *N*-geschützten Pyrrolidon-Verbindung **83** wurde ausgehend vom kommerziell erhältlichen *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (**5**) begonnen. Dieses besitzt bereits die im Strukturvorschlag enthaltene (*R*)-Konfiguration in C-2-Position des Pyrrolidinkerns und stellte somit eine ideale *chiral pool* Ausgangsverbindung dar. Als erstes wurde die Schützung von *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (**5**) durchgeführt, gefolgt von der Oxidation des sekundären Alkohols. Die gängigsten Schutzgruppen (SG) für Amine basieren auf Carbamaten. Je nach Schutzgruppen-Gerüst lässt sich die Schutzgruppe basisch, sauer, hydrogenolytisch oder anderweitig reduktiv abspalten.<sup>[139,140]</sup> Bei Betrachtung der weiteren Synthesepaltung wurde die *tert*-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe (Boc) gewählt. Diese konnte bereits in der vorangegangenen Arbeit von N. WALTER<sup>[132]</sup> erfolgreich eingeführt werden und lässt sich unter sauren Bedingungen entfernen, wodurch zum Zeitpunkt der Entschützung keine andere Funktionalität beeinflusst werden sollte. Die durchgeführten Reaktionen zum *N*-geschützten Pyrrolidon **83** sind in Schema 15 gezeigt.



**Schema 15:** Schützung des sekundären Amins durch die Boc-Schutzgruppe mit anschließender Oxidation zum *N*-geschützten Pyrrolidon **83**.

In Anlehnung an ein Protokoll von GU *et al.*<sup>[141]</sup> konnte das Boc-geschützte Pyrrolidin **85** in einer Ausbeute von 95% erhalten werden. Durch die erhöhte Rotationsbarriere der dabei entstehenden Carbamat-Rotamere konnten sowohl teilweise im <sup>1</sup>H- als auch im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum doppelte Signalsätze beobachtet werden. Diese sind im experimentellen Teil der Arbeit (siehe Kapitel 5.5) kenntlich gemacht. Im direkten Anschluss an die *N*-Schützung erfolgte eine DESS-MARTIN-Periodinan-Oxidation (DMP-Oxidation), durch die der Alkohol zwar vollständig oxidiert werden konnte, das Oxidationsprodukt **83** jedoch nicht sauber

isolierbar war. Die zu beobachtenden Verunreinigungen im aromatischen Bereich der NMR-Spektren konnten weder säulenchromatographisch entfernt noch durch die Verwendung anderer DMP-Chargen vermieden werden, weshalb alternative Oxidationsmethoden durchgeführt wurden. Dabei wurden sechs weitere Oxidationsmethoden getestet. Die Ergebnisse aller durchgeführten Oxidationsansätze sind in Tabelle 2 (Eintrag 2-7) aufgeführt.

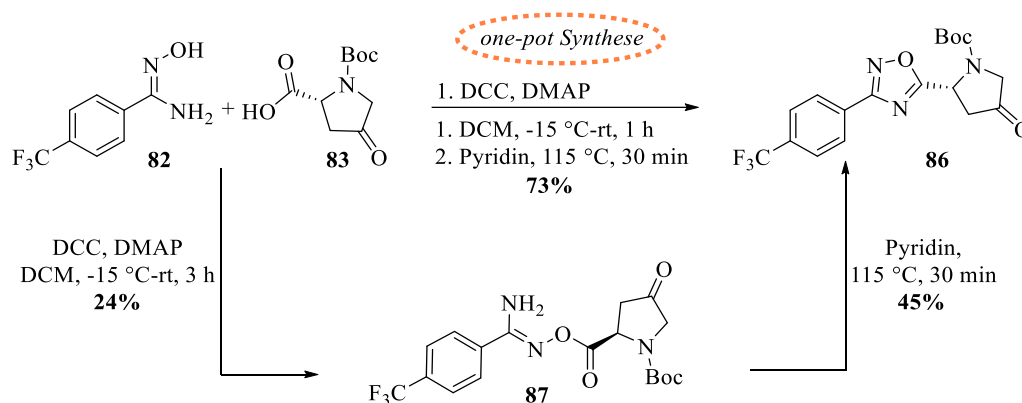
**Tabelle 2:** Durchgeführte Oxidationsansätze zur Darstellung des Oxidationsproduktes **83**.

Eintrag	Oxidationsmethode <sup>(a)</sup>	Reagenzien	Lösungsmittel	Temperatur	Zeit	Ausbeute von <b>83</b>
1	DMP-Oxidation <sup>[142]</sup>	DMP (3.3 eq.)	EE	rt	2 d	<b>52%</b> <sup>(b)</sup>
2	COREY-SUGGS-Oxidation <sup>[143]</sup>	PCC (1.5 eq.)	THF	rt	3 d	- <sup>(c)</sup>
3	COREY-KIM-Oxidation <sup>[144]</sup>	NCS, DMS (je 1.5 eq.), Et <sub>3</sub> N (3.0 eq.)	THF	-80 °C-rt	1 d	- <sup>(c)</sup>
4	SWERN-Oxidation <sup>[145,146]</sup>	Oxalylchlorid (2.1 eq.), DMSO (3.3 eq.), Et <sub>3</sub> N (6.7 eq.)	THF	-80 °C-rt	1 d	- <sup>(c)</sup>
5	Oxidation mit TEMPO <sup>[147]</sup>	TCC (0.75 eq.), TEMPO (5 mol%)	EE	0 °C-rt	1 h	<b>90%</b> <b>(98%)</b> <sup>(d)</sup>
6	LEY-GRIFFITH-Oxidation <sup>(e)[148]</sup>	Molsieb 4Å, NMO (1.5 eq.), TPAP (5 mol%)	THF, CH <sub>3</sub> CN	rt	7 d	- <sup>(f)</sup>
7	Oxidation mit IBX <sup>(e)[149]</sup>	IBX (3.0 eq.)	EE, CH <sub>3</sub> CN	rt-60 °C	7 d	- <sup>(f)</sup>

<sup>(a)</sup> Alle Reaktionen wurden in 0.43 mmol (1.0 eq.) Ansätzen durchgeführt; <sup>(b)</sup> die Ausbeutebestimmung erfolgte mit einem NMR-Standard (Ethylencarbonat); <sup>(c)</sup> voller Umsatz von Edukt **5** und vollständige Zersetzung; <sup>(d)</sup> optimierte Ausbeute in größerem Ansatz (13.0 mmol); <sup>(e)</sup> die Reaktion wurde mit verschiedenen Lösungsmitteln getestet; <sup>(f)</sup> unvollständiger Umsatz und beginnende Zersetzung.

Aus Tabelle 2 lässt sich entnehmen, dass die Oxidation mit TEMPO und Trichlorisocyanursäure (TCC, Eintrag 5) als einzige Methode zum sauber isolierten Oxidationsprodukt **83** führte. Sie kann sogar als bessere Alternative zur DMP-Oxidation angesehen werden, da keine aufwendige Synthese des Oxidationsreagenz nötig ist und die Reagenzien im Unterschuss (0.75 eq. TCC und 5 mol% TEMPO) eingesetzt werden. Die Synthese des *N*-geschützten Pyrrolidons **83** konnte somit in einer Ausbeute von 93% über zwei Stufen erreicht werden.

Mit dem Amidoxim **82** und dem *N*-geschützten Pyrrolidon **83** erfolgte im nächsten Schritt die Synthese des 1,2,4-Oxadiazols **86**, wie in Schema 16 gezeigt.



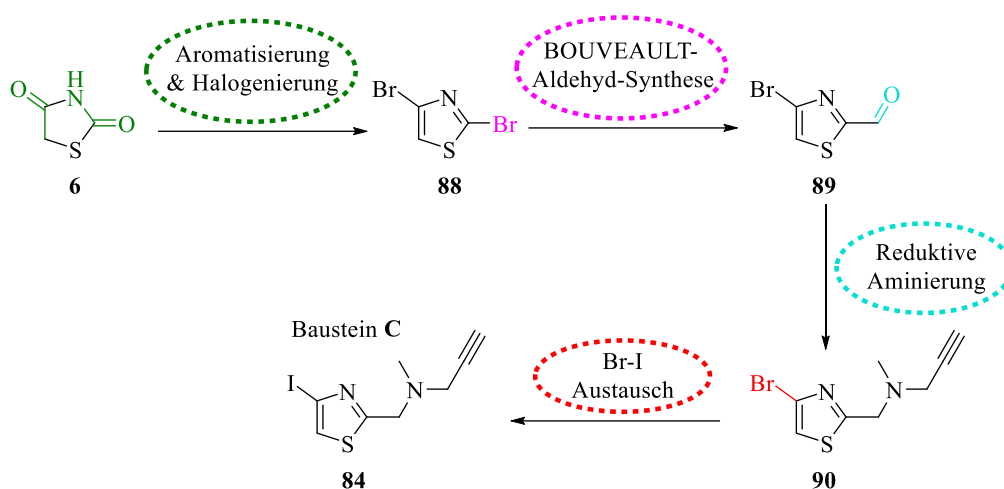
**Schema 16:** Darstellung des 1,2,4-Oxadiazols **86** in einer *one-pot* Synthese (oben) und über die Isolierung der *O*-Acylamidoxim-Zwischenstufe **87** (unten).

In dem ersten Reaktionsschritt findet eine STEGLICH-analoge Veresterung zwischen der Carbonsäurefunktion des Pyrrolidon-Derivates **83** und der Hydroxygruppe des Amidoxims **82** unter Verwendung von DMAP und DCC statt. Die dabei entstehende *O*-Acylamidoxim-Zwischenstufe konnte dünn-schichtchromatographisch nachgewiesen werden. Für die anschließende Kondensation wurde die *O*-Acylamidoxim-Zwischenstufe in Pyridin aufgenommen, wobei das 3,5-disubstituierte 1,2,4-Oxadiazol **86** nach säulenchromatographischer Reinigung als farbloser Feststoff durch die *one-pot* Synthese in 73% Ausbeute erhalten werden konnte (siehe Schema 16 (oben)).

Des Weiteren sollte durch die schrittweise Reaktion geprüft werden, ob eine höhere Ausbeute erzielt werden kann, weshalb die Reaktionen analog zu der bereits beschriebenen Synthese durchgeführt wurden (siehe Schema 16 (unten)). Die *O*-Acylamidoxim-Zwischenstufe **87** konnte dabei als farbloser Feststoff in einer geringen Ausbeute von 24% isoliert werden. Durch wiederholtes chromatographieren der Verbindung wurde die Bildung neuer Signale im  $^1\text{H-NMR}$  beobachtet, welche auf eine Zersetzung der Zwischenstufe schließen ließen. Das gleiche Ergebnis zeigte sich bei späteren  $^1\text{H-NMR}$ -Messungen einer zu einem früheren Zeitpunkt gereinigten und daraufhin eingelagerten Probe, sodass auf eine geringe Stabilität der *O*-Acylamidoxim-Zwischenstufe geschlossen wurde. Die anschließende Kondensationsreaktion brachte eine Ausbeute von 45% des Produktes **86**, womit insgesamt eine Ausbeute von 11% über zwei Schritte erreicht werden konnte. Für die nachfolgenden Arbeiten wurde aufgrund der höheren Ausbeute und des geringeren Syntheseaufwands ausschließlich die *one-pot* Synthese durchgeführt.

### 3.2.2 Synthese des Thiazols **84**

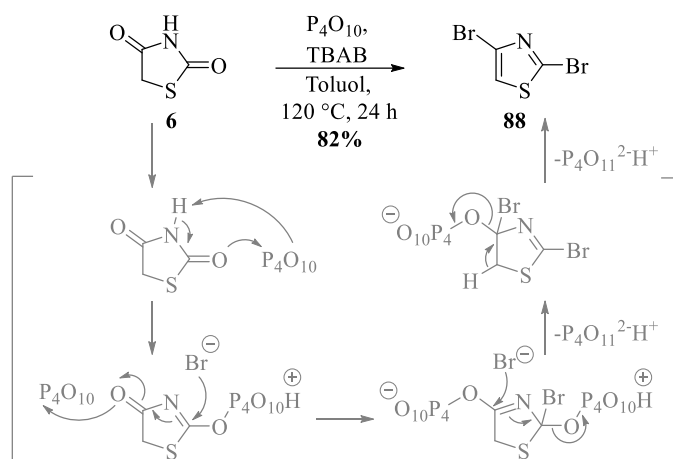
Die Synthese der iodierten Thiazol-Verbindung (Baustein **C**, Verbindung **84**) erfolgte, wie in Schema 17 übersichtlich gezeigt, über vier Schritte ausgehend von 2,4-Thiazolidindion (**6**).



**Schema 17:** Geplante Synthesen zum Iodthiazol **84** (Baustein C).

Nach den Ergebnissen von N. WALTER konnte bei der Verwendung des Bromthiazols **90** in der nachfolgenden GRIGNARD-Addition zur Verknüpfung des Thiazol-Gerüsts mit dem Oxadiazol-Pyrrolidon **86** kein Additionsprodukt isoliert werden, da es nicht zum Halogen-Metall-Austausch zwischen dem GRIGNARD-Reagenz und dem Br-Substituenten des Bromthiazols **90** kam.<sup>[132]</sup> Deshalb wurde in dieser Arbeit von Beginn an die Synthese des Iodthiazols **84** mit einem zusätzlichen Reaktionsschritt eines Halogen-Halogen-Austausches ausgehend vom Bromthiazol **90** verfolgt. Bei Iodaromaten nimmt die C-I-Bindungsenergie im Vergleich zur C-Br-Bindungsenergie grundsätzlich ab, weswegen sich die Reaktivität erhöht und ein Halogen-Metall-Austausch schneller erfolgt.<sup>[150]</sup>

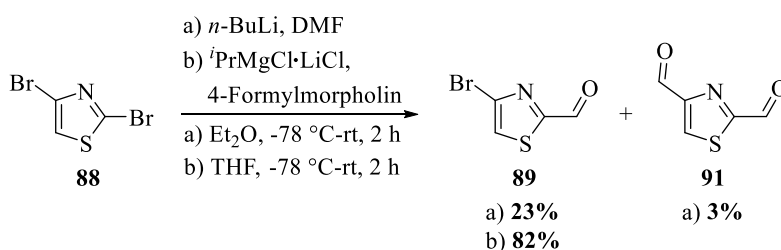
Beginnend mit kommerziell erworbenem 2,4-Thiazolidindion (**6**) wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von D. SIEGEL *et al.*<sup>[151]</sup> 2,4-Dibromthiazol (**88**) synthetisiert. Der genaue Mechanismus ist in der Literatur bisher nicht veröffentlicht. Bei der Reaktion findet vermutlich durch die Verwendung des Phosphorpentoxids eine Erhöhung der Elektrophilie an den Carbonylkohlenstoffen des 2,4-Thiazolidindions (**6**) statt, welche dadurch nucleophil vom Bromidion des Tetrabutylammoniumbromids (TBAB) angegriffen werden können. Durch die vorhandenen N- bzw. S-Atome im 2,4-Thiazolidindion (**6**) erfolgt der Angriff zunächst vermutlich am Carbonyl-Kohlenstoffatom der 2-Position, gefolgt von der Reaktion in 4-Position. Unter Ausbildung eines Metaphosphats und der Aromatisierung entsteht 2,4-Dibromthiazol (**88**). Die Reaktionsgleichung sowie die angenommenen Schlüsselschritte des Mechanismus sind in Schema 18 gezeigt.



**Schema 18:** Darstellung des 2,4-Dibromthiazols (**88**) sowie die angenommenen Schlüsselschritte des Mechanismus.

Das Produkt **88** konnte durch säulenchromatographische Reinigung als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 82% erhalten werden. Reinigungsansätze des Rohproduktes durch Umkristallisation oder, wie in der Literatur beschrieben, durch Sublimation<sup>[152]</sup> gelangen nicht.

Ausgehend von 2,4-Dibromthiazol (**88**) wurde im nächsten Schritt die Formylgruppe eingeführt. Hierfür wird in einem ersten Reaktionsschritt durch einen Halogen-Metall-Austausch mit einem geeigneten Metallorganyl ein Thiazol-Organometall-Intermediat erzeugt. In einer sich direkt anschließenden BOUVEAULT-Aldehyd-Synthese mit einem *N,N'*-disubstituierten Formamid erfolgt dann die Ausbildung des Carbaldehyds **89**. Bei stöchiometrischer Zugabe des Metallorganyls sollte es im Falle des 2,4-Dibromthiazols (**88**) durch die höhere Elektrophilie an der C-2-Position des Thiazols, aufgrund der direkten Nachbarschaft zu den Heteroatomen, zu einer selektiven Metallierung und damit zur Bildung des Carbaldehyds in dieser Position kommen. Die durchgeführten Reaktionen sind in Schema 19 gezeigt.



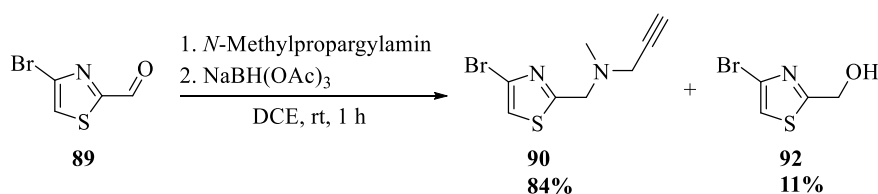
**Schema 19:** Darstellung des Carbaldehyds **89**.

Unter Verwendung der unter a) gezeigten Reaktionsbedingungen in Schema 19, die bereits in den Arbeiten von N. WALTER<sup>[132]</sup> verwendet wurden, konnte der Aldehyd **89** in moderater Ausbeute (23%) isoliert werden. Zusätzlich konnte bereits bei einem geringen Überschuss an

*n*-Butyllithium (*n*-BuLi, 1.1 eq.) die Bildung des 2,4-Dicarbaldehyds **91** als Nebenprodukt beobachtet werden. Zur Optimierung der Reaktion wurden nach einem Protokoll von HOARAU *et al.* die in Schema 19 gezeigten Reaktionsbedingungen b) getestet.<sup>[153]</sup> Dabei konnte der Aldehyd **89** in einer Ausbeute von 82% erhalten werden. Die Entstehung von Nebenprodukten blieb trotz Einsatz eines größeren Überschusses des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes<sup>[154]</sup> (<sup>i</sup>PrMgCl·LiCl, 1.3 eq.) aus.

Grundsätzlich sind Lithiumorganyle im Vergleich zu GRIGNARD-Verbindungen die stärkeren Nucleophile und reagieren schneller.<sup>[155]</sup> GRIGNARD-Verbindungen reagieren vergleichsweise langsamer und benötigen höhere Reaktionstemperaturen, bei denen viele elektrophile Gruppen nicht stabil sind. Das Turbo-GRIGNARD-Reagenz ist hingegen eine spezielle GRIGNARD-Verbindung und dafür bekannt, dass es durch den Zusatz von einer äquimolaren Menge LiCl als Salzadditiv einen schnelleren Halogen-Metall-Austausch als GRIGNARD-Verbindungen ohne Salzadditiv, vor allem an Arylbromiden und -iodiden, vollzieht. Verglichen zum MeMgCl besitzt der Isopropylrest von <sup>i</sup>PrMgCl grundsätzlich eine stärkere Basizität. Zudem wird durch die Zugabe des LiCl angenommen, dass es zu einer Erhöhung des nucleophilen Charakters des Isopropylrestes durch eine Deaggregation von <sup>i</sup>PrMgCl-Oligomeren kommt.<sup>[156]</sup> So beeinflusst neben dem Organylrest selbst auch das Salzadditiv die Verschiebung des SCHLENK-Gleichgewichtes in Richtung der Diorgano-Magnesium-Spezies.<sup>[157]</sup> Dadurch kommt es zu kürzeren Reaktionszeiten bei geringen Temperaturen und häufig zu höheren Ausbeuten. Das Turbo-GRIGNARD-Reagenz stellt somit eine gute Alternative dar, wenn Organo-Lithium-Verbindungen zu reaktiv und GRIGNARD-Verbindungen zu reaktionsträge sind.<sup>[154]</sup>

Nach erfolgreicher Darstellung des Carbaldehyds **89** wurde dieser anschließend in einer reduktiven Aminierung mit *N*-Methylpropargylamin zum Thiazol **90** umgesetzt, wie aus Schema 20 zu erkennen ist.

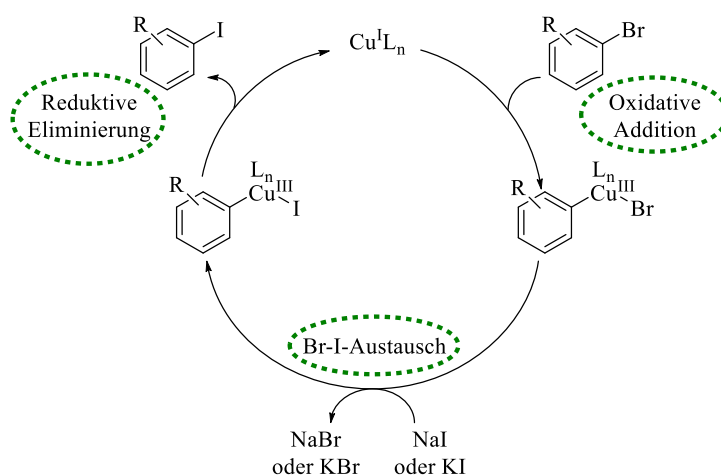


**Schema 20:** Reduktive Aminierung des Carbaldehyds **89**.

Das Produkt **90** konnte dabei in guter Ausbeute von 84% isoliert werden. Ebenfalls konnte der durch die Reaktion entstehende Alkohol **92** als Nebenprodukt in 11%iger Ausbeute isoliert werden.



Als letzter Reaktionsschritt zum Aufbau des iodierten Thiazol-Bausteins **C** sollte ein Br-I-Austausch des Bromthiazols **90** zum Iodthiazol **84** erfolgen. In vorangegangenen Arbeiten konnten nach einem Protokoll von A. KLAPARS und S. L. BUCHWALD *et al.* unter der Verwendung von *N,N'*-Dimethylethylendiamin (*N,N'*-DMEDA), NaI und CuI nur unvollständige Umsätze des Bromthiazols **90** zum Iodthiazol **84** erreicht werden.<sup>[132,158]</sup> Bei der aromatischen FINKELSTEIN-Reaktion kommt es generell unter Verwendung einer Cu(I)- oder Ni(0)-Verbindung, einem Liganden und einer Iodid-Quelle zum Austausch eines unreaktiveren Halogensubstituenten (Cl, Br) an einem Aromaten gegen einen I-Substituenten. Die Triebkraft ist dabei das Ausfällen eines Halogensalzes, das im Vergleich zum Iodsatz im verwendeten Lösungsmittel nicht mehr löslich ist. Der postulierte Mechanismus ist in Schema 21 gezeigt.<sup>[159,160]</sup> Hierbei kommt es im ersten Reaktionsschritt zur oxidativen Addition des Br- oder Cl-Aromaten an der Cu(I)-Spezies, wobei sich die Oxidationsstufe des Cu(I) auf Cu(III) erhöht. Anschließend erfolgt der Halogen-Halogen-Austausch vom unreaktiveren Halogen-Substituenten (Cl, Br) zum Iod-Substituenten. Im abschließenden Reaktionsschritt bildet sich in einer reduktiven Eliminierung der I-Aromat aus und die Cu(I)-Spezies bildet sich unter Verringerung der Oxidationsstufe des Cu(III) zu Cu(I) zurück.



**Schema 21:** Postulierter Mechanismus der aromatischen FINKELSTEIN-Reaktion nach M. BAO *et al.* und R. P. DAVIES *et al.*<sup>[159,160]</sup>

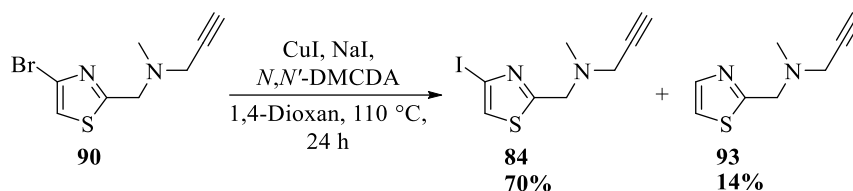
In den letzten Jahren wurden wegen der weitreichenden Bedeutung von reaktiveren Aryliodiden verschiedene Cu(I)-Liganden-Systeme getestet, die teilweise sehr gute Ergebnisse lieferten.<sup>[158–160]</sup> Fünf unterschiedliche Ansätze von diesen wurden am Bromthiazol **90** getestet. Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

**Tabelle 3:** Durchgeführte Ansätze zum Br-I-Austausch am Bromthiazol **90**.

Eintrag <sup>(a)</sup>	Cu <sup>I</sup> L <sub>n</sub> , Iodid-Quelle	Ligand	Lösungsmittel <sup>(b)</sup>	Zeit	Anteil <b>90</b> <sup>(c)</sup>	Anteil <b>84</b> <sup>(c)</sup>
1 <sup>[158]</sup>	CuI, NaI	<i>N,N'</i> -DMEDA	1,4-Dioxan	24 h	82%	14%
2 <sup>[159](d)</sup>	CuI, NaI	Diethylentriamin	CH <sub>3</sub> CN	48 h	73%	6%
3 <sup>[159](d)</sup>	CuI, NaI	Diethylentriamin	1,4-Dioxan	48 h	85%	7%
4 <sup>[160]</sup>	Cu <sub>2</sub> O, KI	L-Prolin	EtOH	24 h	53%	24%
5 <sup>[158]</sup>	CuI, NaI	<i>N,N'</i> -Dimethylcyclohexan-1,2-diamin	1,4-Dioxan	24 h	0%	83%

<sup>(a)</sup> Alle Reaktionen wurden in 0.41 mmol (1.0 eq.) Ansätzen von **90** mit 10 mol% Cu<sup>I</sup>L<sub>n</sub>, 20 mol% Ligand und 3.7 eq. NaI bzw. 1.5 eq. KI durchgeführt; <sup>(b)</sup> alle Reaktionen wurden unter Sauerstoffausschluss in *sealed tubes* durchgeführt; <sup>(c)</sup> die Ausbeutebestimmung erfolgte mittels NMR-Standard (Ethylencarbonat), es erfolgte keine Isolierung der Verbindungen; <sup>(d)</sup> die Reaktion wurde mit verschiedenen Lösungsmitteln getestet.

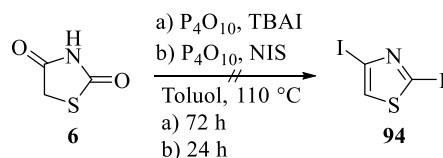
Der erste Eintrag aus Tabelle 3 unter Verwendung von *N,N'*-DMEDA bestätigt die Ergebnisse, dass es nur zu einem unvollständigen Umsatz vom Bromthiazol **90** kommt. Bei Verwendung von günstigem Diethylentriamin kommt es kaum zum Umsatz von **90**, unabhängig vom verwendeten Lösungsmittel (Einträge 2 und 3). Durch die Verwendung des L-Prolin/Cu<sub>2</sub>O-Systems konnte der Umsatz des Bromthiazols **90** zwar gesteigert werden, jedoch lag dieser auch nach 24 Stunden bei unter 50% (Eintrag 4). Auch bei längeren Reaktionszeiten (bis zu acht Tagen) konnten keine vollständigen Umsätze der Reaktionen 1-4 erreicht werden. Da eine säulenchromatographische Trennung der bromierten und iodierten Verbindungen **90** und **84** wegen ihrer ähnlichen *R<sub>f</sub>*-Werte (siehe Kapitel 5.5.1) nicht möglich war, wurden diese Ansätze verworfen. Bei Verwendung des cyclischen Liganden *N,N'*-Dimethylcyclohexan-1,2-diamin (*N,N'*-DMCDA) ließ sich hingegen auf Anhieb ein vollständiger Umsatz feststellen (Eintrag 5). Deshalb wurde die Reaktion im großen Maßstab (2.1 mmol von **90**) wiederholt. Wie aus Schema 22 zu entnehmen, konnte dabei das Iodthiazol **84** in einer Ausbeute von 70% sauber isoliert werden. Zusätzlich konnte das dehalogenierte Thiazol **93** als Nebenprodukt in 14%iger Ausbeute isoliert werden.



**Schema 22:** Darstellung des Iodthiazols **84** nach A. KLAPARS und S. L. BUCHWALD.<sup>[158]</sup>

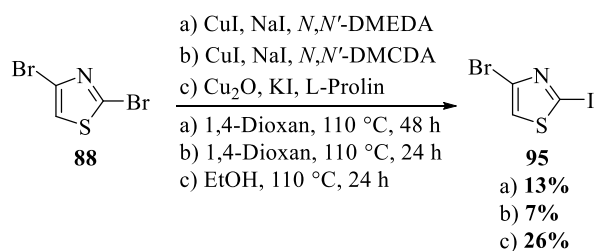
Insgesamt konnte das Iodthiazol **84** (Baustein **C**) somit über vier Stufen mit einer Gesamtausbeute von 40% dargestellt werden.

Zusätzlich zu den vorgestellten Reaktionen wurden im Verlauf der praktischen Arbeiten verschiedene Ansätze einer alternativen Einführung des I-Substituenten getestet. Als erstes wurde dabei versucht, dass 2,4-Diiodthiazol (**94**) in analoger Reaktion zum 2,4-Dibromthiazol (**88**) durch die Verwendung von Tetrabutylammoniumiodid (TBAI) als Iodierungsreagenz darzustellen. Dadurch sollte der spätere Syntheseschritt des Br-I-Austausches wegfallen. Trotz vollständigem Umsatz des Eduktes **6** konnte weder das 2,4-Diiodthiazol (**94**) noch eine andere Verbindung bei den in Schema 23 unter a) gezeigten Bedingungen nachgewiesen werden. Die Verwendung von *N*-Iodsuccinimid (NIS) als Iodid-Quelle (Schema 23, Bedingungen b)) führte zu den gleichen Ergebnissen.



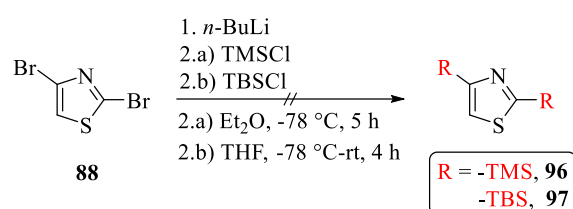
**Schema 23:** Versuche zur Darstellung des 2,4-Diiodthiazols (**94**) ausgehend von 2,4-Thiazolidindion (**6**).

In einem weiteren Ansatz wurde die aromatische FINKELSTEIN-Reaktion an 2,4-Dibromthiazol (**88**) getestet. Dabei konnte bei der Reaktion des 2,4-Dibromthiazols (**88**) nach den in Schema 24 gezeigten Bedingungen a)-c) die Entstehung des 4-Brom-2-iodthiazols (**95**) in geringen Ausbeuten nachgewiesen werden. Die Lage der Substituenten wurde durch die MS-EI-Fragmentierung bestimmt. Eine Entstehung von doppelt iodiertem Produkt konnte nicht nachgewiesen werden.



**Schema 24:** Nicht erfolgreicher Versuch zur Darstellung des 2,4-Diiodthiazols (**94**) ausgehend von 2,4-Dibromthiazol (**88**).

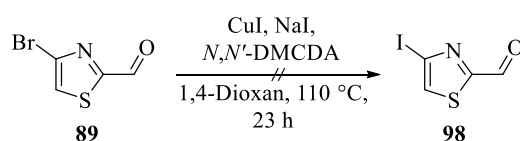
Nachdem die zuvor durchgeführten Ansätze zur Synthese des 2,4-Diiodthiazols (**94**) nicht zum gewünschten Produkt führten, wurde angenommen, dass es sich bei 2,4-Diiodthiazol um keine stabile Verbindung handelt. Diese Annahme wird dadurch unterstützt, dass es in der Literatur nur eine Versuchsvorschrift gibt, bei der das 2,4-Diiodthiazol (**94**) isoliert werden konnte. Die Synthese erfolgte laut P. PEDRINI *et al.* ausgehend von Dibromthiazol oder Thiazol und *n*-BuLi mit Silyl- und Zinnelektrophilen, mit dem Ziel auch chemoselektiv Dihalogenthiazole herstellen zu können.<sup>[161]</sup> Basierend auf dieser Veröffentlichung wurde 2,4-Dibromthiazol (**88**) mit einem Überschuss an *n*-BuLi und TMSCl umgesetzt, da keine chemoselektive Reaktion notwendig war, und die Verwendung von Me<sub>3</sub>SnCl wegen der hohen Toxizität vermieden werden sollte.<sup>[162]</sup> Die durchgeführten Ansätze sind in Schema 25 gezeigt.



**Schema 25:** Nicht erfolgreicher Ansatz zur Darstellung des 2,4-Diiodthiazols (**94**) basierend auf dem Protokoll von P. PEDRINI *et al.*<sup>[161]</sup>

Dünnschichtchromatographisch konnte nach 50 Minuten ein Umsatz des 2,4-Dibromthiazols (**88**) mit *n*-BuLi zu zwei neuen Verbindungen beobachtet werden, nach der Zugabe von TMSCl (siehe Schema 25, Bedingungen a)) und Beenden der Reaktion konnte jedoch weder destillativ noch säulenchromatographisch ein Produkt isoliert werden. Um ausschließen zu können, dass mögliche TMS-Produkte zu instabil sind, wurde die Reaktion mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBSCl) wiederholt (siehe Schema 25, Bedingungen b)). Dieser Ansatz führte jedoch zu den gleichen Ergebnissen wie die vorherige Synthese. Wegen der nicht erfolgreichen Synthese und dem dritten gescheiterten Ansatz zur Darstellung des 2,4-Diiodthiazols (**94**) wurde die Darstellung dieses nachfolgend verworfen.

Als letzter Ansatz für die frühere Einführung des I-Substituenten erfolgte die Umsetzung des Carbaldehyds **89** in einer aromatischen FINKELSTEIN-Reaktion, wie in Schema 26 zu sehen.

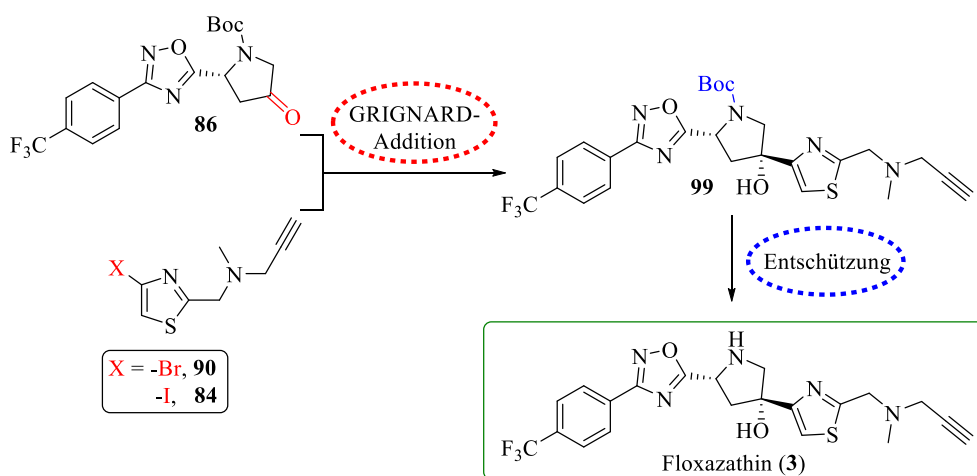


**Schema 26:** Versuch der aromatischen FINKELSTEIN-Reaktion am Carbaldehyd **89**.

Dabei konnte nach der erfolgten säulenchromatographischen Trennung neben Eduktrückständen von **89** (34%) eine weitere Verbindung in größeren Mengen isoliert werden, die nicht identifiziert werden konnte. Aus dem  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ging jedoch hervor, dass es zur Reaktion des Aldehyds gekommen ist. Hinweise auf die Entstehung eines Imins durch die Reaktion mit dem aminhaltigen Liganden  $N,N'$ -DMCDA konnte in den  $^1\text{H-NMR}$ - und  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren nicht gefunden werden. Die Bildung eines Amins konnte massenspektrometrisch und mittels IR-Spektroskopie nicht bestätigt werden. Hinzu kam, dass der aminhaltige Ligand nur katalytisch (20 mol%) zugegeben wurde. Eine Reaktion des Br-Substituenten konnte jedoch wegen der chemischen Verschiebung des einzigen aromatischen Signals im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum und den drei chemischen Verschiebungen im aromatischen Bereich des  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrums ausgeschlossen werden. Deshalb wurde auch dieser Ansatz zur früheren Einführung des I-Substituenten verworfen.

### 3.2.3 Verknüpfung des 1,2,4-Oxadiazols **86** und des Thiazols **84**

Durch die erfolgreiche Darstellung des 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidons **86** und des Thiazol-Bausteins **C** (Iodthiazol **84**) konnte im nächsten Schritt die geplante Verknüpfung (siehe Retrosynthese in Schema 12) beider erfolgen. Dabei sollte wie in Schema 27 gezeigt eine GRIGNARD-Addition vom Thiazol-Baustein an das Keton des 1,2,4-Oxadiazol-Fragments **86** zur Boc-geschützten *merged compound* **99** erfolgen. Als letzter Reaktionsschritt sollte abschließend die Entfernung der Boc-Schutzgruppe erfolgen, um Floxazathin (**3**) zu erhalten.

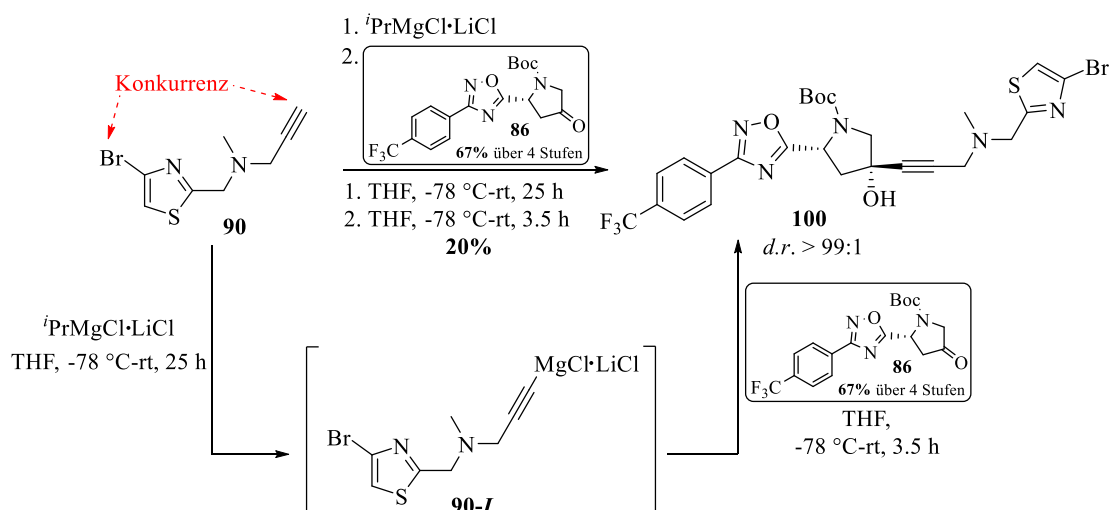


**Schema 27:** Übersicht der letzten zwei geplanten Syntheseschritte zur Darstellung von Floxazathin (**3**).

Bei der GRIGNARD-Addition sollten sowohl das Bromthiazol **90** als auch das Iodthiazol **84** getestet werden, wobei basierend auf den Vorstudien davon ausgegangen wurde, dass die Verwendung des Iodthiazols **84** notwendig ist.<sup>[132]</sup> Grundsätzlich war zudem bekannt, dass es bei der Verwendung eines Metallorganyls ebenfalls zur Deprotonierung des terminalen Alkyls

kommen kann. In der Arbeit von N. WALTER konnte bei der Verwendung des Bromthiazols **90** in der GRIGNARD-Addition jedoch gar kein Produkt isoliert werden, weshalb nicht von einer Reaktion des terminalen Alkins ausgegangen wurde.<sup>[132]</sup>

In einer ersten Reaktion wurde somit das Bromthiazol **90** zunächst mit dem Turbo-GRIGNARD-Reagenz versetzt. Die dünnschichtchromatographische Verfolgung der Reaktion zeigte nach einer Stunde einen stagnierenden Umsatz des Eduktes **90**. Auch durch Erwärmen der Reaktionslösung auf Raumtemperatur konnte dieser nicht vervollständigt werden, sodass die Zugabe des 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidons **86** trotz unvollständiger Ausbildung des metallierten Intermediats erfolgte. Nach Beenden der Reaktion konnte durch die säulenchromatographische Reinigung zusätzlich zum Edukt **90** (27% reisoliert) eine weitere Verbindung isoliert werden, die als invers verknüpfte Verbindung **100**, verbunden über das Alkin, identifiziert wurde (siehe Schema 28). Die stereoselektive Ausbildung dieses einzigen Diastereomers ist zu einem späteren Zeitpunkt in diesem Kapitel erklärt.

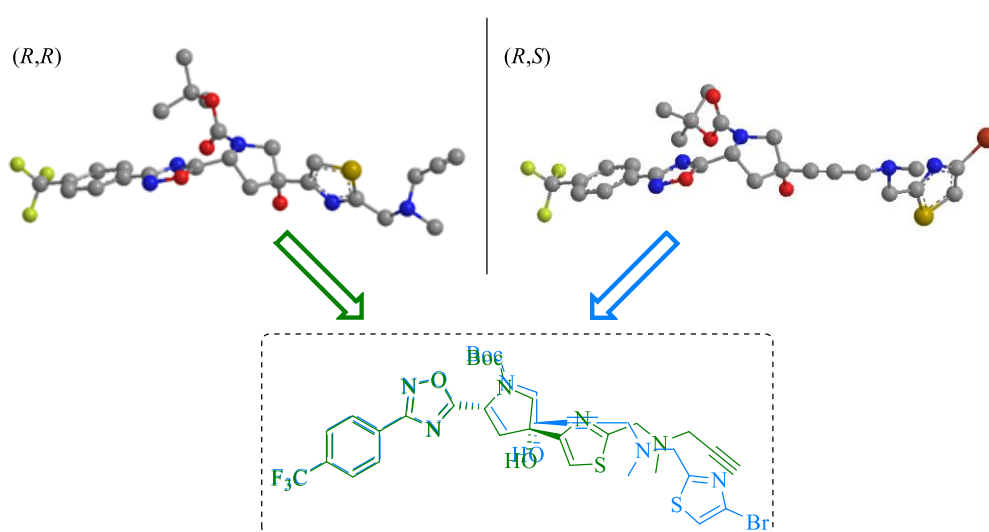


**Schema 28:** Versuch der Reaktion des Bromthiazols **90** mit der Carbonylfunktion des 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidons **86**.

Terminale Alkine besitzen einen  $pK_a$ -Wert von circa 25 und sind damit saurere Kohlenwasserstoffe als ihre Alkenyl- oder Alkylanaloga. Sie können durch stark basische Reagenzien wie BuLi oder EtMgBr deprotoniert werden.<sup>[139]</sup> Die in dieser Reaktion vorliegende Konkurrenz zwischen der Deprotonierung des Alkins und des Br-M-Austausches führte bevorzugt zur Deprotonierung des Alkins. Dadurch wurde die Notwendigkeit eines schnelleren Halogen-Metall-Austausches im Vergleich zur Deprotonierung durch bspw. die Verwendung eines I-Substituenten für die gewünschte Verknüpfung der Bausteine deutlich. Grundsätzlich ist die C-I-Bindungsenergie zur C-Br-Bindungsenergie schwächer, weshalb I-Substituenten schneller reagieren. Sollte der I-M-Austausch nicht schnell genug ablaufen, sodass es weiterhin

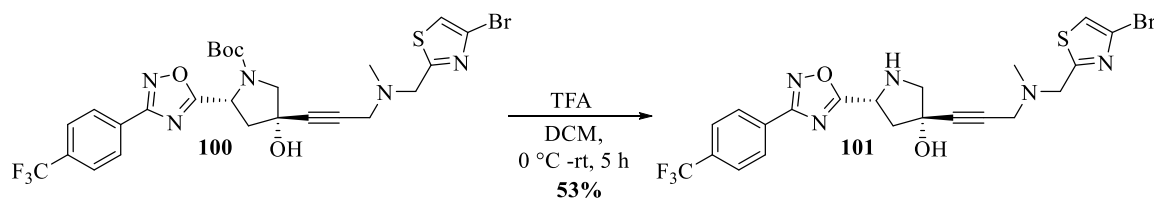
zu einer Deprotonierung des terminalen Alkins kommt, bliebe immer noch die Einführung einer Schutzgruppe am terminalen Alkin.

Für die invers verknüpfte und *N*-entschützte Verbindung **101** wurden abweichende Interaktionen im aktiven Zentrum des Endothiapepsins im Vergleich zu Floxazathin (**3**) erwartet. Allerdings könnte der Bereich des Phenylrestes bis zum Pyrrolidinkern deckungsgleich sein. Wie aus Abbildung 22 hervorgeht, wäre auch die Positionierung des basischen, tertiären Amins in nahezu identischer Lage möglich. Möglicherweise wären auftretende Interaktionen somit ausreichend für eine Bindung der *N*-entschützten Verbindung **101** im aktiven Zentrum von Endothiapepsin.



**Abbildung 22:** 3D-Modellierung der *N*-geschützten Zielverbindung **99** (links) sowie der invers verknüpften Verbindung **100** (rechts), und die direkte Überlagerung beider Verbindungen **99** (grün) und **100** (blau) (unten) zur Verdeutlichung der möglicherweise deckungsgleichen Bereiche. Die Modellierung erfolgte mit ChemDraw 3D, der übersichtlicher ohne H-Atome.

Deshalb wurde die invers verknüpfte Verbindung **100**, wie im nachfolgenden Schema 29 gezeigt, *N*-entschützt und anschließend im weiteren Verlauf einer Kristallstrukturanalyse in Gegenwart von Endothiapepsin unterzogen.

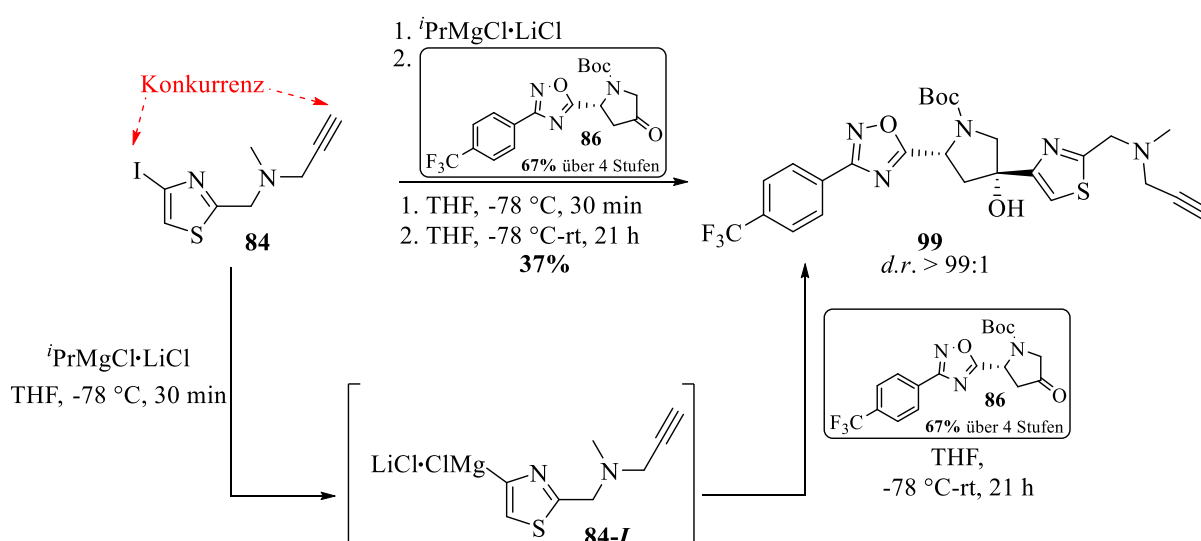


**Schema 29:** Entschützung der invers verknüpften Verbindung **100**.

Die Kristallstrukturanalyse wurde in Kooperation mit der *CrystalsFirst GmbH* nach einem noch nicht veröffentlichtem *soaking*-Protokoll, bei dem die Verbindung in einen zuvor gezüchteten Endothiapepsin-Kristall eindringt, durchgeführt. Dabei zeigte sich jedoch, dass keine Bindung

der invers verknüpften und *N*-entschützten Verbindung **101** in Endothiapepsin erfolgt. Die Interaktionen des möglicherweise deckungsgleichen 3,5-disubstituierten 1,2,4-Oxadiazols scheinen nicht ausreichend zu sein, und die abweichende Orientierung des Thiazolylrestes ist offensichtlich zu groß für eine Interaktion im aktiven Zentrum des Endothiapepsins. Somit konnte keine Kristallstruktur für Verbindung **101** erhalten werden.

Um einen schnelleren Halogen-Metall-Austausch bei der GRIGNARD-Addition erreichen zu können und dadurch möglicherweise eine Reaktion des aciden Alkins zu umgehen, wurde die Verknüpfung der Bausteine analog mit dem Iodthiazol **84**, wie in Schema 30 gezeigt, untersucht.



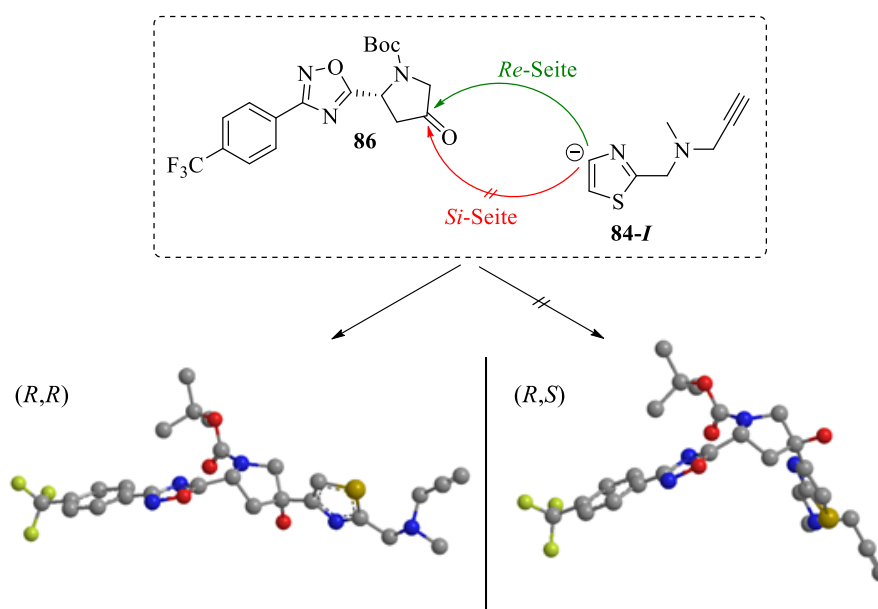
**Schema 30:** GRIGNARD-Addition mit dem Iodthiazol **84** an die Carbonylfunktion des 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidons **86**.

Bei dieser Reaktion zeigte sich bereits 30 Minuten nach Zugabe des GRIGNARD-Reagenzes zum Iodthiazol **84** dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz des Eduktes **84**. Nach Zugabe des 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidons **86** wurde die Reaktion 21 Stunden später mit stagnierendem Umsatz beendet. Durch die säulenchromatographische Reinigung ließ sich das *gemergede* Produkt **99** in 37%iger Ausbeute isolieren. Dazu konnte das Oxadiazol **86** in 21% reisoliert werden und das dehalogenierte Thiazol **93** mit 18% isoliert werden. Warum der Umsatz stagnierte, konnte nicht mit Sicherheit begründet werden. Jedoch wurde die Stagnation auch in späteren Experimenten und unabhängig von längeren Reaktionszeiten beobachtet. Möglicherweise bildet sich bereits während der Reaktion ein Teil des dehalogenierten Thiazols **93** aus. Da bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktion allerdings nicht direkt das metallierte Intermediat **84-I** detektiert werden kann, sondern dieses zum dehalogenierten Thiazol **93** reagiert, welches dann nachweisbar ist, konnte zum Zeitpunkt



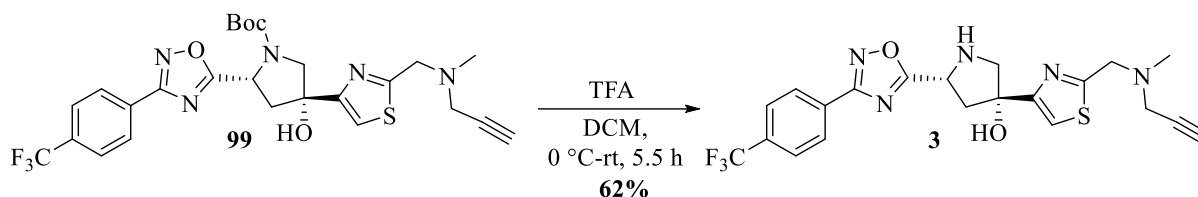
der Beendigung der Reaktion keine Aussage über eine noch möglicherweise vorhandene Menge des metallierten Intermediats **84-I** getroffen werden. Die Reaktionen wurden jedoch strikt unter Sauer- und Wasserstoffausschluss durchgeführt, so dass es nicht zu einer frühzeitigen Hydrolyse des metallierten Intermediats gekommen sein sollte.

Dass sich ausschließlich das (*R,R*)-Diastereomer ausbildet (die Bestimmung der relativen Konfiguration erfolgte durch die Kristallstrukturanalyse, siehe S. 56), ist mit dem großen sterischen Anspruch des an der C-2-Position des Pyrrolidinrings befindlichen Restes zu begründen. Dieser schirmt durch das bereits vorhandene Stereozentrum von Beginn an die *Si*-Seite ab, sodass der Angriff des Nucleophiles auf das Carbonyl-C-Atom von der entgegengesetzten *Re*-Seite erfolgt, wie in Abbildung 23 (oben) verdeutlicht ist. Damit wird nur ein einziges Diastereomer mit den größtmöglichen Abständen der C-2- und C-4-Substituenten am Pyrrolidinring ausgebildet. Die räumliche Orientierung des gebildeten (*R,R*)- bzw. des nicht gebildeten (*R,S*)-Diastereomers ist zur Verdeutlichung in Abbildung 23 (unten) gezeigt. Gleiches ist für die invers verknüpfte Verbindung **100** anzunehmen, wobei sich durch die abweichenden Prioritäten der Substituenten am chiralen Zentrum in C-4-Position des Pyrrolidinrings das (*R,S*)-Diastereomer als einzige Verbindung bildet. Eine Überprüfung mittels Kristallstrukturdaten konnte für die invers verknüpfte Verbindung **101** nicht erfolgen.



**Abbildung 23:** Mögliche Angriffe des Nucleophiles (oben) und die räumliche Orientierung des ausschließlich gebildeten (*R,R*)-Diastereomers (unten links) bzw. des nicht-gebildeten (*R,S*)-Diastereomers (unten rechts) zur Verdeutlichung der Produktausbildung der *gemergeden* Verbindung **99**. Die Modellierung erfolgte mit ChemDraw 3D, der übersichtlicher ohne H-Atome.

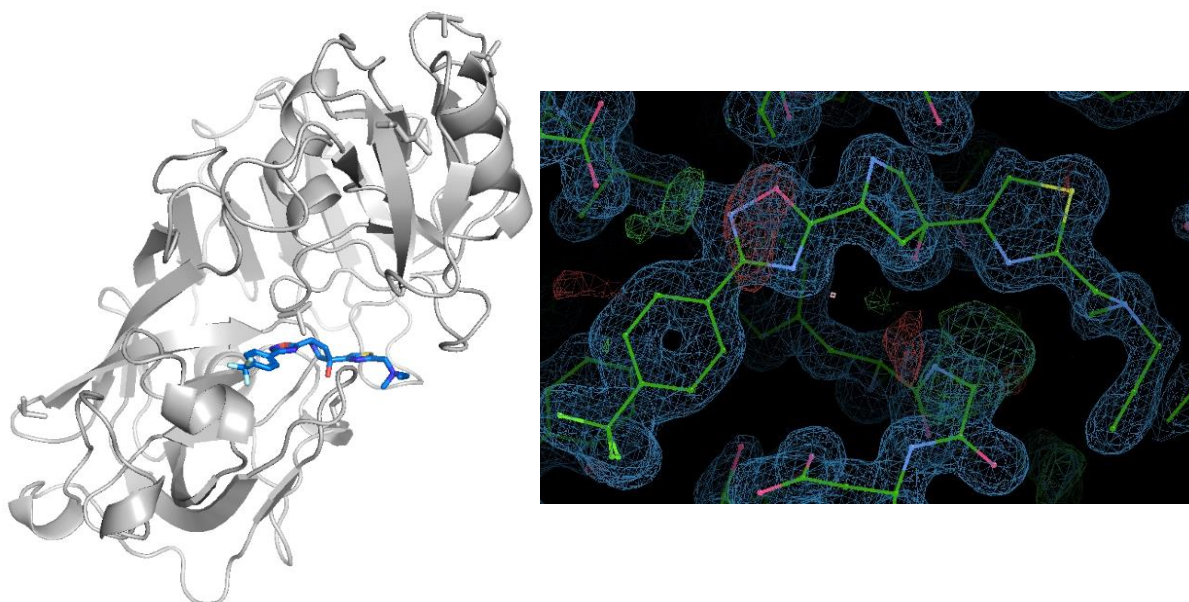
Als letzter Reaktionsschritt wurde die saure Entschützung des *N*-Boc-Pyrrolidins unter Verwendung von TFA durchgeführt, wie in Schema 31 gezeigt.



**Schema 31:** Entschützung des *N*-Boc-Pyrrolidins zur Darstellung von Floxazathin (**3**).

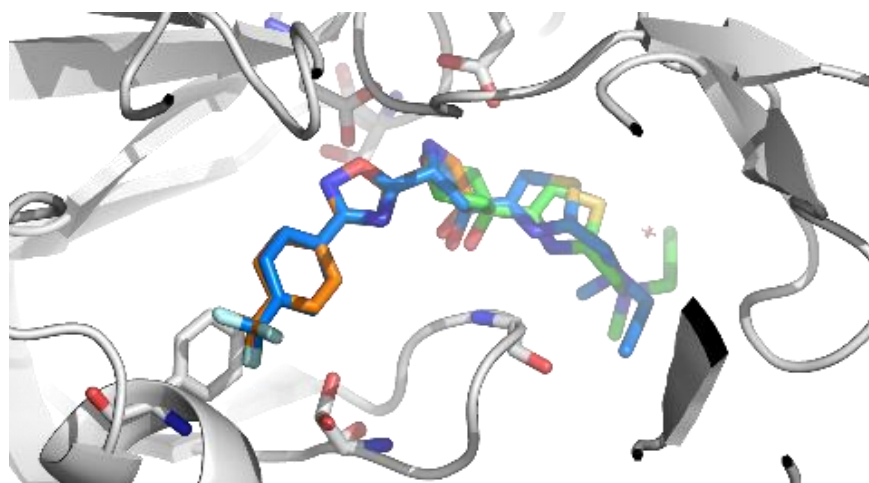
Die Zielverbindung Floxazathin (**3**) konnte dabei nach mehrfacher säulenchromatographischer Reinigung in 62% Ausbeute isoliert werden. Somit ließ sich Floxazathin (**3**) über zehn konvergente Stufen mit einer längsten linearen Synthesesequenz von sechs Stufen (Ausbeute über sechs lineare Stufen: 10%) darstellen. Außer der GRIGNARD-Addition konnten alle Synthesen in guten bis sehr guten Ausbeuten erfolgen.

Die im Anschluss in Kooperation mit der *CrystalsFirst GmbH* durchgeführte Kristallstrukturanalyse von Floxazathin (**3**) zeigte eine vollständige Bindung im aktiven Zentrum des Endothiapepsins. Anders als in den vorangegangenen Arbeiten war keine unklare Elektronendichte der Struktur im Bereich des 1,2,4-Oxadiazols zu erkennen, wie in Abbildung 24 zu sehen.



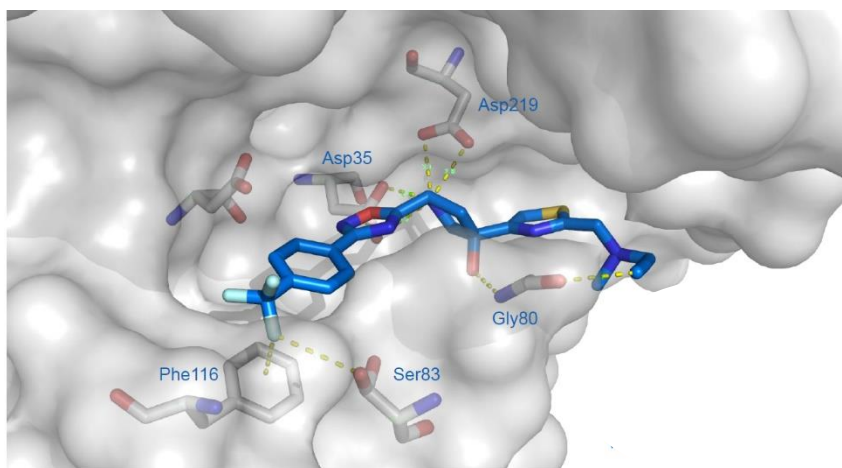
**Abbildung 24:** Die Kristallstruktur von Floxazathin (**3**) im EP-Proteinkristall (links) und die Elektronendichtekarte (rechts). Die Visualisierungen erfolgten mit *PyMol* bzw. *WinCoot*.

Die abschließende Überlagerung der Kristallstruktur von Floxazathin (**3**) und den Kristallstrukturen der zwei Fragmente **1** (PDB: 5QB7)<sup>[134]</sup> und **2** (PDB: 5QBJ)<sup>[135]</sup> zeigte, dass die *merged compound* Floxazathin (**3**) nahezu deckungsgleich zu den einzelnen Fragmenten des Screenings liegt, wie in Abbildung 25 zu erkennen ist.



**Abbildung 25:** Überlagerung der Kristallstrukturen des Pyrrolidin-Fragmentes **1** (orange) und des Piperidin-Fragmentes **2** (grün) mit der gemessenen Kristallstruktur von Floxazathin (**3**) (blau). Im linken Bereich des aktiven Zentrums zeigt sich eine nahezu perfekte Überlagerung des Fragmentes **1** und des Floxazathins (**3**), im rechten Bereich treten wegen der Verknüpfung über den Pyrrolidinring leichte Abweichungen auf. Der Propargylrest ist anders als vorhergesagt orientiert (vgl. grün und blau). Das Bild wurde von der *AnalytiCon Discovery GmbH* zur Verfügung gestellt.

Zusätzlich zu den vorhergesagten Interaktionen (zwischen dem N-Atom des Pyrrolidins und den beiden katalytisch wirkenden Aspartatresten Asp35 und Asp219, der T-Stacking-Interaktion zwischen Phe116 und dem  $\pi$ -System des Phenyl-Gerüsts, einer schwachen Interaktion zwischen einem Fluoratom der  $F_3C$ -Gruppe und dem Ser83 und der Interaktion zwischen der Hydroxygruppe und dem Gly80, siehe Kapitel 3.1) konnte eine weitere HBB-Interaktion zwischen Gly80 und dem H-Atom des terminalen Alkins erkannt werden. Die zusätzliche Interaktion führte zu einer anderen Ausrichtung des terminalen Alkins in Floxazathin (**3**) (vgl. der Alkinreste in Abbildung 25 in grün bzw. blau), als im ursprünglichen Strukturvorschlag für Floxazathin (**3**) vorhergesagt wurde (siehe Kapitel 2, Abbildung 20). Diese zusätzliche Interaktion konnte auch schon in der vorangegangenen Arbeit mit der unklaren Elektronendichte im Bereich des 1,2,4-Oxadiazols erkannt werden. Interaktion ausgehend vom 1,2,4-Oxadiazol konnten für die *merged compound* Floxazathin (**3**) nicht eindeutig festgestellt werden. Der Übersicht halber sind alle beobachteten Interaktionen des Floxazathins (**3**) im aktiven Zentrum von Endothiapepsin in Abbildung 26 gezeigt.



**Abbildung 26:** Verdeutlichung der beschriebenen Interaktionen von Floxazathin (**3**) im aktiven Zentrum des Endothiapepsins. Das Bild wurde von der *AnalytiCon Discovery GmbH* zur Verfügung gestellt.

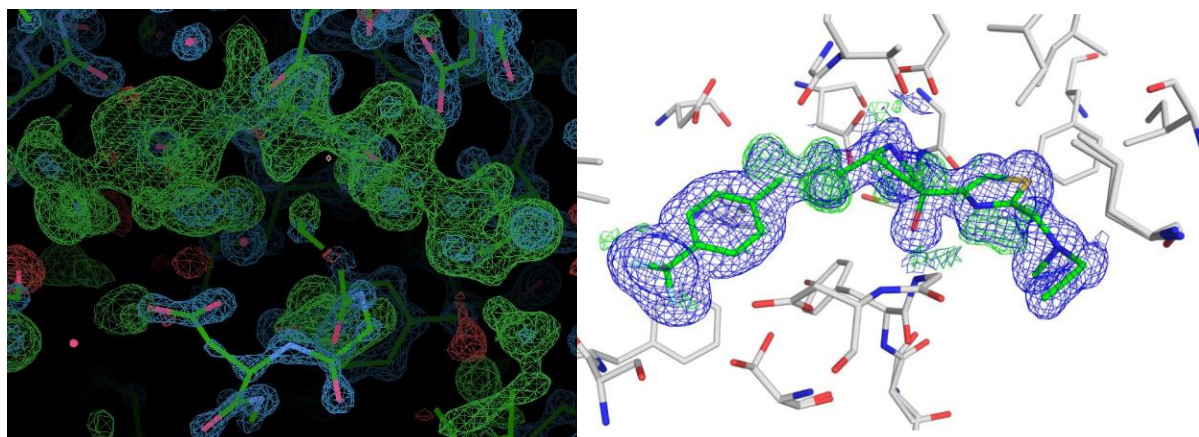
Durch die Kristallstruktur von Floxazathin (**3**) in EP konnte bewiesen werden, dass eine Verknüpfung der Fragmente zu einer gut interagierenden Verbindung im aktiven Zentrum des EPs möglich ist, und diese nur geringfügige Abweichungen zu den einzelnen Fragmenten des Screenings im aktiven Zentrum zeigt. Die Testung der enzymatischen Aktivität sollte zu einem späteren Zeitpunkt der Einheitlichkeit halber mit den nachfolgenden Derivatstrukturen erfolgen und ist in Kapitel 3.7 aufgeführt.

Neben diesen Ergebnissen zur Darstellung von Floxazathin (**3**) wurde im Laufe der gesamten Arbeit immer wieder die in den Vorarbeiten beobachtete unklare Elektronendichte im Bereich des 1,2,4-Oxadiazols betrachtet. Im nachfolgenden Unterkapitel 3.2.3.1 werden Beobachtungen und Untersuchungen bezüglich der unklaren, durch Kristallstrukturanalysen beobachteten, Elektronendichte des 1,2,4-Oxadiazols diskutiert, die zu einem späteren Zeitpunkt der praktischen Arbeit erhoben wurden. Das darauffolgende Unterkapitel 3.2.3.2 beschäftigt sich anschließend mit Versuchen, die im Rahmen zur Optimierung der GRIGNARD-Addition gemacht wurden, bevor weitere Derivatsynthesen von potenziellen Inhibitoren in den Kapiteln 3.3 bis 3.5 erörtert werden.

### 3.2.3.1 Untersuchungen zur Stabilität von 1,2,4-Oxadiazolen

Die in der vorangegangenen Arbeit beobachtete unklare Elektronendichte im Bereich des 1,2,4-Oxadiazols konnte bei der ersten Kristallstrukturmessung im Rahmen dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden. Im Laufe der Arbeit wurde die Verbindung jedoch in größeren zeitlichen Abständen mehrfach Kristallstrukturanalysen in Kooperation mit der *CrystalsFirst GmbH* unterzogen. Dabei fiel bereits bei der ersten Wiederholung der Kristallstrukturmessung von Floxazathin (**3**) zwei Monate nach der ersten Messung auf, dass die Elektronendichte teilweise von den ersten kristallographischen Daten abwich. Die Elektronendichte im Bereich des

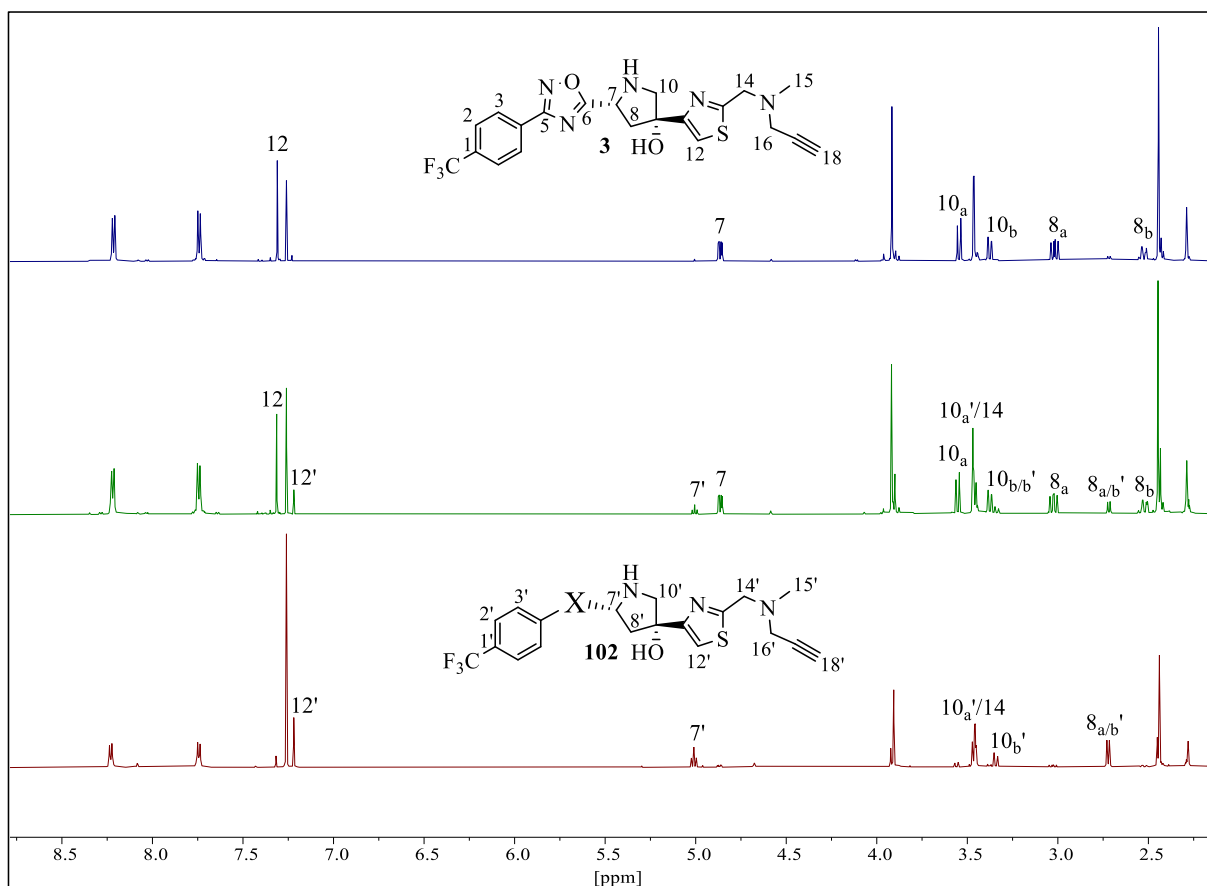
1,2,4-Oxadiazols erschien unklar und so, wie sie in den Vorarbeiten von N. WALTER bereits beobachtet wurde.<sup>[132]</sup> Das Ergebnis der zweiten Messung ist in Abbildung 27 zu sehen. Während dieser zwei Monate wurde die Verbindung dauerhaft in DMSO bei -20 °C gelagert. Das *soaking* mit Endothiapepsin erfolgte immer unmittelbar vor der jeweiligen Messung.



**Abbildung 27:** Erhaltene Elektronendichte (links) bei der zweiten Kristallstrukturmessung von Floxazathin (**3**). Zur deutlicheren Darstellung erfolgte die Visualisierung der Elektronendichte mit den gemodelten Strukturresten (rechts) von der *AnalytiCon Discovery GmbH*.

Basierend auf diesen Ergebnissen wurden <sup>1</sup>H-NMR-Daten eingelagerter Proben von Floxazathin (**3**) erhoben, da eine Zersetzung möglicherweise auch hier erkennbar ist. Dabei konnte festgestellt werden, dass bei Lagerung von Floxazathin (**3**) ohne Lösungsmittel bei -20 °C keine Änderung im NMR-Spektrum zu beobachten ist. Bei Lagerung von Floxazathin (**3**) in Lösung bei -20 °C konnte hingegen die Entstehung einer neuen Verbindung anhand der NMR-spektroskopischen Analyse zusätzlich zu Floxazathin (**3**) beobachtet werden. Bemerkenswert dabei war, dass die gleichen, hier nun zusätzlich vorhandenen Signalsätze aus der in Lösung eingelagerten Probe bereits zuvor bei der säulenchromatographischen Reinigung von Floxazathin (**3**) nach der sauren Boc-Entschützung beobachtet wurden. Die den Signalsätzen zugehörige Verbindung konnte dabei nach der Entschützung säulenchromatographisch von Floxazathin (**3**) getrennt werden. Zur Verdeutlichung sind in Abbildung 28 die NMR-Spektren von Floxazathin (**3**) direkt nach der Synthese (blau), nach sieben Monaten in Lösung gelagert (grün), und der abgetrennten Verunreinigung **102** (rot) bei der Säulenchromatographie der sauren Boc-Entschützung von Floxazathin (**3**), sowie die Zuordnung der relevanten Signale gezeigt.





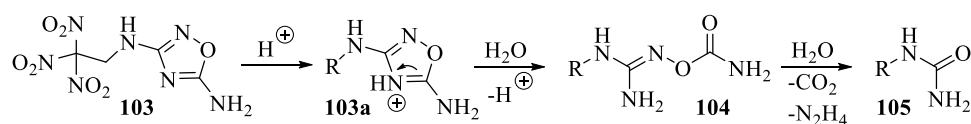
**Abbildung 28:** Überlagerung der NMR-Spektren (in  $\text{CDCl}_3$  gemessen) von reinem Floxazathin (**3**) direkt nach der säulenchromatographischen Trennung (blau), nach sieben Monaten in Lösung gelagert (grün) und der abgetrennten Verunreinigung **102** (rot) bei der Säulenchromatographie von Floxazathin (**3**).

Die Entstehung von Verbindung **102** stellt auch einen möglichen Grund für die nicht quantitative Ausbeute bei der in Schema 31 gezeigten sauren Boc-Entschützung dar. Um welche Verbindung es sich dabei handelt, konnte bis zum Abschluss der Arbeit trotz umfassender Analytik jedoch nicht geklärt werden. Aus den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren ist zu erkennen, dass es zu einer merklichen Verschiebung der Signale für H-7 und H-8<sub>a</sub> und -8<sub>b</sub> kommt, was eine Reaktion des 1,2,4-Oxadiazols unterstreicht. Ebenfalls sind leichte Verschiebungen für das aromatische Thiazol-Proton H-12 und die Pyrrolidin-Protonen H-10<sub>a</sub> bzw. -10<sub>b</sub> zu erkennen, was ebenfalls auf eine Änderung der elektronischen Umgebung schließen lässt. Die massenspektrometrische Untersuchung mittels  $\text{ESI}^+$ -Messung zeigte hingegen fast einen identischen Massenpeak zur Masse von Floxazathin (**3**) (vgl.: Floxazathin (**3**):  $m/z$  berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 464.1363$ , gefunden = 464.1360; Verbindung **102**:  $m/z$  gefunden = 464.1367). Durch die Beobachtung der Signalsätze für Verbindung **102** bei Lagerung des Floxazathins (**3**) in Lösung (grünes Spektrum), der Beobachtung der gleichen Verbindung **102** bei der sauren Boc-Entschützung von Floxazathin (**3**) (rotes Spektrum), der Beobachtungen aus der zweiten Messung der Kristallstrukturanalyse und der fast identischen Ergebnisse der

massenspektrometrischen Untersuchung wurde die Annahme einer Hydrolyse des 1,2,4-Oxadiazols zu einer neuen Verbindung größer.

Grundsätzlich ist eine mögliche Instabilität von 1,2,4-Oxadiazolen gegenüber verschiedenen Reaktionsbedingungen bekannt (Übersicht der Reaktivität siehe Kapitel 1.3.1). Dabei wird meistens die stark polarisierte N-O-Bindung gespalten, wie es auch bei der monocyclischen BKR der Fall ist. Unter gängigen Hydrierungsbedingungen kann die N-O-Bindung reduktiv gespalten werden, und es bilden sich durch eine *in situ* ablaufende Hydrolyse der entstandenen Acylamide Amidine.<sup>[115,125]</sup> Ebenfalls kann es in Ausnahmefällen zu einer enzymatischen Spaltung der N-O-Bindung kommen (Biotransformation). Der Grund für die metabolische Instabilität ist bisher nicht bekannt. Bei der enzymatischen Ringöffnung konnten teilweise die korrespondierenden Amidine oder Carbonsäurederivate beobachtet werden.<sup>[115,125,163]</sup> In einer anderen Veröffentlichungen von R. WEBSTER *et al.* gibt es Hinweise darauf, dass bei der Biotransformation eines 1,2,4-Oxadiazol-Derivates in Abhängigkeit des Restes zwischen dem N-2- und dem N-4-Atom Oxamsäurederivate, Oxamide und Oxalsäure entstanden sind.<sup>[164]</sup> In einem weiteren Beispiel von J. P. O'DONNELL *et al.* konnte ein Nitrilderivat durch eine Metabolismus-Studie eines 1,2,4-Oxadiazol-Derivates identifiziert werden.<sup>[165]</sup>

Gegenüber Hydrolyse sind 1,2,4-Oxadiazole in der Literatur als typischerweise stabil beschrieben.<sup>[125]</sup> Jedoch konnte ein Beispiel gefunden werden, wo es durch die Anwesenheit von Säure zu einer Spaltung von 1,2,4-Oxadiazolen kam. 2017 wurden Kristallstrukturdaten der beobachteten Harnstoffspezies veröffentlicht, die sich durch die Einwirkung von HCl bzw. HNO<sub>3</sub> auf das in Schema 32 gezeigte (Trinitro)ethylaminooxadiazol **103** bildeten. Nach den postulierten Mechanismen scheinen die Substituenten einen wesentlichen Einfluss zu haben, da die Ringöffnung nicht an der zu erwartenden stark polarisierten N-O-Bindung, sondern zwischen dem O-1- und dem N-4-Atom stattfindet. Der Mechanismus der postulierten Ringöffnung durch die Einwirkung von Säure ist in Schema 32 gezeigt. Der zusätzlich postulierte Mechanismus unter Verwendung von HNO<sub>3</sub> wurde nicht weiter beachtet.<sup>[110]</sup>



**Schema 32:** Postulierter Mechanismus der sauren Hydrolyse zum Harnstoffderivat **105** nach YANG *et al.*<sup>[110]</sup>

Bei Betrachtung der Elektronendichte in Abbildung 27 ist anzunehmen, dass es auch hier mindestens zur Spaltung einer Bindung im ursprünglichen 1,2,4-Oxadiazol gekommen ist. Warum eine Spaltung erfolgte, und welche Bindung gespalten wurde (die stark polarisierte

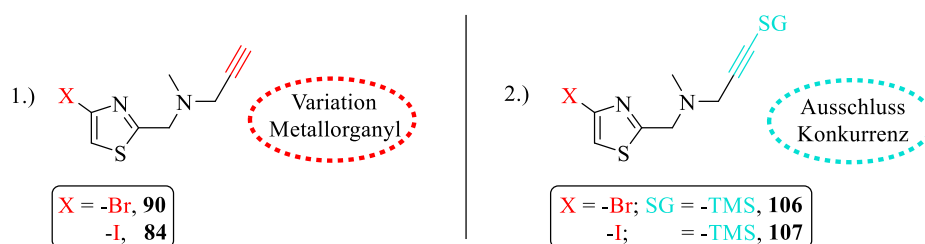
N-O-Bindung oder wie bei der Hydrolyse nach YANG *et al.* die Bindung zwischen dem O-1- und N-4-Atom), ist durch die bisherigen Beobachtungen und die publizierten Daten nicht ersichtlich. Die Temperaturen wurden niedrig gehalten, Hydrierungsmittel zur Reduktion der N-O-Bindung waren nicht anwesend, Säure war nur teilweise anwesend (bei der sauren Boc-Entschützung, nicht aber bei Lagerung des Floxazathins in Lösung) und auch die Zugabe des Endothiapepsins (bezüglich metabolischer Instabilitäten) erfolgte erst unmittelbar vor der Kristallstrukturmessung. Mögliche Zerfallsprodukte, die durch Spaltung der stark polarisierten N-O-Bindung oder in Anlehnung an die Hydrolyse von YANG *et al.* zu einem Amid, Amidin oder Carbonylverbindungen an Stelle des 1,2,4-Oxadiazols führen würden, wurden mit der beobachteten Elektronendichte verglichen und konnten durch zu starke Abweichungen als Degradierungsprodukte ausgeschlossen werden.

Da es möglich war, die zersetzte 1,2,4-Oxadiazol-Verbindung **102** zu isolieren, wurde diese auch einer separaten Kristallstrukturanalyse mit EP unterzogen. Dabei konnte keine Bindung im Endothiapepsin beobachtet werden, sodass keine isolierten Kristallstrukturdaten erhoben werden konnten. Ebenfalls konnte bei einer dritten röntgenkristallographischen Messung des bei -20 °C in DMSO gelagerten Floxazathins (**3**) zehn Monate nach der ersten Messung keine Bindung mehr zum Endothiapepsin nachgewiesen werden, was auf eine vollständige Zersetzung des Floxazathins (**3**) hindeutete. Eine zuvor ungelöste und eingelagerte Probe des Floxazathins (**3**) zeigte jedoch die gleiche klare Elektronendichte und Bindung, wie zu Beginn die erste Messung zeigte. Daraus ergab sich für alle weiteren Arbeiten, dass die Kristallstrukturmessungen zeitnah nach der Probenpräparierung erfolgen mussten, da die Zersetzung in der Lösung erst nach einer gewissen Zeit erfolgte. Die gleiche Zersetzung konnte auch für die Derivatstrukturen, die in den Kapiteln 3.3-3.5 erläutert werden, im zeitlichen Verlauf der praktischen Arbeit festgestellt werden.

### 3.2.3.2 Optimierungsansätze zur GRIGNARD-Addition

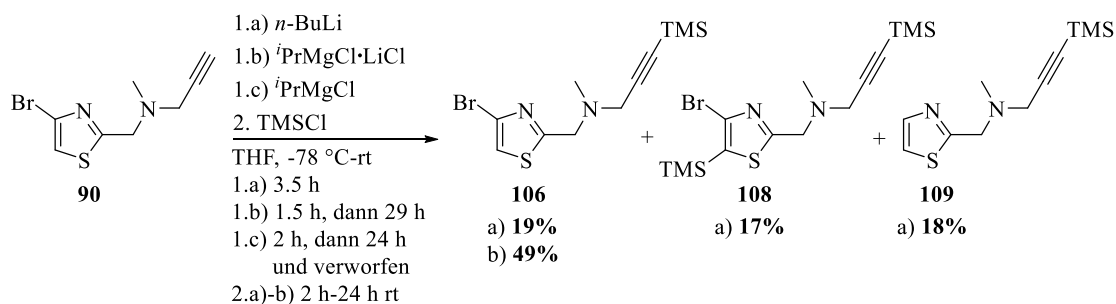
Die GRIGNARD-Addition zur Verknüpfung des 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidons **86** und des Iodthiazols **84** war bei den Synthesen zu Floxazathin (**3**) die einzige Reaktion in geringer Ausbeute (<40%), weshalb die Synthese genauer untersucht wurde. Neben der Untersuchung der Konkurrenz zwischen Deprotonierung und Halogen-Metall-Austausch bei Verwendung verschiedener metallorganischer Verbindungen sollte auch die Einführung einer Schutzgruppe am Alkin untersucht werden. Alle dabei erzielten Ergebnisse werden nachfolgend in diesem Unterkapitel diskutiert. Die zu untersuchenden Reaktionen sind übersichtlich in Schema 33 zusammengefasst.





**Schema 33:** Übersicht der in diesem Kapitel getesteten Ansätze zu Variationen des Metallorganyls und dem Ausschluss der Konkurrenz durch die Verwendung einer Alkin-Schutzgruppe (SG).

Lithiumorganyle sind, wie zuvor erwähnt (siehe Kapitel 3.2.2), im Vergleich zu GRIGNARD-Verbindungen stärkere Nucleophile und reagieren schneller. Um die Reaktivität der verschiedenen Positionen besser beurteilen und die Konkurrenz zwischen Deprotonierung am Alkin und Halogen-Metall-Austausch besser vergleichen zu können, wurde in parallelen Ansätzen sowohl das Bromthiazol **90** als auch das Iodthiazol **84** jeweils zuerst mit *n*-BuLi bzw. dem Turbo-GRIGNARD-Reagenz und anschließend mit TMSCl als einfaches Elektrophil versetzt. Die Ansätze mit dem Bromthiazol **90** wurden durchgeführt, da bei einem erfolgreichen Verlauf der sonst benötigte Br-I-Austausch vor der GRIGNARD-Addition als zusätzlicher Reaktionsschritt wegfallen würde. Für das Bromthiazol **90** sind die verwendeten Reaktionsbedingungen und die entstandenen Produkte in Schema 34 dargestellt.

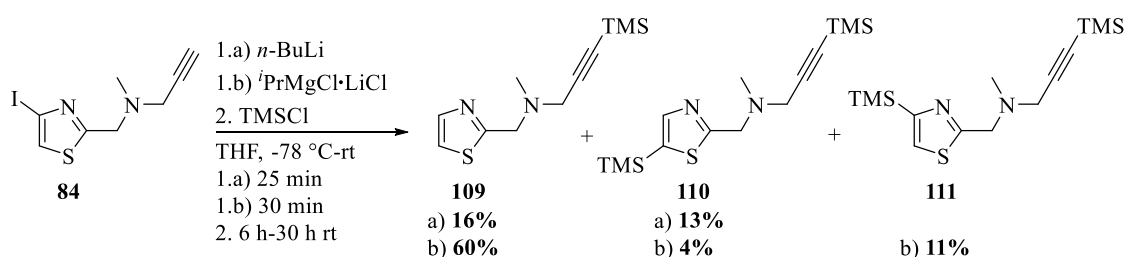


**Schema 34:** Durchgeführte Reaktionen am Bromthiazol **90** zur detaillierteren Untersuchung der Reaktivität gegenüber verschiedenen Metallorganylen.

Bei der Verwendung von *n*-BuLi (1.0 eq.), wie unter a) zu sehen, konnten drei Produkte in ähnlichen Ausbeuten isoliert werden. Der Umsatz von *n*-BuLi war durch die teilweise mehrfach auftretenden Reaktionen an verschiedenen Positionen des Thiazols fast quantitativ. Anhand der Produktverteilung zeigte sich, dass bevorzugt die Deprotonierung am Alkin stattfindet und nur in geringem Maße ein Br-Metall-Austausch erfolgt (18% von Produkt **109**). Eine Erklärung, warum es nicht zu einer Silylierung der C-4-Position von Thiazol **109**, sondern lediglich zur Dehalogenierung dieser gekommen ist, wird im späteren Verlauf dieses Kapitels (siehe S. 65) diskutiert. Das zweifach silylierte Produkt **108** (17%) deutete zudem darauf hin, dass die C-5-Position ebenfalls acide genug für eine Deprotonierung mit *n*-BuLi ist, weshalb weitere

Ansätze mit stärkeren Lithiumorganyle und dem Bromthiazol **90** nicht verfolgt wurden. Bei der Verwendung des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes (1.1 eq.), wie unter b) zu sehen, konnten ausschließlich das silylierte Alkin **106** in 49%iger Ausbeute isoliert und 8% des Bromthiazols **90** reisoliert werden. Die Beobachtung in dieser Reaktion unterstreicht das Ergebnis der Reaktion zur invers verknüpften Verbindung **100** aus Kapitel 3.2.3. Ein Testansatz unter Verwendung von  $i\text{PrMgCl}$  als GRIGNARD-Reagenz ohne LiCl als Salzadditiv, wie unter c) zu sehen, zeigte dünnschichtchromatographisch keinen Umsatz des Eduktes **90**.

Die Ergebnisse mit dem Bromthiazol **90** zeigten, dass ein Br-I-Austausch am Thiazol unumgänglich ist für ein erfolgreiches *merging* mit dem Oxadiazol-Pyrrolidon **86**. Die Deprotonierung läuft am Alkin unabhängig vom verwendeten Metallorganyl bei dem Bromthiazol **90** bevorzugt ab, und es kommt generell kaum zum Austausch des Br-Substituenten. In analoger Weise wurden somit die Reaktionen mit dem Iodthiazol **84** wiederholt, wobei die in Schema 35 gezeigten Ergebnisse erzielt werden konnten.

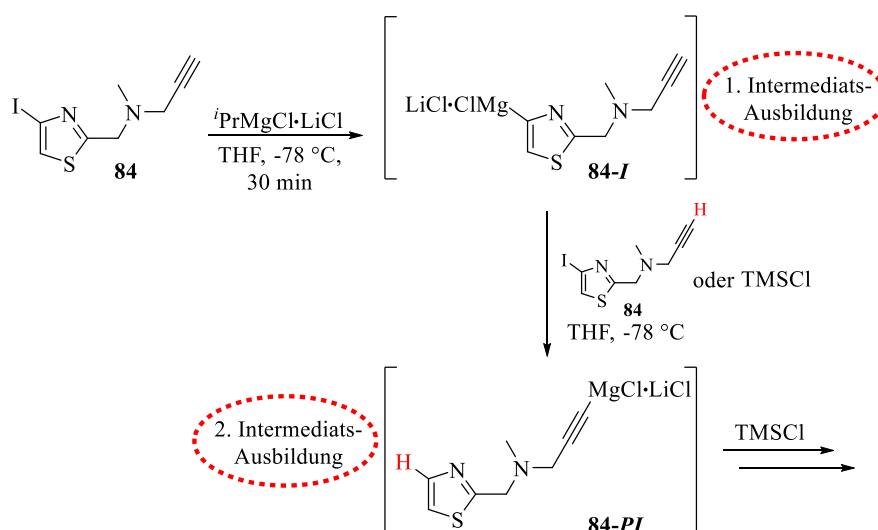


**Schema 35:** Durchgeführte Reaktionen am Iodthiazol **84** zur detaillierteren Untersuchung der Reaktivität gegenüber verschiedenen Metallorganyle.

Aus den Ergebnissen wird ersichtlich, dass mit beiden Reaktionsbedingungen a) und b) eine vollständige Dehalogenierung am Thiazol und eine vollständige Deprotonierung am Alkin erfolgte. Dabei konnte bei der Reaktion mit  $n\text{-BuLi}$  (1.1 eq.) insgesamt deutlich weniger der Produkte isoliert werden (Gesamtausbeute: 29%; Umsatz von  $n\text{-BuLi}$   $>70\%$ ), was auf die Bildung von Nebenprodukten nach der  $\text{TMSCl}$ -Zugabe zurückzuführen ist (Beobachtung über Dünnschichtchromatographie). Die Produkte **109** und **110** wurden fast in gleichen Ausbeuten erhalten, was erneut auf die merkliche Acidität der C-5-Position des Thiazols deutet. Die Abwesenheit des I-Substituenten zeigt, dass es jedoch auch zum Metall-Halogen-Austausch an der C-4-Position kam. Dass kein C-4-silyliertes Produkt isoliert werden konnte, sondern lediglich C-4-dehalogeniertes Produkt lässt vermuten, dass es frühzeitig oder bevorzugt zur Hydrolyse dieser Position gekommen ist, was in Schema 36 genauer erläutert ist. Der Ansatz wurde wegen der schlechten Selektivität verworfen, und von der Verwendung reaktiverer Li-Metallorganyle wurde abgesehen.

Bei der Reaktion mit dem Turbo-GRIGNARD-Reagenz wurden hingegen insgesamt 75% Gesamtausbeute erzielt, wobei mit lediglich geringem Überschuss des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes (1.1 eq.) bei allen Produkten **109-111** mindestens eine doppelte Reaktion (Deprotonierung am Alkin und Dehalogenierung an der C-4-Position des Thiazols) stattfand. Eine mögliche Begründung für den überproportionalen Umsatz des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes stellt eine Reaktion des gebildeten basischen, metallierten Thiazols **84-I** mit dem Alkin eines weiteren Äquivalents des Thiazols dar, wie in Schema 36 gezeigt. Diese Reaktion lief möglicherweise so schnell ab, dass sie vor der Reaktion mit dem zugegebenen Elektrophil TMSCl eintrat, oder stellte sich als Konkurrenz-Reaktion nach Zugabe des Elektrophils ein. Bei der dünnschichtchromatographischen Umsatzverfolgung nach Zugabe des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes kann nur die Entstehung des dehalogenierten Thiazols beobachtet werden. Die Entstehung des deprotonierten Alkins kann dünnschichtchromatographisch nicht nachgewiesen werden, da es bei dieser Reaktion während der Dünnschichtchromatographie bereits wieder zur vollständigen Protonierung am Alkin kommt.

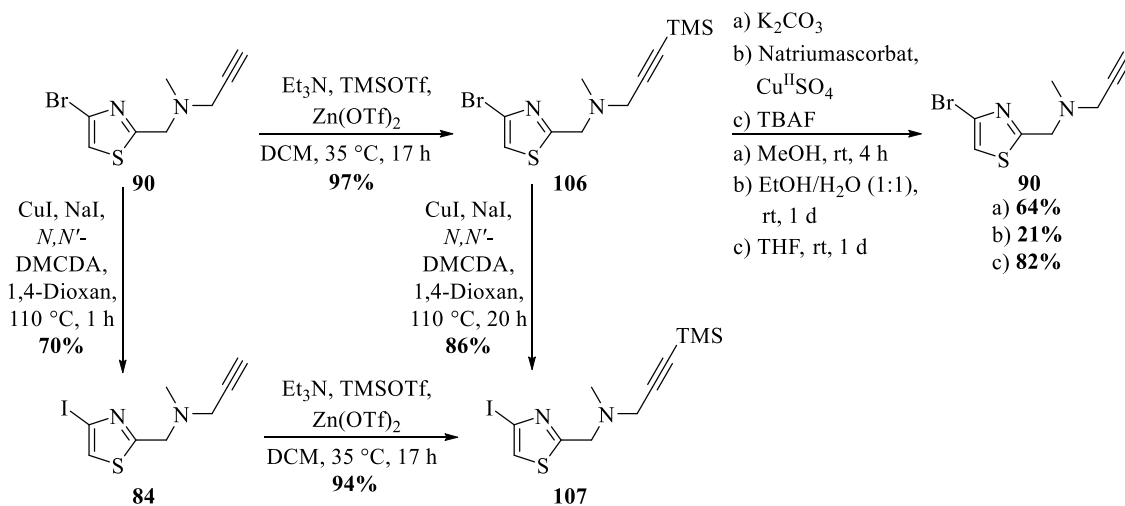
Die in Schema 36 gezeigte Begründung würde die Reaktion beider Positionen bei der eingesetzten Turbo-GRIGNARD-Reagenzmenge und die hauptsächliche Protonierung der C-4-Position erklären. Dass es kaum zur Silylierung in C-4-Position am Thiazol kam, deutet ebenfalls darauf hin, dass zuerst die Ausbildung des metallierten Thiazol-Intermediats **84-I** erfolgte und dieses dann mit dem Alkin eines weiteren Äquivalents von **84** zum Intermediat **84-PI** reagiert. Weitere Kontrollexperimente zum Beleg dieser These wurden nicht durchgeführt, könnten in weiteren Ansätzen jedoch eingehender untersucht werden.



**Schema 36:** Postulierte Reaktion, wie es trotz „stöchiometrischer“ Zugabe des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes (1.1 eq.) zur Dehalogenierung und Deprotonierung am Iodthiazol **84** kommen könnte.

Durch die erhaltene Produktverteilung von den Thiazolen **109-111** bei Verwendung des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes ist anzunehmen, dass der I-M-Austausch vor der Deprotonierung des Alkins stattfindet. Die Entstehung des C-5-silylierten Produktes **110** ist vermutlich auf die insgesamt lange Reaktionszeit zurückzuführen, da auch erst zu einem späten Zeitpunkt der Reaktion (nach TMSCl-Zugabe) dünnschichtchromatographisch die Entstehung noch weiterer Verbindungen festgestellt wurde. Durch die Hinweise darauf, dass der I-M-Austausch vor der Deprotonierung stattfindet, wurde von Tests weiterer GRIGNARD-Reagenzien und teurerer Metallorganyle abgesehen. Zu beachten bleibt bei dieser Reaktion die Kontrolle beim Umsatz zum Intermediat, um Nebenreaktionen zu minimieren.

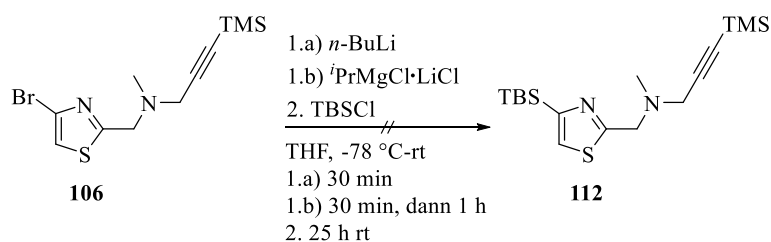
Des Weiteren wurden verschiedene Ansätze zur Einführung von TMS als Alkin-Schutzgruppe und mögliche anschließende Entschützungen getestet. Dadurch sollte überprüft werden, ob eine bessere Ausbeute bei der GRIGNARD-Addition mit einem grundsätzlich geschützten Alkin erfolgen kann. Eine Konkurrenz zwischen Dehalogenierung und Deprotonierung wurde dadurch von vornherein ausgeschlossen. Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen einer von M. GRUNWALD durchgeführten Bachelorarbeit.<sup>[166]</sup> Die erfolgreichsten Ergebnisse zur TMS-Schutzung bzw. Ansätze zur Entschützung des Alkins sind in Schema 37 zusammengefasst.



**Schema 37:** Darstellung der Alkin-geschützten Thiazole **106** und **107**, sowie die getesteten Entschützungen a)-c) an **106** als Testsubstrat.<sup>[166]</sup>

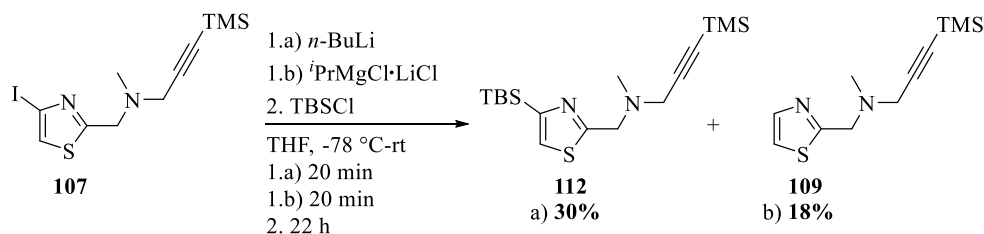
Nach einer Versuchsvorschrift von SHAW *et al.*<sup>[167]</sup> konnten für beide Thiazole **106** und **107** bei der Silylierung Ausbeuten von über 90% erzielt werden. Bei den getesteten Entschützungen a)-c) zeigte die Entschützung mit TBAF die höchste Ausbeute.<sup>[140,168]</sup>

Im Anschluss an die erfolgreiche Einführung der TMS-Schutzgruppe wurde in analoger Vorgehensweise zu den ungeschützten Verbindungen **90** und **84** die Reaktivität mit *n*-BuLi und dem Turbo-GRIGNARD-Reagenz getestet. Eine Konkurrenzreaktion zwischen Deprotonierung am Alkin und einem Halogen-Metall-Austausch war hierbei von vornherein ausgeschlossen. Da bereits eine TMS-Gruppe im Molekül vorhanden war, wurde TBSCl als leicht im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum zu identifizierende Gruppe verwendet.



**Schema 38:** Analoge Reaktionen zur detaillierteren Untersuchung der Reaktivität gegenüber Metallorganyle mit dem TMS-geschützten Bromthiazol **106**.

Bei der Reaktion des Bromthiazols **106** konnte mit beiden Reaktionsbedingungen kein Produkt isoliert werden (siehe Schema 38), da es mit voranschreitendem Umsatz des Eduktes **106** gleichermaßen zur Zersetzung von diesem kam. In analoger Vorgehensweise wurden die Reaktionen mit dem Iodthiazol **107** wiederholt, wie in Schema 39 gezeigt.

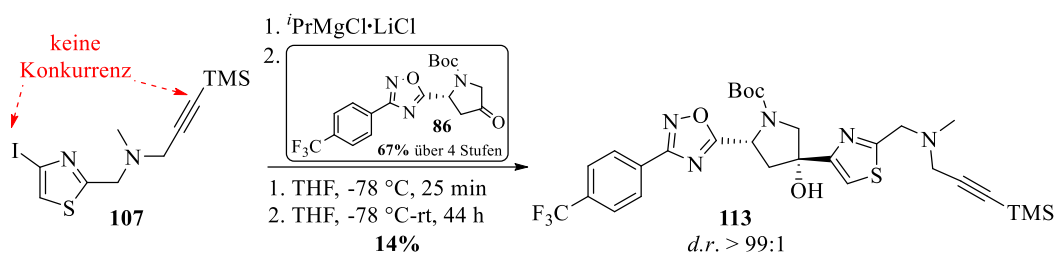


**Schema 39:** Analoge Reaktionen zur detaillierteren Untersuchung der Reaktivität gegenüber Metallorganyle mit dem TMS-geschützten Iodthiazol **107**.

Bei der Reaktion mit *n*-BuLi war bereits nach sieben Minuten dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz des Eduktes **107** zu verzeichnen, wobei sich jedoch die Bildung diverser neuer Verbindungen in unterschiedlichen Intensitäten auf dem Dünnschichtchromatogramm zeigte. Das 4-silylierte Produkt **112** konnte zwar in einer Ausbeute von 30% isoliert werden, wegen der schnellen und auf Zersetzung hindeutenden Umsetzung des Eduktes **107** trotz der Schützung des Alkins wurde dennoch von weiteren Versuchen mit Lithiumorganyle abgesehen.

Bei der Reaktion des Iodthiazols **107** konnten bei der Verwendung des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes lediglich 18% Ausbeute des dehalogenierten Produktes **109** isoliert werden, was auf Probleme während der Säulenchromatographie zurückzuführen war. Der Umsatz zum

Intermediat war jedoch bereits nach zehn Minuten vollständig und zeigte dünnschichtchromatographisch die Entstehung nur einer neuen Verbindung. Wegen des sauberen Umsatzes bei Verwendung des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes wurde statt einer Wiederholung der Testreaktion mit TBSCl als Elektrophil direkt das Oxadiazol-Pyrrolidon **86** verwendet, wie in Schema 40 dargestellt. Damit wurde gleichermaßen überprüft, ob so eine Steigerung der Ausbeute bei der GRIGNARD-Addition erzielt werden kann.



**Schema 40:** Versuch der GRIGNARD-Addition mit der TMS-geschützten Alkin-Verbindung **107** zur doppelt-geschützten *merged compound* **113**.

Wie aus Schema 40 zu entnehmen, lag die Ausbeute beim Umsatz zur Verbindung **113** bei geringen 14%, sodass keine Ausbeutesteigerung zur in Kapitel 3.2.3 beschriebenen GRIGNARD-Addition (37%) erzielt werden konnte. Dass die Ausbeute im Vergleich zur vorherigen Reaktion noch geringer war, ist möglicherweise auf eine schlechtere Ausbildung des metallierten Thiazols zurückzuführen. Eine Deprotonierung des Alkins als Nebenreaktion konnte durch die Schützung final ausgeschlossen werden.

Basierend auf diesem Ergebnis wurde die Vermutung größer, dass es zu anderen Nebenreaktionen während der GRIGNARD-Addition kommt. Eine weitere denkbare Nebenreaktion ist die Reaktion des GRIGNARD-Reagenzes mit der Carbamat-Schutzgruppe des Oxadiazol-Pyrrolidons **86**. In der Literatur ist über die direkte Reaktion von Carbamaten mit Metallorganen nicht viel beschrieben, jedoch ist denkbar, dass diese wie andere Carbonylverbindungen auch mit GRIGNARD-Reagenzien reagieren können. Überlegungen zur Einführung alternativer Schutzgruppen, um diese denkbare Nebenreaktion zu unterbinden, sind in Kapitel 3.5.2.2 erläutert. Durch die in diesem Kapitel diskutierten Ansätze konnten weitreichendere Aussagen über die Reaktivitäten der C-4- und C-5-Positionen am Thiazol, sowie der Konkurrenz zwischen Dehalogenierung des Thiazols und Deprotonierung des Alkins getroffen werden. Eine Optimierung der GRIGNARD-Addition konnte jedoch nicht erzielt werden.

### 3.3 Derivatisierung am Thiazol-Gerüst

Nach der erfolgreichen Darstellung von Floxazathin (**3**) sollte die Synthese von Derivaten für eine kleine Substanzbibliothek erfolgen. Da ein fragmentbasierter Ansatz nur so gut sein kann wie seine im Screening bekannten Fragmente, sollte durch die schrittweise Derivatisierung festgestellt werden, welche Interaktionen im aktiven Zentrum des EPs besonders wichtig sind. Zudem sollte untersucht werden welche Interaktionen möglicherweise zu vernachlässigen sind, und ob noch andere, nicht vorhergesagte Interaktionen bei abweichenden molekularen Eigenschaften beobachtet werden können. Basierend auf diesen Erkenntnissen sollte beurteilt werden, welchen Einfluss die verschiedenen Interaktionen gegebenenfalls auf die enzymatische Aktivität von den potenziellen Inhibitoren haben. Bei der Derivatisierung wurde darauf geachtet, dass nur an einer Stelle zurzeit im direkten Vergleich zu Floxazathin (**3**) variiert wurde.

Bei Betrachtung der röntgenkristallographischen Ergebnisse aus Kapitel 3.2.3 wird deutlich, dass es zwischen dem H-Atom des terminalen Alkyls und Gly80 im aktiven Zentrum von EP zu einer nicht vorhergesagten HBB kommt. Um evaluieren zu können, wie wichtig diese Interaktion ist und wie groß der Einfluss auf die enzymatische Aktivität ist, sollte eine gezielte Derivatisierung dieser funktionellen Gruppe erfolgen. Dabei sollte ausgehend vom starren Alkin des Floxazathins (**3**) zum etwas flexibleren Alken, dem außerdem das acide Proton fehlt, und anschließend zum flexiblen und komplett unpolaren Alkan an dem C-2-Substituenten des Thiazols abgestuft werden. Durch die Darstellung des primären Methylalkohols anstelle eines tertiären Aminsubstituenten an der C-2-Position des Thiazols sollte zudem eine Aussage über die Relevanz des basischenamins getroffen werden können. Die Strukturen der anvisierten Derivate sind in Abbildung 29 dargestellt.

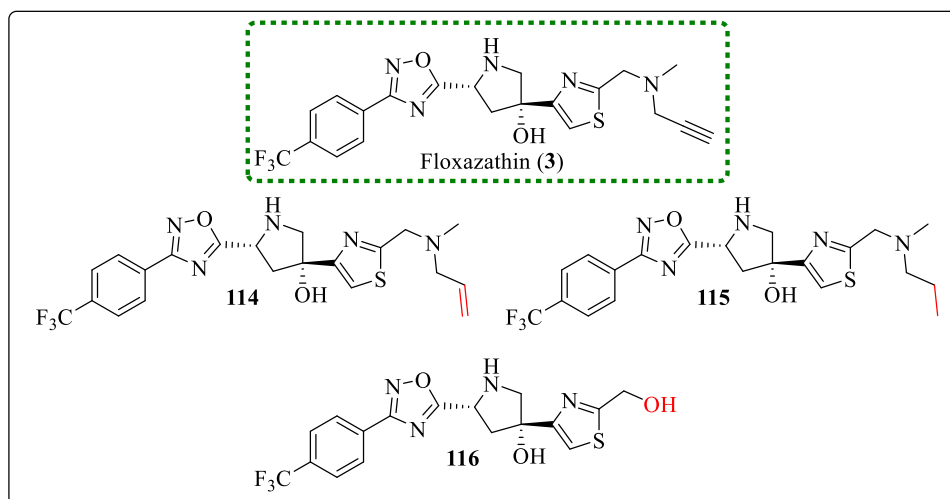
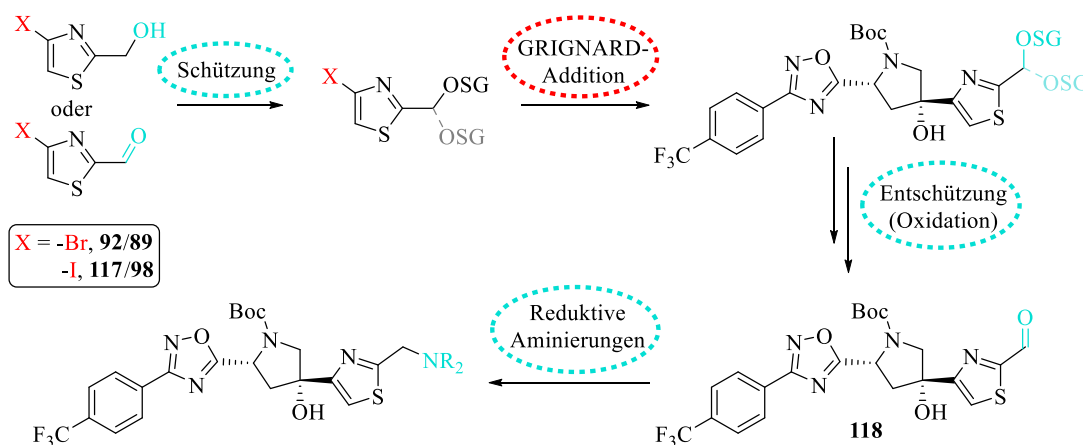


Abbildung 29: Überlegungen der Derivate **114-116** mit abweichenden C-2-Resten des Thiazols.

Zu Beginn der Derivatsynthese wurde der Versuch einer reduktiven Aminierung auf einer späten Stufe der Syntheseroute gestartet. Die durchgeführten Untersuchungen zu einer derart angepassten Synthesestrategie sind in Kapitel 3.3.1 beschrieben. Der Vorteil einer späten reduktiven Aminierung wäre, dass schneller eine große Substratvielfalt am C-2-Atom des Thiazols erzeugt werden könnte. Die Darstellung der Derivate **114-116** ist anschließend in Kapitel 3.3.2 beschrieben.

### 3.3.1 Ansätze zur späten reduktiven Aminierung

Die ersten Ansätze für eine schnelle und große Substratvielfalt durch eine späte reduktive Aminierung fanden bereits in der vorangegangenen Arbeit von N. WALTER statt.<sup>[132]</sup> Die Überlegung war bereits hier die Aldehydgruppe zunächst zu schützen, dann das Thiazol-Gerüst mit dem Oxadiazol-Pyrrolidon **86** zu verknüpfen, anschließend den Aldehyd freizusetzen und somit die Möglichkeit für späte reduktive Aminierungen zu ermöglichen (siehe Schema 41). Eine Beibehaltung des Aldehyds in der GRIGNARD-Addition ohne vorherige Schützung ist aufgrund der hohen Reaktivität dieses nicht möglich. Zur Schützung des Aldehyds sollte zum einen eine Acetal-Schutzgruppe und zum anderen eine Reduktion zum Alkohol und die anschließende Schützung des Alkohols getestet werden. Schema 41 zeigt eine allgemeine Übersicht über die geplanten Reaktionsschritte.



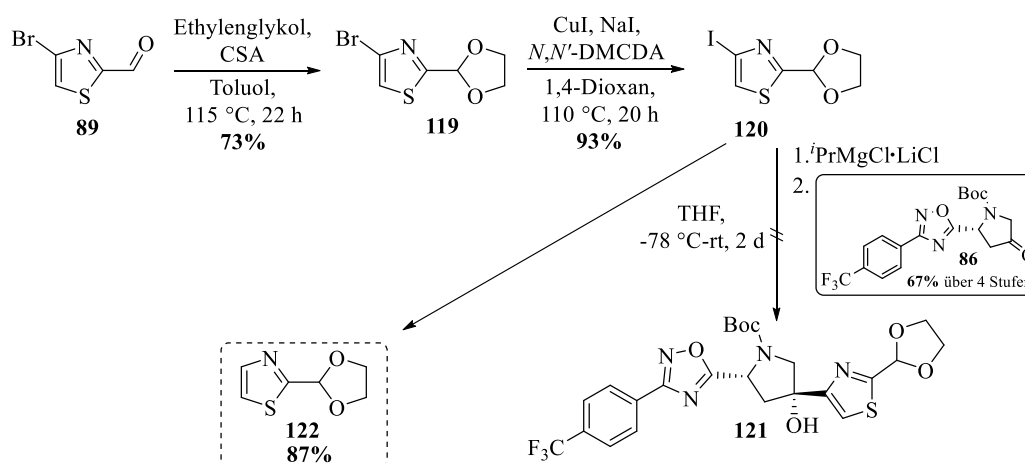
**Schema 41:** Syntheseplanung für eine späte reduktive Aminierung. Die Bezeichnung -OSG steht allgemein für eine Schutzgruppe des Aldehyds bzw. des Alkohols.

Als Schutzgruppe für den Aldehyd wurde in den Arbeiten von N. WALTER zuerst 1,3-Dioxolan als Acetal-Schutzgruppe eingeführt und anschließend als Bromthiazol **119** unter Verwendung von *n*-BuLi mit dem Oxadiazol-Pyrrolidon **86** verknüpft. Dadurch konnte das Additionsprodukt **121** in einer geringen Ausbeute von 21% erhalten werden. Die nachfolgende Entschützung zum freien Aldehyd **118** gelang nicht, weshalb die Ansätze verworfen wurden.<sup>[132]</sup>



Basierend auf den in Kapitel 3.2.3.2 diskutierten Reaktionen mit *n*-BuLi und C-4-bromierten Thiazol-Verbindungen war inzwischen bekannt, dass ein Br-M-Austausch kaum eintritt und ebenfalls eine Reaktion am aciden C-5-Atom des Thiazols in ähnlichen Ausbeuten beobachtet werden kann. Deshalb wurde angenommen, dass bei Verwendung des Acetal-geschützten Iodthiazols **120** und dem Turbo-GRIGNARD-Reagenz bessere Resultate erzielt werden können.

Zur Überprüfung dieser Annahme wurde deshalb der Carbaldehyd **89** als Acetal geschützt und das Bromthiazol **119** in einem Br-I-Austausch zum Iodthiazol **120** umgesetzt. Wie in Kapitel 3.2.2 erwähnt, konnte der freie Aldehyd **89** bei einem Br-I-Austausch nicht erfolgreich zum korrespondierenden Iodthiazol **98** umgesetzt werden. Mit der Acetal-geschützten Verbindung **120** und dem Turbo-GRIGNARD-Reagenz wurde nach dem zuvor verwendeten Protokoll die GRIGNARD-Addition an das Oxadiazol-Pyrrolidon **86** durchgeführt. Die bei den Reaktionen gewählten Reaktionsbedingungen und erhaltenen Ausbeuten sind in Schema 42 dargestellt.



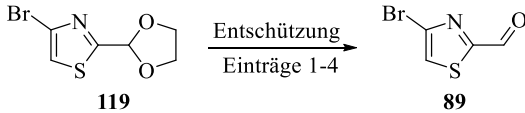
**Schema 42:** Darstellung der iodierten und Acetal-geschützten Thiazol-Verbindung **120** und die nachfolgende GRIGNARD-Addition.

Die Synthesen bis zur Darstellung des Iodthiazols **120** verliefen in guten Ausbeuten. Dessen Umsatz mit dem Turbo-GRIGNARD-Reagenz in der anschließenden GRIGNARD-Addition wurde ebenfalls dünn-schichtchromatographisch verfolgt. Innerhalb von 15 Minuten zeigte sich ein vollständiger, sauberer Umsatz des Eduktes **120** zu einem Intermediat, sodass die Zugabe des Oxadiazol-Pyrrolidons **86** im zweiten Reaktionsschritt erfolgen konnte. Wegen des stagnierenden Umsatzes des gebildeten Intermediats wurde die Reaktionslösung für zwei Tage bei Raumtemperatur gerührt, bevor das Reaktionsgemisch trotz unvollständigem Umsatz gereinigt wurde. Dabei konnte ausschließlich die dehalogenierte Thiazol-Verbindung **122** in einer Ausbeute von 87% isoliert werden. Die reisolierten Spuren der ursprünglichen Oxadiazol-Verbindung **86** zeigten deutliche Veränderungen im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum im Bereich von den Methylgruppen der Boc-Gruppe, sodass von einer Reaktion dieser auszugehen ist. Weitere

Edukte konnten nicht reisoliert werden, dafür aber fünf weitere, nicht identifizierbare Fraktionen, die auf Zersetzung hindeuteten. Dass 87% der dehalogenierten Verbindung **122** isoliert werden konnten, zeigt, dass der I-M-Austausch erfolgreich stattgefunden hat. Es ist allerdings nicht nachvollziehbar, warum im Anschluss keine Reaktion mit dem Keton des Oxadiazol-Pyrrolidons **86** stattfand, scheinbar aber eine Reaktion mit dem Carbamat. Die Wiederholung der Reaktion, um auszuschließen, dass es frühzeitig zur Hydrolyse des metallierten Intermediats kam, wurde mit dem gleichen Ergebnis beendet.

Parallel zur beschriebenen Syntheseroute wurde die Entfernung der Acetal-Schutzgruppe am Bromthiazol **119** als Testsubstrat untersucht, da eine Entschützung in der vorangegangenen Arbeit scheiterte. Unter sauren Bedingungen (CSA in MeOH/Toluol, 90 °C, 16 h) konnte dort lediglich die *N*-Boc-Schutzgruppe des Additionsproduktes **121**, nicht aber die Aldehyd-Schutzgruppe entfernt werden.<sup>[132]</sup> In dieser Arbeit wurden die aus Tabelle 4 zusammengefassten weiteren Versuche zur Acetalspaltung am Testsubstrat **119** vorgenommen.

**Tabelle 4:** Durchgeführte Ansätze zur Entfernung des Acetals am Testsubstrat **119**.

				
Eintrag <sup>(a)</sup>	Reagenz	Lösungsmittel	Temperatur, Zeit	Ausbeute <b>89</b>
1	CSA, H <sub>2</sub> O	Aceton	rt, 6 d	-( <sup>b</sup> )
2	Bi(OTf) <sub>3</sub>	THF/H <sub>2</sub> O (4:1)	100 °C, 4 d	-( <sup>b</sup> )
3	TFA	DCM	-20 °C-rt, 6 d	<b>89%</b>
4	TFA, H <sub>2</sub> O	DCM	-20 °C rt, 6 d	<b>57%</b>

<sup>(a)</sup> Alle Reaktionen wurden in 0.21 mmol Ansätzen von **119** mit 3.7 eq. Reagenz durchgeführt;

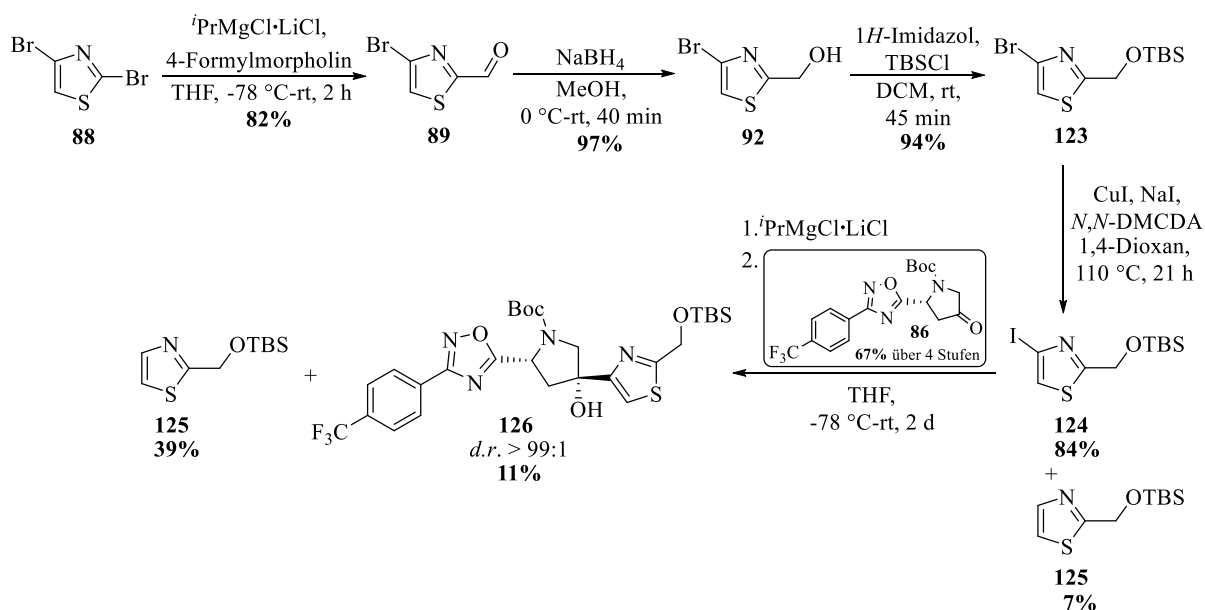
<sup>(b)</sup> kein Umsatz von Edukt **119**.

Durch die in der Tabelle 4 gezeigten Bedingungen (Eintrag 3) wird deutlich, dass eine Acetalspaltung unter Verwendung von TFA gut möglich ist. Wie aus Kapitel 3.2.3 jedoch bekannt, wird unter diesen Bedingungen auch die *N*-Boc-Schutzgruppe des Pyrrolidinrings entfernt, weshalb somit keine selektive Schutzgruppenentfernung im Additionsprodukt **121** möglich wäre. Bei der nachfolgenden reduktiven Aminierung könnte es somit durch die zu verwendenden Reaktionsbedingungen auch zu Nebenreaktionen am N-Atom des Pyrrolidins kommen, und es wäre eine Anpassung der Schutzgruppenstrategie notwendig. Durch die unzufriedenstellenden Ergebnisse aus den Vorarbeiten und dieser Arbeit (schlechte Ausbeute,

keine selektive Entschützung) wurde von weiteren Ansätzen mit der 1,3-Dioxolanschutzgruppe und anderen Acetal-Schutzgruppen für den Aldehyd abgesehen.

Als Alternative für eine späte reduktive Aminierung wurde die Verwendung eines geschützten Alkohols betrachtet. Dieser könnte nach einer Entschützung und anschließender Oxidation zum Aldehyd für reduktive Aminierungen verwendet werden. Dabei wurde *tert*-Butyldimethylsilyl (TBS) als Schutzgruppe gewählt. Silylether sind gängige Schutzgruppen für Alkohole und lassen sich generell leicht und selektiv durch die Verwendung von Fluoridionen abspalten. Mit zunehmendem sterischem Anspruch ihrer organischen Reste sind sie zudem gegenüber vielen Säuren stabil.<sup>[140]</sup> Eine selektive Entschützung des auf diese Weise geschützten Alkohols im Additionsprodukt sollte mit einer Fluoridquelle somit möglich sein.

Ausgehend vom 2,4-Dibromthiazol (**88**) wurde deshalb das TBS-geschützte Iodthiazolymethanol **124** dargestellt, welches nach dem zuvor verwendeten Syntheseprotokoll in einer GRIGNARD-Addition weiter umgesetzt wurde. Die durchgeführten Reaktionen sind in Schema 43 zusammengefasst.

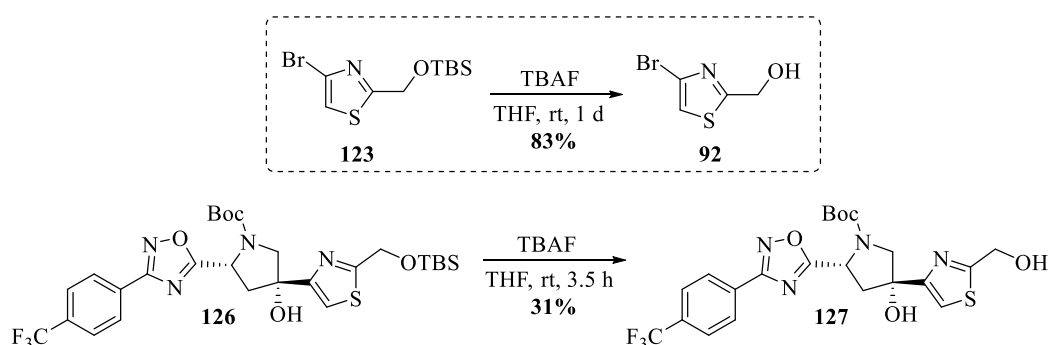


**Schema 43:** Durchgeführte Reaktionen zur Darstellung des TBS-geschützten Iodthiazolymethanols **124** mit anschließender GRIGNARD-Addition an das Oxadiazol-Pyrrolidon **86**.

Die Reaktionen bis zur GRIGNARD-Addition verliefen alle in sehr guten Ausbeuten. Bei dem Br-I-Austausch vom Bromthiazol **123** konnte zusätzlich zum Iodthiazol **124** die dehalogenierte Thiazol-Verbindung **125** isoliert werden. Die nachfolgende GRIGNARD-Reaktion mit dem Iodthiazol **124** zeigte nach 20 Minuten vollständigen, sauberen Umsatz zu einem Intermediat, sodass die langsame Zugabe des Oxadiazol-Pyrrolidons **86** erfolgen konnte. Die Reaktion

wurde anschließend nach zwei Tagen bei stagnierendem Umsatz beendet. Das Additionsprodukt **126** konnte dabei lediglich in einer niedrigen Ausbeute von 11% isoliert werden.

Die nachfolgende Entfernung der TBS-Schutzgruppe wurde zunächst an Verbindung **123** getestet, wobei durch die Verwendung von TBAF der Alkohol **92** in einer guten Ausbeute von 83% erhalten werden konnte (siehe Schema 44 (oben)). Die darauffolgende Entschützung des GRIGNARD-Additionsproduktes **126** führte unter Verwendung der gleiche Reaktionsbedingungen lediglich zu einer moderaten Ausbeute des Alkohols **127** von 31% (siehe Schema 44 (unten)). Neben dem Produkt konnte eine weitere Verbindung bei der säulenchromatographischen Reinigung isoliert werden, welche nicht identifiziert werden konnte. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigte keine Signale mehr für die Pyrrolidinprotonen auf, jedoch konnten noch alle Signale der aromatischen Protonen zugeordnet werden.

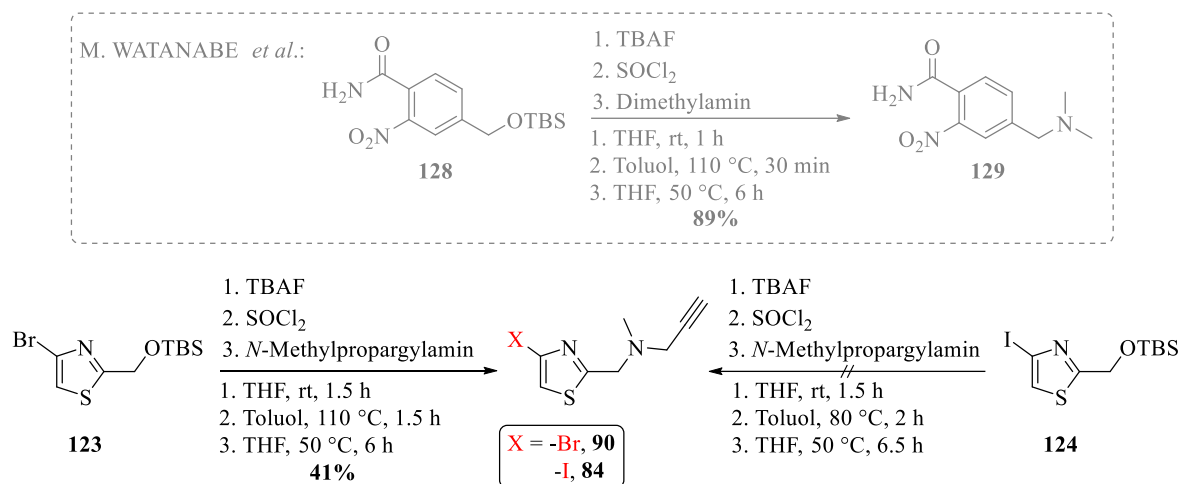


**Schema 44:** Durchgeführte Entschützen am Testsubstrat **123** und an dem GRIGNARD-Additionsprodukt **126**.

Da die Ausbeute bei der TBS-Entschützung ebenfalls gering ausfiel, wurde eine späte reduktive Aminierung über die Route des TBS-geschützten Alkohols generell als nicht vielversprechend erachtet. Deshalb wurde die Route an dieser Stelle nicht weiterverfolgt. Verbindung **127** konnte über sieben lineare Stufen in einer Gesamtausbeute von 2% erhalten werden.

Als letzter Ansatz für späte reduktive Aminierungen wurde eine *one-pot* Reaktion, ausgehend vom TBS-geschützten Alkohol zum Amin, getestet. Dadurch könnten drei Isolationschritte der Synthese (Alkohol-Entschützung, Oxidation zum Aldehyd und reduktive Aminierung) zusammengefasst werden. Nach einer Patentvorschrift von M. WATANABE *et al.*, in der ein TBS-geschützter Benzylalkohol **128** in 89%iger Ausbeute zu einem tertiären Amin **129** umgesetzt wurde,<sup>[169]</sup> konnte ausgehend vom Bromthiazol **123** das Thiazolylmethylamin **90** in einer Ausbeute von 41% dargestellt werden. Beide Reaktionen sind in Schema 45 zu sehen. Die Reaktion mit dem Iodthiazol **124** ist ebenfalls dargestellt. Dabei konnte jedoch vermutlich

aufgrund der zu hohen Reaktivität des I-Substituenten kein Produkt isoliert werden. Bei Betrachtung der moderaten Ausbeute von 41% bei Verwendung der Testverbindung **123**, den teilweise harschen verwendeten Reaktionsbedingungen (SOCl<sub>2</sub> bei 110 °C) und dem während der Reaktion zu beobachtenden unsaubereren Reaktionsverlauf wurde eine Übertragung auf das Additionsprodukt **126** ebenfalls nicht weiterverfolgt.

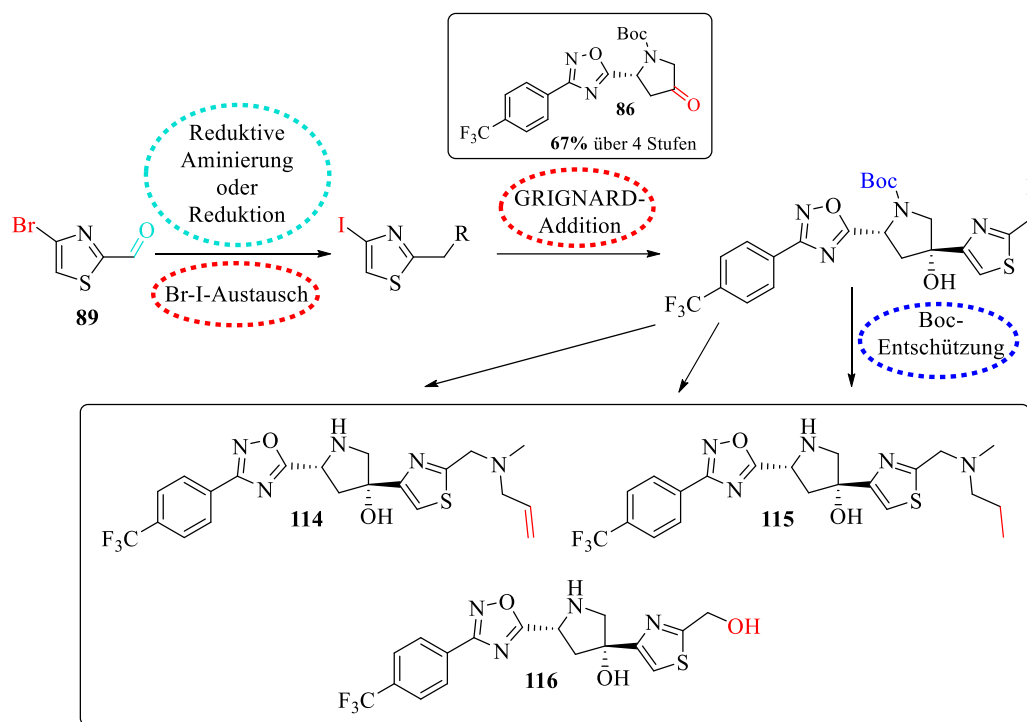


**Schema 45:** In der Literatur beschriebene Reaktion nach WATANABE *et al.* (oben)<sup>[169]</sup> und die Ansätze zur *one-pot* Reaktion ausgehend von den geschützten Alkoholen **123** und **124** zu den Aminen **90** und **84**.

Zusammengefasst waren alle durchgeführten Untersuchungen und die daraus resultierenden Ergebnisse zur späten reduktiven Aminierung nicht zufriedenstellend. Da aus der Synthese des Floxazathins (**3**) bekannt war, dass alle Reaktionen bis zur GRIGNARD-Addition mit hohen Ausbeuten erfolgen, wurde im weiteren Verlauf von einer späten Derivatisierung am Thiazol abgesehen. Stattdessen wurde der synthetisch aufwendigere Weg gewählt, bei dem die C-2-Thiazolsubstituenten separat nach zuvor beschriebener Route vor der GRIGNARD-Addition einzuführen sind. Zwar ist so deutlich mehr synthetischer Aufwand zu betreiben, jedoch sollten insgesamt größere Produktmengen erhalten werden können, da die limitierende GRIGNARD-Addition bei dieser Syntheseroute lediglich den vorletzten Schritt darstellt. Die Darstellung der Thiazol-Derivate **114-116** nach der ursprünglichen Syntheseroute, ist im nachfolgenden Kapitel 3.3.2 beschrieben.

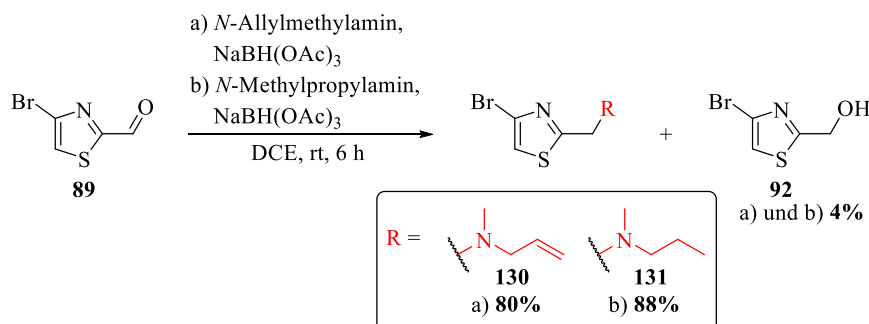
### 3.3.2 Darstellung der Thiazol-Derivate 114-116

Die gewählte Route zur Darstellung der Thiazol-Derivate **114-116**, die nach den unzureichenden Ergebnissen der späten reduktiven Aminierung gewählt wurde, deckt sich grundsätzlich mit dem ursprünglichen Syntheseplan zu Floxazathin (**3**). Zur besseren Übersicht sind die wichtigen Reaktionsschritte dennoch in Schema 46 zusammengefasst. Nachfolgend werden nur die Synthesen zu und mit den neuen Thiazol-Verbindungen erläutert.



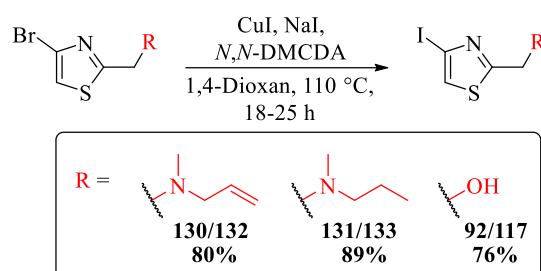
**Schema 46:** Syntheseübersicht der wichtigsten Syntheseschritte zur Darstellung der Thiazol-Derivate **114-116**.

Eine zu Beginn getestete Hydrierung vom Alkin des Bromthiazols **90** mittels LINDLAR-Katalysator gelang nicht. Bei der Reaktion konnte kein Umsatz verzeichnet werden. Möglicherweise agiert das vorhandene S-Atom des Thiazols als Katalysatorgift.<sup>[170]</sup> Deshalb wurden ausgehend vom zuvor dargestellten Carbaldehyd **89** die abweichenden *N*-Methylpropylamin- und *N*-Allylmethylamin-Substituenten mittels reduktiver Aminierung, wie in Schema 47 zu sehen, jeweils eingeführt. Dabei konnte ebenfalls in beiden Fällen der Alkohol **92** als Nebenprodukt in einer Ausbeute von je 4% isoliert werden. Die Produkte konnten in ähnlich guten Ausbeuten wie das *N*-(Methylpropargyl)-aminomethylthiazol **90** (84%) erhalten werden.



**Schema 47:** Reduktive Aminierungen zu den Thiazol-Verbindungen **130** und **131**.

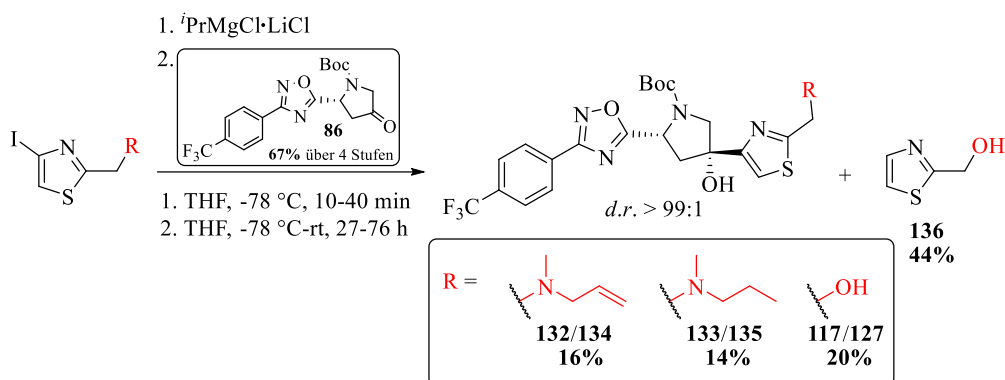
Die darauffolgenden Br-I-Austauschreaktionen wurden analog zu der Optimierung mit *N,N'*-DMCDA als Ligand durchgeführt und verliefen ebenfalls in beiden Fällen mit sehr guten Ausbeuten (siehe Schema 48). Auch wurde das Hydroxymethylthiazol **92** (siehe Kapitel 3.3.1) in einem Br-I-Austausch zur iodierten Verbindung **117** umgesetzt. Dadurch sollte das bei den Versuchen zur späten reduktiven Aminierung dargestellte GRIGNARD-Additions- und TBS-entschützte Produkt **127** ohne Verwendung einer Alkohol-SG dargestellt werden.



**Schema 48:** Br-I-Austauschreaktionen der verschiedenen Thiazol-Verbindungen **130**, **131** und **92** und die erhaltenen Iodthiazole **132**, **133** und **117**.

Auffallend bei den Br-I-Austauschreaktionen dieser Thiazol-Verbindungen war, dass kein korrespondierendes dehalogeniertes Thiazol, wie bei den vorherigen Br-I-Austauschreaktionen des *N*-(Methylpropargyl)-aminomethylthiazols **90** und dem TBS-geschützten Alkohol **123**, isoliert werden konnte.

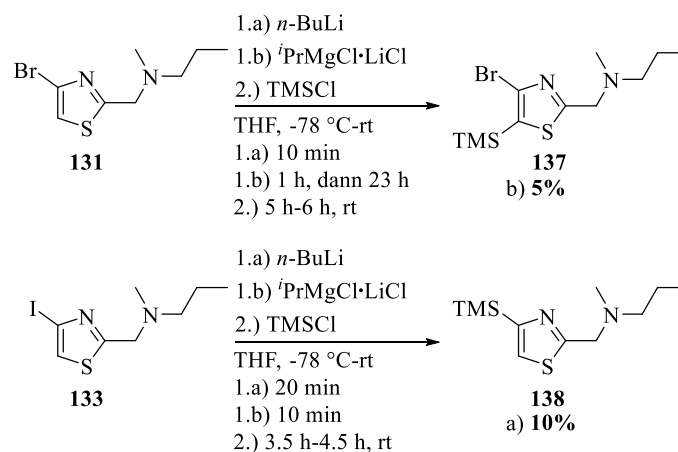
Die im Anschluss folgenden GRIGNARD-Additionen der Iodthiazole **132**, **133** und **117** an das Oxadiazol-Pyrrolidon **86** gelangen, wie in Schema 49 gezeigt, in geringen Ausbeuten von bis zu 20%. Das iodierte Hydroxymethylthiazol **117** wurde dabei als ungeschützter Alkohol mit zwei Äquivalenten des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes umgesetzt.



**Schema 49:** Durchgeführte GRIGNARD-Additionen der verschiedenen Thiazol-Verbindungen **132**, **133** und **117** an das Oxadiazol-Pyrrolidon **86**.

Bei allen Reaktionen war im ersten Reaktionsschritt eine vollständige und saubere Umsetzung des jeweiligen Iodthiazols zu beobachten. Die bereits zuvor beobachtete und eingehend beschriebene Stagnation trat nach der Zugabe des Oxadiazol-Pyrrolidons **86** im zweiten Reaktionsschritt ebenfalls auf. Eine Reisolierung der Oxadiazol-Verbindung **86** konnte in allen Fällen zwischen 7% und 24% Ausbeute erfolgen. Bei der Reaktion des ungeschützten Hydroxymethylthiazols **117** konnte zusätzlich der dehalogenierte Thiazolylmethylalkohol **136** mit 44% Ausbeute isoliert werden. Die dehalogenierten Aminomethyl-Thiazole konnten hingegen auch bei den GRIGNARD-Additionen nicht beobachtet oder isoliert werden. Für das Produkt **127** der GRIGNARD-Addition ergab sich über diesen Syntheseweg im Vergleich zum zuvor beschriebenen Syntheseweg mit TBS-Schutzgruppe (siehe Kapitel 3.3.1) eine bessere Ausbeute von 10% über fünf lineare Synthesestufen (vgl. mit TBS-Schutzgruppe: 2% über sieben lineare Stufen).

Da vor allem die GRIGNARD-Addition mit dem *N*-(Methylpropyl)-aminomethylthiazol **133** nur zu 14% Ausbeute von Produkt **135** führte, wurde analog zu den vorherigen Optimierungsansätzen der GRIGNARD-Addition aus Kapitel 3.2.3.2 die Reaktivität der bromierten und iodierten Thiazol-Verbindungen **131** und **133** untersucht, wie in Schema 50 gezeigt.



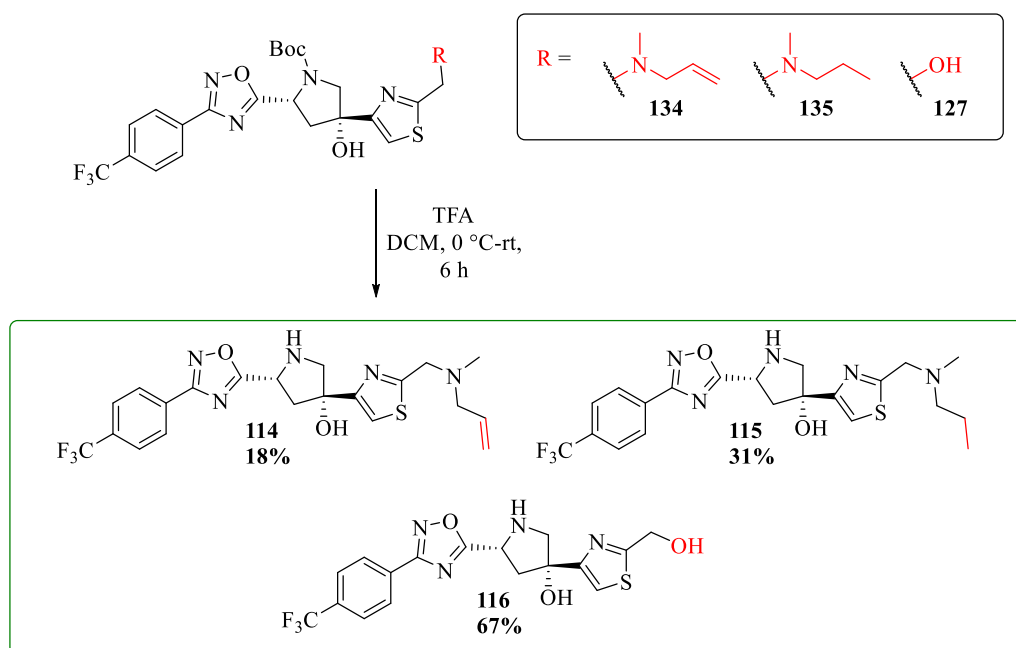
**Schema 50:** Untersuchungen zur GRIGNARD-Addition an den Thiazolen **131** und **133**.

Dabei zeigte sich beim Bromthiazol **131** mit beiden verwendeten Metallorganylen dünn-schichtchromatographisch schnell eine vollständige Zersetzung des Eduktes nach deren Zugabe. Bei Verwendung des Turbo-GRIGNARD-Reagenzes konnten noch 5% der C-5-silylierten Verbindung **137** nach Zugabe des TMSCl isoliert werden. Alle anderen entstandenen Verbindungen konnten nicht sauber isoliert werden. Bei den Reaktionen des Iodthiazols **133** mit den Metallorganylen konnte bei der Verwendung von *n*-BuLi und TMSCl die C-4-silylierte Verbindung **138** in 10%iger Ausbeute isoliert werden. Dabei entstanden



ebenfalls diverse andere, nicht identifizierte Verbindungen. Lediglich für die Reaktion des Iodthiazols **133** mit dem Turbo-GRIGNARD-Reagenz konnte ein selektiver Umsatz dieses dünnschichtchromatographisch beobachtet werden. Eine Produktisolierung konnte jedoch nicht erfolgen. Möglicherweise kam es zur Protonierung der C-4-Position, bevor diese silyliert werden konnte, da TMSCl kein ausreichend gutes Elektrophil für die Reaktion mit dem metallierten Intermediat darstellt. Dass das durch eine Protonierung der C-4-Position entstehende Produkt *N*-(Methylpropyl)-aminomethylthiazol in anderen Versuchen auch nicht isoliert werden konnte, wurde bereits erläutert. Dennoch konnte durch diese Reaktion gezeigt werden, dass nur hier ein selektiver Umsatz des Eduktes **133** eintritt. Deshalb wurde von weiteren Untersuchungen der GRIGNARD-Addition abgesehen.

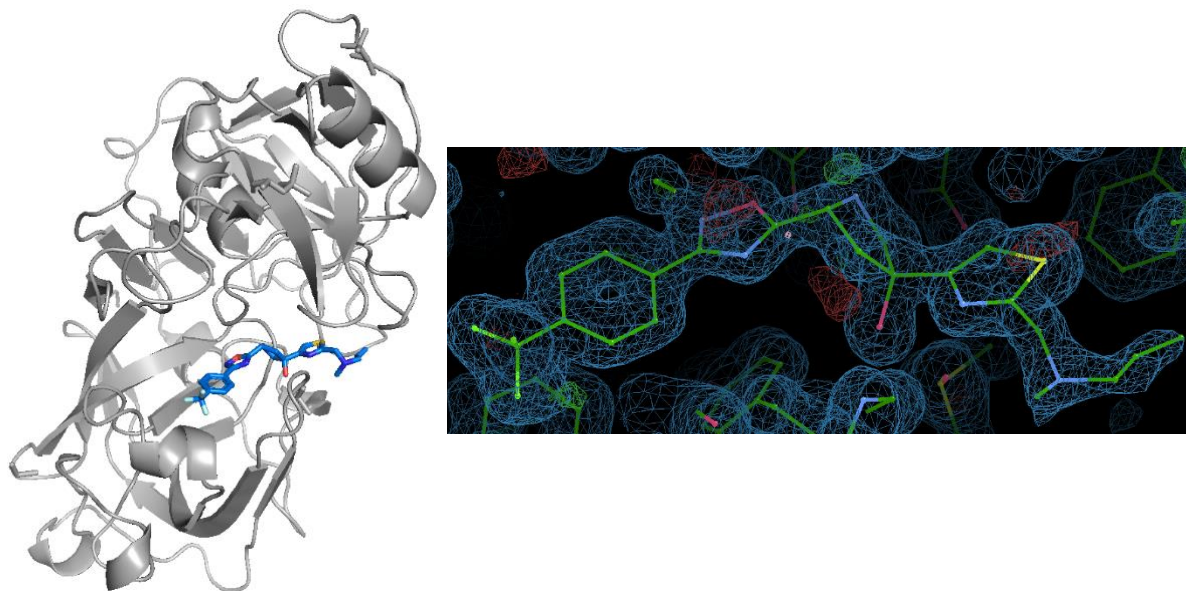
Als letzte Synthesen zur Darstellung der Derivate **114-116** folgten die Boc-Entschützungen der Additionsprodukte **134**, **135** und **127**. Diese wurden analog zu der bereits beschriebenen Entfernung der Boc-Gruppe (siehe Kapitel 3.2.3) durchgeführt, und führten zu den Derivaten **114-116**, wie in Schema 51 zu sehen ist.



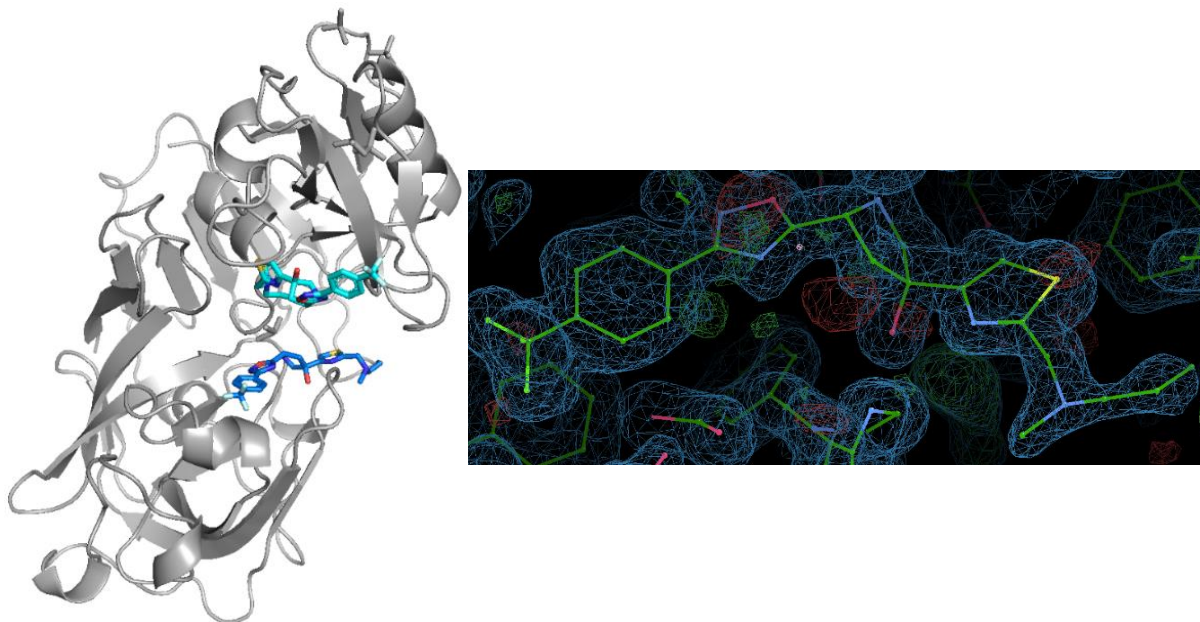
**Schema 51:** Darstellung der ersten Derivate **114-116** mit alternativen Resten am Thiazol-Gerüst.

Für die *N*-Allyl-*N*-methyl-Verbindung **114** ergab sich somit eine Ausbeute von 1%, bezogen auf die längste lineare Synthesesequenz von sechs Stufen, für die *N*-Methyl-*N*-propyl-Verbindung **115** hingegen eine Ausbeute von 2%, bezogen auf sechs lineare Stufen. Der Alkohol **116** ließ sich durch die beschriebene Route in einer Ausbeute von 7%, bezogen auf sechs lineare Stufen, darstellen.

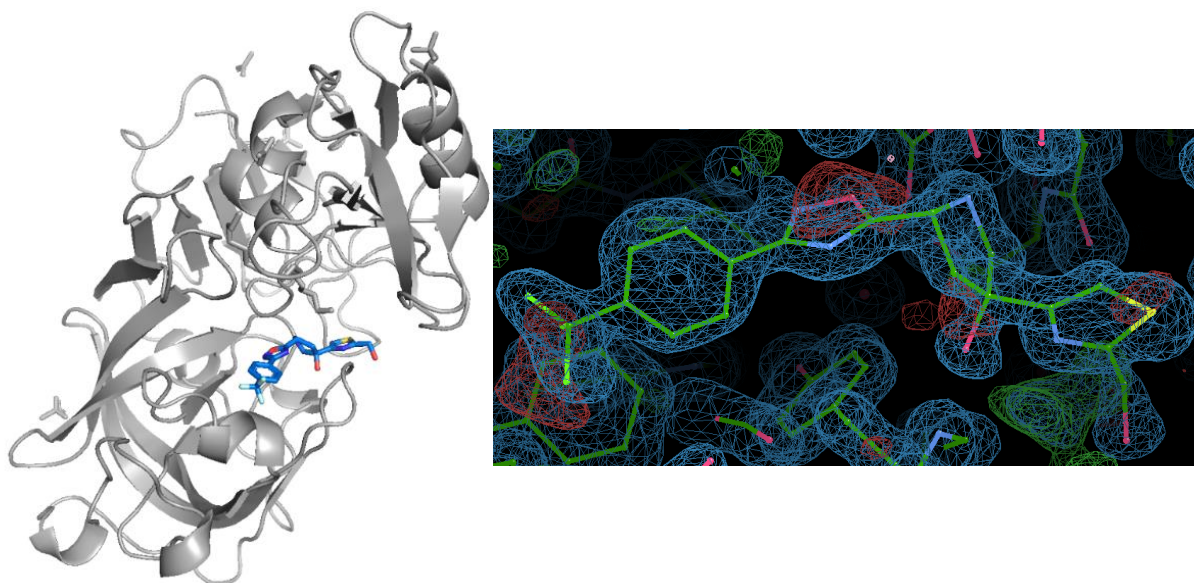
Trotz der teilweise geringen Ausbeuten konnten alle Verbindungen durch *soaking* mit Endothiapepsin in einer Kristallstrukturanalyse untersucht werden. Dabei zeigte sich, dass alle Derivate **114-116** im aktiven Zentrum von EP binden, wie in den Abbildungen 30-32 zu sehen ist.



**Abbildung 30:** Kristallstruktur der Verbindung **114** in EP (links) und die Elektronendichtekarte (rechts).



**Abbildung 31:** Kristallstruktur der Verbindung **115** in EP (links, in türkis ist das zweite Bindungsereignis außerhalb des aktiven Zentrums zu erkennen) und die Elektronendichtekarte (rechts).



**Abbildung 32:** Kristallstruktur der Verbindung **116** in EP (links) und die Elektronendichtekarte (rechts).

Für alle drei Verbindung konnten grundsätzlich die gleichen Interaktionen wie bei Floxazathin (**3**) im aktiven Zentrum beobachtet werden. Lediglich die beobachtete HBB vom H-Atom des Alkins zum Gly80 konnte bei keinem Derivat in analoger Weise mit den nun vorhandenen Gruppen beobachtet werden. Stattdessen war deutlich zu erkennen, dass sich sowohl der Propyl- als auch der Allylrest räumlich flexibler im aktiven Zentrum orientierten und damit der vorhergesagten Orientierung des Propargylrestes im Strukturvorschlag von Floxazathin (**3**) (siehe Kapitel 2, Abbildung 20) an dieser Position ähnlicher sind. Zudem konnte für die Propylverbindung **115** ein zweites *binding event* außerhalb des aktiven Zentrums beobachtet werden (siehe Abbildung 31, Struktur in türkis). Ob dieses zweite *binding event* bspw. als allosterischer Modulator oder anderweitig relevant ist, kann allein auf Grund der Röntgenstrukturdaten nicht abschließend geklärt werden. Es kann allerdings angenommen werden, dass die entfernte Bindung der Derivatstruktur **115** außerhalb des aktiven Zentrums keine physiologische Bedeutung hat. Möglicherweise handelt es sich dabei um eine Folge lokal hoher Konzentrationen durch die verwendeten Bedingungen des *soaking*-Experiments.

Durch die Bindung des Thiazolylmethanol-Derivates **116** im aktiven Zentrum ließ sich zudem schlussfolgern, dass grundsätzlich auch ohne den trisubstituierten Aminorest an der C-2-Position des Thiazols eine Bindung im aktiven Zentrum erfolgt. Aus der Kristallstruktur ging zudem hervor, dass die Hydroxygruppe sich in die gleiche Richtung wie das N-Atom des tertiärenamins ausrichtet. Die enzymatische Aktivität aller Derivate und die möglichen Einflüsse der beschriebenen Beobachtungen auf diese sind in Kapitel 3.7 diskutiert.

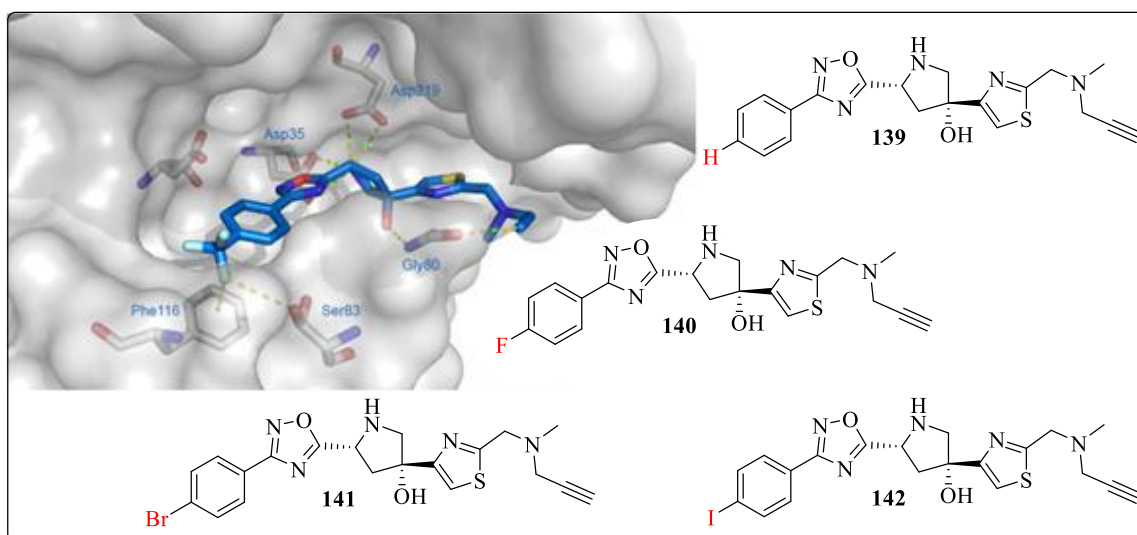
### 3.4 Derivatisierungen am Phenyl-Gerüst

Zusätzlich zur schrittweisen Derivatisierung am Thiazolylrest sollte analog eine Derivatisierung am Phenylrest erfolgen. Von der im Zielmolekül Floxazathin (**3**) vorhandenen  $F_3C$ -Gruppe ist bekannt, dass ein Fluoratom dieses Substituenten mit Ser83 des aktiven Zentrums in EP schwach interagiert. Die Beschaffenheit des Phenyl- $\pi$ -Systems und die zu beobachtende *T-Stacking*-Interaktion mit Phe116 wurde für so essenziell befunden, dass diese für alle Derivate grundsätzlich erhalten bleiben sollte. Deshalb sollte lediglich das Substitutionsmuster am Phenylrest variiert werden. Ausgehend von der  $F_3C$ -Gruppe sollte zuerst zum *para*-unsubstituierten Derivat **139** abgestuft werden. Wegen der ähnlichen Größe zu Wasserstoffatomen und der weitreichenden Anwendung von Fluor im medizinisch-chemischen Gebiet<sup>[171]</sup> sollte im Anschluss ebenfalls die Evaluierung der Verbindung **140** mit einem *para*-F-Substituenten als Bioisoster erfolgen.<sup>[172]</sup> Mit dieser Verbindung sollte zudem gleichzeitig ein Übergang zwischen der  $F_3C$ -Gruppe und der *para*-unsubstituierten Verbindung geschaffen werden.

Als weitere Möglichkeiten zur Derivatisierung wurden zudem die *para*-Br-substituierten und *para*-I-substituierten Verbindungen **141** und **142** in Erwägung gezogen. Halogensubstituenten können sogenannte nicht-kovalente *halogen bonds* mit LEWIS-Basen eingehen, die u.a. in jedem Peptidrückgrat als Carbonyl-Sauerstoffatome vorhanden sind. Weitere Interaktionen von Halogensubstituenten in Proteinen können auch mit verschiedenen Aminosäure-Seitengruppen auftreten, wie z.B. mit Hydroxyl-, Carboxylat-, Schwefel- und Stickstoffgruppen oder den  $\pi$ -Oberflächen aromatischer AS.<sup>[173]</sup> *Halogen bonds* besitzen dabei eine Analogie zu HBBs, wobei die Halogene eine ähnliche Rolle wie die Wasserstoffatome in HBBs einnehmen. Sie sind Elektronakzeptor und gleichermaßen LEWIS-Säure und können als Elektrophil agieren.<sup>[174]</sup> Je nach Beschaffenheit des Bindungspartners sind *halogen bonds* schwache bis mittelstarke Interaktionen die als alternative Interaktionen auch verbesserte Affinität, Spezifität und Permeabilität von Liganden in Proteinen erzeugen können. Die Bindungsenergien können dabei zwischen  $1\text{-}200\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  variieren.<sup>[175]</sup> Durch die Beschaffenheit der schweren Halogene (Br, I) sind, basierend auf quantenmechanischen Berechnungen, v.a. für diese die höchsten Affinitätszunahmen in Protein-Ligand-Komplexen zu erwarten.<sup>[173]</sup>

Des Weiteren eröffnen sie Möglichkeiten zur weiteren Derivatisierung, z.B. mittels Kreuzkupplungen. Bei Betrachtung von Abbildung 33 ist hinsichtlich der räumlichen Orientierung von Floxazathin (**3**) im aktiven Zentrum von Endothiapepsin zu erkennen, dass im Bereich des Phenyl-Gerüsts in *para*-Richtung und oberhalb des Phenylrings noch weiterer

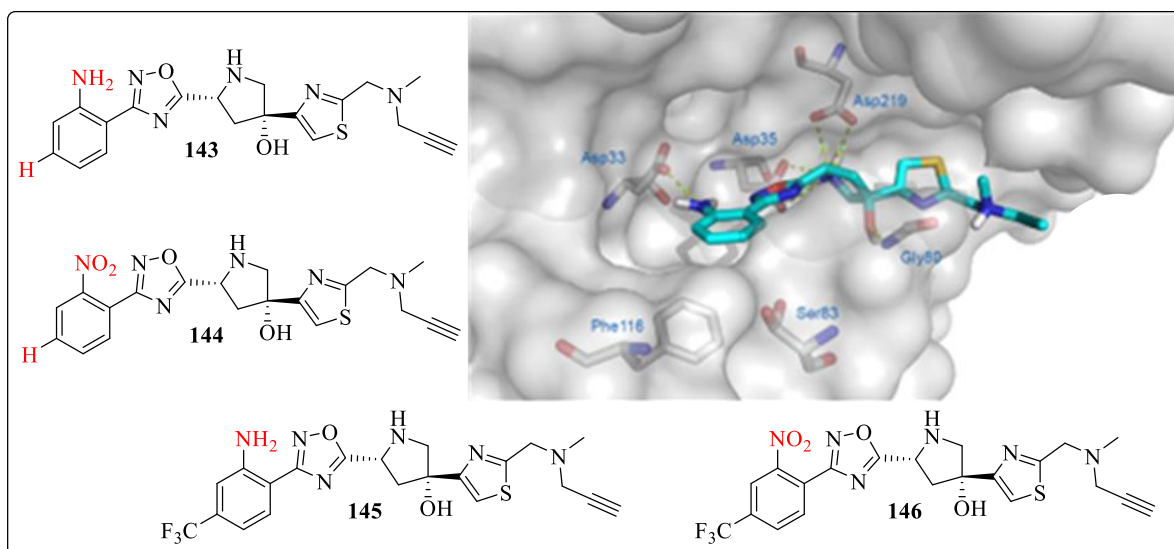
Platz in der Bindetasche vorhanden ist. Durch alternative Reste und Bindungskonstanten könnte es hier zur Ausbildung weiterer Interaktionen kommen, die sich positiv auf die Affinität auswirken könnten. Eine Kreuzkupplung als später und chemoselektiver Syntheseschritt würde schnell eine große Substratvielfalt ermöglichen und stellt somit eine attraktive Folgechemie der Verbindungen **141** und **142** dar. Die Strukturvorschläge für die *para*-substituierten Derivate **139-142** sind ebenfalls in Abbildung 33 gezeigt.



**Abbildung 33:** Darstellung von Floxazathin (**3**) im aktiven Zentrum von EP zur Verdeutlichung des freien Raums im Bereich des Phenylrestes, sowie die Vorschläge für die Derivate **139-142** mit alternativen *para*-Substituenten.

Zusätzlich zu den Derivatisierungen der *para*-Substituenten wurden Derivatisierungen in *ortho*-Position in Erwägung gezogen, da dort bei genauerer Betrachtung des aktiven Zentrums die Möglichkeit zur Ausbildung einer weiteren HBB zum Carboxyl-Sauerstoff von Asp33 angenommen wurde, wie in Abbildung 34 gezeigt. Zur Überprüfung dieser Annahme, wurden sowohl das *ortho*-NH<sub>2</sub>-substituierte Derivat **143** als HBB-Donor, und auch das *ortho*-NO<sub>2</sub>-substituierte Derivat **144**, welches keine weitere HBB zu Asp33 ausbilden kann, als weitere Derivate in Betracht gezogen. Mit dem NO<sub>2</sub>-Substituenten sollte zudem auch eine möglicherweise auftretende Abstoßung der funktionellen Gruppen untersucht werden. Um die Interaktionen der *ortho*-Position mit anderen Derivaten vergleichen zu können, sollte ebenfalls eine Synthese und Evaluierung der *ortho-para*-disubstituierten Derivate **145** und **146** erfolgen. Die Strukturvorschläge für diese Derivate **143-146** sind ebenfalls in Abbildung 34 gezeigt.



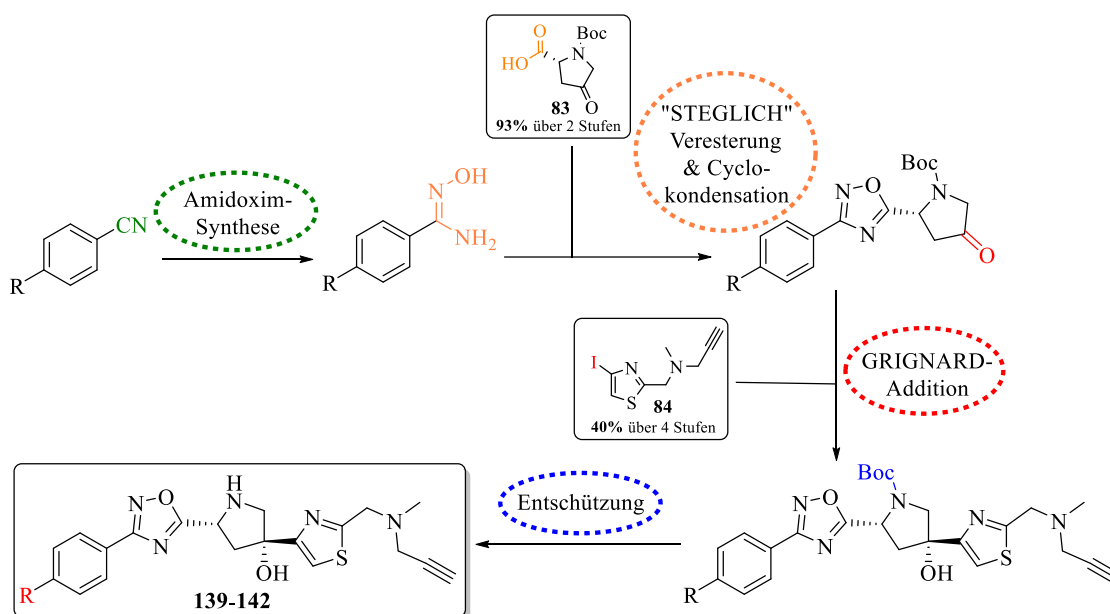


**Abbildung 34:** Überlegungen zu Derivaten mit *ortho*-Substitution des Phenylrestes **143** und **144** und die daraus resultierenden *ortho-para*-disubstituierten Derivate **145** und **146**.

In den nachfolgenden Kapiteln sind zunächst die im Rahmen der *para*-substituierten Derivate **139-142** durchgeführten Synthesen beschrieben (Kapitel 3.4.1), gefolgt von den Synthesen zu den *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Derivaten **143-146** (Kapitel 3.4.2).

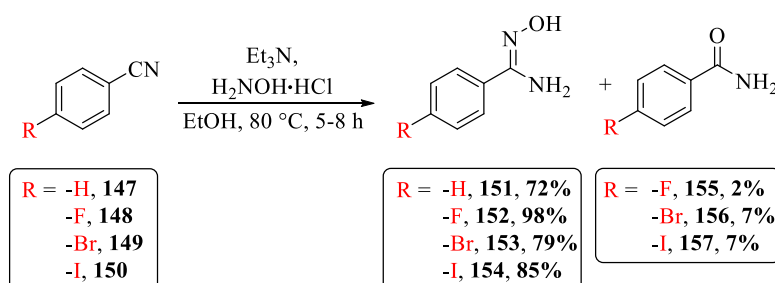
### 3.4.1 Darstellung der *para*-substituierten Derivate **139-142**

Die Synthesen zu den *para*-substituierten Derivaten **139-142** wurden analog zur ursprünglichen Syntheseroute durchgeführt. Für das Einbringen der abweichenden Phenyl-Substituenten zu Beginn der Synthese sprachen zum einen die günstigen Verfügbarkeiten der Benzonitril-Edukte. Zum anderen wurden für die *para*-Phenyl-Substituenten keine Nebenreaktionen bei den im Anschluss folgenden Synthesen erwartet. In Schema 52 ist eine Syntheseübersicht der wichtigsten Syntheseschritte für die *para*-substituierten Derivate **139-142** gezeigt. Nachfolgend werden nur die Synthesen mit abweichenden *para*-Phenyl-Substituenten erläutert.



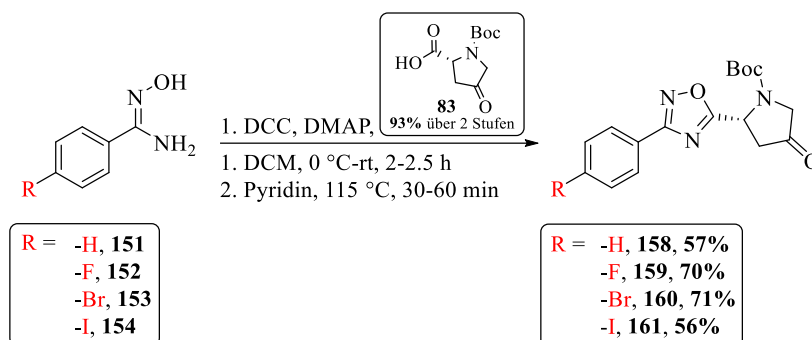
**Schema 52:** Syntheseübersicht der wichtigsten Syntheseschritte zur Darstellung der *para*-substituierten Derivate **139-142**.

Beginnend bei dem jeweilig substituierten Benzonitril-Edukt **147-150** konnte die Amidoxim-Synthese für alle angestrebten Derivate, wie in Schema 53 zu sehen, durchgeführt werden. Auffallend war, dass bei allen halogensubstituierten Verbindungen während der Reaktion die Entstehung eines Nebenproduktes beobachtet werden konnte, welche als die korrespondierenden Amide **155-157** isoliert und identifiziert werden konnten. Generell ist die Hydrolyse von Nitrilen zu Carbonsäurederivaten über die Ausbildung von primären Amiden bekannt. Bilden sich nur die Amide aus, wird auch von partieller Hydrolyse gesprochen. Die Hydrolyse von Nitrilen ist im sauren und im basischen Milieu möglich, wobei die vollständige Hydrolyse zum Carbonsäurederivat langsamer verläuft als die Hydrolyse zum Amid und nur im stark sauren oder basischen Milieu möglich ist.<sup>[155]</sup> Insgesamt konnten die gewünschten Amidoxime **151-154** jedoch in guten bis sehr guten Ausbeuten erhalten werden.



**Schema 53:** Synthesen der Amidoxime **151-154**.

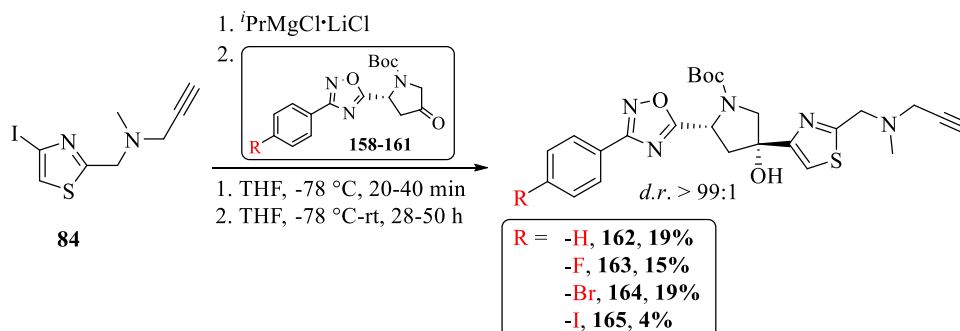
Mit den hergestellten Amidoximen **151-154** wurden im nächsten Schritt die 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidone **158-161** über die STEGLICH-analoge Veresterung und anschließende Cyclokondensation in *one-pot* Reaktionen synthetisiert (siehe Schema 54).



**Schema 54:** Darstellung der 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidone **158-161**.

Die 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidone **158-161** konnten in moderaten bis guten Ausbeuten erhalten werden. Dabei waren die Ausbeuten der fluorierten und der bromierten Verbindungen **159** und **160** ähnlich gut, wie zuvor bei der  $\text{F}_3\text{C}$ -Verbindung **86** (73%). Die Ausbeute der iodierten bzw. unsubstituierten Verbindungen **161** und **158** lagen hingegen bei geringeren 56% bzw. 57% Ausbeute.

Zur vollständigen Verknüpfung wurden die 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidone **158-161** im nächsten Schritt jeweils mit dem Iodthiazol **84** nach zuvor verwendetem Protokoll in einer GRIGNARD-Addition umgesetzt, wie in Schema 55 zu sehen.



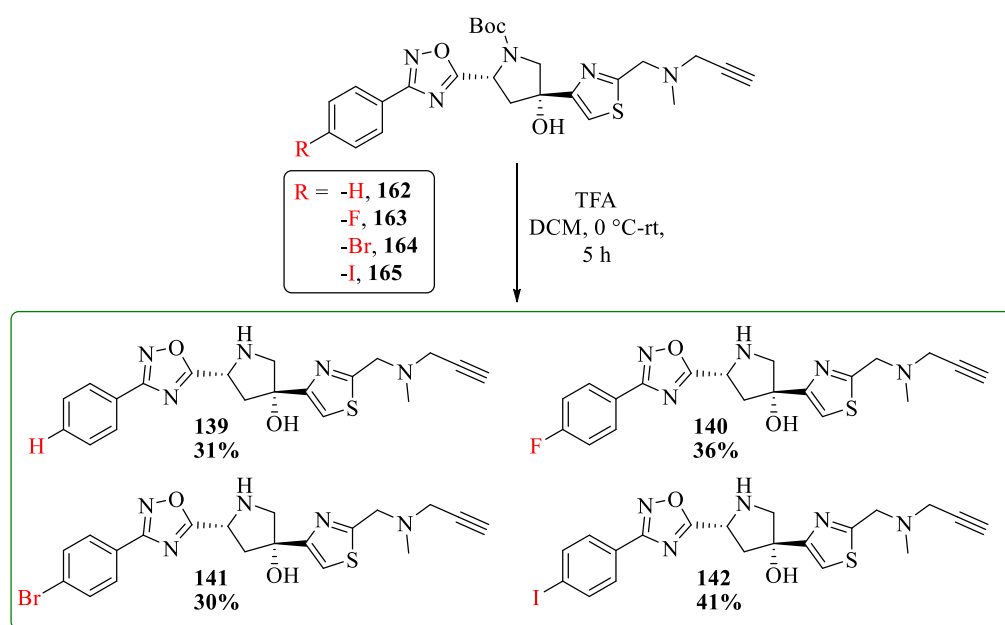
**Schema 55:** Durchgeführte GRIGNARD-Additionen mit dem Iodthiazol **84** und den 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidonen **158-161** zu den *N*-geschützten, *para*-substituierten Derivaten **162-165**.

Für alle Reaktionen konnte ein vollständiger und sauberer Umsatz des Iodthiazols **84** mit dem Turbo-GRIGNARD-Reagenz zum metallierten Intermediat dünnschichtchromatographisch beobachtet werden. Nach der Zugabe des jeweiligen Oxadiazol-Pyrrolidons zum Intermediat wurde, wie in allen früheren Experimenten, eine Stagnation des Umsatzes festgestellt. In allen Fällen konnten nach Beenden der Reaktionen die GRIGNARD-Additionsprodukte **162-164** in ähnlich geringen Ausbeuten (15% bis 19%), wie aus den vorherigen GRIGNARD-Additionen bekannt, isoliert werden. Dazu konnten die jeweiligen Oxadiazol-Verbindungen **158-160** (6% bis 18%) reisoliert werden sowie die Isolierung des dehalogenierten Thiazols **93** (10% bis 39%) erfolgen. Das *para*-I-substituierte Additionsprodukt **165** konnte hingegen lediglich in einer



niedrigen Ausbeute von 4% isoliert werden, was mit einer möglichen Konkurrenzreaktion des *para*-I-Substituenten mit überschüssigem Turbo-GRIGNARD-Reagenz bzw. dem entstandenen metallierten Intermediat zu begründen ist. Dafür spricht auch, dass bei dieser Reaktion mehr dehalogeniertes Thiazol **93** (39%) als bei den anderen Reaktionen isoliert werden konnte und vergleichsweise wenig des Oxadiazol-Pyrrolidons **161** reisoliert werden konnte (6%). Eine Nebenreaktion des *para*-Br-Substituenten mit überschüssigem GRIGNARD-Reagenz oder dem gebildeten metallierten Intermediat wird wegen der erzielten Ausbeute im bekannten Bereich für unwahrscheinlich erachtet.

Als letzter Schritt zur Darstellung der *para*-substituierten Derivate **139-142** erfolgte die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe (siehe Schema 56), wobei die Produkte in Ausbeuten von 30% bis 41% isoliert werden konnten.

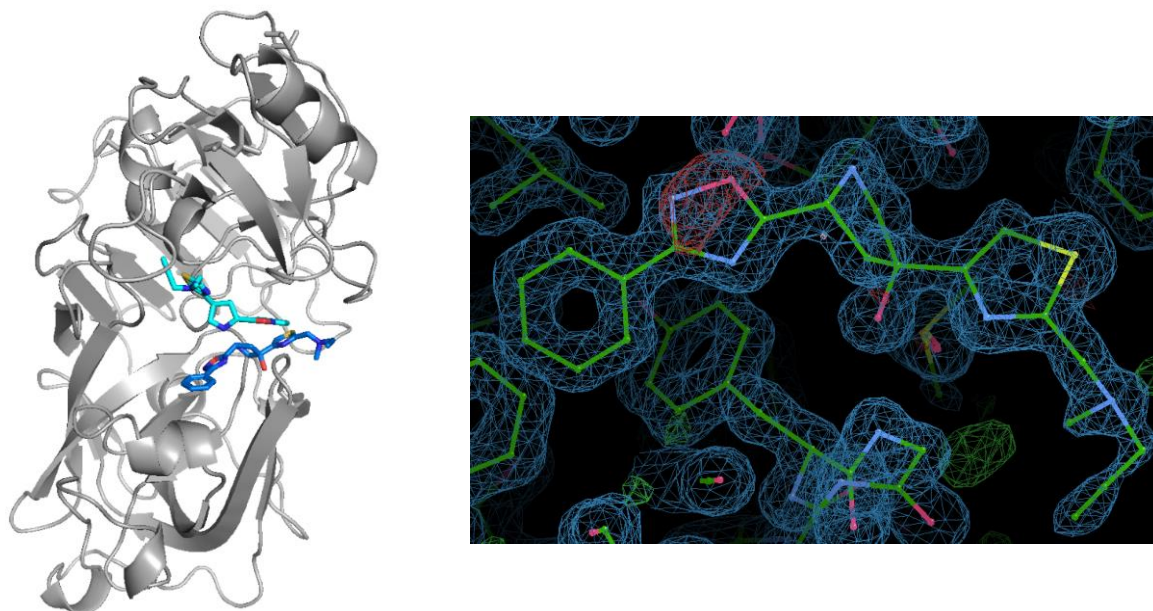


**Schema 56:** Entschützungen der *para*-substituierten Additionsprodukte **162-165** zur Darstellung der *para*-substituierten Derivate **139-142**.

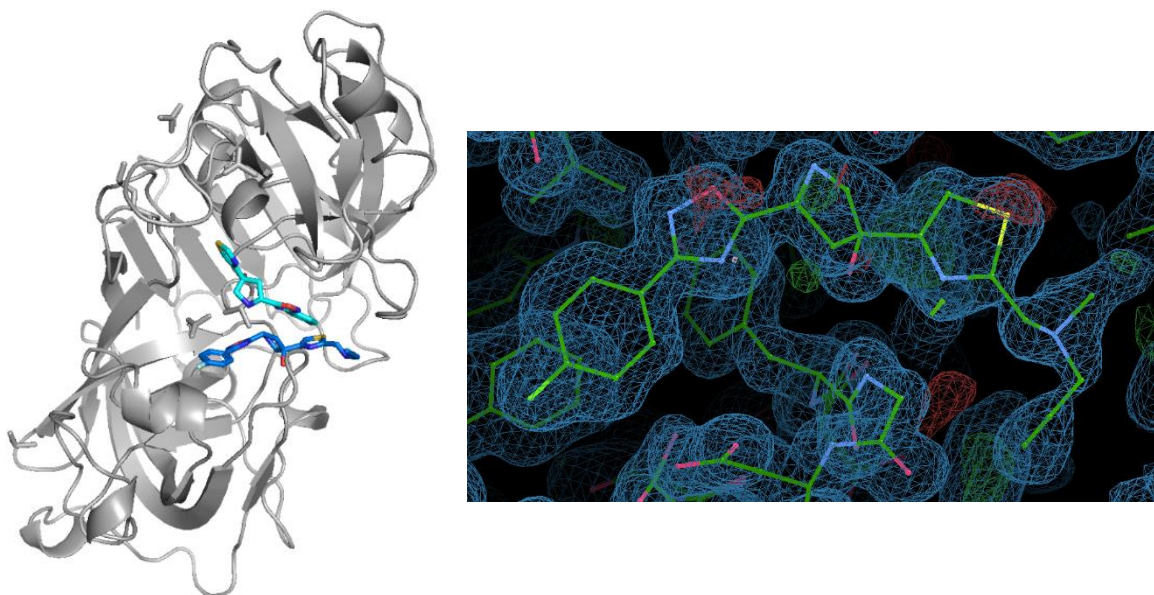
Für alle *para*-substituierten Derivate **139-141** ergab sich über sechs lineare Synthesestufen eine Ausbeute von 2%. Nur die Ausbeute der *para*-I-substituierten Verbindung **142** fiel <1% über sechs lineare Stufen aus.

Alle Verbindungen konnten im Anschluss trotz der teilweise geringen Ausbeuten durch *soaking* mit Endothiaepsin in einer Kristallstrukturanalyse untersucht werden. Dabei zeigte sich, dass die Derivate **140** und **141** mit *para*-F- und *para*-Br-Substituenten sowie das *para*-unsubstituierte Derivat **139** im aktiven Zentrum des EPs binden (siehe Abbildungen 35-37). Für das *para*-I-substituierte Derivat **142** konnte überraschenderweise

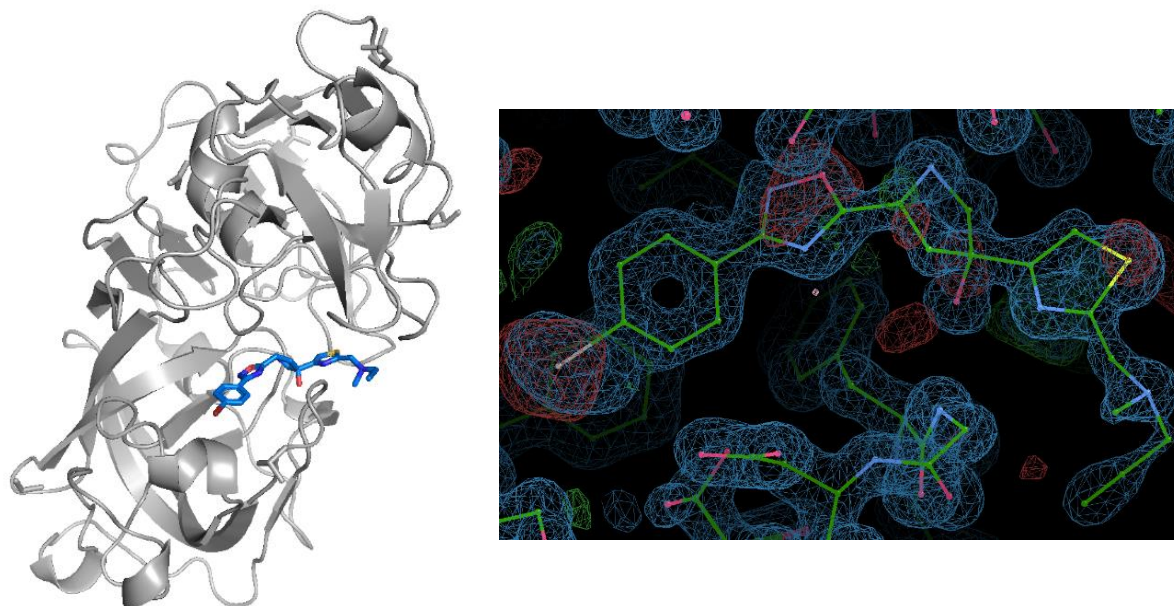
keine Röntgenkristallstruktur mit EP erhalten werden, woraus geschlussfolgert wurde, dass es vermutlich nicht zu einer Bindung vom *para*-I-substituierten Derivat **142** im aktiven Zentrum des EPs kommt.



**Abbildung 35:** Kristallstruktur der Verbindung **139** in EP (links, in türkis ist das zweite Bindungsereignis außerhalb des aktiven Zentrums zu erkennen) und die Elektronendichtekarte (rechts).



**Abbildung 36:** Kristallstruktur der Verbindung **140** in EP (links, in türkis ist das zweite Bindungsereignis außerhalb des aktiven Zentrums zu erkennen) und die Elektronendichtekarte (rechts).



**Abbildung 37:** Kristallstruktur der Verbindung **141** in EP (links) und die Elektronendichtekarte (rechts).

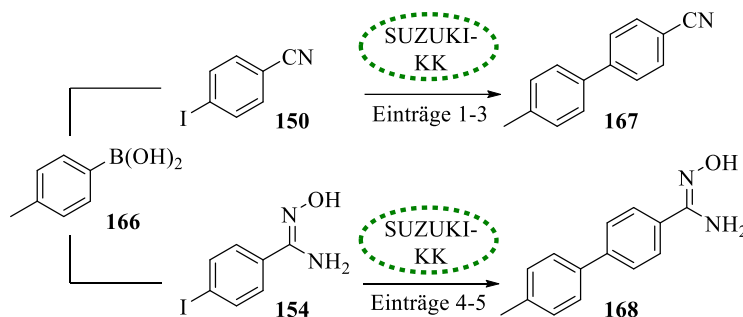
Für die bindenden Derivatstrukturen **139-141** konnten die gleichen Interaktionen, wie für die ursprüngliche Zielverbindung Floxazathin (**3**) beobachtet werden. Einzig die Interaktion des Ser83 mit einem der Fluoratome der *para*-F<sub>3</sub>C-Gruppe fehlte naturgemäß. Eine analoge Interaktion zwischen Ser83 und dem *para*-F- bzw. dem *para*-Br-Substituenten der Derivatstrukturen **140** und **141** konnte nicht nachgewiesen werden (siehe Abbildung 36 und 37). Bei den Kristallstrukturdaten der *para*-unsubstituierten und der *para*-F-substituierten Verbindung konnte zudem auch jeweils ein zweites, gebundenes Molekül von **139** bzw. **140** außerhalb des aktiven Zentrums beobachtet werden. Ob dieses zweite *binding event* bspw. als allosterischer Modulator relevant ist, kann, wie schon zuvor für die Thiazol-Derivatstruktur **116** erwähnt, anhand der Röntgenstrukturdaten nicht abschließend bewertet werden.

Wie zu erwarten, ließ sich aus diesen Ergebnissen schlussfolgern, dass die schwache Interaktion des Ser83 mit einem Fluoratom der F<sub>3</sub>C-Gruppe nicht essenziell für eine Bindung im aktiven Zentrum des EPs ist. Dennoch wird angenommen, dass die *para*-F<sub>3</sub>C-Gruppe durch die HBB zum Ser83 zur Bindungsaffinität beiträgt, was mit der Testung der enzymatischen Aktivität zu einem späteren Zeitpunkt überprüft wurde. Dass das *para*-I-substituierte Derivat **142** bei der kristallographischen Analyse der Co-Kristalle keine Bindung im EP zeigte, wurde im direkten Vergleich zu den anderen *para*-substituierten Derivaten **139-141** und Floxazathin (**3**) nicht erwartet. Möglicherweise ist der I-Substituent zu groß, sodass er eine Bindung des Derivates im aktiven Zentrum verhindert. Eine möglicherweise negative Auswirkung auf die Bindungsaffinität sollte durch die Testung der enzymatischen Aktivität ebenfalls überprüft

werden. Die Ergebnisse der Evaluation der enzymatischen Aktivitäten aller Derivate können in Kapitel 3.7 nachgelesen werden.

Zusätzlich zu der Darstellung der *para*-Phenylderivate **139-142** wurden erste Reaktionen zu den anfänglich erwähnten Kreuzkupplungen durchgeführt. Dabei wurden die geplanten Kreuzkupplung zu einem späten Syntheseschritt durch die sehr geringe Ausbeute der *para*-I-Verbindung **142** und der niedrigen Ausbeute der *para*-Br-Verbindung **141** jedoch nach dem Erhalten der Ergebnisse wieder verworfen. Im Rahmen eines von L. HILLERS durchgeführten Praktikums wurden dennoch erste Ansätze für Kreuzkupplungen zu einem früheren Zeitpunkt der Synthese am Phenylrest erprobt.<sup>[176]</sup> Hierbei wurden ausgehend von *para*-I-Benzonitril (**150**) und *para*-I-Benzamidoxim (**154**) mit *para*-Toluolboronsäure (**166**) verschiedene Ansätze einer SUZUKI-Kreuzkupplung untersucht.

SUZUKI-Kreuzkupplungen (SUZUKI-KK) sind für ihre große Toleranz gegenüber diversen funktionellen Gruppen bekannt (Aldehyde, Amide, Cyanide, Ester, Ether und Nitrogruppen).<sup>[177]</sup> Durch die verwendeten Boronsäuren oder Boronat-Derivate bedienen sie sich größtenteils hitze-, luft- und sauerstoffstabiler und wenig toxischer Edukte.<sup>[178]</sup> Zudem lassen sich die entstehenden Nebenprodukte häufig leicht abtrennen. Generell werden SUZUKI-KK's bei höheren Temperaturen durchgeführt, aber auch Reaktionen bei Raumtemperatur sind bekannt.<sup>[178,179]</sup> Die aromatische Boronsäure **166** wurde wegen der Verfügbarkeit, der hohen Stabilität und einem einfachen Nachweis während der Synthese gewählt. Die erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

**Tabelle 5:** Durchgeführte Ansätze zu den SUZUKI-Kreuzkupplungen mit der Boronsäure **166** und den Iodaromatenverbindungen **150** und **154**.

Eintrag <sup>(a)</sup>	Edukt	Reagenzien	Lösungsmittel	Temperatur, Zeit	Ausbeute <b>167</b>	Ausbeute <b>168</b>
1 <sup>[180]</sup>	<b>150</b>	PdXPhos G2, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	1,4-Dioxan/H <sub>2</sub> O (1:1)	100 °C, 7 d	<b>60%</b>	-
2 <sup>[181]</sup>	<b>150</b>	PdCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , Et <sub>3</sub> N	DMF	80 °C, 7 d	<b>67%</b>	-
3 <sup>[179]</sup>	<b>150</b>	PdXPhos G2, K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	EtOH	rt, 5 d	<b>83%</b>	-
4 <sup>[180]</sup>	<b>154</b>	PdXPhos G2, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	1,4-Dioxan/H <sub>2</sub> O (1:1)	100 °C, 7 d	-	-( <sup>c</sup> )
5 <sup>(b)[179]</sup>	<b>154</b>	PdXPhos G2, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	THF	rt, 6 d	-	<b>82%</b>

<sup>(a)</sup> Alle Reaktionen wurden in 0.19 mmol Ansätzen durchgeführt mit 5mol% Pd-Kat., 3.0 eq. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> bzw. 5.0 eq. Et<sub>3</sub>N; <sup>(b)</sup> die Ansatzgröße betrug 0.08 mmol; <sup>(c)</sup> unvollständiger Umsatz und beginnende Zersetzung.

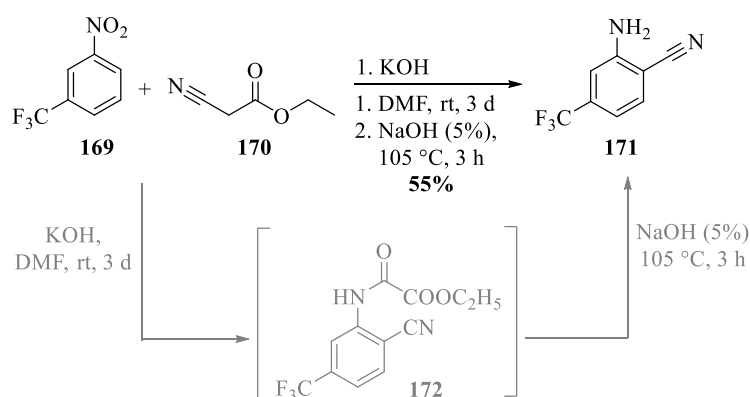
Aus Tabelle 5 ist zu erkennen, dass sowohl das iodsubstituierte Benzonitril **150** als auch das Amidoxim **154** zu den Biaryl-Produkten **167** bzw. **168** umgesetzt werden konnten. Die besten Ausbeuten wurden dabei nach dem Syntheseprotokoll von ZHAO *et al.*<sup>[179]</sup> mit 83% (*para*-I-Benzonitril (**150**)) bzw. nach einer abgewandelten Vorschrift mit 82% (*para*-I-Benzamidoxim (**154**)) bei Raumtemperatur erhalten. Auffallend bei allen durchgeführten Reaktionen war, dass die Reaktionszeit mehrere Tage betrug. Zwar gelang der Umsatz beider Verbindungen in guten Ausbeuten. Jedoch wurde wegen der langen Reaktionszeiten, der zwischenzeitlich getroffenen Feststellung, dass Kreuzkupplungen wegen der geringen Ausbeuten bei der GRIGNARD-Addition nicht zu einem späten Syntheszeitpunkt stattfinden sollten, und der Beobachtung aus den Kristallstrukturanalysen, wonach bereits der *para*-I-Substituent vermutlich zu groß für eine Bindung im aktiven Zentrum des EPs ist, von weiteren Ansätzen abgesehen.



### 3.4.2 Darstellung der *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Derivate 143-146

Die Synthesen zu den *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Derivaten **143-146** sollten ebenfalls analog zu der in Kapitel 3.4.1 verwendeten Syntheseroute (siehe Schema 52) durchgeführt werden. In diesem Kapitel sind daher auch nur die von den zuvor dargestellten Synthesen abweichenden Reaktionen diskutiert.

Vor Beginn der bekannten Syntheseroute musste das *ortho*-*para*-disubstituierte Aminobenzonitril **171** synthetisiert und beide Aminobenzonitrile **171** und **173** geschützt werden. Die Synthese des *ortho*-*para*-disubstituierten Aminobenzonitrils **171** wurde dabei nach einer Vorschrift von M. YAMAZAKI *et al.*<sup>[182]</sup> durchgeführt. Diesen gelang ausgehend von verschiedenen Nitroarenen unter Verwendung von Cyanoacetat (**170**) die erfolgreiche Synthese verschiedener 1-Amino-2-nitril-substituierter Aromaten. Die durchgeführte Synthese ist in Schema 57 gezeigt.



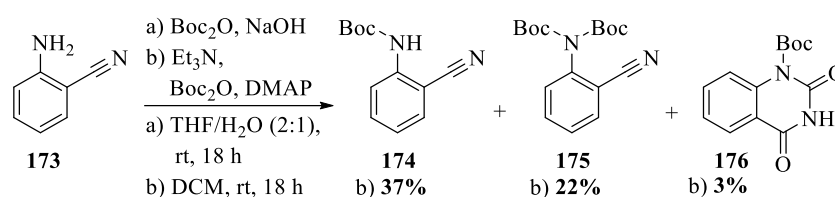
**Schema 57:** Darstellung des *ortho*-*para*-disubstituierten Aminobenzonitrils **171**.

Das *ortho*-*para*-disubstituierte Benzocarbonitril **171** konnte unter diesen Bedingungen in einer Ausbeute von 55% synthetisiert werden. Der angenommene zugrundeliegende Mechanismus geht von der Ausbildung der Oxalsäureamid-Zwischenstufe **172** aus, ist jedoch nicht belegt.<sup>[182]</sup> Aufgrund der großen benötigten Substratmenge wurde in weiteren Ansätzen ein Austausch von DMF zu weniger gesundheitsschädlichen Lösungsmitteln (Aceton, Acetonitril, DMSO, Toluol und Pyridin) getestet. Jedoch konnte in keinem Fall eine erfolgreiche Umsetzung zum Produkt beobachtet werden, sodass DMF wahrscheinlich eine wichtige Rolle für die Ausbildung der Zwischenstufe **172** spielt.

Im Anschluss an die erfolgreiche Darstellung des *ortho*-*para*-disubstituierten Benzocarbonitrils **171** folgten die Schützungen der *ortho*-NH<sub>2</sub>-Funktionalitäten des 2-Aminobenzonitrils (**173**) und des synthetisierten Benzocarbonitrils **171**. Da keine selektive Schutzgruppenentfernung erforderlich war und die Entfernung der Boc-Gruppe am Pyrrolidin bereits den letzten Schritt der

Syntheseroute darstellte, wurde ebenfalls die Boc-Schutzgruppe gewählt. Damit sollten beide Schutzgruppen nach erfolgreicher Verknüpfung zeitgleich in einer letzten Reaktion entfernt werden können.

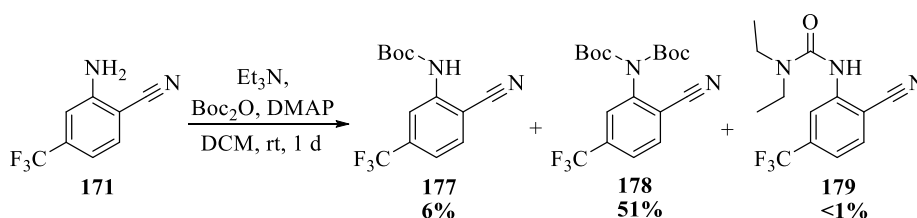
Die Einführung der Boc-Schutzgruppe am 2-Aminobenzonitril (**173**) unter den zuvor in dieser Arbeit verwendeten Bedingungen (siehe Schema 58, Bedingungen a)) führte zu keiner Produktbildung. Das ungeschützte Aminobenzonitril **173** ließ sich nahezu vollständig reisolieren. Eine alternative Einführung der Boc-Schutzgruppe wurde anschließend nach einer Patentvorschrift von ADDEPALLI *et al.*<sup>[183]</sup> getestet und ist ebenfalls in Schema 58 (Bedingungen b)) gezeigt.



**Schema 58:** Schützung des 2-Aminobenzonitrils und die daraus resultierenden Produkte.

Dabei wurde festgestellt, dass sich sowohl monogeschütztes 2-Aminobenzonitril **174** (37%) als auch doppelt geschütztes 2-Aminobenzonitril **175** (22%) in ähnlichen Ausbeuten bildeten. Des Weiteren konnte das Dihydrochinazolincarboxylat **176** als Nebenprodukt in 3%iger Ausbeute isoliert werden.

Bei Anwendung der Reaktion auf das *ortho-para*-disubstituierte Aminobenzonitril **171** konnte eine deutlich höhere Ausbeute der doppelt geschützten Verbindung **178** (51%) im Vergleich zur monogeschützten Verbindung **177** (6%) isoliert werden. Des Weiteren konnte in Spuren das Harnstoffderivat **179** (< 1%) isoliert werden, wie in Schema 59 zu sehen. Die Bildung des analogen Dihydrochinazolindicarboxylats konnte nicht beobachtet werden.

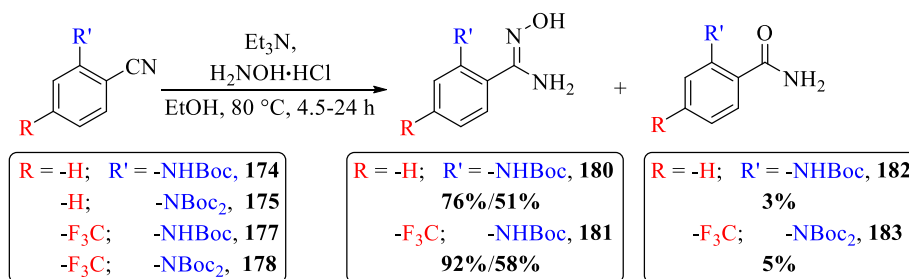


**Schema 59:** Schützung des *ortho-para*-disubstituierten Aminobenzonitrils **171**.

Dass es bei dieser Reaktion zu einem deutlichen Überschuss der doppelt geschützten Verbindung **178** kommt, ist vermutlich auf den stark Akzeptor-substituierten Aromaten und die hohe Acidität des ungeschützten und monogeschützten Anilins **171** und **177** zurückzuführen. Um das Verhältnis von mono- und doppelt geschützter Verbindung zur monogeschützten

Verbindung **177** zu verschieben, wurde versucht, über die Menge an Base bzw.  $\text{Boc}_2\text{O}$  Einfluss zu nehmen. Dabei wurde festgestellt, dass es auch bei der Verwendung von 0.5 eq.  $\text{Boc}_2\text{O}$  zu einer bevorzugten Bildung des doppelt geschützten Produktes **178** (15%) im Vergleich zum monogeschützten Produkt **177** (13%) kommt. Zusätzlich konnten 35% des Eduktes **171** reisoliert und weitere, nicht charakterisierbare Nebenprodukte isoliert werden. Durch die Änderung der Menge an Base konnte keine signifikante Veränderung festgestellt werden. Von weiteren Versuchen zur Verschiebung des Produktgleichgewichts zur monogeschützten Verbindung **177** wurde zu diesem Zeitpunkt abgesehen.

Im nächsten Schritt wurden sowohl die monogeschützten Verbindungen **174** und **177** als auch die doppelt geschützten Verbindungen **175** und **178** in der Amidoxim-Synthese unter den bekannten Bedingungen umgesetzt. Die Ergebnisse sind in Schema 60 zusammengefasst.

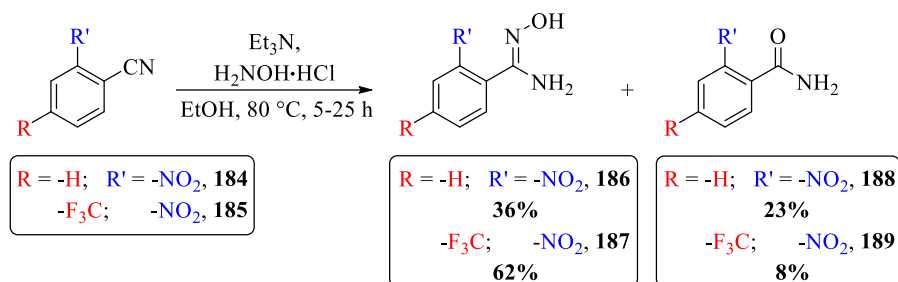


**Schema 60:** Amidoxim-Synthesen der geschützten Aminobenzonitrile **174**, **175**, **177** und **178**.

Beim Umsatz beider doppelt geschützten Verbindungen **175** und **178** fiel auf, dass eine Boc-Gruppe der doppelt geschützten Verbindungen abgespalten wird und nur die monogeschützten Amidoxime **180** und **181** erhalten werden konnten (51% bzw. 58%). Ausgehend von den monogeschützten Benzonitrilen **174** und **177** konnten direkt höhere Ausbeuten (76% bzw. 92%) der Amidoxime **180** und **181** erhalten werden. Ebenfalls konnte die Isolierung des Amids **182** (ausgehend vom monogeschützten Benzonitril **174**) und des Amids **183** (ausgehend vom doppelt geschützten Benzonitril **178**) in geringen Mengen erfolgen.

Zusätzlich zu den geschützten Aminobenzonitrilen sollten auch die kommerziell erworbenen 2-Nitrobenzonitrile **184** und **185** unter den zuvor verwendeten Reaktionsbedingungen zu den Amidoximen **186** und **187** umgesetzt werden (siehe Schema 61).

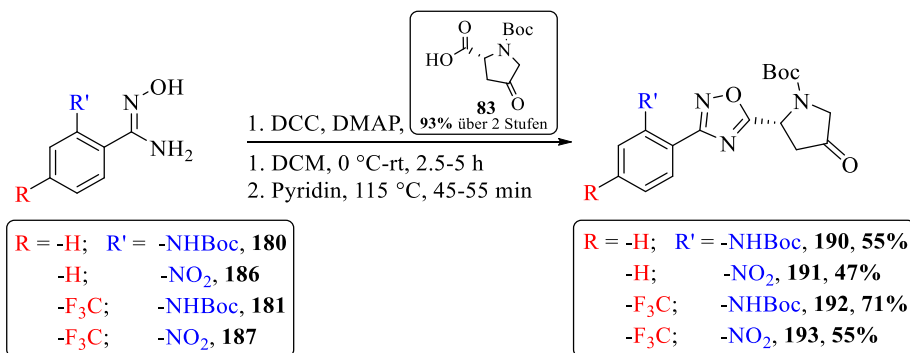




**Schema 61:** Amidoxim-Synthesen mit den *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Nitrobenzonnitrilen **184** und **185**.

Die Nitrobenzamidoxime **186** und **187** ließen sich ebenfalls in moderater bis guter Ausbeute darstellen. Bei der Synthese des 2-Nitrobenzamidoxims (**186**) wurde verhältnismäßig viel Amid **188** als Nebenprodukt isoliert (23%), was möglicherweise an der Reaktionszeit von 25 Stunden lag. Dennoch konnten 10% des Eduktes **184** reisoliert werden. Die Synthese mit dem *ortho-para*-disubstituierten Benzonnitril **185** führte bereits nach fünf Stunden Reaktionszeit zu deutlich mehr Amidoxim **187** (62%) und das korrespondierende Amid **189** konnte in geringer Ausbeute von 8% als Nebenprodukt isoliert werden.

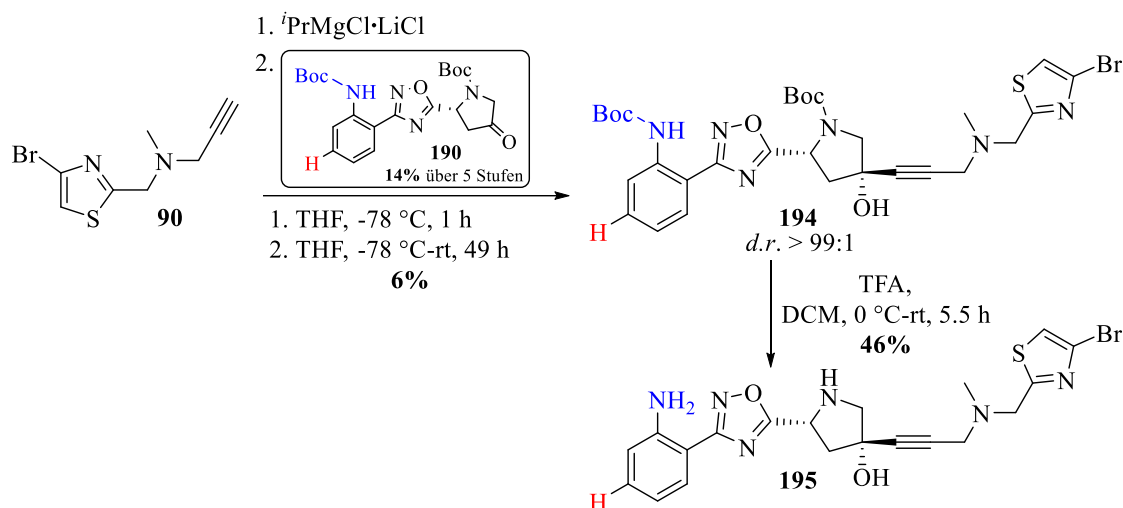
Bei der im Anschluss folgenden 1,2,4-Oxadiazolsynthese konnten alle vier Amidoxime **180**, **181**, **186** und **187** in akzeptablen bis guten Ausbeuten nach der bisher verwendeten Vorschrift umgesetzt werden. Die Synthesen sind in Schema 62 dargestellt.



**Schema 62:** Synthesen zu den 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidonen **190-193** mit den *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Amidoximen **180**, **181**, **186** und **187**.

Die im nächsten Schritt folgende Addition des metallierten Thiazols erfolgte ebenfalls analog zum vorherigen Reaktionsprotokoll. Besonderes Augenmerk lag hier auf dem Umsatz der als Carbamat geschützten  $NH_2$ -Verbindungen **190** und **192** mit dem metallierten Intermediat, da in diesen Molekülen nun zwei Carbamatfunktionalitäten vorhanden waren.

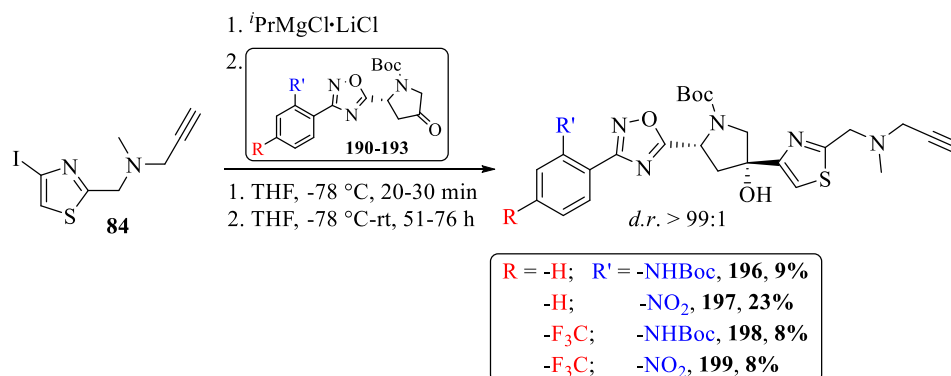
Für die *ortho*-substituierte  $NH_2$ -Verbindung **190** wurde in einer ersten Reaktion versehentlichlicherweise das Bromthiazol **90** verwendet, was erneut zur Bildung eines invers verknüpften Produktes **194**, verbunden über das Alkin, führte (siehe Schema 63).



**Schema 63:** GRIGNARD-Addition der Thiazol-Verbindung **90** und nachfolgende Entfernung der Boc-Gruppen zur Demonstration der zeitgleichen Abspaltung beider Boc-Gruppen.

Bereits hier zeigte sich eine deutlich geringere Ausbeute (6%) des Additionsproduktes **194** im Vergleich zur ersten invers verknüpften Verbindung **100** (20%, siehe Kapitel 3.2.3), was die Vermutung einer Nebenreaktion mit den Carbamatfunktionalitäten nahelegte (Diskussion siehe Kapitel 3.2.3.2). Durch die nachfolgende Entschützung der invers verknüpften Verbindung **194** konnte anschließend gezeigt werden, dass unter den zuvor verwendeten Reaktionsbedingungen eine Entfernung beider Boc-Schutzgruppen zeitgleich möglich ist. Die dabei erreichte Ausbeute von 46% lag zudem im ähnlichen Bereich, wie sie bei den vorher durchgeführten Abspaltungen der Boc-Schutzgruppen zu den anderen *N*-entschützten, *gemergeden* Derivaten **114-116** und **139-142** beobachtet wurde (vgl.: 18%-67%).

Die erhaltenen Ergebnisse der GRIGNARD-Additionen mit dem Iodthiazol **84** und den 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidonen **190-193** sind in Schema 64 dargestellt.

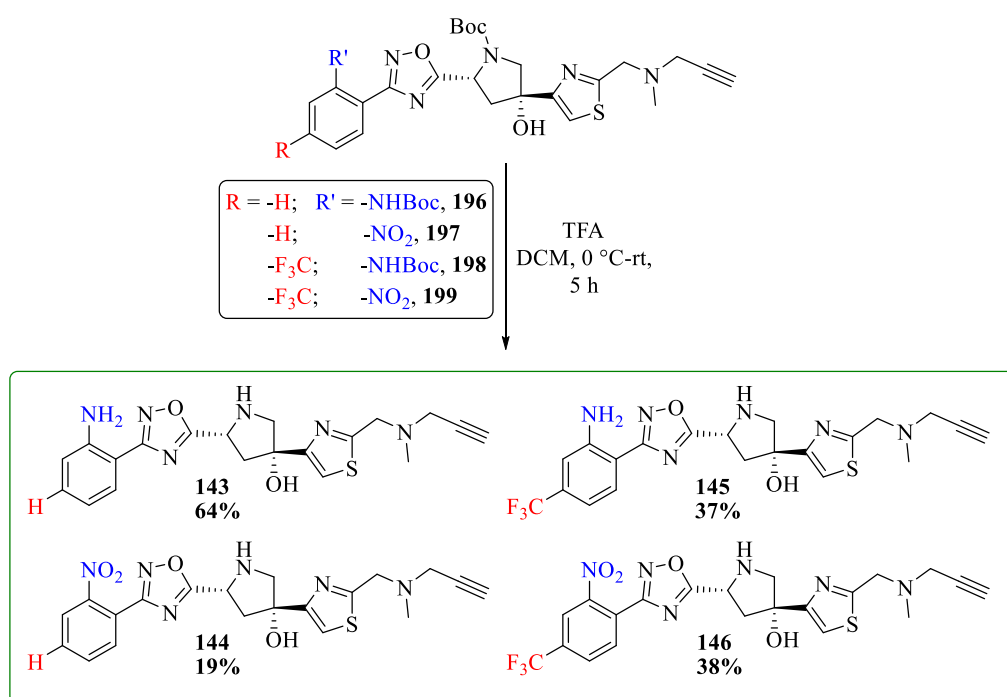


**Schema 64:** GRIGNARD-Additionen der vier *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Oxadiazol-Pyrrolidone **190-193**.

Alle vier Additionen verliefen mit vollständigem Umsatz zum metallierten Intermediat, wie es bereits zuvor bei den durchgeführten GRIGNARD-Additionen beobachtet wurde. Nach Zugabe

des jeweiligen Oxadiazol-Pyrrolidons **190-193** stagnierte der Reaktionsfortschritt abermals, sodass die Reaktionen mit unvollständigem Umsatz beendet wurden und die Rohprodukte mehrfach säulenchromatographisch gereinigt wurden. Die Additionsprodukte mit den *ortho*-NH<sub>2</sub>-Resten **196** und **198** konnten in geringeren Ausbeuten von 9% bzw. 8% isoliert werden, was ebenfalls auf eine Nebenreaktion mit den Carbamatfunktionalitäten hindeutet. Durch die hohe Acidität des monogeschützten Anilins tritt hier als Konkurrenz vermutlich zusätzlich eine Deprotonierung am N-Atom ein. Für die *ortho*-substituierte NO<sub>2</sub>-Verbindung konnte das Additionsprodukt **197** in 23% Ausbeute isoliert werden. Die *ortho-para*-disubstituierte NO<sub>2</sub>-Verbindung **199** konnte hingegen ebenfalls nur in einer geringen Ausbeute von 8% isoliert werden, was jedoch auf Probleme bei der säulenchromatographischen Trennung von diversen Mischfraktionen zurückzuführen ist.

Im letzten Reaktionsschritt wurden die Additionsprodukte **196-199** zu den Derivaten **143-146** entschützt, wie in Schema 65 dargestellt ist.



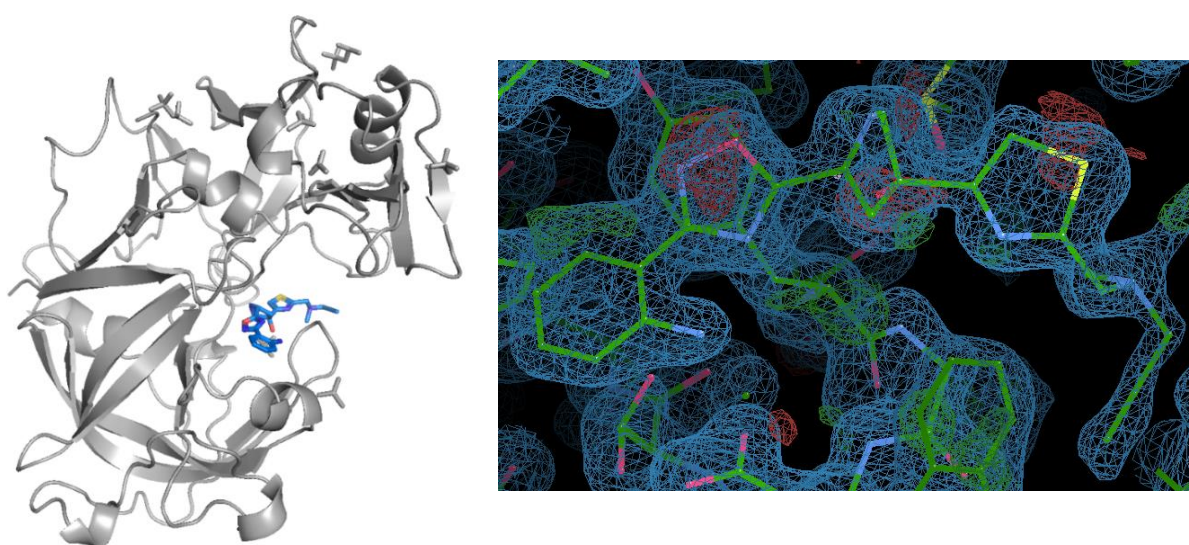
**Schema 65:** Abspaltung der Boc-Schutzgruppen zu den *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Derivaten **143-146**.

Es ließen sich alle Schutzgruppen wie erwartet entfernen. Dass die Ausbeute für die *ortho*-substituierte NO<sub>2</sub>-Verbindung **144** so gering ausfiel (19%), ist durch die Entstehung neuer Verbindungen während der Säulenchromatographie zu begründen. Das Produkt **144** musste dadurch insgesamt sechsmal säulenchromatographisch gereinigt werden.

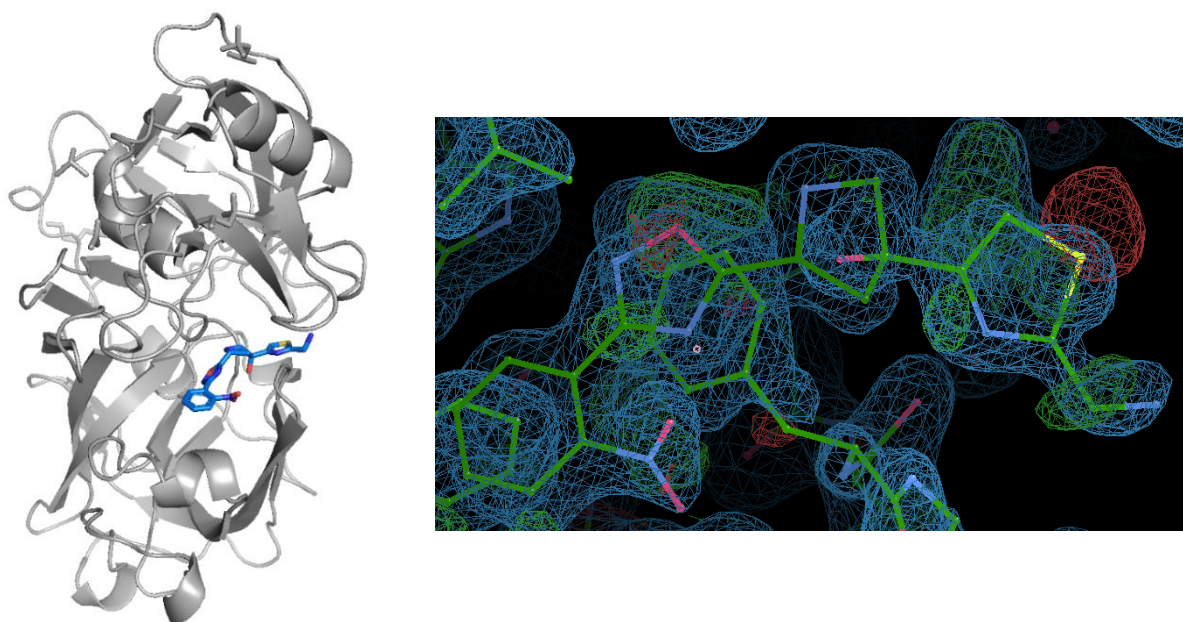
Für alle *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Verbindungen **143-146** ergaben sich erneut 2% Ausbeute auf sechs linearen Stufen bei den *ortho*-substituierten Verbindungen **143** und **144**,

und 1% Ausbeute auf sechs linearen Stufen bei den *ortho-para*-disubstituierten Verbindungen **145** und **146**.

Die durchgeführten Kristallstrukturanalysen der Verbindungen **143-146**, *gessoaked* mit EP, zeigten Bindungen aller vier Derivate im aktiven Zentrum des EPs (siehe Abbildungen 38-41). Beim *soaking* der Derivate **143-146** wurde abweichend vom üblichen *soaking*-Protokoll nur vier Stunden (anstelle von 24 h) mit EP *gessoaked*, weshalb es generell zu schwächeren Ligandendichten im Vergleich zu den anderen untersuchten Verbindungen kam. Dadurch erschien die Elektronendichte für den Propargylrest bei den Verbindungen **144-146** fehlgeordnet und konnte nicht deutlich definiert werden.

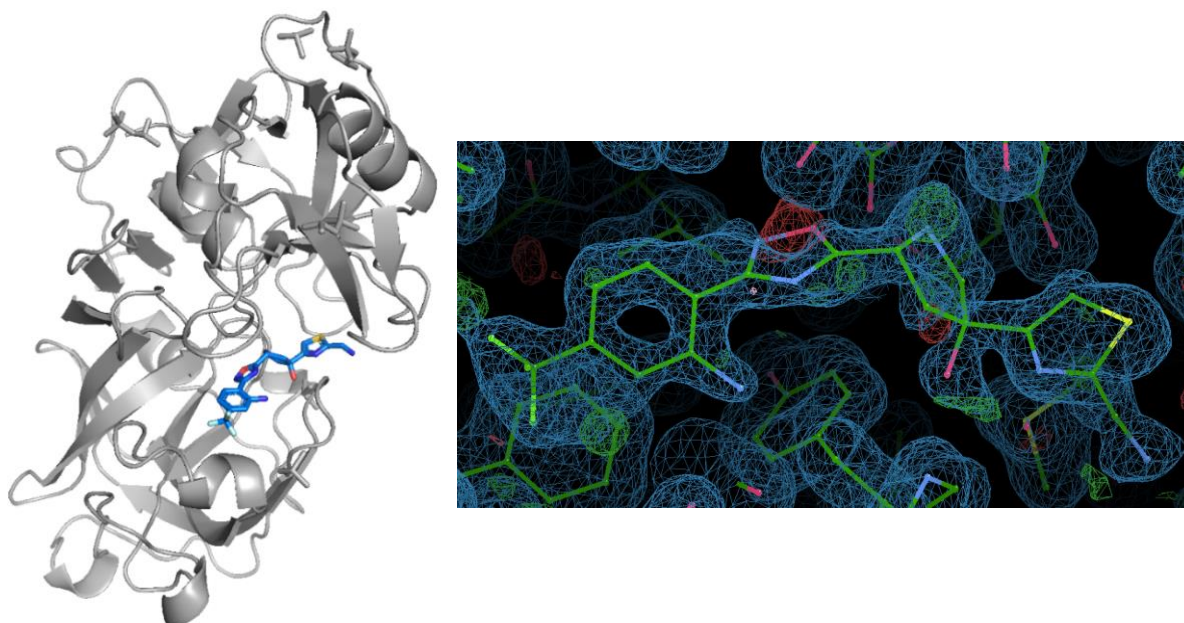


**Abbildung 38:** Kristallstruktur der Verbindung **143** in EP (links) und die Elektronendichtekarte (rechts).

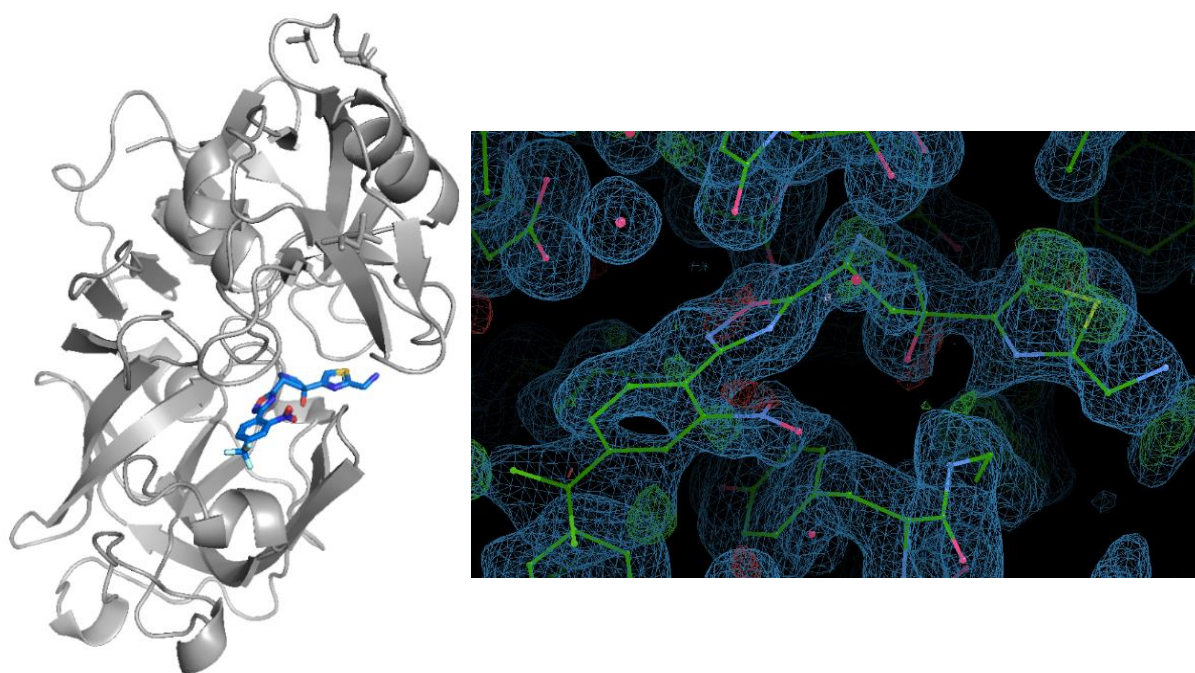


**Abbildung 39:** Kristallstruktur der Verbindung **144** in EP (links) und die Elektronendichtekarte (rechts). Durch die kürzere Messzeit konnte die Elektronendichte für den Propargylrest nicht deutlich definiert werden und erschien fehlgeordnet.





**Abbildung 40:** Kristallstruktur der Verbindung **145** in EP (links) und die Elektronendichtekarte (rechts). Durch die kürzere Messzeit konnte die Elektronendichte für den Propargylrest nicht deutlich definiert werden und erschien fehlgeordnet.



**Abbildung 41:** Kristallstruktur der Verbindung **146** in EP (links) und die Elektronendichtekarte (rechts). Durch die kürzere Messzeit konnte die Elektronendichte für den Propargylrest nicht deutlich definiert werden und erschien fehlgeordnet.

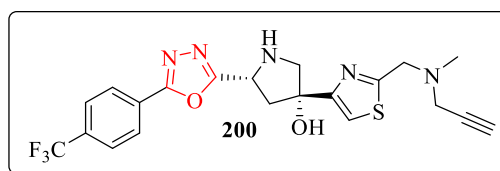
Es konnten generell die gleichen Interaktionen wie für Floxazathin (**3**) beobachtet werden. Besonders auffällig war, dass die  $\text{NH}_2$ -Funktion von Verbindung **143** nicht wie vorhergesagt mit Asp33 interagiert, sondern um  $180^\circ$  gedreht im aktiven Zentrum vorlag und somit tendenziell in die gleiche Richtung wie die exocyclische Hydroxygruppe des Pyrrolidins ausgerichtet war. Dabei werden zwei HBBs zur Carboxygruppe von Ser83 bzw. Asp82 der

NH<sub>2</sub>-Gruppe vermutet. Die gleiche Orientierung ließ sich auch für die NH<sub>2</sub>-Gruppe der disubstituierten NH<sub>2</sub>-Verbindung **145** feststellen. Hier wird zusätzlich zur HBB mit Asp82 sowohl eine HBB der F<sub>3</sub>C-Gruppe, als auch der NH<sub>2</sub>-Gruppe zu je einem Sauerstoffatom der Carboxyfunktion von Ser83 angenommen. Beide NO<sub>2</sub>-Verbindungen **144** und **146** sind mit den NO<sub>2</sub>-Gruppen ebenfalls in die Richtung zur exocyclischen Hydroxygruppe orientiert. Die NO<sub>2</sub>-Gruppen befinden sich jedoch in größerer Nähe zur Hydroxygruppe des Pyrrolidins (*ortho-para*-disubstituierte Verbindung **146**) bzw. etwas weiter entfernt von der Hydroxygruppe des Pyrrolidins (*ortho*-substituierte Verbindung **144**) im Vergleich zu den NH<sub>2</sub>-Analoga. Eine Interaktion der NO<sub>2</sub>-Gruppe mit dem Protein konnte nicht ausfindig gemacht werden. Die Testung der enzymatischen Aktivität aller Derivate **143-146** kann ebenfalls in Kapitel 3.7 nachgelesen werden.

### 3.5 Ansätze zur Derivatisierung des 1,2,4-Oxadiazolmotivs

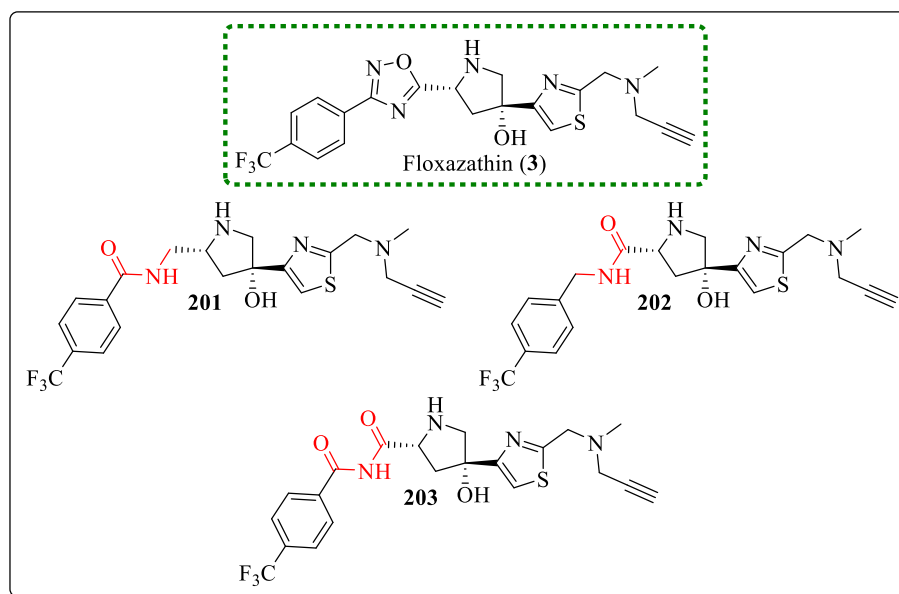
Neben den erläuterten Variationen am Thiazol- und Phenyl-Gerüst sollte ebenfalls eine Variation am 1,2,4-Oxadiazol erfolgen. Zum einen sollte dadurch untersucht werden, wie essenziell der aromatische Heterocyclus für die Bindung im aktiven Zentrum ist, zum anderen könnte dadurch der in Kapitel 3.2.3.2 diskutierte langsame Abbau des 1,2,4-Oxadiazols vermieden werden. Eindeutige Interaktionen des 1,2,4-Oxadiazol-Gerüsts wurden in den vorherigen Kristallstrukturdaten der *merged compounds* **3**, **114-116**, **139-142** und **143-146** nicht beobachtet, eine Interaktion konnte jedoch bei der kristallographischen Untersuchung des Pyrrolidin-Fragmentes **1**, *gesoaked* mit EP, beobachtet werden („das N-2-Atom des 1,2,4-Oxadiazol-Gerüsts zeigt eine HBB zum Carbonyl-Sauerstoffatom des Gly221 auf,<sup>[134]</sup> für das Sauerstoffatom des 1,2,4-Oxadiazol-Gerüsts wurden HBBs zum Carbonyl-Sauerstoffatom des Gly221 und zu Asp35 vermutet“, siehe Kapitel 3.1).

Als alternativer Heterocyclus zum 1,2,4-Oxadiazol wurde daher das 1,3,4-Oxadiazol in Erwägung gezogen. Wie in Kapitel 1.3 beschrieben, sind die Substituenten der C-2- und C-5-Position in 1,3,4-Oxadiazolen in derselben Orientierung ausgerichtet, wie die C-3- und C-5-Substituenten in den 1,2,4-Analoga. Zudem zeigen sie durch die Abwesenheit der stark polarisierten und labilen N-O-Bindung eine höhere Stabilität und häufig bessere ADME-Eigenschaften. Dennoch ist klar, dass ein 1,3,4-Oxadiazol ein anderes H-Brückenmotiv ausbilden kann als sein 1,2,4-Analogon. Durch den Austausch des Heterocyclus sollte getestet werden, ob die Synthese einer langzeitstabilen Verbindung gelingt, die ähnliche oder sogar bessere Interaktionen im aktiven Zentrum von EP zeigt. Der Strukturvorschlag des 1,3,4-Oxadiazol-Derivates ist in Abbildung 42 gezeigt.



**Abbildung 42:** Vorschlag des Derivates **200** mit einem 1,3,4-Oxadiazol anstelle des 1,2,4-Oxadiazolmotivs.

Des Weiteren sollten auch acyclische Alternativen betrachtet werden. Bei den Strukturvorschlägen der acyclischen Derivate **201-203** wurden Substrukturen aus bekannten Aspartatprotease-Inhibitoren mit Peptiden bzw. Amiden als vorhandene funktionelle Gruppen zur Orientierung verwendet (siehe Kapitel 1.2.3-1.2.5). Da das N-Atom des Pyrrolidins mittig im aktiven Zentrum mit den beiden Aspartaten interagiert, wurde davon ausgegangen, dass entfernte Amid- bzw. Imidbindungen kompatibel sind und es nicht zur Spaltung durch Endothiapepsin kommt. Die Strukturvorschläge der angestrebten acyclischen Derivate sind in Abbildung 43 gezeigt.



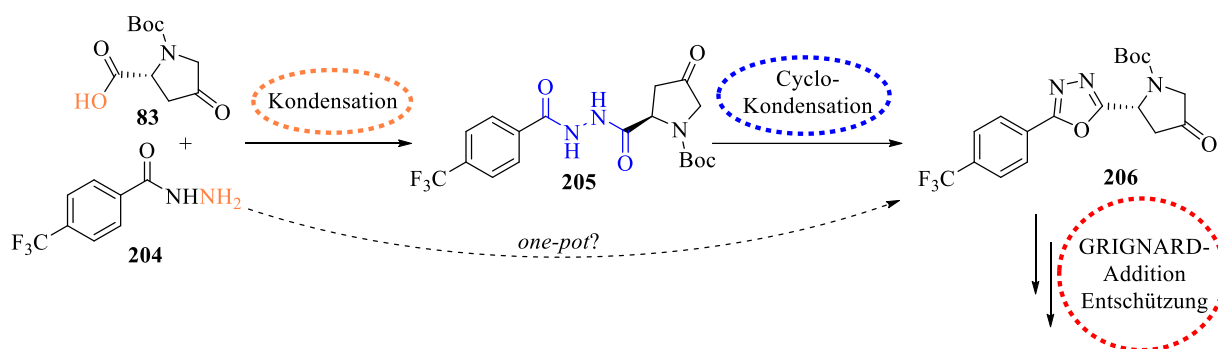
**Abbildung 43:** Drei Strukturvorschläge **201-203** für mögliche Derivate mit Amid- bzw. Imidfunktionalitäten anstelle des 1,2,4-Oxadiazolmotivs.

Nachfolgend sind zunächst die Ansätze zur Synthese des 1,3,4-Oxadiazol-Derivates **200** in Kapitel 3.5.1 beschrieben, gefolgt von den Synthesen zu den Amid- und Imido-Variationen **201-203** in Kapitel 3.5.2.

### 3.5.1 Darstellung des 1,3,4-Oxadiazol-Derivates **200**

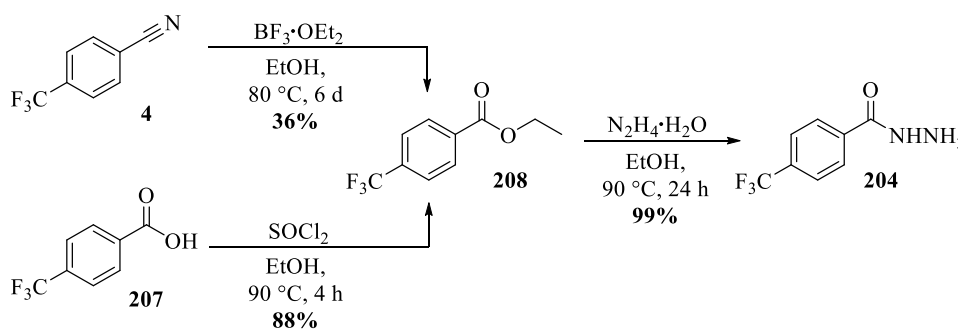
Für die Darstellung der Derivatstruktur **200** mit dem 1,3,4-Oxadiazol als alternativen Heterocyclus sollte erneut die bisher bewährte Syntheseroute verwendet werden, bei der zuerst der Aufbau des Oxadiazols und anschließend die GRIGNARD-Addition des Thiazol-Bausteins erfolgt (siehe Retrosynthese in Kapitel 3.1, Schema 12). Nachfolgend sind daher nur

Reaktionen, die von der bisherigen Syntheseroute abweichen, zur Darstellung des 1,3,4-Oxadiazol-Derivates **200** erläutert. Wie in Kapitel 1.3.2 dargestellt, können 1,3,4-Oxadiazole durch Cyclokondensation von 1,2-Diacylhydrazinen gebildet werden, welche wiederum durch die Synthese von Hydraziden und Carbonsäurederivaten hergestellt werden können. Die später am 1,3,4-Oxadiazol befindlichen Reste in C-2- und C-5-Position werden somit bereits durch die Synthese eingebracht.<sup>[105]</sup>



**Schema 66:** Syntheseübersicht der Reaktionen zur Darstellung des 1,3,4-Oxadiazol-Derivates **200**.

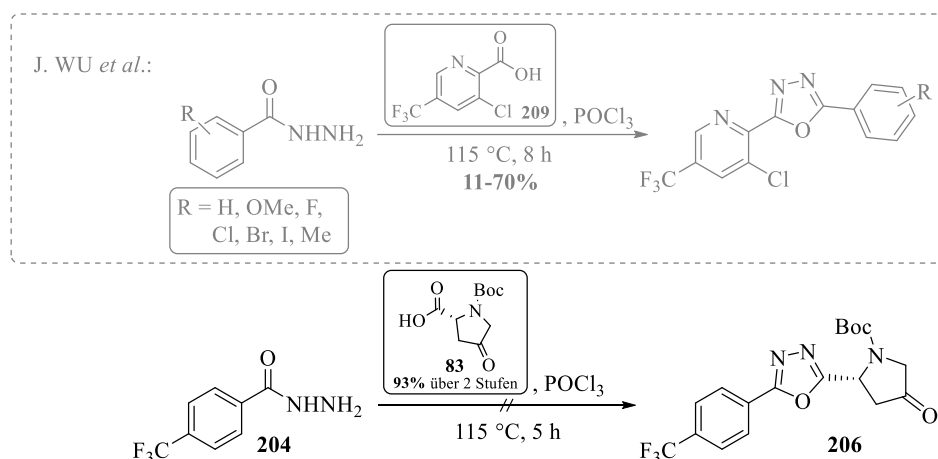
Das zuvor synthetisierte *N*-geschützte Pyrrolidon **83** (siehe Kapitel 3.2.1) besaß bereits die richtige Konfiguration zur Synthese des 1,2-Diacylhydrazins **205**. Für die Synthese des Phenylhydrazids **204** sollte ausgehend von Benzonitril **4** zunächst die Überführung in den Ester **208** erfolgen. Dabei konnte mit den im Schema 67 (oben) gezeigten Reaktionsbedingungen unter Verwendung von  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  lediglich eine geringe Ausbeute von 36% erzielt werden. Als Alternative des ersten Syntheseschritts wurde die Veresterung der Benzoesäure **207** unter Standardbedingungen getestet, welche den Ester **208** in einer deutlich besseren Ausbeute von 88% lieferte (siehe Schema 67 (unten)). Die nachfolgende Reaktion des Ethylesters **208** zum Hydrazid **204** verlief unter den gezeigten Reaktionsbedingungen problemlos und führte ohne weitere Reinigung zum sauberen Hydrazid **204** in 99%iger Ausbeute.



**Schema 67:** Durchgeführte Reaktionen zur Darstellung des Hydrazids **204**.

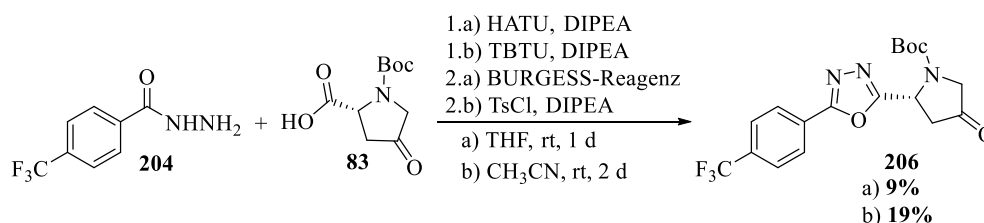


Für die nachfolgende Synthese des 1,3,4-Oxadiazol-Pyrrolidons **206** wurde als erstes die Verwendung von  $\text{POCl}_3$  ohne Isolierung der 1,2-Diacylhydrazin-Zwischenstufe **205** getestet. Dabei wurde nach einer Vorschrift von WU *et al.*<sup>[184]</sup> vorgegangen, in welcher ebenfalls direkt unter harschen Bedingungen verschiedene aromatische Hydrazide erfolgreich zu 2,5-disubstituierten 1,3,4-Oxadiazolen umgesetzt werden konnten (siehe Schema 68 (oben)). In analoger Weise sollten das Pyrrolidon **83** und das Hydrazid **204** umgesetzt werden (siehe Schema 68 (unten)).



**Schema 68:** Erster Versuch der Darstellung des 1,3,4-Oxadiazol-Pyrrolidons **206**.

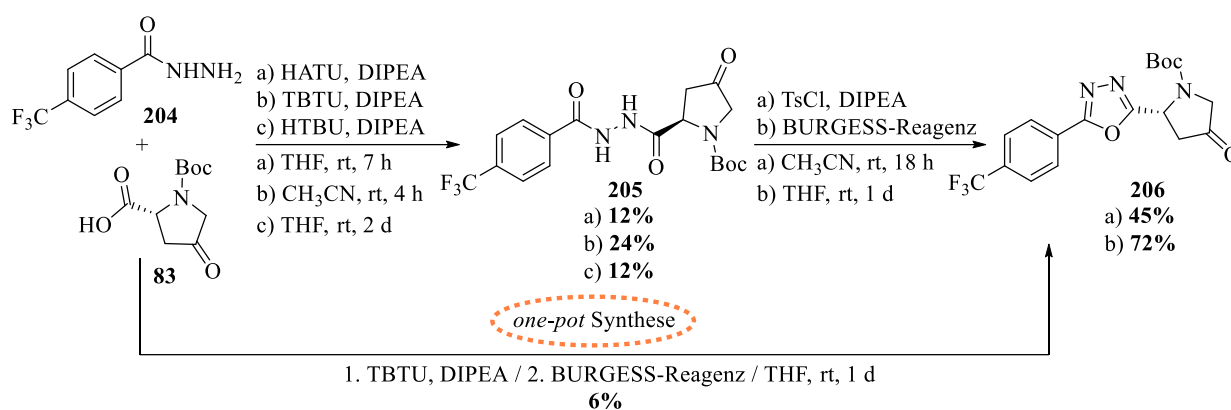
Bereits während der Reaktion zeigte sich dünn-schichtchromatographisch eine vollständige Zersetzung beider Edukte **204** und **83** durch die harschen Reaktionsbedingungen. Deshalb wurde dieser Syntheseansatz ohne den Versuch der Isolierung der 1,2-Diacylhydrazin-Zwischenstufe verworfen und es wurden mildere Reaktionsbedingungen als alternative Ansätze gewählt. Dabei wurden in parallelen Ansätzen nachfolgend zum einen die von DICKSON *et al.*<sup>[185]</sup> verwendeten und zum anderen die von CURCURUTO *et al.*<sup>[186]</sup> verwendeten Reaktionsbedingungen getestet. Die Ergebnisse sind in Schema 69 dargestellt.



**Schema 69:** Synthesen unter milden Bedingungen zur Darstellung des 1,3,4-Oxadiazol-Pyrrolidons **206** unter den Bedingungen von DICKSON *et al.*<sup>[185]</sup> (Bedingungen a)) und CURCURUTO *et al.*<sup>[186]</sup> (Bedingungen b)).

Beide Reaktionsbedingungen führten in einer *one-pot* Synthese erfolgreich zum 1,3,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **206**, wobei die Ausbeuten in beiden Fällen sehr gering ausfielen. Möglicherweise kommt es durch das Keton des Pyrrolidons **83** zusätzlich zur Bildung eines

Hydrazons, was die geringen Ausbeuten begründen würde. Um untersuchen zu können, welcher Reaktionsschritt der *one-pot* Synthesen der limitierende Schritt ist und um möglicherweise eine Optimierung zu erzielen, wurden zunächst verschiedene Ansätze zur Darstellung der 1,2-Diacylhydrazin-Zwischenstufe **205** getestet (siehe Schema 70 (oben links)). Bei jedem Ansatz wurde dabei ein organisches Kupplungsreagenz mit einem Überschuss an Diisopropylethylamin (DIPEA, 3.0 eq.) zu den Edukten gegeben.

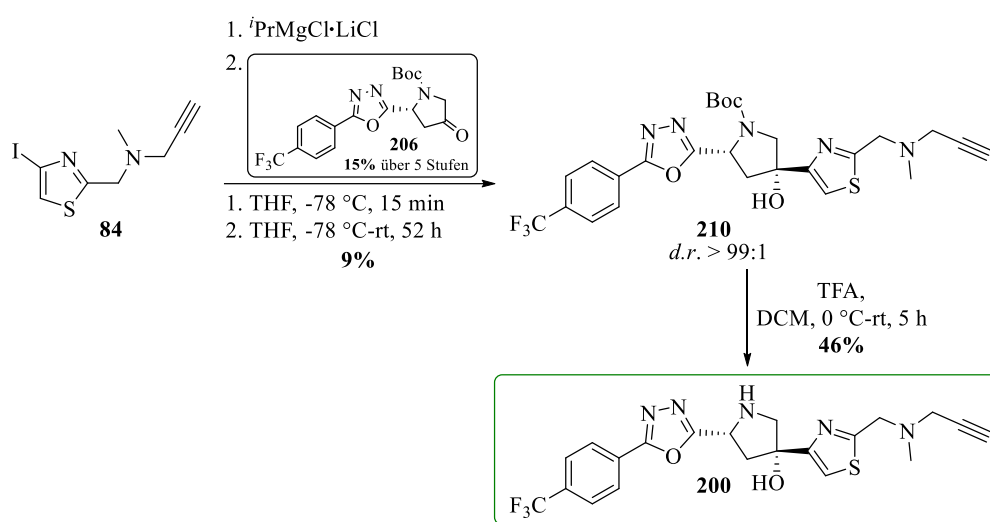


**Schema 70:** Schrittweise Reaktion zum 1,3,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **206** unter Verwendung verschiedener Reaktionsbedingungen, sowie die Kombination der besten Reaktionsbedingungen in einer *one-pot* Synthese (unten).

Das 1,2-Diacylhydrazin **205** konnte in allen Fällen isoliert werden, wobei bei den verwendeten Bedingungen b) (siehe Schema 70 (oben links)), welche aus einer der *one-pot* Reaktionen bereits bekannt waren (siehe Schema 69, Bedingungen b)), die höchste Ausbeute mit 24% erzielt werden konnte. Die insgesamt geringen Ausbeuten verstärkten die Annahme, dass es bei diesem Reaktionsschritt zur Nebenreaktion des Ketons **83** zum Hydrazon kommt. Eine Isolierung des Hydrazons konnte jedoch nicht erfolgen. Die nachfolgende Cyclokondensation wurde ausgehend von der isolierten 1,2-Diacylhydrazin-Zwischenstufe **205** anschließend unter den gezeigten Bedingungen a)-b) (siehe Schema 70 (oben rechts)) untersucht und führte insgesamt zu deutlich besseren Ausbeuten. Dabei wurde zudem festgestellt, dass die Cyclokondensation unter Verwendung des BURGESS-Reagenzes zu einer höheren Ausbeute im Vergleich zum Tosylchlorid (TsCl) führt. Dies entsprach dem zweiten Schritt der anderen zuvor durchgeführten *one-pot* Synthese (siehe Schema 69, Bedingungen a)), die das 1,3,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **206** lediglich in geringer Ausbeute von 9% lieferte. Durch die Feststellung, dass für den ersten Reaktionsschritt die Bedingungen b) (siehe Schema 70 (oben links)) zu der besten Ausbeute an 1,2-Diacylhydrazin **205** führte und für den zweiten Reaktionsschritt die Bedingungen b) (siehe Schema 70 (oben rechts)) zu deutlich mehr 1,3,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **206** führten, sollte eine Kombination dieser „besten“ Reaktionsbedingungen erfolgen.

Bei der Kombination der für die jeweiligen Schritte „besten“ Reaktionsbedingungen zu einer *one-pot* Synthese konnte das 1,3,4-Oxadiazol **206** jedoch nur in einer geringen Ausbeute von 6% erhalten werden (siehe Schema 70 (unten)). Dieses Ergebnis unterstreicht erneut die mögliche Ausbildung des Hydrazons und eine weitere Reaktion dieses mit dem BURGESS-Reagenz. Im Falle der *one-pot* Synthese wurde das möglicherweise gebildete Hydrazon nicht vor der Zugabe des BURGESS-Reagenzes mittels Säulenchromatographie entfernt, sondern befand sich weiterhin in der Reaktionslösung. Dementsprechend kann es ebenfalls zu einer Reaktion mit dem BURGESS-Reagenz gekommen sein, was sich in einer Minderung der Ausbeute äußert, und das Ergebnis der ersten *one-pot* Synthese mit dem BURGESS-Reagenz (siehe Schema 69, Bedingungen a)) ebenfalls unterstreicht. Zudem wurde die Synthese gleich in einem deutlich größeren Maßstab durchgeführt (0.45 mmol vs. 2.5 mmol), was ebenfalls zu einer Beeinflussung der Ausbeute beitragen könnte.

Im Vergleich zum 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **86** verlief die Synthese des 1,3,4-Oxadiazol-Analogons **206** in einer deutlich schlechteren Ausbeute. Dennoch konnte in einem nächsten Schritt die GRIGNARD-Addition mit dem Iodthiazol **84** erfolgen, die nach dem etablierten Protokoll durchgeführt wurde (siehe Kapitel 3.2.3) und in Schema 71 gezeigt ist. Mögliche weitere Optimierungen zum Aufbau des 1,3,4-Oxadiazols sollten zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen, wenn sich das 1,3,4-Oxadiazol-Gerüst als gute und stabilere Alternative erweisen sollte.



**Schema 71:** GRIGNARD-Addition des Thiazols **84** an das 1,3,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **206** und die abschließende Entschützung zum 1,3,4-Oxadiazol-Derivat **200**.

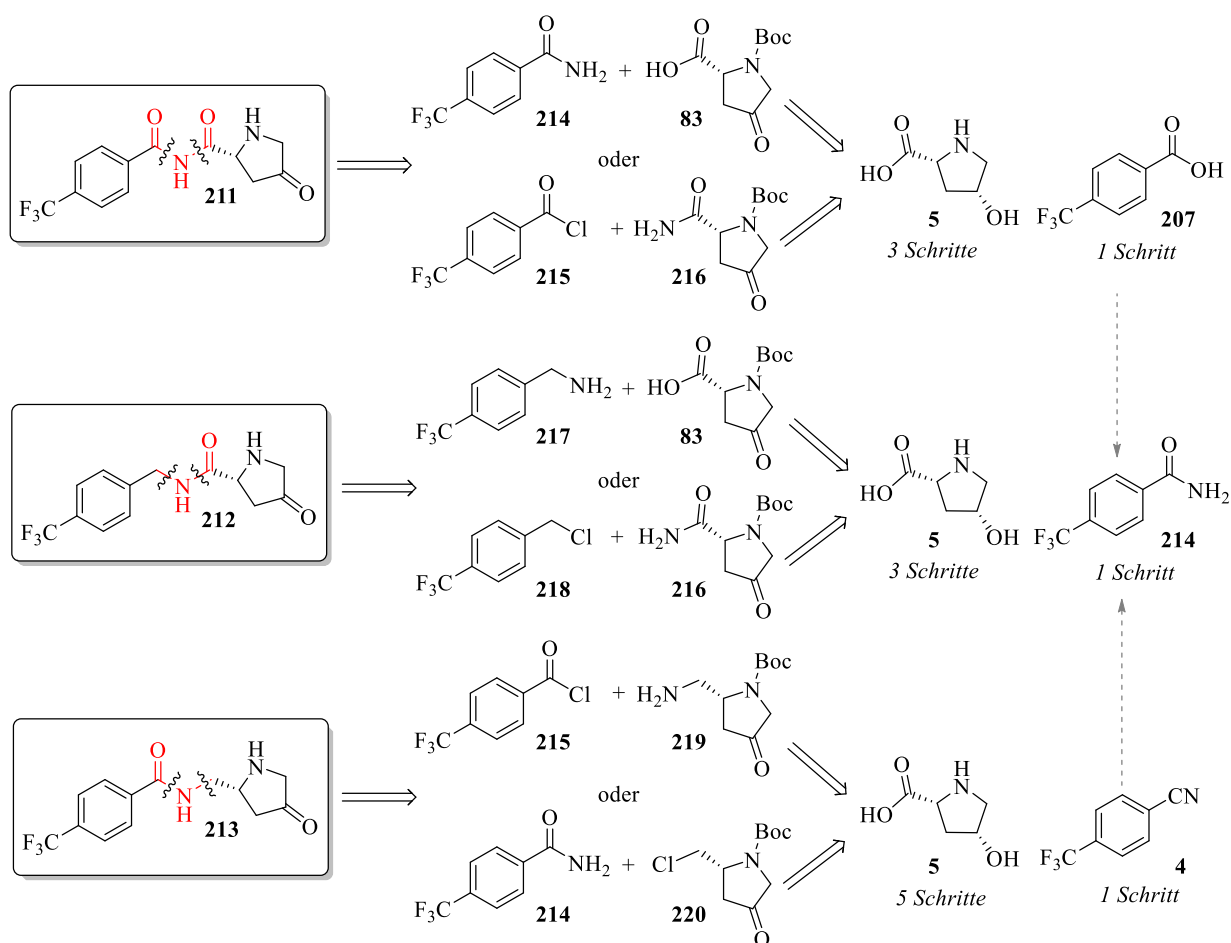
Das Additionsprodukt **210** konnte in einer geringen Ausbeute von 9% isoliert werden. Dabei verlief die Reaktion, wie die bereits zuvor beschriebenen GRIGNARD-Additionen mit dem 1,2,4-Analogon **86**. Die im Anschluss folgende Entfernung der Boc-Schutzgruppe verlief

problemlos mit 46%iger Ausbeute, sodass das 1,3,4-Oxadiazol-Derivat **200** insgesamt mit einer Ausbeute von 2% auf sechs linearen Stufen synthetisiert werden konnte.

Bei der im Anschluss folgenden kristallographischen Untersuchung der Verbindung **200**, *gosoaked* mit EP, wurde wider Erwarten festgestellt, dass es zu keiner Bindung der Verbindung **200** im aktiven Zentrum des EPs kommt. Dieses Ergebnis war unerwartet, da basierend auf den Literaturdaten von ähnlichen Bindungsmodi des 1,3,4-Oxadiazols im Vergleich zum 1,2,4-Oxadiazol ausgegangen wurde. Die Evaluation der enzymatischen Aktivität der Verbindung folgte dennoch und ist in Kapitel 3.7 beschrieben.

### 3.5.2 Ansätze zu acyclischen Amid- und Imidderivaten 201-203

Für die acyclischen Derivate **201-203** sollten zwei Amid- und eine Imidverbindung, (siehe Kapitel 3.5, Abbildung 43) synthetisiert werden. Die Einführung des Thiazolylrestes wurde anfänglich nicht betrachtet, da der Fokus zunächst auf den Synthesen der einzelnen *para*-F<sub>3</sub>C-Benzyl- und -Benzoyl- bzw. Pyrrolidon-Vorläuferverbindungen lag. Eine retrosynthetische Übersicht zur Darstellung der drei acyclisch verknüpften Moleküle ist in Schema 72 gezeigt.

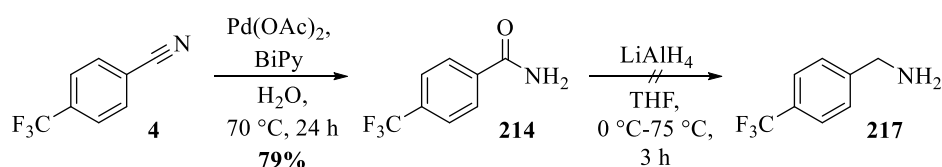


**Schema 72:** Retrosynthesen der drei Imid- bzw. Amid-Verbindungen **211**, **212**, und **213** zu den jeweiligen Ausgangsverbindungen. Die aromatischen Verbindungen **215** und **218** sind kommerziell erhältlich.

Bei Betrachtung der möglichen Retrosynthesen aller drei Verbindungen **211**, **212** und **213** ist zu erkennen, dass teilweise die gleichen aromatischen bzw. Pyrrolidon-Verbindungen für die Synthesen der Amide **212** und **213** bzw. des Imids **211** verwendbar sein sollten. Die Amid- bzw. Imidbindung soll unter klassischen Bedingungen mit einem Säurechlorid oder der korrespondierenden Säure und einem Amin oder Amid erfolgen können. Alternativ wäre eine Alkylierung eines zuvor dargestellten Amids denkbar (siehe Verbindungen **214** und **220**). Zur Darstellung des *para*-F<sub>3</sub>C-Benzylamids **214** sollte dabei ein Reaktionsschritt ausgehend von der Benzoesäure **207** oder dem Benzonitril **4** ausreichend sein. Bei erfolgreicher Darstellung des Amids **214** könnte dieses zudem zum Benzylamin **217** reduziert werden. Das Säurechlorid **215** und Benzylchlorid **218** sind kostengünstig erhältlich. Zur Darstellung der Pyrrolidon-Verbindungen **216**, **219** und **220** wurden aufwendigere Sequenzen von drei bis fünf Schritten ausgehend vom *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (**5**) betrachtet. Die detaillierten Retrosynthesen sind den jeweiligen Kapiteln zu entnehmen. In den folgenden Unterkapiteln sind zunächst die Syntheseansätze der *para*-F<sub>3</sub>C-Benzamid- bzw. Benzylverbindungen **214** und **217** diskutiert (siehe Kapitel 3.5.2.1). Nachfolgend werden die Ansätze zu den Pyrrolidon-Verbindungen **216**, **219** und **220** diskutiert (siehe Kapitel 3.5.2.2), gefolgt von Ansätzen zur Verknüpfung der Fragmente (siehe Kapitel 3.5.2.3).

### 3.5.2.1 Darstellung der Benzamid- und Benzylverbindungen **214** und **217**

Ausgehend von 4-(Trifluormethyl)benzonitril (**4**) sollte zuerst das Benzamid **214** nach einer von WILLIAMS *et al.*<sup>[187]</sup> veröffentlichten Vorschrift dargestellt werden. Diese beschreiben eine Synthese, bei der verschiedene Nitrile unter Pd(OAc)<sub>2</sub>-Katalyse im wässrigen Milieu zu den jeweiligen Amiden in guten Ausbeuten (>70%) umgesetzt werden können.<sup>[187]</sup> Bei erfolgreicher Darstellung sollte anschließend die Reduktion zum Benzylamin **217** getestet werden. Die durchgeführten Synthesen sind in Schema 73 gezeigt.



**Schema 73:** Darstellung von Benzamid **214** und der anschließende Versuch der Reduktion zum Benzylamin **217**.

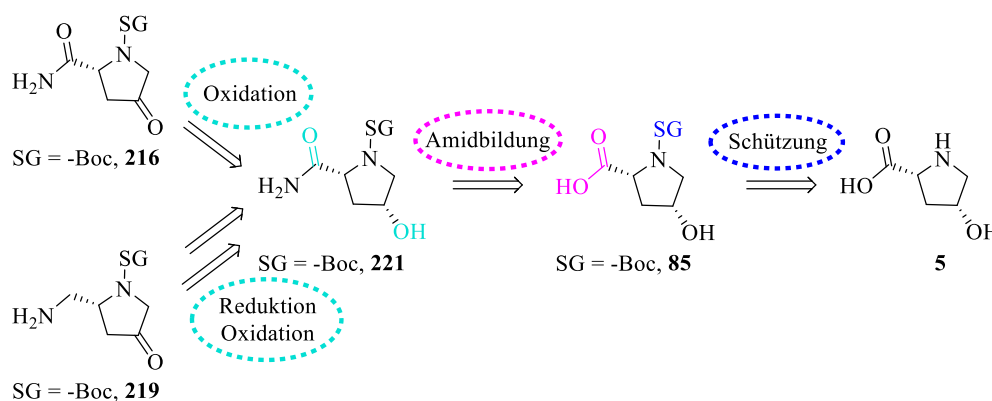
Das Amid **214** konnte nach dem Protokoll von WILLIAMS *et al.* in einer Ausbeute von 79% isoliert werden. Ein wesentlicher Vorteil dieses Ansatzes war, dass mit dem gleichen Benzonitril-Edukt **4** der ursprünglichen Synthese (siehe Kapitel 3.2.1) gestartet werden konnte. Sonst gängige Darstellungen von primären Amiden durch die Reaktion von Säurechloriden und

Ammoniak oder der gezielten Hydrolyse von Nitrilen unter harschen Bedingungen konnten durch diesen Ansatz umgangen werden.<sup>[139]</sup>

Die im Anschluss folgende Reduktion des Amids **214** zum primären Amin **217** unter Verwendung von  $\text{LiAlH}_4$  als Reduktionsmittel gelang nicht (siehe Schema 73). Dünnschichtchromatographisch schien das Amid **214** sich zwar vollständig umzusetzen. Allerdings konnten ebenfalls dünnschichtchromatographisch mehrere UV-aktive Verbindungen detektiert werden. Bei der säulenchromatographischen Reinigung konnte keine identifizierbare Verbindung isoliert werden. Da die zuvor aufgenommene  $\text{ESI}^+$ -Messung des Rohproduktes auch keinerlei Hinweise auf die Entstehung des Amins **217** zeigte und somit alles auf eine Zersetzung des Eduktes **4** unter den verwendeten Bedingungen hindeutete, wurde von weiteren Reduktionsansätzen zu diesem Zeitpunkt abgesehen.

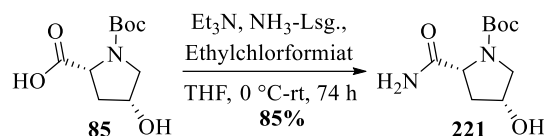
### 3.5.2.2 Darstellung der Pyrrolidon-Verbindungen **216**, **219** und **220**

Die Darstellungen der 2-Carboxamido-, 2-Aminomethyl- und 2-Chlormethyl-Pyrrolidonvorläufer **216**, **219** und **220** bedurften längeren Synthesewegen. Wegen der vermuteten leichteren Darstellung des 2-Carboxamidopyrrolidons **216** wurde der Fokus zuerst auf diese Synthese gelegt. Bei erfolgreicher Darstellung von bspw. 2-Carboxamidoprolin **221** könnte durch Reduktion und Oxidation auch das 2-Aminomethylpyrrolidon **219** gebildet werden. In Schema 74 ist die Retrosynthese vom 2-Aminomethylpyrrolidon **219** und 2-Carboxamidopyrrolidon **216** gezeigt. Die Schutzgruppe am N-Atom des Pyrrolidins wurde mit SG zunächst verallgemeinert, da die bisher verwendete Boc-Schutzgruppe in der Literatur nur als teilweise stabil gegenüber reduktiven Bedingungen beschrieben ist.<sup>[140]</sup>



**Schema 74:** Retrosynthese des des 2-Carboxamidopyrrolidons **216** (oben) bzw. des 2-Aminomethylpyrrolidons **219** (unten) ausgehend von *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (**5**).

Ausgehend vom zuvor dargestellten Boc-geschützten Pyrrolidin-Derivat **85** (siehe Kapitel 3.2.1) wurde in Anlehnung an eine Patentschrift von C. THOMAS *et al.*<sup>[188]</sup> die Carboxylgruppe zum primären Amid **221** unter den in Schema 75 gezeigten Bedingungen erfolgreich umgesetzt.



**Schema 75:** Synthese des 2-Carboxamidopyrrolidins **221** ausgehend vom Boc-geschützten Pyrrolidin-Derivat **85**.

Für die nachfolgende Oxidation zum Keton **216** sollte die Hydroxygruppe von Verbindung **221** unter den zuvor verwendeten Oxidationsbedingungen (TCC, TEMPO) reagieren, was nicht gelang. Andere Oxidationsmethoden wurden nachfolgend in parallelen Ansätzen getestet und können ebenfalls aus Tabelle 6 entnommen werden.

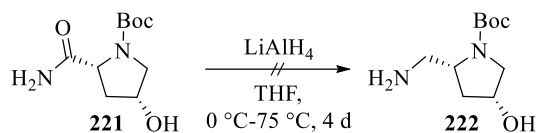
**Tabelle 6:** Oxidationsansätze des sekundären Alkohols von 2-Carboxamidopyrrolidin **221**.

Eintrag <sup>(a)</sup>	Oxidationsmethode	Reagenzien	Lösungsmittel	Temperatur	Zeit	Ausbeute <b>216</b>
1 <sup>(b)</sup>	Oxidation mit TEMPO <sup>[147]</sup>	TEMPO (5 mol%), TCC (0.75 eq.)	EE	0 °C-rt	2 h	-( <sup>c</sup> )
2	IBX-Oxidation <sup>[149]</sup>	IBX (3.0 eq.)	CH <sub>3</sub> CN	rt	5 d	-( <sup>d</sup> )
3	DMP-Oxidation <sup>[149]</sup>	DMP (3.3 eq.)	CH <sub>3</sub> CN	rt	3.5 h	-( <sup>e</sup> )
4	Ru <sup>IV</sup> O <sub>2</sub> -Oxidation <sup>[189]</sup>	Ru <sup>IV</sup> O <sub>2</sub> (5 mol%), NaIO <sub>4</sub> (3.0 eq.)	EE:H <sub>2</sub> O (1:1)	0 °C-rt	4 h	<b>8%</b> <b>(30%)</b> <sup>(f)</sup>
5	SWERN-Oxidation <sup>[145,146]</sup>	Oxalylchlorid (2.1 eq.), DMSO (3.3 eq.), Et <sub>3</sub> N (7.0 eq.)	EE	-78 °C-rt	6 h	<b>63%</b>

<sup>(a)</sup> Alle Reaktionen wurden in 0.43 mmol Ansätzen durchgeführt; <sup>(b)</sup> die Ansatzgröße betrug 0.30 mmol <sup>(c)</sup> unvollständiger Umsatz und beginnende Zersetzung; <sup>(d)</sup> kein Umsatz des Eduktes **221** zu beobachten; <sup>(e)</sup> voller Umsatz von **221** aber nicht isolierbare Verunreinigungen im aromatischen Bereich; <sup>(f)</sup> optimierte Ausbeute in größerem Ansatz (2.17 mmol).

Die Isolierung des sauberen Oxidationsproduktes **216** gelang bei der SWERN-Oxidation und nach einer Patenschrift von H. FUKUDA *et al.*<sup>[189]</sup> (Einträge 4-5), wobei mit der SWERN-Oxidation die höchste Ausbeute erzielt werden konnte. Mit den anderen getesteten Oxidationsbedingungen (Einträge 1-3) konnte das Oxidationsprodukt **216** nicht bzw. nicht sauber erhalten werden.

Zur Darstellung des 2-Aminomethylpyrrolidons **219** wurde ausgehend vom zuvor synthetisierten und Boc-geschützten 2-Carboxamidopyrrolidin **221** zunächst die Reduktion zu Verbindung **222** durch Verwendung von  $\text{LiAlH}_4$ , wie in Schema 76 gezeigt, getestet. Dabei konnte jedoch kein Produkt isoliert werden.



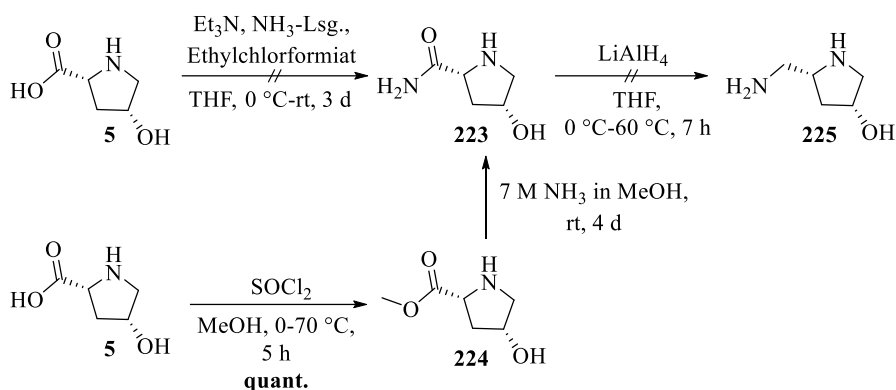
**Schema 76:** Versuch der Reduktion des Boc-geschützten 2-Carboxamidopyrrolidins **221** zum Amin **222**.

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Rohproduktes zeigte keine Signale mehr für die Methylgruppen der Boc-Gruppe und auch sonst nur unklare Signalsätze, sodass auf eine Abspaltung der Boc-Gruppe und auf eine vollständige Zersetzung des Pyrrolidinrings geschlossen wurde. Durch die  $\text{ESI}^+$ -Messung wurde diese Annahme bestätigt, da auch hier keine Massenpeaks zum Edukt, Produkt oder verwandten Verbindungen (z.B. der *N*-Methylpyrrolidin-Verbindung, die bei der Reduktion der Boc-Gruppe entstehen würde) zugeordnet werden konnte. Damit zeigte sich, dass die Boc-Gruppe unter den reduktiven Bedingungen nicht stabil war, weshalb für die Darstellung des primären Amins **222** eine alternative Schutzgruppe gewählt werden sollte.

Dabei wurde nach einer reduktionsstabilen Alternative anstelle eines Carbamats gesucht, was jedoch schnell den limitierenden Faktor darstellte. Neben dem sekundären N-Atom des Pyrrolidins mussten ebenfalls die freie Carboxygruppe und die sekundäre Hydroxygruppe von *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (**5**) berücksichtigt werden. Zwar wurden Berichte über die erfolgreiche *N*-Schützung von *N*-basierten Heterocyclen, wie Imidazol,<sup>[190]</sup> Pyrrol,<sup>[191]</sup> Pyrrolopyrimidinen,<sup>[180,192]</sup> oder linearen<sup>[193]</sup> und cyclischen Amiden<sup>[194]</sup> und Aminen<sup>[195]</sup> mit Silyl-Verbindungen wie (Trimethylsilyl)ethoxymethylchlorid (SEMCl) oder TBSCl gefunden. Jedoch wurden diese aufgrund ihrer generellen Verwendung als Schutzgruppen von Alkoholen, und durch die Anwesenheit der Hydroxygruppe des *cis*-4-Hydroxy-D-prolins (**5**) als nicht sinnvoll erachtet.

Da keine Alternative für eine *N*-Schutzgruppe des *cis*-4-Hydroxy-D-prolins (**5**) gefunden werden konnte, wurde der Ansatz aus Schema 76 zum primären Amin ohne *N*-Schutzgruppe getestet. Die dazu durchgeführten Reaktionen sind in Schema 77 zusammengefasst.

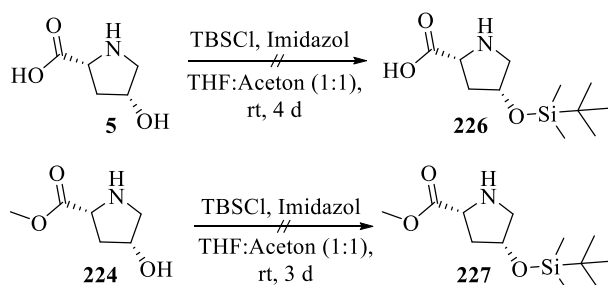




**Schema 77:** Versuche zur Darstellung des *N*-ungeschützten Prolinamins **225**.

Wie aus Schema 77 (oben links) zu entnehmen, gelang der Umsatz des Prolin-Derivates **5** unter den zuvor verwendeten Bedingungen zum Amid **223** nicht. Bei der Reaktion kam es zur Zersetzung des Eduktes **5**. Alternativ wurde die Darstellung des Amids **223** über die Reaktion des Methylesters **224** untersucht. Dieser ließ sich leicht unter den gezeigten Bedingungen in Schema 77 (unten) ohne die Notwendigkeit einer Reinigung darstellen. Der anschließende Umsatz zum *N*-ungeschützten Amid **223** schien unter den gezeigten Bedingungen zwar zu funktionieren, jedoch konnte wegen der hohen Polarität keine Reinigung und wegen der schlechten Löslichkeit keine vollständige Charakterisierung oder Ausbeutebestimmung durch die Verwendung eines NMR-Standards erfolgen. Eine Reduktion zum Amin **225** scheiterte ebenfalls an der schlechten Löslichkeit des nicht gereinigten Amids **223** in gängigen und zur Reduktion geeigneten Lösungsmitteln.

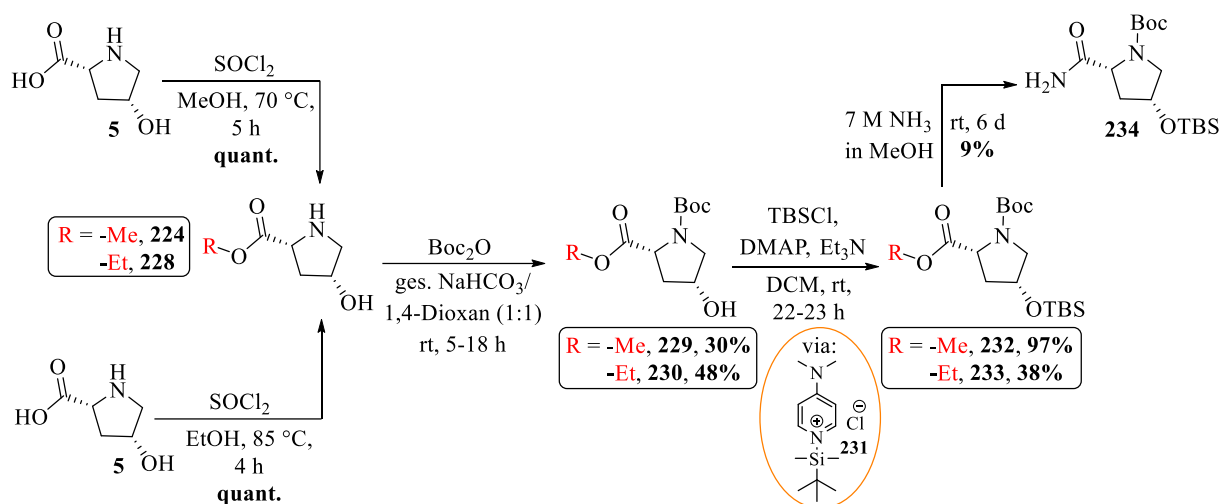
Nach dieser festgestellten Problematik sollte, um die Polarität zu verringern und die Löslichkeit zu erhöhen, die 4-Hydroxygruppe als Silylether geschützt werden, was an den in Schema 78 gezeigten Verbindungen **5** und **224** unter den verwendeten Bedingungen jedoch nicht gelang. Bei den Reaktionen konnte in beiden Fällen kein Umsatz der Edukte festgestellt werden.



**Schema 78:** Versuche zur Schützung des sekundären Alkohols als TBS-Ether.

Deshalb wurde im Rahmen eines von S. HUSSAK durchgeführten Praktikums<sup>[196]</sup> die Einführung der TBS-Gruppe als Hydroxy-Schutzgruppe am Pyrrolidin nach einer vorausgehenden *N*-Boc-Schützung getestet. Da ebenfalls die Amidbildung in 2-Position erfolgen sollte, und diese zuvor

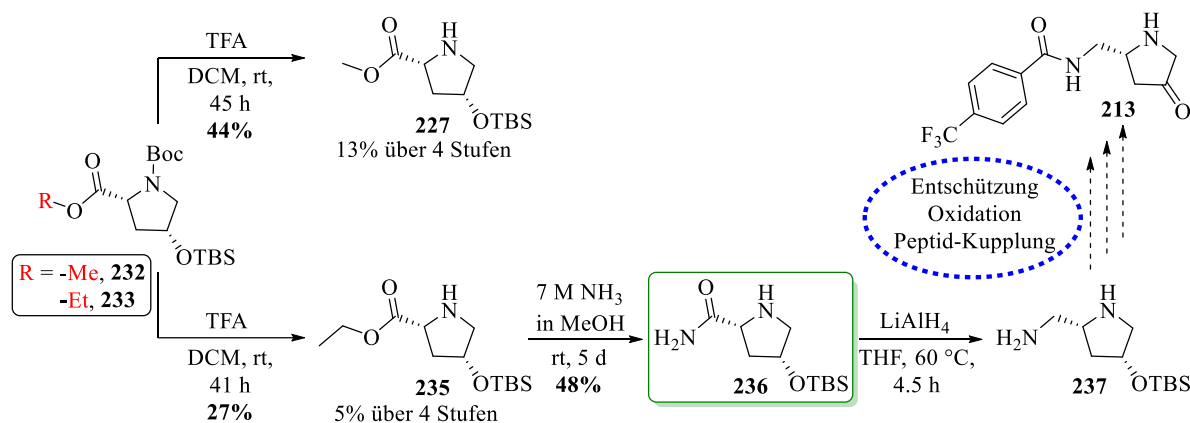
mit dem *N*-ungeschützten *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (**5**) nicht gelang (siehe Schema 77), sollte zuerst eine Veresterung der Carboxygruppe erfolgen. Der Ester sollte einfach durch  $\text{NH}_3$  in MeOH ins Amid überführbar sein, unabhängig von den anderen vorhandenen oder nicht vorhandenen Schutzgruppen am N-Atom des Pyrrolidins. Die in diesem Rahmen erzielten Ergebnisse sind in Schema 79 und Schema 80 dargestellt.



**Schema 79:** Durchgeführte Reaktionen bis zu den *N*-Boc- und OH-TBS-geschützten Estern **232** und **233**, sowie der erste Ansatz einer Amidsynthese zu Verbindung **234**.

Die Syntheseroute wurde parallel mit dem Methyl- **224** und Ethylester **228** durchgeführt. Nach erfolgreicher Darstellung beider Ester **224** und **228** erfolgte die Boc-Schätzung des *N*-Pyrrolidins. Die Ester **229** und **230** wurden dabei ohne Reinigung frei von anderen organischen Molekülen erhalten. Bei Durchführung der umgekehrten Reaktionsabfolge (erst *N*-Boc-Schätzung, dann Veresterung) wurde die Boc-Gruppe unter den sauren Veresterungsbedingungen entfernt, weshalb die dargestellte Reihenfolge gewählt wurde. Die anschließende TBS-Schätzung der Hydroxygruppe zur Verringerung der Polarität führte unter Standardbedingungen (TBSCl, Imidazol) zu keinem Umsatz der Verbindungen **229** und **230**. Nach einem Protokoll von CHAUDHARY und HERNANDEZ<sup>[197]</sup> konnte unter den gezeigten Bedingungen im Falle des Methylesters **232** jedoch eine sehr gute Ausbeute (97%) erzielt werden. Dabei entsteht das Produkt nach dem angenommenen Mechanismus von CHAUDHARY und HERNANDEZ durch die Bildung des Silylpyridinium-Ions **231**.<sup>[197,198]</sup> Der TBS-geschützte Ethylester **233** konnte hingegen nur in 38% Ausbeute erhalten werden. Nachfolgend wurde die Amidsynthese anhand des doppelt geschützten Methylesters **232** getestet, wobei lediglich eine geringe Ausbeute von 9% des Amids **234** erhalten werden konnten (siehe Schema 79 (oben rechts)).

Da für die Reduktion des Amids zum Amin zuerst die Boc-Gruppe entfernt werden sollte, und die Amidbildung mit dem doppelt geschützten Methylester **232** schlecht verlief, wurden die übrigen Mengen der Ester **232** und **233** zunächst am *N*-Pyrrolidin entschützt, was in beiden Fällen unter den in Schema 80 gezeigten Bedingungen in moderaten Ausbeuten gelang.

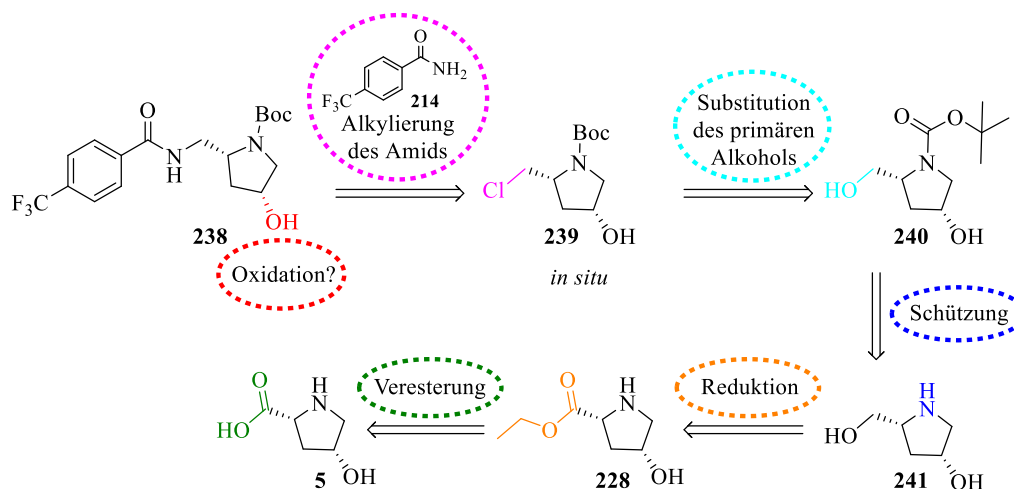


**Schema 80:** *N*-Entschützung sowie anschließende Amidsynthese des Ethylesters **236** und Testansatz der Reduktion zum primären Amin **238**.

Die anschließende Amidsynthese mit dem *N*-ungeschützten Ethylester **235** führte in 48%iger Ausbeute zum Produkt **236**. Eine entsprechende Amidsynthese mit dem Methylester **227** wurde wegen geringer Substanzmengen nicht mehr getestet. Die nachfolgende Reduktion vom *N*-ungeschützten Amid **236** deutete durch ESI<sup>+</sup>- und EI-Messungen auf die Produktentstehung desamins **237** hin, welches aufgrund der geringen Rohproduktmenge jedoch nicht gereinigt wurde. Da in weiteren Schritten die TBS-Entschützung, Oxidation der Hydroxygruppe und dann die Peptid-Kupplung mit dem aromatischen Baustein folgen sollten, wurde zu diesem Zeitpunkt von einer Wiederholung der aufwendigen Syntheseroute abgesehen. Insgesamt konnte mit der Methylester-Route bis zur *N*-Entschützung von **227** eine höhere Ausbeute von 13% über vier Stufen im Vergleich zu 5% Ausbeute über vier Stufen bei Verwendung der Ethylester-Route zu Verbindung **235** erzielt werden.

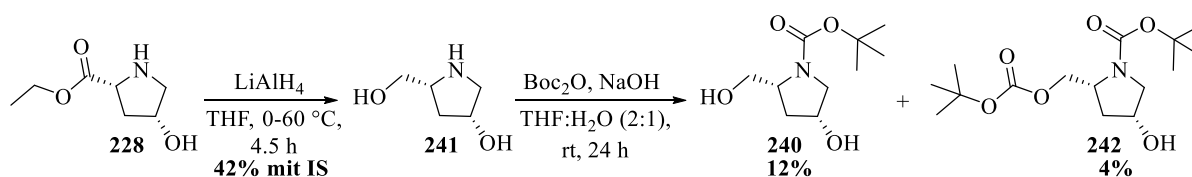
Zusätzlich zu den Versuchen der Darstellung von den 2-Carboxamido- und 2-Aminomethyl-Pyrrolidonvorläufern wurde auch die Darstellung des 2-Chlormethylpyrrolidins **239** getestet. In einer Veröffentlichung von D. TSCHAEN *et al.* wurden die Hydroxygruppen von Aminoalkoholen in einem ersten Schritt effizient durch SOCl<sub>2</sub> substituiert und die gebildeten Amino-Chlor-Verbindungen wurden dann *in situ* direkt zu 3-Azabicyclen umgesetzt.<sup>[199]</sup> Basierend auf diesen Arbeiten sollte zunächst der Aminoalkohol **240** dargestellt werden und zu Verbindung **239** chloriert werden. Durch die Zugabe des korrespondierenden aromatischen Amids **214** sollte dann im nächsten Schritt *in situ* die Alkylierung am N-Atom von **214** mit dem zuvor dargestellten 2-Chlormethylpyrrolidin **239** erfolgen. Eine Cyclisierung sollte durch die

Schätzung des N-Atoms am Pyrrolidin verhindert werden. Die Retrosynthese vom Amid **238** über diese Route ist in Schema 81 gezeigt.



**Schema 81:** Retrosynthese der Amidverbindung **238** ausgehend von *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (**5**).

Ausgangspunkt der Synthese des 2-Chlormethylpyrrolidins **239** stellt der bereits zuvor dargestellte Ethylester **228** dar. Dieser sollte zunächst zum primären Alkohol **241** reduziert werden und anschließend am Stickstoff geschützt werden. Die Reduktion gelang dabei unter den in Schema 82 gezeigten Bedingungen, jedoch konnte das Diol **241** wegen der hohen Polarität nicht gereinigt werden. Da im  $^1\text{H-NMR}$  keine Verunreinigungen anderer organischer Moleküle erkennbar waren, erfolgte eine Ausbeutebestimmung mittels internen NMR-Standards. Die Ausbeute des erhaltenen Diols **241** konnte somit auf moderate 42% ermittelt werden. Bei der nachfolgenden Boc-Schützung konnte das gewünschte Produkt **240** lediglich in geringer Ausbeute von 12% erhalten werden. Zusätzlich konnte das doppelt Boc-geschützte Produkt **242** in 4%iger Ausbeute isoliert werden, wie aus Schema 82 zu erkennen ist.

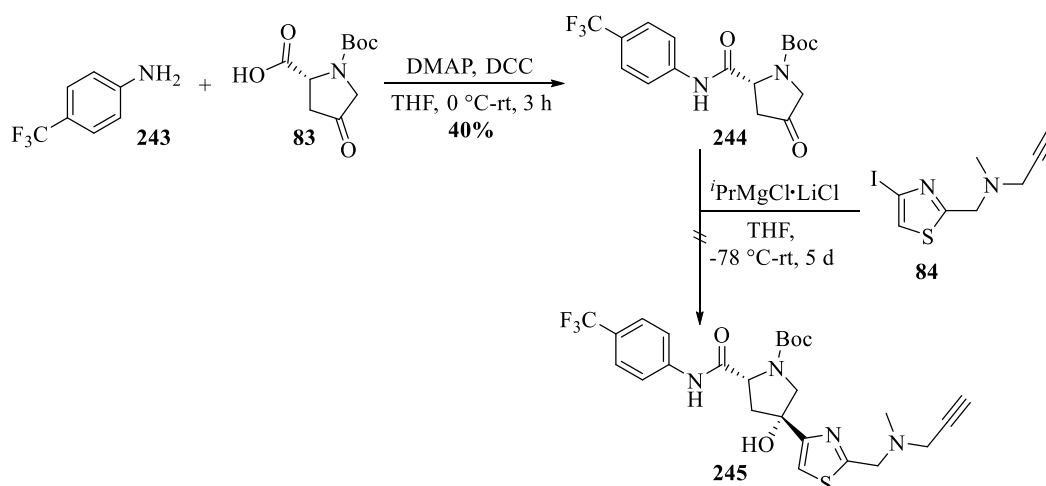


**Schema 82:** Erste Reaktionen zur Synthese des 2-Chlormethylpyrrolidins **239**.

Da zu diesem Zeitpunkt bereits erste Ansätze der Amid- bzw. Imidbildungen (siehe Kapitel 3.5.2.3) erfolgt waren, die Synthesen nur schlecht verliefen und für die Substitution der primären Hydroxygruppe nicht ausreichend Substanz von **240** vorhanden war, wurde die Synthese an dieser Stelle nicht weiterverfolgt. Von den drei aus der Retrosynthese abgeleiteten Pyrrolidon-Verbindungen **216**, **219** und **220** konnte somit nur das 2-Carboxamidopyrrolidon **216** erfolgreich mit einer Gesamtausbeute von 51% über drei Stufen dargestellt werden.

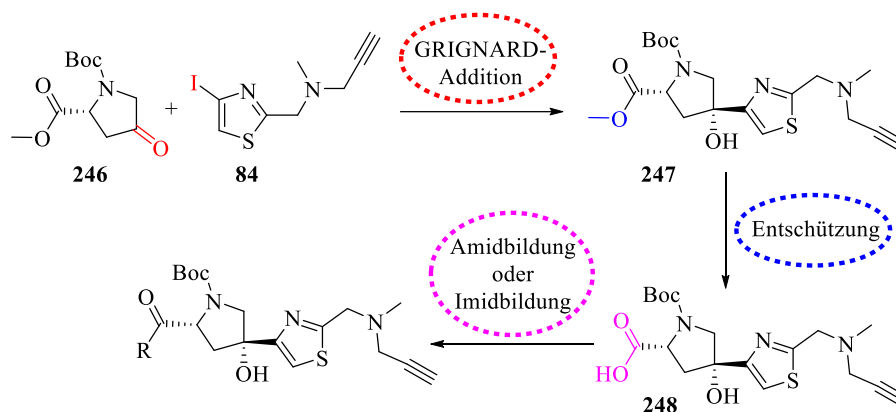
### 3.5.2.3 Ansätze zur Amid- und Imidbildung

Der große Aufwand und die teilweise schwierigen Darstellungen der Pyrrolidon-Vorläuferverbindungen konnten schon zu frühen Zeitpunkten der jeweiligen Synthesen festgestellt werden. Deshalb wurde bereits parallel zu den Vorläuferreaktionen getestet, ob auch eine Amidbildung aromatischer Amine mit der Carboxygruppe des Pyrrolidons **83** möglich ist. Im Anschluss daran sollte die GRIGNARD-Addition des Iodthiazols **84** in Anwesenheit des Ketons und des neu gebildeten Amids getestet werden, wie in Schema 83 gezeigt ist.



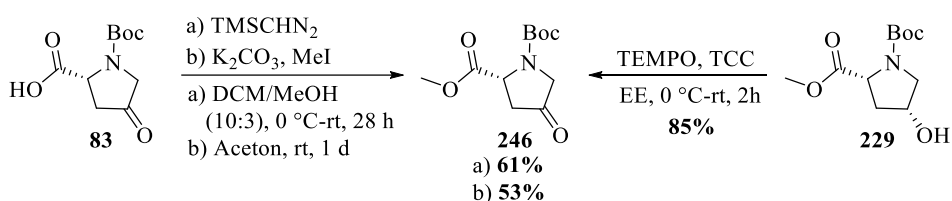
**Schema 83:** Amidsynthese der Carboxylgruppe des Pyrrolidons **83** und dem Testamin **243** mit nachfolgender GRIGNARD-Addition.

Zu Beginn wurde das Pyrrolidon **83** dafür zunächst unter den in Schema 83 gezeigten Reaktionsbedingungen in Anlehnung an eine Vorschrift von C. HUANG und H. C. XU<sup>[200]</sup> mit 4-(Trifluormethyl)anilin (**243**) zum Amid **244** in einer moderaten Ausbeute von 40% umgesetzt. Der nachfolgende Versuch der GRIGNARD-Addition führte lediglich zur Isolierung des dehalogenierten Thiazols **93** mit einer 56%igen Ausbeute. Hinweise auf die Entstehung des Additionsproduktes **245** konnten nicht gefunden werden. Zwei bei der Säulenchromatographie isolierte Fraktionen ließen jedoch auf eine Zersetzung des Amids **244** schließen. Auf Grundlage dieser Beobachtung und der Berücksichtigung der hohen Acidität des Amidprotons wurde vermutet, dass das bei der GRIGNARD-Addition gebildete metallierte Intermediat bevorzugt mit der Amidfunktionalität reagiert. Um diese Konkurrenzreaktion zu verhindern, hätte ein Schutz der Amidgruppe erfolgen können. Stattdessen wurde für weitere Reaktionen eine alternative Verknüpfungsrouten entworfen, bei der die GRIGNARD-Addition zuerst stattfinden sollte, gefolgt von einer Reaktion der Carboxygruppe. Dadurch sollte einer Zersetzung der Amidfunktionalität vorgebeugt werden. Die alternative Verknüpfungsrouten ist in Schema 84 dargestellt.



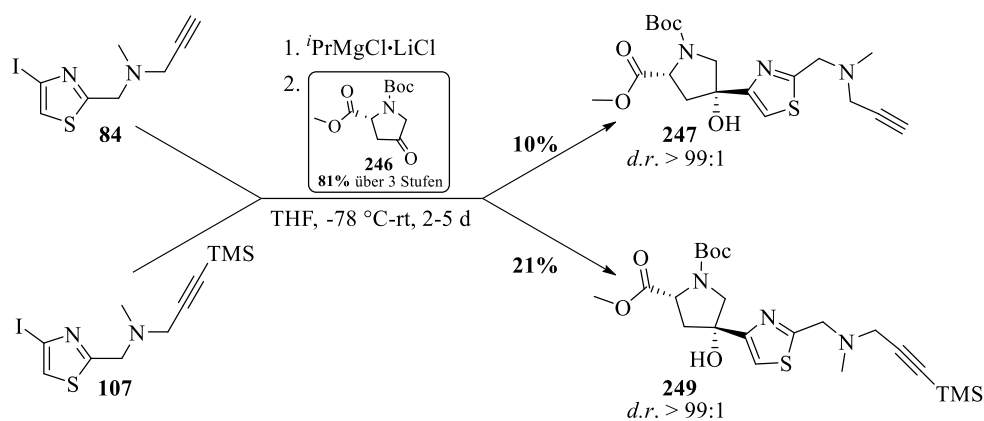
**Schema 84:** Alternative Verknüpfungsstrategie, bei der erst die GRIGNARD-Addition erfolgt und anschließend eine Reaktion an der Carboxygruppe des Pyrrolidins stattfinden soll.

Um eine Reaktion des aciden Protons der Carboxygruppe mit dem GRIGNARD-Reagenz zu verhindern, sollte diese zunächst als Ester geschützt werden. Zwar wurde auch die Reaktivität von Estern mit GRIGNARD-Reagenzien in Betracht gezogen, dennoch wurde die Addition, auch auf Grund der Kürze der Syntheseroute, getestet. Der Pyrrolidonester **246** konnte ausgehend von den in Schema 85 gezeigten und zuvor dargestellten Verbindungen erfolgreich auf zwei unterschiedlichen Wegen synthetisiert werden.



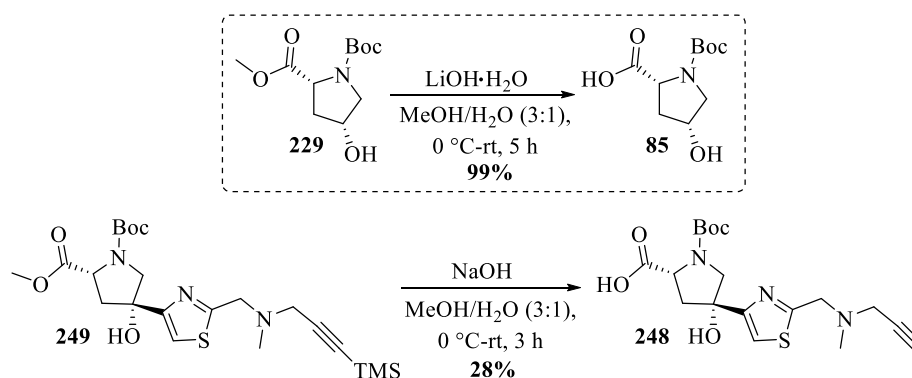
**Schema 85:** Darstellung des Pyrrolidonesters **246** ausgehend von der Säure **83** bzw. dem Alkohol **229**.

Bei der anschließenden GRIGNARD-Addition (siehe Schema 86 (oben)) konnte neben dehalogeniertem Thiazol **93** (21%) eine geringe Ausbeute des Additionsproduktes **247** von 10% erhalten werden. Eine Steigerung der Ausbeute auf 21% konnte durch die Verwendung des Iodthiazols mit dem TMS-geschützten Alkin **107** (siehe Kapitel 3.2.3.2) erzielt werden (siehe Schema 86 (unten)).



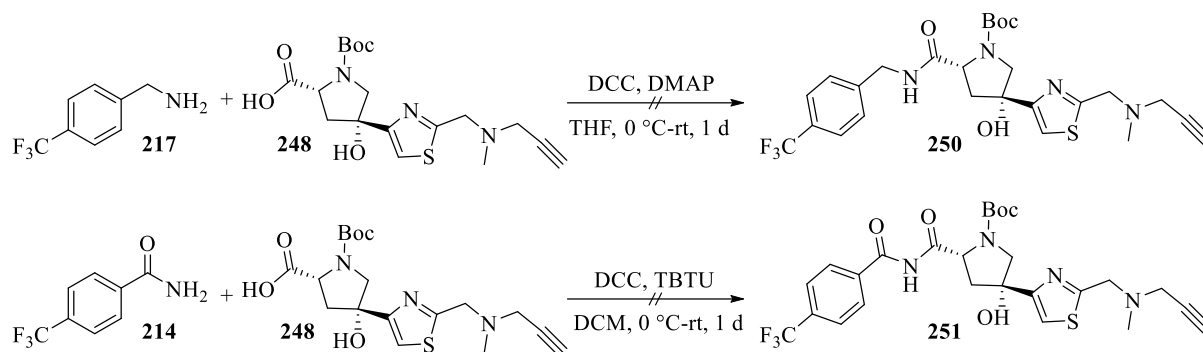
**Schema 86:** GRIGNARD-Addition der Thiazole **84** und **107** mit dem Pyrrolidonester **246**.

Wegen einer geringen Substratmenge und der geringen Ausbeute von **247** wurden die weiteren Synthesen nur mit der TMS-geschützten Verbindung **249** verfolgt. Die TMS-Schutzgruppe kann, wie in Kapitel 3.2.3.2 erläutert, generell sehr gut durch die Verwendung von TBAF wieder abgespalten werden. Die Spaltung des Esters wurde zuvor am Testsubstrat **229** getestet und führte zu der Carbonsäure **85** in 99% Ausbeute, wie in Schema 87 (oben) gezeigt ist. Bei der Spaltung des Esters von Verbindung **249** zeigte sich dann, dass auch die Schutzgruppe des Alkins unter den verwendeten Bedingungen vollständig entfernt wird. Dadurch konnte das Produkt **248** in einer moderaten Ausbeute von 28% erhalten werden, wie in Schema 87 (unten) zu sehen.



**Schema 87:** Spaltung des Esters am Testsubstrat **229** (oben) und am Additionsprodukt **249**, wobei ebenfalls die TMS-Schutzgruppe am Alkin entfernt wurde.

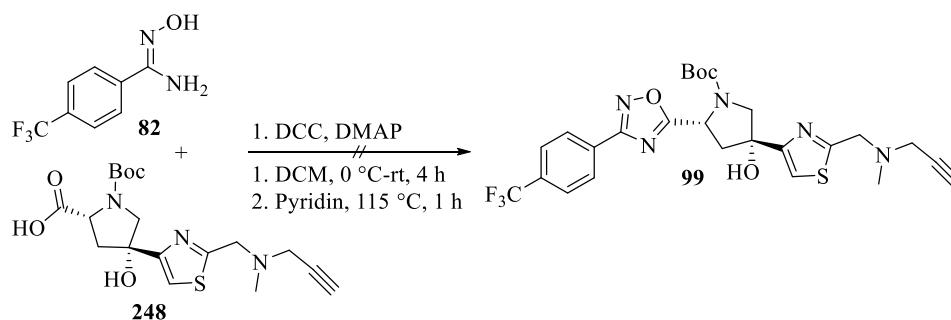
Mit dem Produkt **248** wurden anschließend die Reaktionen analog zu den vorher verwendeten Bedingungen mit dem Testsubstrat **244** (siehe Schema 83) zur Bildung des *N*-geschützten Amids **250** und der *N*-geschützten Imidoverbindung **251** durchgeführt, wie aus Schema 88 zu entnehmen.



**Schema 88:** Versuch der Amidbildung (oben) zu Amid **250** bzw. der Imidbildung zum Imid **251** (unten).

Dabei konnte bei der Reaktion zum Amid **250** in der ESI<sup>+</sup>-Messung des Rohproduktes zwar eine passende Masse identifiziert werden ( $m/z$  berechnet für Amid **250**  $[M+H]^+$ : 553.2091, gefunden: 553.2109). Bei der Säulenchromatographie konnte jedoch nur Zersetzung beobachtet werden, weshalb kein Produkt isoliert werden konnte. Bei der Reaktion zur Imidoverbindung **251** konnte kein Hinweis auf die Entstehung des Produktes **251** gefunden werden. Die erhaltenen Fraktionen der Säulenchromatographie deuteten ebenfalls auf eine vollständige Zersetzung während der Reaktion hin.

Um abschließend eine bessere Aussage über die Stabilität der Säure **248** gegenüber verschiedenen Reaktionsbedingungen treffen zu können, wurde diese nach dem gängigen Protokoll mit dem Amidoxim **82** in einer *one-pot* Reaktion umgesetzt. Dadurch sollte das schon bekannte 1,2,4-Oxadiazol **99** dargestellt werden, wie in Schema 89 gezeigt.



**Schema 89:** 1,2,4-Oxadiazolsynthese nach bisher verwendetem Protokoll mit dem Amidoxim **82** und dem Additionsprodukt **248**.

Auch bei dieser Reaktion konnte kein Produkt isoliert werden. Die sonst gut verlaufende *one-pot* Reaktion zeigte im ersten Reaktionsschritt die typische Niederschlagsbildung und wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach dem zweiten Reaktionsschritt wurde sofort säulenchromatographisch gereinigt, wobei jedoch kein Produkt isoliert werden konnte. Zudem ließen die erhaltenen Fraktionen auf starke Zersetzung der Säure **248** schließen. Damit zeigte sich bereits in der dritten Reaktion eine Instabilität der Verbindung **248**. Im Vergleich zu



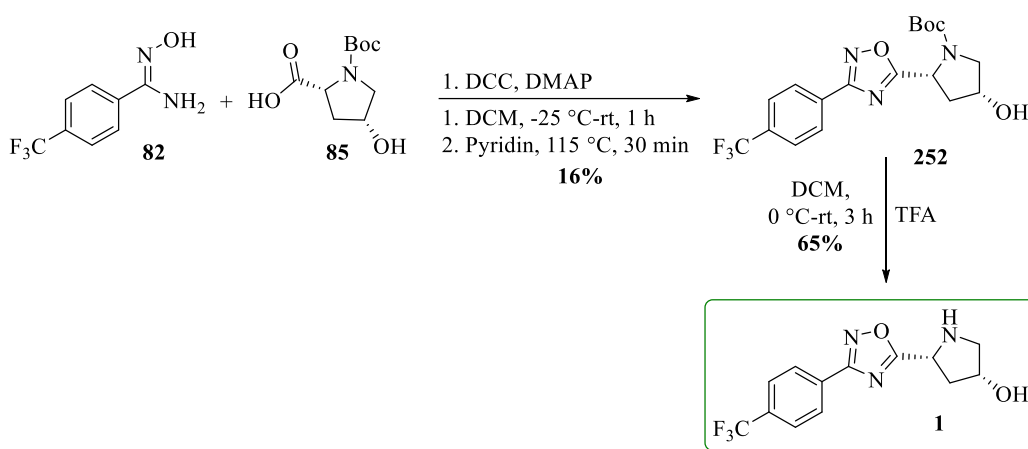
den Reaktionen vom Pyrrolidon **83** ohne Thiazolylrest, wo sowohl eine Amidbildung als auch die 1,2,4-Oxadiazolsynthese glatt verlaufen, befinden sich bei Verbindung **248** zusätzlich zur reaktiven Carboxygruppe ein tertiärer Alkohol und ein terminales Alkin im Molekül. Möglicherweise kommt es an diesen funktionellen Gruppen zu Nebenreaktionen, die zu einer vollständigen Zersetzung der Verbindung **248** führen.

Aufgrund der insgesamt unzufriedenstellenden Ergebnisse wurde von einer weiteren Verfolgung der Ansätze zur Verknüpfung der Bausteine über acyclische Amide bzw. ein Imid anstelle eines Oxadiazols an diesem Punkt der praktischen Arbeiten abgesehen.

Zudem wurden mit den Ansätzen zur Darstellung der acyclischen Derivate **201-203** die synthetischen Arbeiten für weitere Derivatstrukturen beendet. Insgesamt konnten neben der ursprünglichen Zielverbindung Floxazathin (**3**) zwölf Derivatstrukturen **114-116**, **139-142**, **143-146** und **200** erfolgreich synthetisiert werden. Diese wurden im letzten Abschnitt der Arbeit auf ihre enzymatische Aktivität getestet. Da neben der Evaluation der enzymatischen Aktivität von der ursprünglichen Zielverbindung Floxazathin (**3**) und deren zwölf Derivatstrukturen auch die einzelnen Fragmente **1** und **2** aus dem Screening auf ihre enzymatische Aktivität evaluiert werden sollten, ist im nachfolgenden Kapitel 3.6 zunächst die Synthese der Fragmente **1** und **2** aus dem Screening beschrieben, gefolgt von der Evaluation der enzymatischen Aktivität aller aufgezählten Verbindungen in Kapitel 3.7.

### 3.6 Synthese der Fragmente 1 und 2 aus dem Screening

Die Fragmente **1** und **2**, die der Zielverbindung Floxazathin (**3**) zugrunde lagen, waren zwar vor Beginn der praktischen Arbeiten in der PDB hinterlegt (Fragment **1**: 5QB7, Fragment **2**: 5QBJ).<sup>[134,135]</sup> Informationen über die Synthesen konnten jedoch nicht gefunden werden. Deshalb wurde versucht das bisher in dieser Arbeit verwendete Protokoll zur Synthese des 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidons **86** auch für die Synthese des Pyrrolidin-Fragmentes **1** zu verwenden. Neben dem Amidoxim **82** sollte dabei das *N*-geschützte 4-Hydroxypyrrolidin **85** verwendet werden. Die durchgeführten Synthesen zur Darstellung des Fragmentes **1** sind in Schema 90 zusammengefasst.

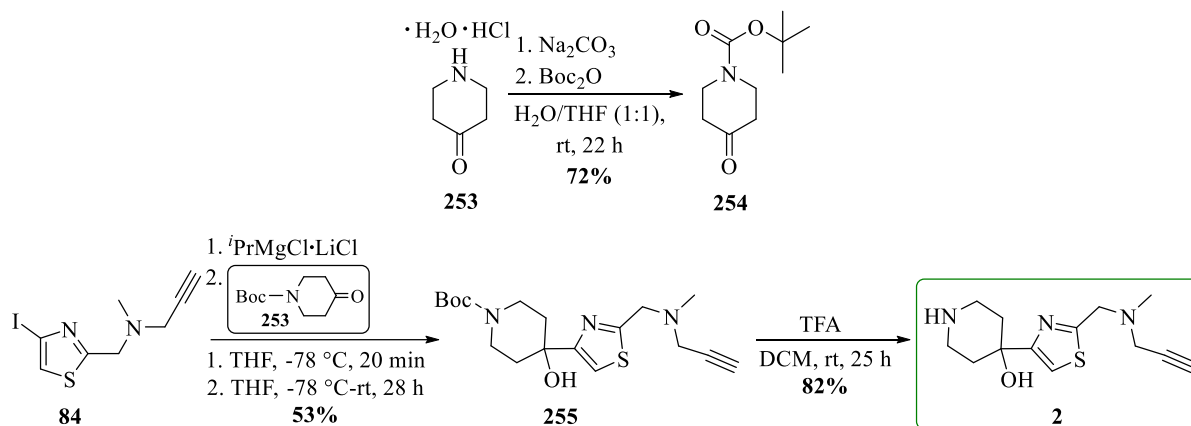


**Schema 90:** Darstellung des Pyrrolidin-Fragmentes **1** nach den bisher verwendeten Versuchsvorschriften.

Die Synthese des 1,2,4-Oxadiazols-Pyrrolidins **252** gelang nach der bisher verwendeten Versuchsvorschrift, führte jedoch nur zu einer geringen Ausbeute von 16%. Während des ersten Reaktionsschritts dieser durchgeführten *one-pot* Reaktion ließen sich im Vergleich zu den anderen, nach dieser Vorschrift durchgeführten Reaktionen bereits mehr Verbindungen dünnschichtchromatographisch beobachten. Die Beobachtung, dass mehr Nebenprodukte entstehen, bestätigte sich auch bei der säulenchromatographischen Reinigung nach der im zweiten Reaktionsschritt folgenden Cyclokondensation. Dabei konnte für die meisten erhaltenen Fraktionen keine Verbindung identifiziert werden. Neben der primären Hydroxygruppe des Oxims ist in dieser Reaktion die sekundäre Hydroxygruppe des Pyrrolidins **85** anwesend, welche unter den verwendeten Bedingungen der STEGLICH-analogen Veresterung ebenfalls reagieren kann. Dennoch konnte der Ester aus der Reaktion der primären Hydroxygruppe des Oxims und der Carboxygruppe des Pyrrolidins **85** gebildet werden, sodass das Produkt **252** nach der Cyclokondensation isoliert werden konnte. Der Ester aus der Reaktion des sekundären Alkohols mit der Carboxygruppe eines weiteren Äquivalents von Pyrrolidin **85** konnte nicht isoliert werden. Die im Anschluss folgende Entfernung der Boc-Gruppe konnte in

einer guten Ausbeute von 65% erfolgen, sodass das angestrebte Pyrrolidin-Fragment **1** für die Testung der enzymatischen Aktivität zur Verfügung stand. Insgesamt konnte es über vier lineare Syntheseschritte mit einer Ausbeute von 10% dargestellt werden.

Zur Darstellung des Piperidin-Fragmentes **2** sollte eine GRIGNARD-Addition des Iodthiazols **84** nach bisherigem Protokoll an das zuvor dargestellte *N*-Boc-Piperidin-4-on (**254**) erfolgen. Die hierzu durchgeführten Synthesen sind in Schema 91 verdeutlicht.

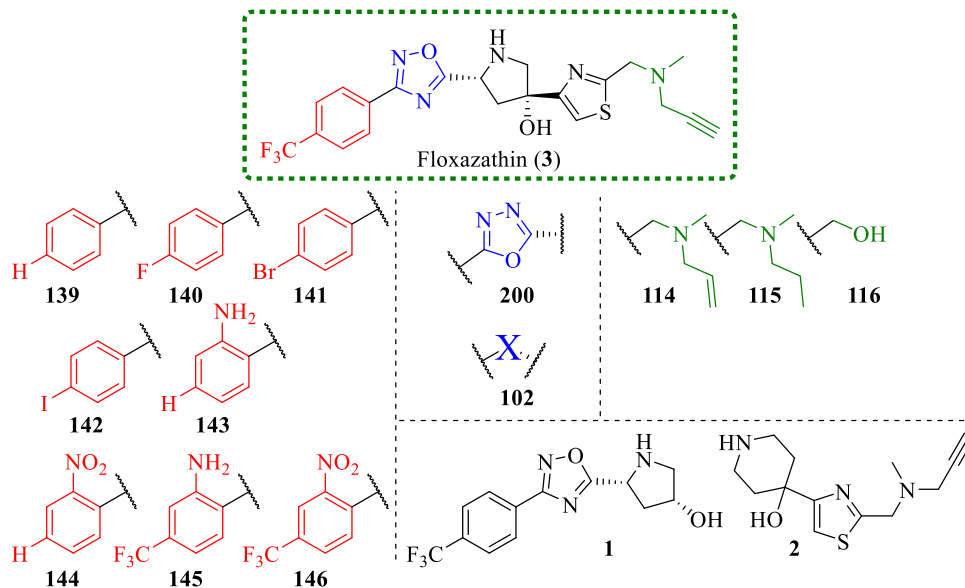


**Schema 91:** Durchgeführte Synthesen zur Darstellung des Piperidin-Fragmentes **2**.

Die Synthese zur Darstellung des *N*-Boc-Piperidin-4-ons (**254**) erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von G. DE NANTEUIL *et al.*<sup>[201]</sup> Das Produkt **254** ließ sich in einer Ausbeute von 72% isolieren und wurde in einer anschließenden GRIGNARD-Addition mit dem Thiazol **84** umgesetzt. Dabei konnte ebenfalls der bereits zuvor beobachtete stagnierende Umsatz im Laufe der Zeit beobachtet werden, sodass die Reaktion mit unvollständigem Umsatz beendet wurde. Das GRIGNARD-Additionsprodukt konnte nach der säulenchromatographischen Reinigung dennoch in guter Ausbeute von 53% isoliert werden. Die nachfolgende *N*-Entschützung verlief in guter Ausbeute von 82%, sodass auch das Piperidin-Fragment **2** mit einer Ausbeute von 17% über sechs lineare Syntheseschritte erfolgreich dargestellt und für die Testung der enzymatischen Aktivität verwendet werden konnte.

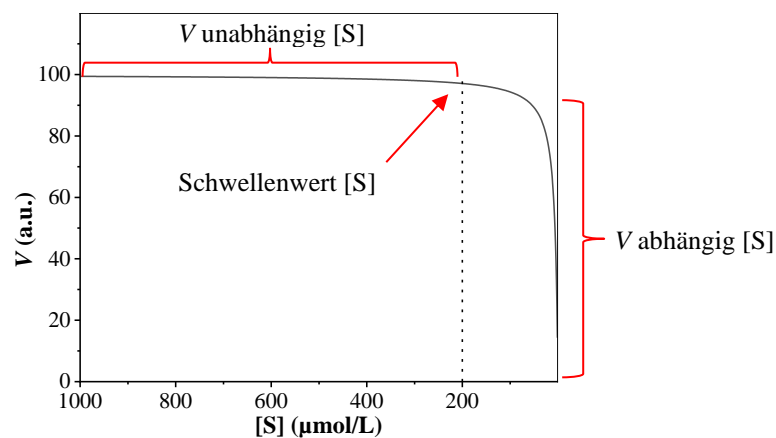
### 3.7 Evaluation der enzymatischen Aktivität

Im letzten Teil dieser Arbeit sollte die Testung der enzymatischen Aktivität der synthetisierten Verbindungen erfolgen. Die dabei erzielten Ergebnisse sollten abschließend mit den Ergebnissen aus den Kristallstrukturanalysen in Relation gebracht werden. In Abbildung 44 sind zur Übersicht alle zu testenden Verbindungen zusammengefasst.



**Abbildung 44:** Übersicht aller auf ihre enzymatische Aktivität zu evaluierenden Verbindungen.

Generell kann die enzymatische Aktivität durch Bioassays bestimmt werden. Dabei wird die anfängliche Umsatzrate eines Substrats in Konkurrenz mit einem Inhibitor um das aktive Zentrum eines Enzyms verfolgt. Die bekannteste Beschreibung zur Reaktionskinetik von Enzymen verläuft nach Aussagen von L. MICHALIS und M. MENTEN und ist anschaulich in Abbildung 45 dargestellt.<sup>[9,202]</sup>



**Abbildung 45:** Reaktionskinetik nach L. MICHALIS und M. MENTEN zur Verdeutlichung der linearen Abhängigkeit von der Umsatzrate  $V$  und der Substratkonzentration  $[S]$  bis zu einem bestimmten Schwellenwert von  $[S]$ . Dieser liegt hier beispielhaft bei  $200 \mu\text{M}$ .<sup>[9,202]</sup>

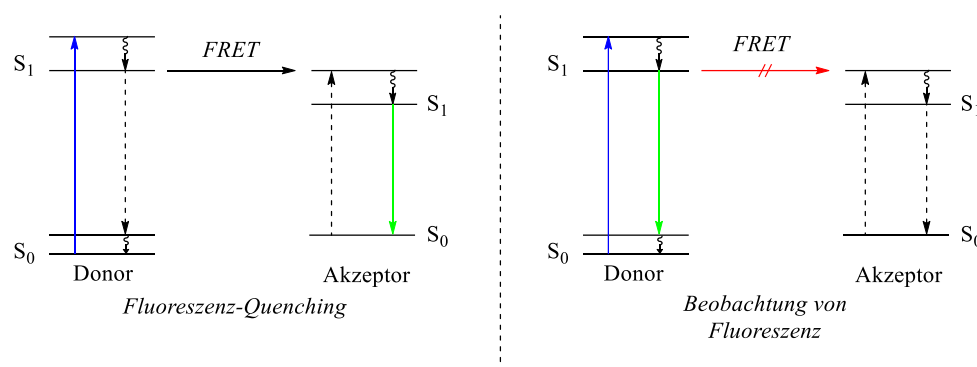
Die Beschreibung der Reaktionskinetik nach L. MICHALIS und M. MENTEN besagt, dass die Umsatzrate  $V$  bis zu einem bestimmten Schwellenwert einer Substratkonzentration  $[S]$ , welcher für jedes Enzym charakteristisch ist, unabhängig von  $[S]$  ist. Fällt  $[S]$  aufgrund der Umsetzung durch das Enzym jedoch unterhalb von diesen Schwellenwert, ergibt sich eine lineare Abhängigkeit zwischen  $V$  und  $[S]$ . Sobald  $[S]$  unterhalb des Schwellenwertes liegt, kann keine Aussage mehr über den Einfluss von bspw. einem potenziellen Inhibitor getroffen werden, da ab diesem Zeitpunkt auch die Substratkonzentration den Umsatz beeinflusst. Vorausgesetzt ist dabei eine konstante Enzymkonzentration  $[E]$ . Aus dieser Beobachtung ergibt sich, dass der Einfluss eines Inhibitors auf die Aktivität eines Enzyms nur zu Beginn einer enzymatischen Reaktion aussagekräftig bestimmt werden kann.<sup>[9,202]</sup>

Eine Möglichkeit zur Bestimmung der Umsatzrate eines Substrats basiert auf Fluoreszenz. Fluoreszenzmessverfahren sind generell als Messverfahren mit sehr hoher Empfindlichkeit bekannt, bei denen bereits geringe Änderungen des Diffusionsverhaltens eines fluoreszierenden Substrats in Lösung als Fluoreszenz wahrgenommen werden können. Die Änderungen sind dabei gut messbar und quantifizierbar, setzen jedoch das Vorhandensein eines fluoreszierenden Substrats voraus.<sup>[1]</sup>

Für die Evaluation der enzymatischen Aktivität der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen wurde ein fluoreszenzbasierter Assay nach G. KLEBE und A. K. H. HIRSCH *et al.* durchgeführt.<sup>[16,203]</sup> Mit diesem Assay wurden bereits verschiedene potenzielle Endothiapepsin-Inhibitoren evaluiert.<sup>[16,17,100,203,204]</sup>

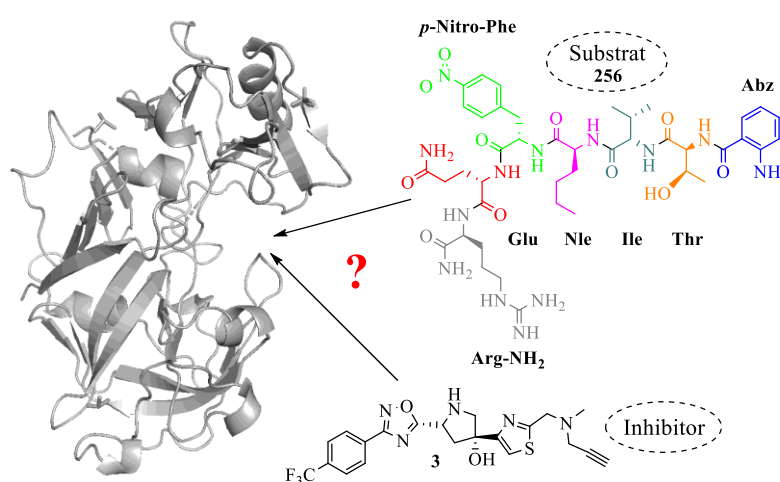
Das Grundprinzip des durchgeführten fluoreszenzbasierten Assays basiert zusätzlich auf dem FÖRSTER-Resonanzenergietransfer (FRET). Bei diesem erfolgt ein Resonanzenergietransfer zwischen einem Donor- und einem Akzeptor-Fluorophor, die sich in räumlicher Nähe (nicht mehr als ca. 50 Å Abstand)<sup>[1]</sup> zueinander befinden und kovalent verbunden sind. Dabei kommt es nach Anregung des Donor-Fluorophors zur strahlungsfreien Energieübertragung auf das Akzeptor-Fluorophor, in dem die Relaxation bei einer anderen Wellenlänge stattfindet. Voraussetzung ist dabei, dass das Emissionsspektrum des Donors mit dem Absorptionsspektrum des Akzeptors überlappt. Tritt diese strahlungsfreie Energieübertragung von Donor auf Akzeptor ein, wird auch von *Fluoreszenz-Quenching* gesprochen, und es wird keine Fluoreszenz bei der gewählten Emissionswellenlänge des Donors sichtbar. Kommt es hingegen zur räumlichen Trennung von Donor und Akzeptor, sodass kein Energietransfer mehr stattfinden kann, erfolgt die Relaxation ebenfalls im Donor und wird dabei in Form von

Fluoreszenz bei der gewählten Emissionswellenlänge des Donors detektiert. In Abbildung 46 ist die Beschreibung des FRETs anschaulich dargestellt.<sup>[1,205]</sup>



**Abbildung 46:** Veranschaulichung des FRETs. Durch räumliche Nähe kommt es zum *Fluoreszenz-Quenching* (links) und es kann keine Fluoreszenz bei der gewählten Emissionswellenlänge des Donors beobachtet werden. Bei räumlicher Trennung kann es nicht mehr zum FRET kommen, sodass Fluoreszenz sichtbar wird (rechts).<sup>[205]</sup>

Bei dem durchgeführten Assay wurde ein modifiziertes Hexapeptid als Substrat **256** verwendet (Abz-Thr-Ile-Nle-*p*-nitro-Phe-Gln-NH<sub>2</sub>), in welches 2-Aminobenzoessäure als fluoreszierender Donor und *para*-Nitrophenylalanin als fluoreszierender Akzeptor eingebaut wurden. Es ist ursprünglich als HIV-Protease-Substrat entwickelt worden,<sup>[206]</sup> wird aber auch von Endothiapepsin gespalten. Die Spaltstelle befindet sich dabei zwischen Nle und *p*-NO<sub>2</sub>-Phe. Je nachdem wie gut ein potenzieller Inhibitor im aktiven Zentrum bindet, kommt es zu einer verstärkten (schlechte Inhibierung) oder verringerten (gute Inhibierung) Substratspaltung, was über die Fluoreszenz beobachtet werden kann. Die beschriebene Konkurrenz ist in Abbildung 47 veranschaulicht.

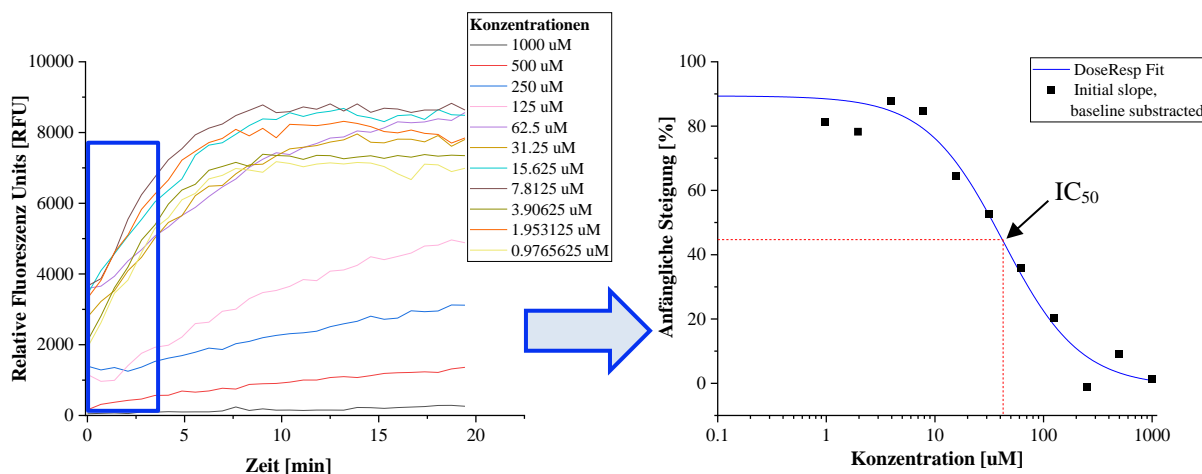


**Abbildung 47:** Graphische Veranschaulichung der Konkurrenz vom Substrat **256** und einem potenziellen Inhibitor (Floxazathin (**3**)) um das aktive Zentrum von Endothiapepsin.

Bei den Messungen selbst wurde der IC<sub>50</sub>-Wert aller Verbindungen ermittelt. Dieser beschreibt die halbmaximale inhibitorische Konzentration und ist somit ein Maß für die Affinität. Er gibt

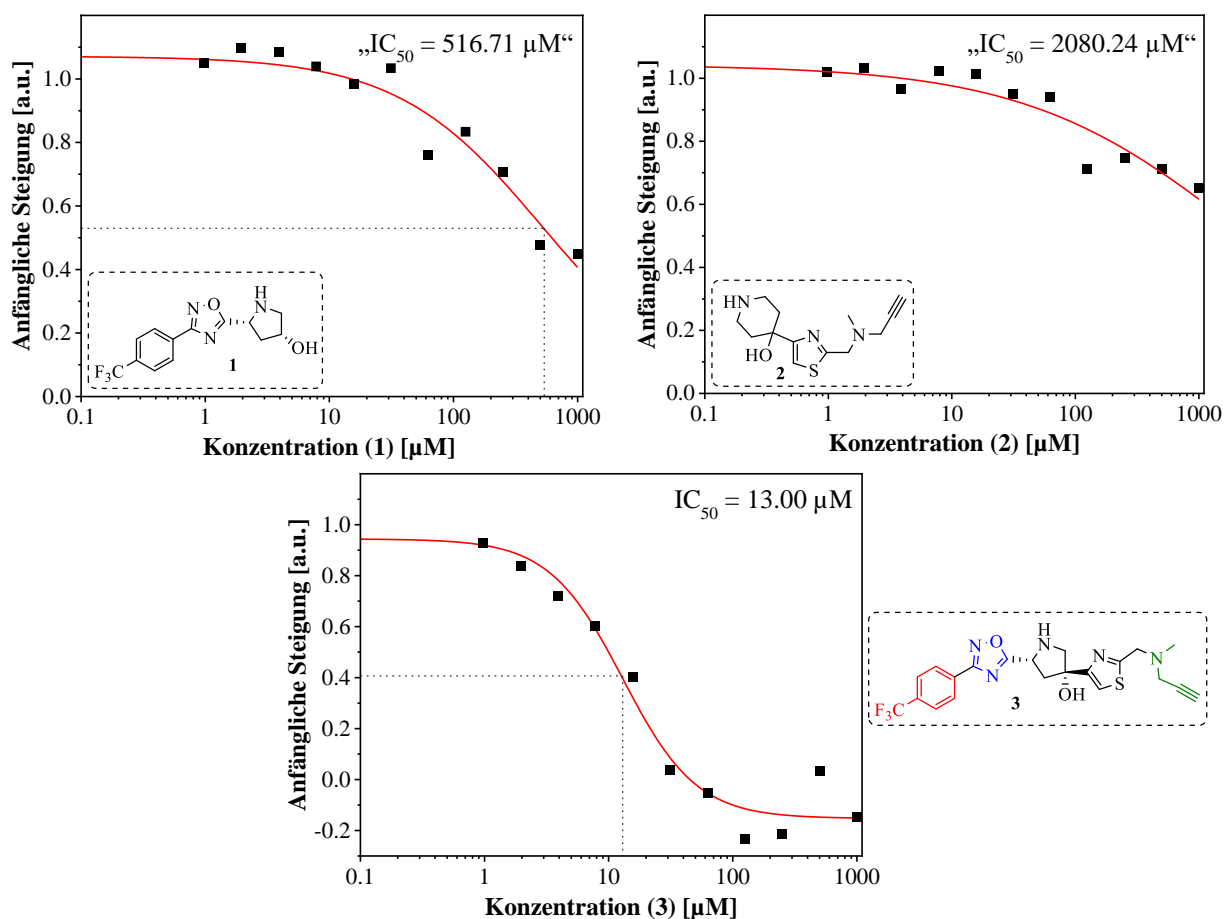
an, bei welcher Inhibitorkonzentration 50% des Enzyms gehemmt wird, was gleichermaßen einer Verminderung der Steigerung des Fluoreszenzsignals (und damit des Substratumsatzes) um 50% entspricht. Zur Messung von  $IC_{50}$ -Werten werden grundsätzlich mehrere unterschiedliche Inhibitorkonzentrationen in Mehrfachbestimmungen vermessen.

In dieser Arbeit erfolgten jeweils Dreifachbestimmungen von jeder Konzentration. Ausnahmen hiervon sind an den jeweiligen Graphen vermerkt. Bei den erhobenen Daten wurde in Abhängigkeit der Zeit die relative Fluoreszenz für die verschiedenen Konzentrationen vermessen, und daraus wurden die anfänglichen Steigungen (Begründung siehe Abbildung 45) jeder Konzentration ermittelt. Die ermittelten Steigungen wurden anschließend gegen die logarithmische Inhibitorkonzentration aufgetragen, wobei sich der typische sigmoidale Kurvenverlauf einstellen sollte. Der Wendepunkt dieser Kurven entspricht dem  $IC_{50}$ -Wert. Das allgemeine Vorgehen ist in Abbildung 48 verdeutlicht und kann ausführlich in Kapitel 5.6.2 nachgelesen werden. Die den Graphen zugrunde liegenden Parameter sind aus Übersichtsgründen ebenfalls in Kapitel 5.6.2 tabellarisch aufgeführt und nicht in den nachfolgenden Graphen direkt gezeigt.



**Abbildung 48:** Veranschaulichung der  $IC_{50}$ -Bestimmung. Nach Ermittlung der initialen Steigungen (links) werden diese gegen die logarithmierte Inhibitorkonzentration aufgetragen (rechts), sodass aus dem Wendepunkt der sigmoidalen Kurve der  $IC_{50}$ -Wert ermittelt werden kann.

Zu Beginn der Tests der enzymatischen Aktivität wurden die beiden Fragmente **1** und **2** und die *gemergede* Zielverbindung Floxazathin (**3**) getestet. Für Floxazathin (**3**) wurde basierend auf den Kristallstrukturdaten eine gute Affinität und Inhibierung erwartet, für die Fragmente **1** und **2** wurde hingegen eine deutlich geringere enzymatische Aktivität erwartet. Zudem sollte durch diese Tests ein Vergleich der Affinitäten von den Fragmenten **1** und **2** und Floxazathin (**3**) stattfinden können. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 49 graphisch dargestellt.



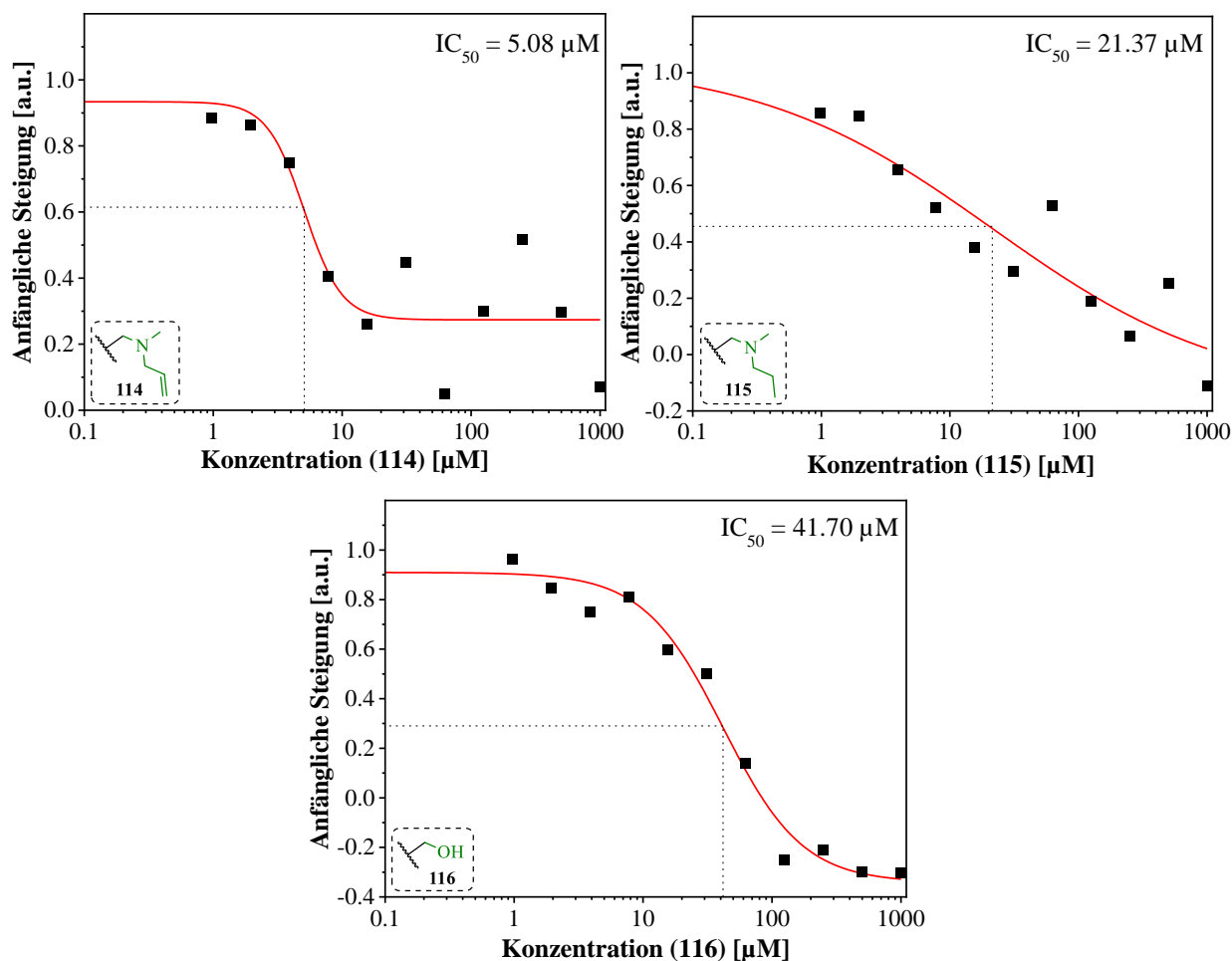
**Abbildung 49:** Erzielte Ergebnisse der biologischen Tests für die Fragmente **1** und **2** und die *gemergede* Zielverbindung Floxazathin (**3**). Die angegebenen  $IC_{50}$ -Werte entsprechen den Werten am Wendepunkt.

Wie aus den Graphen zu entnehmen ist, zeigten sich für die beiden Fragmente **1** und **2** und für die *gemergede* Zielverbindung Floxazathin (**3**) sehr unterschiedliche  $IC_{50}$ -Werte. Für die beiden Fragmente konnten die  $IC_{50}$ -Werte nur unter Vorbehalt angegeben werden, da sich der typische sigmoidale Kurvenverlauf bei den vermessenen Konzentrationen nicht vollständig einstellte und der Wendepunkt somit nur auf den Berechnungen beruhte. Die  $IC_{50}$ -Werte für die einzelnen Fragmente lagen mit  $516.71 \mu\text{M}$  und  $2080.24 \mu\text{M}$  sehr hoch, was die schlechte Inhibierung durch die einzelnen Fragmente unterstreicht. Für das 1,2,4-Oxadiazol-Fragment **1** konnte dabei noch ein wesentlich niedrigerer  $IC_{50}$ -Wert als für das Piperidin-Fragment **2** festgestellt werden. Dadurch konnte die Wichtigkeit des 1,2,4-Oxadiazolmotivs bereits auf der Fragmentebene festgestellt werden. Der  $IC_{50}$ -Wert von  $13.00 \mu\text{M}$  für Floxazathin (**3**) zeigte, dass durch das *merging* der Fragmente eine gut inhibierende, sehr affine Verbindung für Endothiapepsin hergestellt werden konnte. Dies steht ebenfalls in Einklang mit den Ergebnissen der Kristallstrukturanalyse. Durch die Verknüpfung der Fragmente konnte im direkten Vergleich von Floxazathin (**3**) zu den einzelnen Fragmenten eine Affinitätssteigerung um das 39-fache (im Vergleich zu Fragment **1**) bzw. sogar um das 160-fache (im Vergleich zu Fragment **2**) erzielt werden. Dieser direkte Vergleich zeigt somit ein sehr gutes Anwendungsbeispiel für das



fragmentbasierte Design von Inhibitoren und verdeutlicht einmal mehr, wie gut inhibierende Verbindungen aus kleinen Fragmenten entstehen können.

Im Anschluss wurden ebenfalls die Derivate getestet. Die Ergebnisse sind nachfolgend in Analogie zu den Kapiteln 3.3-3.5 zusammengefasst und in Relation zu Floxazathin (**3**) diskutiert. In der nachfolgenden Abbildung 50 sind die Ergebnisse aus den Tests der enzymatischen Aktivitäten mit den Variationen am Thiazol-Gerüst **114-116** gezeigt.

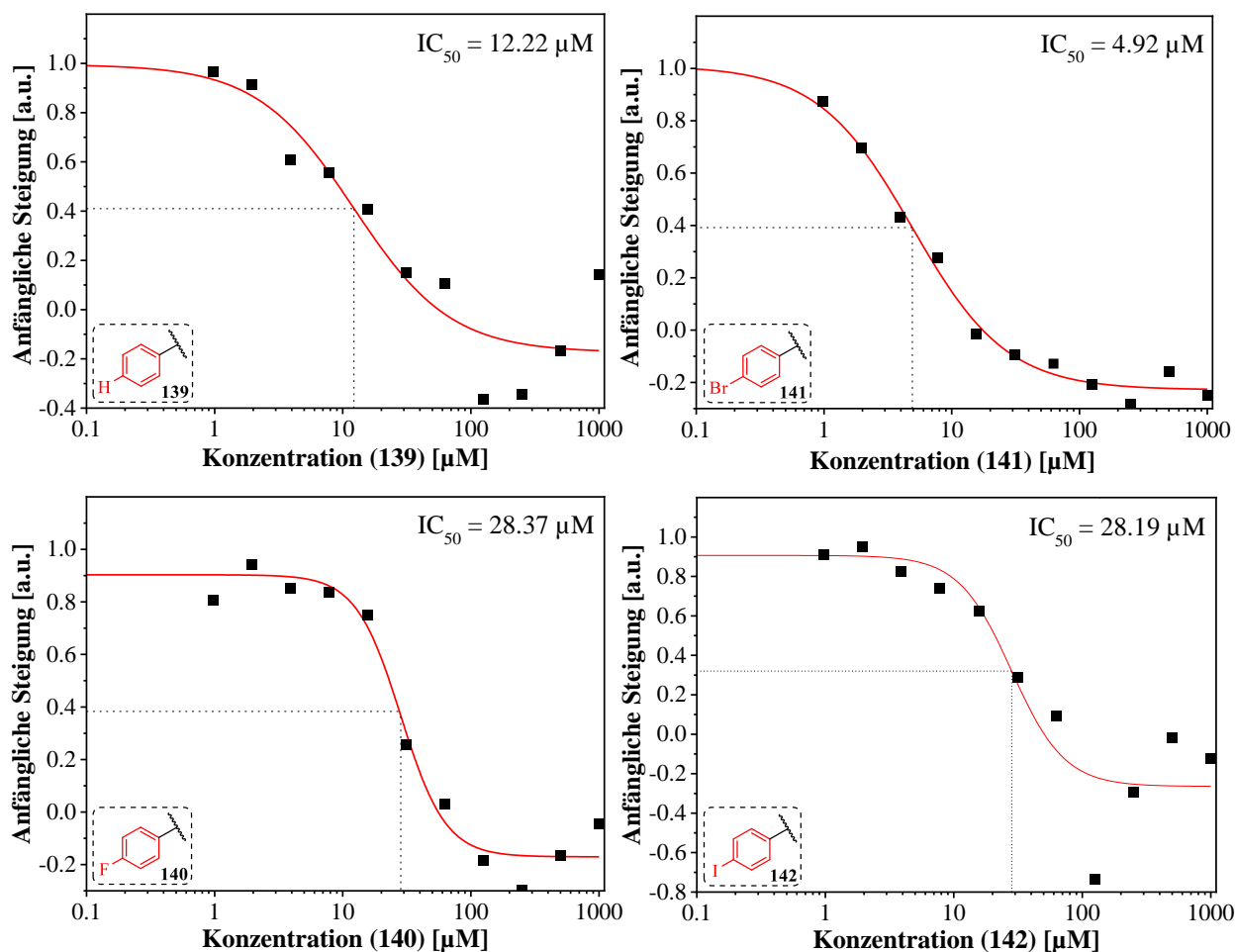


**Abbildung 50:** Erzielte Ergebnisse der biologischen Tests für die Derivate **114**, **115** und **116**. Bei der Messung vom *N*-Propylderivat **115** konnte aufgrund geringer Produktmenge nur eine Zweifachbestimmung erfolgen.

Für die Thiazol-Derivate **114**, **115** und **116** konnten  $IC_{50}$ -Werte zwischen  $5.08 \mu\text{M}$  und  $41.70 \mu\text{M}$  ermittelt werden. Dabei konnte für die *N*-Propenylverbindung **114** ein noch niedrigerer  $IC_{50}$ -Wert ( $5.08 \mu\text{M}$ ) als für Floxazathin (**3**) ( $13.00 \mu\text{M}$ ) erhalten werden. Interessanterweise zeigte die Analyse der Kristallstruktur, dass sich hier für den allylischen Rest jene Orientierung ergab, die im ursprünglichen Strukturvorschlag beim *merging* der Fragmente für die Orientierung des Propargylrestes angenommen wurde (siehe Kapitel 2, Abbildung 20). Beim ursprünglichen Strukturvorschlag zeigte der Propargylrest in die entgegengesetzte Richtung von Gly80 und ging keine HBB mit diesem ein. Für die *gemergede* Verbindung **115**

mit dem noch etwas flexibleren Propylrest ergab sich hingegen ein höherer  $IC_{50}$ -Wert von  $21.37 \mu\text{M}$ , und für das Thiazolylmethylalkohol-Derivat **116** ein noch höherer  $IC_{50}$ -Wert von  $41.70 \mu\text{M}$ . Aus diesen Ergebnissen wurde gefolgert, dass die Interaktion des H-Atoms vom Alkin mit Gly80 die enzymatische Aktivität nicht zwangsläufig positiv beeinflusst, und bei richtiger Orientierung des aliphatischen Restes ohne diese Interaktion eine noch bessere Inhibierung erzielt werden kann. Bei zu hoher Flexibilität des C-2-Thiazolsubstituenten kommt es hingegen zu einer Verringerung der enzymatischen Aktivität, sodass der Flexibilität des C-2-Thiazolsubstituenten grundsätzlich ein größerer Einfluss auf die enzymatische Aktivität zuzuschreiben ist. Wird stattdessen das tertiäre Amin durch den Hydroxymethylrest ersetzt, wird die enzymatische Aktivität fast um das Doppelte (im Vergleich zur *N*-Propylverbindung **115**) bzw. um das 3.2-fache (im Vergleich zu Floxazathin (**3**)) verringert, sodass dem Amin selbst ebenfalls ein positiver Einfluss auf die enzymatische Aktivität zugeschrieben werden kann. Das zweite beobachtete *binding event* der *N*-Propylverbindung **115** scheint bei diesen Ergebnissen keinen affinitätssteigernden Einfluss auf die enzymatische Aktivität zu nehmen und daher nicht relevant für die enzymatische Aktivität zu sein.

In Analogie zu den Derivatisierungen am Phenyl-Gerüst sind die erhaltenen enzymatischen Aktivitäten der *para*-Phenyl-substituierten Derivate **139-142** (Kapitel 3.4.1) in Abbildung 51 gezeigt und die Ergebnisse für die *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Phenyl-Derivate **143-146** (Kapitel 3.4.2) in Abbildung 52. Dabei wurde auch das *para*-I-substituierte Derivat **142** getestet, für das keine Kristallstrukturdaten mit EP erhalten werden konnte.



**Abbildung 51:** Ergebnisse der Tests der enzymatischen Aktivität für die Phenyl-Derivate **139**, **140**, **141** und **142**. Bei der Messung des *para*-unsubstituierten Derivats **139** konnte wegen geringer Produktmenge nur eine Zweifachbestimmung erfolgen.

Bei den *para*-substituierten Derivaten konnten  $IC_{50}$ -Werte zwischen 4.92  $\mu\text{M}$  und 28.37  $\mu\text{M}$  erhalten werden. Beim Vergleich von Floxazathin (**3**) mit dem *para*-unsubstituierten Derivat **139** zeigte sich eine minimale Verbesserung der enzymatischen Aktivität (13.00  $\mu\text{M}$  zu 12.22  $\mu\text{M}$ ), sodass die schwache HBB-Interaktion zwischen einem Fluoratom der  $\text{F}_3\text{C}$ -Gruppe und Ser83, anders als durch die Beobachtungen der Kristallstrukturanalyse angenommen, als nicht relevant für die enzymatische Affinität anzunehmen ist. Das *para*-F-substituierte Derivat **140** zeigte mit einem höheren  $IC_{50}$ -Wert von 28.37  $\mu\text{M}$  eine geringere inhibierende Wirkung. In diesem Falle scheint Fluor zu keiner Aktivitätssteigerung beizutragen und führt sogar noch zu einer Verringerung der Affinität. Es stellt somit in diesem Fall kein geeignetes Bioisoster für den H-Substituenten dar und auch keine bessere Alternative zur  $\text{F}_3\text{C}$ -Gruppe. Auch die hier beobachteten zweiten *binding events* der Kristallstrukturmessungen scheinen keine affinitätssteigernden Einflüsse zu haben. Für die beiden anderen *para*-substituierten Halogenderivate **141** und **142** zeigte sich im Falle des I-Substituenten ein ähnlich hoher  $IC_{50}$ -Wert, wie mit dem *para*-F-Substituenten von 28.19  $\mu\text{M}$ , was (abgesehen von der

geringeren inhibierenden Wirkung im Vergleich zu Floxazathin (**3**) entgegen dem durch die Kristallstrukturanalyse erwarteten Ergebnis steht. Der Iod-Substituent scheint somit nicht zwangsläufig eine negative Auswirkung auf die Affinität der Verbindung **142** zu haben und ähnlich wie das *para*-F-Derivat **140** EP zu inhibieren. Warum trotzdem keine Kristallstrukturdaten für Verbindung **142** erhoben werden konnten, ist möglicherweise auf kleinste Verunreinigungen beim *soaking* zurückzuführen, und sollte in weiterführenden Arbeiten eingehender untersucht werden. Für das *para*-Br-substituierte Derivat **141** konnte hingegen der bisher niedrigste  $IC_{50}$ -Wert mit  $4.92 \mu\text{M}$  erzielt werden, was mit der Möglichkeit zur Ausbildung von *halogen bonds* und einer dadurch zunehmenden Affinität begründet werden kann. Außerdem legt dieses Ergebnis beim Vergleich zu den Verbindungen **142** und **140** nahe, dass die Größe des Halogen-Substituenten einen wesentlichen Einfluss auf die Affinität hat. Eine spezifische Interaktion des Br-Substituenten mit einer bestimmten Aminosäure des aktiven Zentrums konnte in der Kristallstruktur jedoch nicht beobachtet werden.

Nachfolgend sind in Abbildung 52 die enzymatischen Aktivitäten der *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Derivate **143-146** gezeigt.

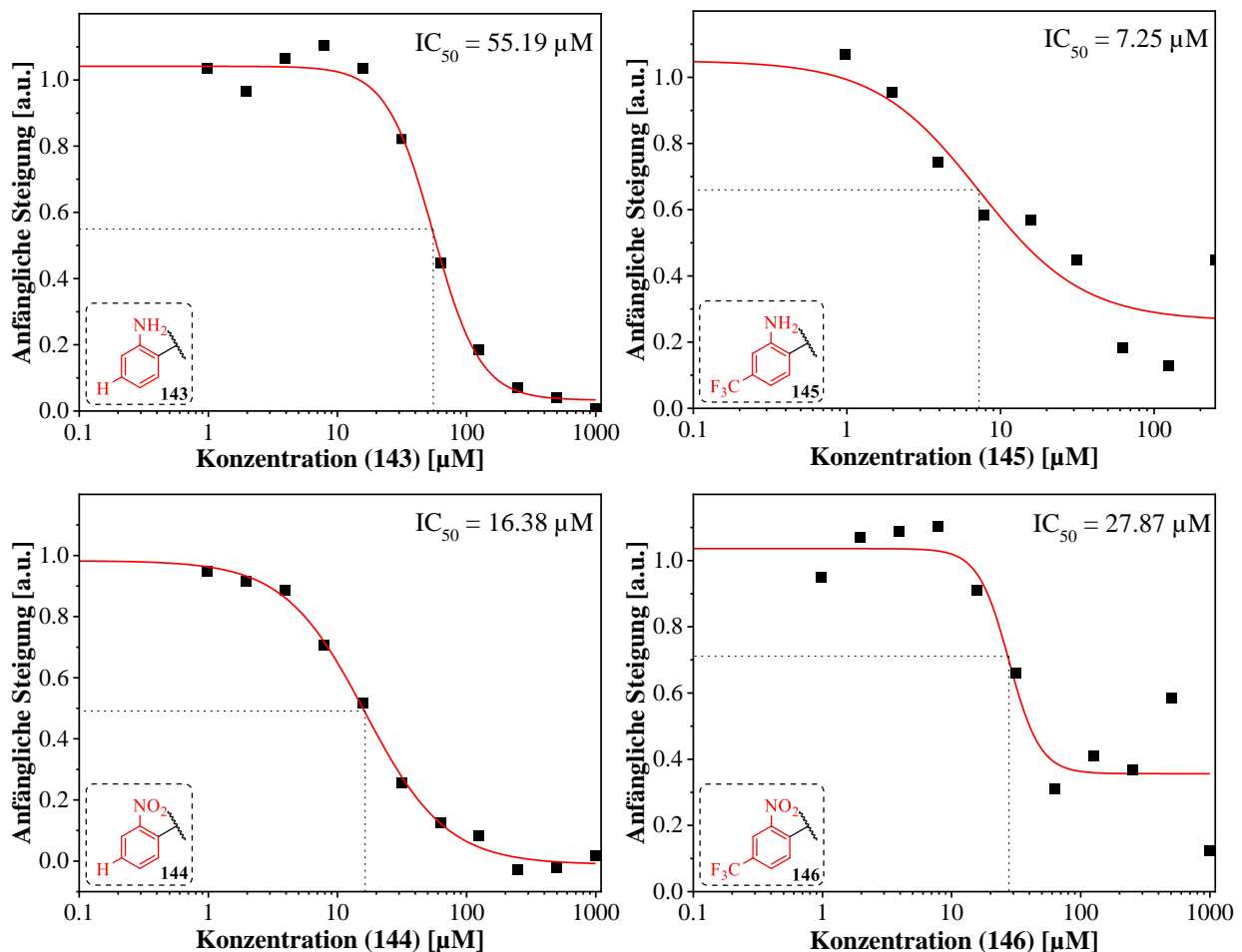
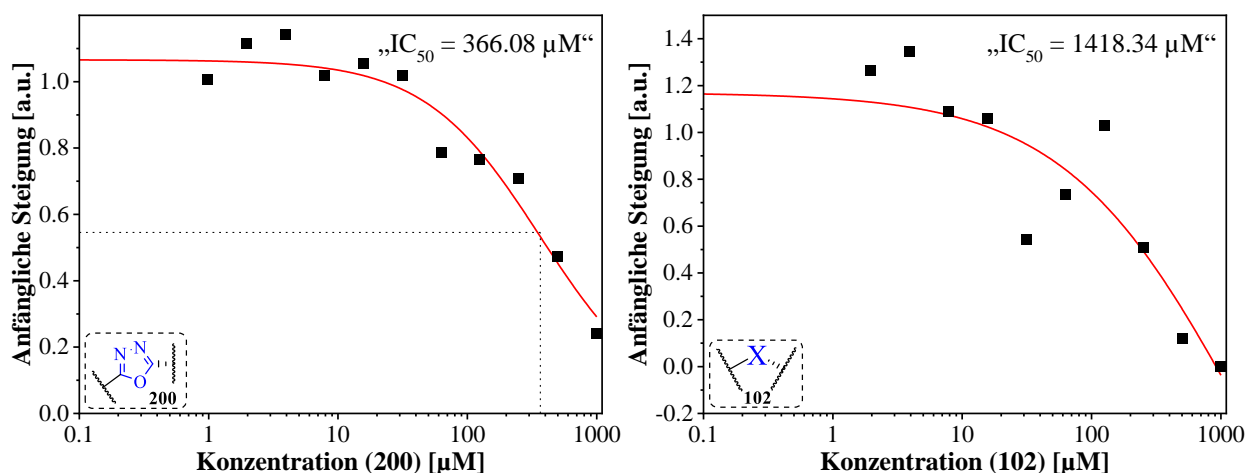


Abbildung 52: Ergebnisse der biologischen Tests für die Derivate **143**, **144**, **145** und **146**. Bei der Messung von Derivat **146** konnte wegen geringer Produktmenge nur eine Zweifachbestimmung erfolgen.

Für die *ortho*-(*para*)-(di)substituierten Derivatstrukturen konnten  $IC_{50}$ -Werte zwischen  $7.25 \mu\text{M}$  und  $55.19 \mu\text{M}$  erhalten werden. Dabei zeigte sich für die *ortho*- $\text{NH}_2$ -Verbindung **143** der höchste  $IC_{50}$ -Wert mit  $55.19 \mu\text{M}$ , trotz der vermuteten Interaktion des  $\text{NH}_2$ -Restes mit Ser83. Jedoch zeigte sich für die disubstituierte  $\text{NH}_2$ -Verbindung **145** eine deutliche Affinitätszunahme mit einem niedrigen  $IC_{50}$ -Wert von  $7.25 \mu\text{M}$ . Hierbei muss erwähnt werden, dass durch erhaltene Messwerte außerhalb des Gerätebereichs nur die Inhibitorkonzentrationen ab  $250 \mu\text{M}$  abwärts ausgewertet werden konnten. Durch den sichtbar frühen Abfall der sigmoidalen Kurve wurde jedoch davon ausgegangen, dass das Ergebnis des  $IC_{50}$ -Wertes dadurch nicht maßgeblich beeinflusst wird. Das Ergebnis aus der Messung von Verbindung **145** führte zu der Annahme, dass sich die Interaktionen von Ser83 zu einem Fluoratom der  $\text{F}_3\text{C}$ -Gruppe und zum  $\text{NH}_2$ -Rest gegenseitig positiv beeinflussen können und es dadurch zu einer Affinitätszunahme kommen kann. Für die *ortho*- $\text{NO}_2$ -Verbindung **144** bzw. die disubstituierte  $\text{NO}_2$ -Verbindung **146** wurden  $IC_{50}$ -Werte von  $16.38 \mu\text{M}$  und  $27.87 \mu\text{M}$  erhalten. Der zusätzliche  $\text{NO}_2$ -Substituent scheint die enzymatische Aktivität, sowohl im Vergleich zu Floxazathin (**3**) als auch zum *para*-unsubstituierten Derivat **139** zu verschlechtern, was möglicherweise durch die hohe und eher abstoßend wirkende Elektronendichte begründet werden kann.

Als letzte Verbindungen wurden das 1,3,4-Oxadiazol-Derivat **200** und die zersetzte 1,2,4-Oxadiazol-Verbindung **102** (siehe Kapitel 3.2.3.1) auf ihre enzymatische Aktivität getestet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 53 zusammengefasst.



**Abbildung 53:** Ergebnisse der biologischen Tests für die Derivate **102** und **200**. Die angegebenen  $IC_{50}$ -Werte entsprechen den Werten am Wendepunkt. Bei der Messung von der zersetzte 1,2,4-Oxadiazol-Verbindung **102** konnte wegen geringer Produktmenge nur eine Einfachbestimmung erfolgen, die einer groben Orientierung dienen sollte.

Für das 1,3,4-Oxadiazol-Derivat **200** und die zersetzte 1,2,4-Oxadiazol-Verbindung **102** ergaben sich ebenfalls so hohe  $IC_{50}$ -Werte, dass nur die berechneten  $IC_{50}$ -Werte angegeben werden konnten, da sich der sigmoidale Kurvenverlauf bei den vermessenen Konzentrationen nicht einstellte. Beide Ergebnissen gehen mit den Erkenntnissen aus den Kristallstrukturmessungen einher. Hierbei kam es nicht zu einer Bindung im aktiven Zentrum des EPs. Durch die Testung auf die enzymatische Aktivität wurden hier insgesamt die schlechtesten Affinitäten für verknüpfte Verbindungen festgestellt. Dadurch wurde erneut die Bedeutung der 1,2,4-Oxadiazolstruktur hervorgehoben, auch wenn in den *merged compounds* keine explizite Interaktion des 1,2,4-Oxadiazolmotivs ausgemacht werden konnte. Durch die Beobachtung einer HBB des Pyrrolidin-Fragmentes **1** und dem nahezu identischen Bindungsmodus des Fragmentes **1** und Floxazathin (**3**), liegt jedoch die Annahme nah, dass es möglicherweise auch bei den *merged compounds* mit 1,2,4-Oxadiazol-Gerüst zu einer derartigen Interaktion kommt, die lediglich nicht eindeutig belegt werden konnte.

Zusammenfassend kann zur Evaluation der enzymatischen Aktivität festgehalten werden, dass sich die Ergebnisse grundsätzlich mit den Ergebnissen der Kristallstrukturanalysen deckten. Die einzige Ausnahme stellte das *para*-I-substituierte Derivat **142** dar, für das keine Kristallstrukturdaten mit EP erhalten werden konnten, und welches in weiteren Arbeiten eingehender röntgenkristallographisch untersucht werden sollte.

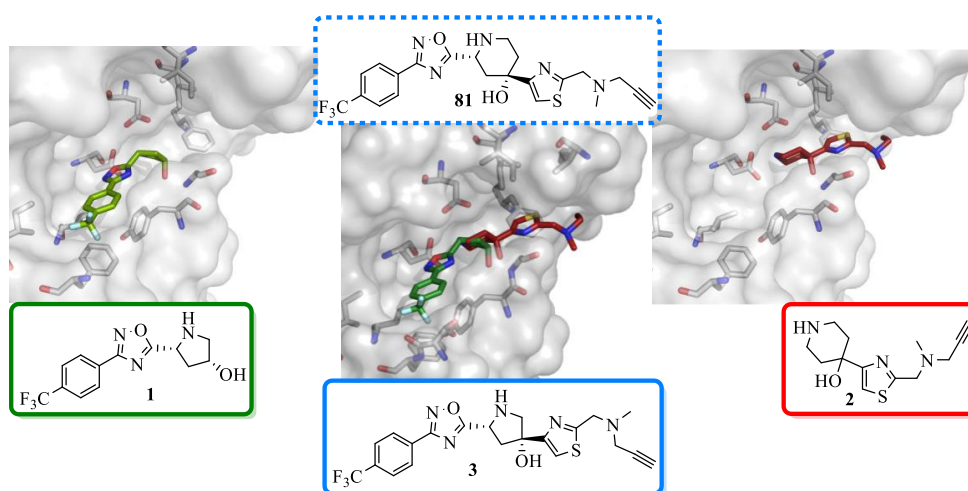
Durch die Assays zur Enzymaktivität konnte gezeigt werden, dass es zu einer enormen Affinitätssteigerung durch die kovalente Verknüpfung der beiden Fragmente **1** und **2** des Screenings kam. Zudem konnten die noch affineren Verbindungen **114** und **141** (*N*-Allyl und *para*-Br) identifiziert werden, als es durch den ursprünglichen Strukturvorschlag zur *merged compound* (siehe Kapitel 2, Abbildung 20), der nachfolgenden Synthese des Floxazathins (**3**) und der Derivate **114-116**, **139-142**, **143-146** und **200**, sowie der durchgeführten Kristallstrukturanalysen vorhersehbar war. An diesen noch affineren Verbindungen **114** und **141** kann ebenfalls in weiteren Arbeiten angeknüpft werden.

## 4. Zusammenfassung und Ausblick

### 4.1 Zusammenfassung

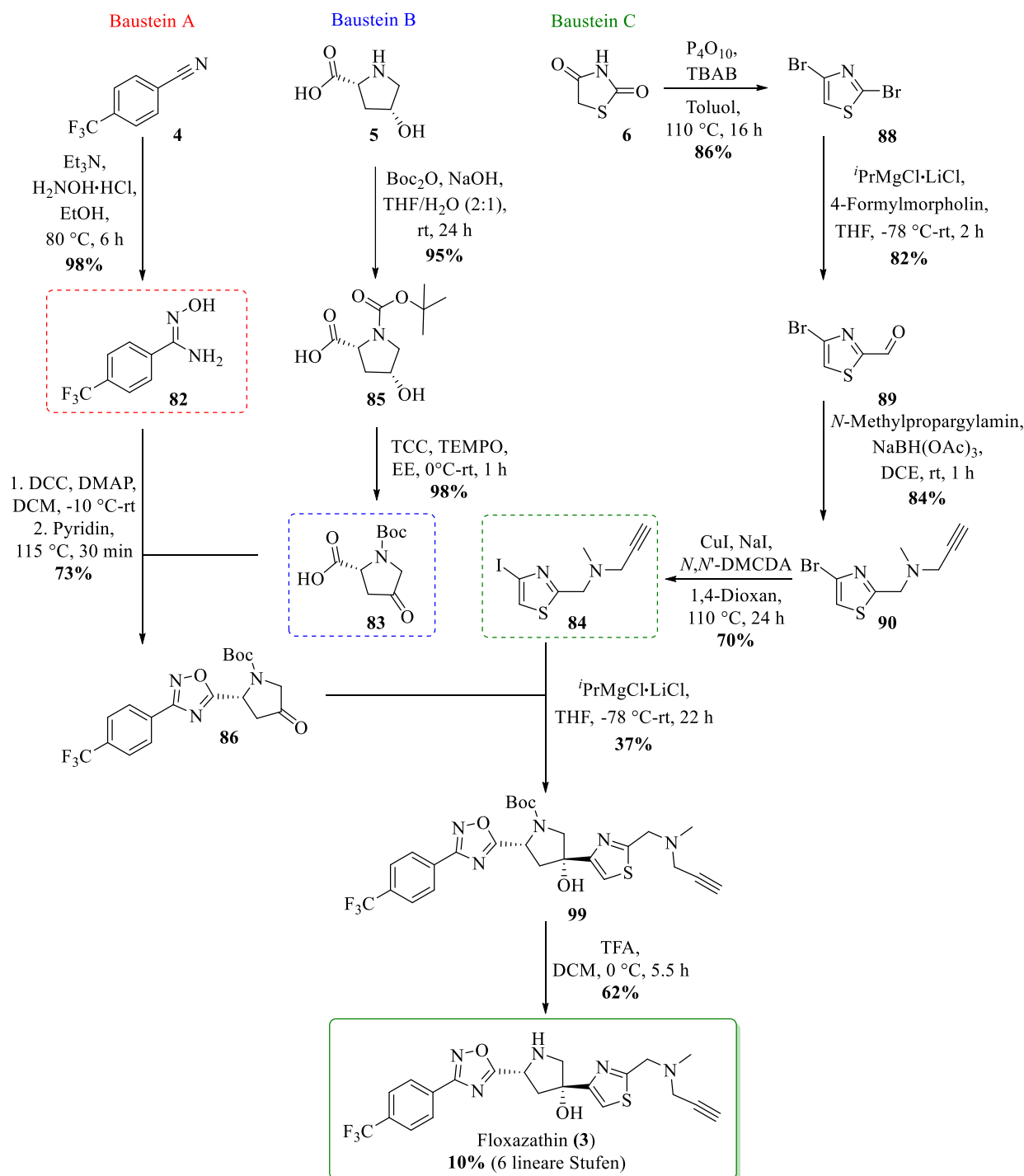
Im Rahmen dieser Arbeit konnten verschiedene Endothiapepsin-Inhibitoren erfolgreich synthetisiert werden und röntgenkristallographisch auf ihre Interaktionen im aktiven Zentrum von Endothiapepsin untersucht werden. Zudem wurden sie auf ihre Inhibition gegenüber Endothiapepsin getestet. Durch die Synthese verschiedener Derivate konnten außerdem die beobachteten Interaktionen besser evaluiert werden und untereinander verglichen werden. Mit der Testung der enzymatischen Aktivität wurde zudem ein Bezug zwischen den beobachteten Interaktionen der Kristallstrukturanalyse und der Inhibition hergestellt.

Den Ausgangspunkt der synthetischen Arbeit stellten die zwei Fragmente **1** und **2** dar, die bei einem vorausgegangenem umfangreichen Fragment-Screening identifiziert wurden und jeweils gute Interaktionen in verschiedenen Seiten der Bindetasche von Endothiapepsin zeigten. Basierend auf diesen Fragmenten wurden zwei potenzielle Zielverbindungen **3** und **81** als *merged compounds* identifiziert. Verbindung **3** wurde schließlich als darzustellende Zielverbindung festgelegt, da für die Verknüpfung über den Pyrrolidinring bessere Bindungsmodi im aktiven Zentrum des Endothiapepsins (ermittelt über Kristallstrukturanalysen, SAR-NMR und *modelling*) als für Verbindung **81** erwartet wurden. Basierend auf den Anfangsbuchstaben der einzelnen Molekülbausteine wurde für die Zielverbindung **3** der Name „Floxazathin“ entwickelt. Darüber hinaus wurde die Pyrrolidin-basierte Struktur auf Grundlage synthetischer Erwägungen (Zugänglichkeit der Ausgangsverbindungen, Kontrolle der Stereochemie) ebenfalls der Verbindung **81** mit der zentralen Piperidin-Einheit bevorzugt.



**Abbildung 54:** Resultierende Fragmente aus dem fragmentbasierten Screening **1** und **2** und die resultierende Überlagerung beider zu dem potenziell hochaffinen Inhibitor Floxazathin (**3**) im aktiven Zentrum von EP.

Die Schlüsselschritte der Synthese von Floxazathin (**3**) stellten dabei der Aufbau des 1,2,4-Oxadiazols und eine GRIGNARD-Addition dar. Insgesamt konnte die Zielverbindung Floxazathin (**3**) über zehn konvergente Syntheseschritte erfolgreich dargestellt werden (siehe Schema 92). Dabei betrug die längste lineare Synthesesequenz über den Baustein **C** sechs Stufen mit einer Ausbeute von 10%. Bei der GRIGNARD-Addition wurde mit einer moderaten Ausbeute von 37% mit Abstand die geringste Ausbeute in einer Reaktion der Synthesesequenz erzielt.



Schema 92: Syntheseübersicht aller Reaktionsschritte bis zur Darstellung der Zielverbindung Floxazathin (**3**).



Bei der röntgenkristallographischen Untersuchung des Co-Kristalls von Floxazathin (**3**) und EP konnte zusätzlich zu den aus den Fragment-Strukturen **1** und **2** vorhergesagten Interaktionen (zwischen dem N-Atom des Pyrrolidins und den beiden katalytisch wirkenden Aspartatresten Asp35 und Asp219, der T-Stacking-Interaktion zwischen Phe116 und dem  $\pi$ -System des Phenyl-Gerüsts, einer schwachen Interaktion zwischen einem Fluoratom der  $F_3C$ -Gruppe und dem Ser83 und der Interaktion zwischen der Hydroxygruppe und dem Gly80) eine weitere HBB-Interaktion zwischen dem Gly80 und dem H-Atom des terminalen Alkyls erkannt werden. Die zusätzliche Interaktion führte zu einer anderen Ausrichtung des Propargylrestes in Floxazathin (**3**), als sie bei der Überlagerung der Fragmente **1** und **2** angenommen wurde (siehe Abbildung 54 (mitte)). Die Optimierung der Ausbeute der GRIGNARD-Addition gelang nicht, jedoch konnten durch die durchgeführten Ansätze grundlegende Aussagen über die Reaktivitäten des Brom- und Iodthiazols **90** und **84** gegenüber verschiedenen Metallorganen getroffen werden (siehe Kapitel 3.2.3.2).

Im zweiten Abschnitt der Arbeit wurden Derivatisierungen des Thiazol-Gerüsts der ursprünglichen Zielverbindung Floxazathin (**3**) vorgenommen. Die dabei synthetisierten Inhibitoren **114-116** sind in Abbildung 55 gezeigt. Sie wurden über die gleiche allgemeine Syntheseroute (Schema 92) wie Floxazathin (**3**) dargestellt, da Ansätze zur Hydrierung des Alkyls scheiterten und Versuche einer späten reduktiven Aminierung für eine große Substratvielfalt des Amins nicht erfolgreich waren. Anstelle des *N*-Methylpropargylamins wurden für die reduktive Aminierung zu den jeweiligen Bromthiazolen **130** und **131** die korrespondierenden Amine *N*-Allylmethylamin und *N*-Methylpropylamin verwendet.

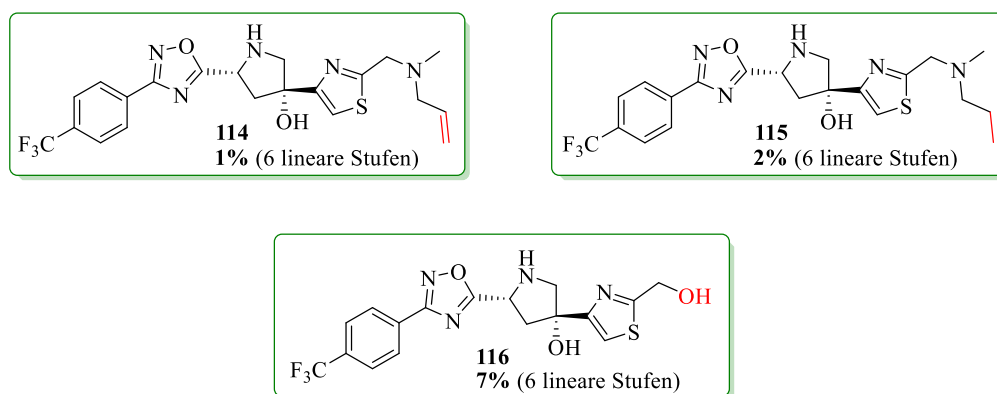
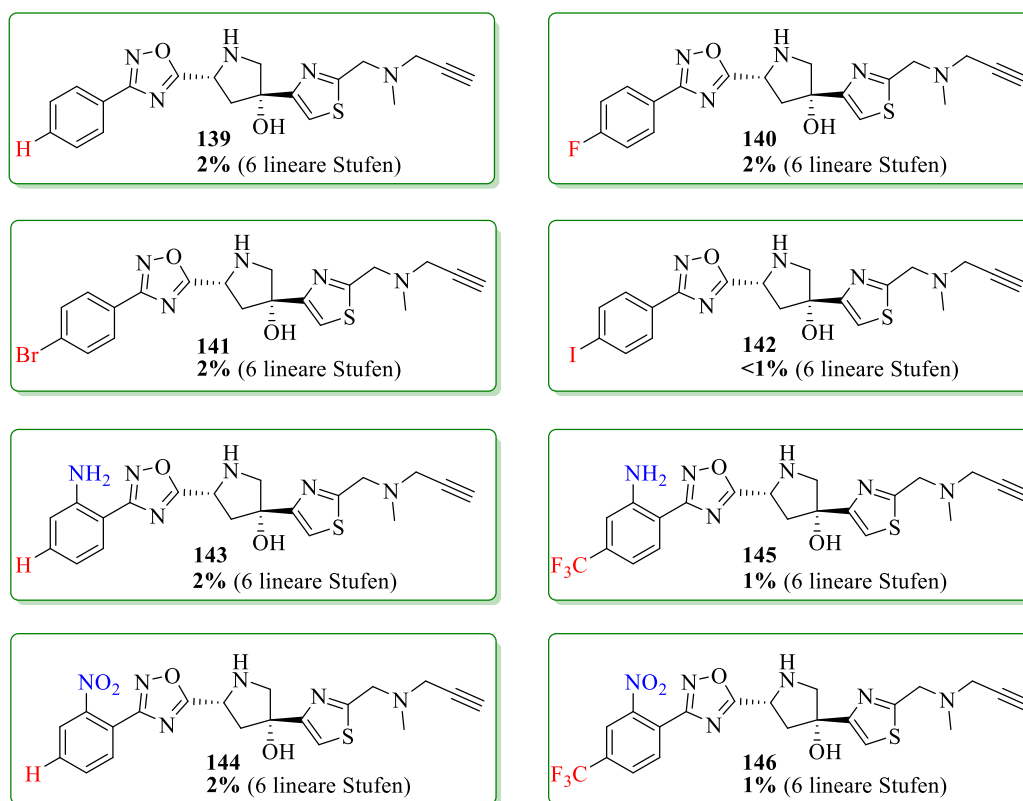


Abbildung 55: Erste Derivate **114-116** mit abweichenden Resten am Thiazol.

Alle drei Derivate **114-116** zeigten bei der röntgenkristallographischen Untersuchung der Co-Kristalle mit EP eine Bindung im aktiven Zentrum des Enzyms, wobei grundsätzlich die gleichen Interaktionen wie bei der Floxazathin (**3**) im aktiven Zentrum beobachtet werden konnten. Lediglich die zuvor beobachtete HBB zwischen dem H-Atom des Alkyls und Gly80

konnte bei keinem Derivat in analoger Weise mit den nun vorhandenen Gruppen beobachtet werden. Stattdessen waren der Propyl- und der Allylrest räumlich flexibler im aktiven Zentrum orientiert. Die Hydroxygruppe des Thiazolymethanol-Derivates **116** richtete sich in die gleiche Richtung wie das N-Atom des tertiärenamins aus.

Im nächsten Teil der Arbeit wurden weitere Derivate mit verschiedenen Substitutionsmustern an einem anderen Terminus der Zielverbindung Floxazathin (**3**), also dem Phenylring synthetisiert. Auch diese wurden nach der allgemeinen Syntheseroute dargestellt (siehe Schema 92), beginnend mit dem entsprechend substituierten Benzonitril. Alle dargestellten Phenylderivate sowie ihre Gesamtausbeuten sind in Abbildung 56 gezeigt. Die Synthese des *ortho*-substituierten Derivates **143** erfolgte, da eine weitere HBB-Interaktion des Carboxyl-Sauerstoffs von Asp33 mit einem möglichen NH<sub>2</sub>-*ortho*-Substituenten angenommen wurde. Mit dem NO<sub>2</sub>-Substituenten des Derivates **144** sollte hingegen eine mögliche Abstoßung der funktionellen Gruppen untersucht werden. Die disubstituierten Derivate **145** und **146** sollten für einen besseren Vergleich zwischen den Verbindungen mit *ortho*-Substituenten und Floxazathin (**3**) dienen.



**Abbildung 56:** Weitere Inhibitoren **139-146**, die durch Derivatisierung am Phenylrest entstanden sind.

Bei der röntgenkristallographischen Untersuchung der Co-Kristalle mit EP zeigten die Derivate **139-141** eine Bindung im aktiven Zentrum des Endothiapepsins. Für das *para*-I-substituierte

Derivat **142** konnten hingegen keine Kristallstrukturdaten mit EP erhalten werden. Es wurde vermutet, dass der I-Substituent zu groß sein könnte, sodass er eine Bindung des Derivates im aktiven Zentrum von EP verhindert. Für alle bindenden Derivate wurden grundsätzlich die gleichen Interaktionen wie für Floxazathin (**3**) beobachtet. Bei den Verbindungen, die keine F<sub>3</sub>C-Gruppe besaßen, fiel auch die schwache Interaktion des Ser83 mit einem Fluoratom der F<sub>3</sub>C-Gruppe weg. Eine analoge Interaktion zwischen Ser83 und den anderen *para*-Resten konnte nicht nachgewiesen werden. Die NH<sub>2</sub>-*ortho*-Substituenten bei den Verbindungen **143** und **145** zeigten nicht, wie ursprünglich angenommen wurde, in die Richtung von Asp33 und gingen keine HBB mit diesem ein. Stattdessen zeigten sie circa 180° gedreht tendenziell in die gleiche Richtung wie die exocyclische Hydroxygruppe des Pyrrolidins. Dabei wurden zwei HBBs der NH<sub>2</sub>-Gruppe zur Carboxygruppe von Ser83 bzw. Asp82 vermutet. Die NO<sub>2</sub>-*ortho*-Substituenten der Verbindungen **144** und **146** zeigten ungefähr die gleiche Orientierung wie die NH<sub>2</sub>-Substituenten auf, jedoch konnte für den NO<sub>2</sub>-Substituenten keine direkte Interaktion beobachtet werden.

In abschließenden synthetischen Ansätzen zur Derivatisierung sollte das zentrale 1,2,4-Oxadiazol zum einen mit einem 1,3,4-Oxadiazol und zum anderen durch acyclische Amid- bzw. Imidfunktionalitäten ersetzt werden. Im Gesamtverlauf der Arbeit ließ sich bei den röntgenkristallographischen Untersuchungen immer wieder eine unklare Elektronendichte im Bereich des 1,2,4-Oxadiazols beobachten (siehe Kapitel 3.2.3.1), die auf eine gewisse Instabilität dieses Heterocyclus hindeutete. Die Struktur des mutmaßlichen Abbauproduktes konnte bis zum Ende der Arbeiten nicht aufgeklärt werden. Durch diese Variationen sollte zum einen untersucht werden, wie essenziell der aromatische Heterocyclus für die Bindung im aktiven Zentrum ist, zum anderen könnte dadurch möglicherweise die Stabilität erhöht werden.

Das 1,3,4-Oxadiazol-Derivat **200** (siehe Abbildung 57) konnte erfolgreich über die ursprüngliche Syntheseroute dargestellt werden (siehe Schema 92). Der Aufbau des 1,3,4-Heterocyclus erfolgte dabei durch die Reaktion des Hydrazids **204** mit dem Pyrrolidon **83**. Von den acyclischen Derivaten konnte hingegen keine Verbindung erfolgreich dargestellt werden (siehe Kapitel 3.5.2).

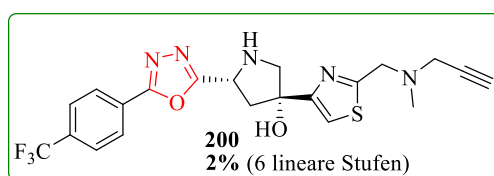


Abbildung 57: Variante des 1,2,4-Oxadiazols zum 1,3,4-Isomer.

Bei der röntgenkristallographischen Untersuchung von Verbindung **200** mit EP zeigte sich wider Erwarten keine Bindung im aktiven Zentrum von Endothiapepsin. Mit diesen Ergebnissen wurden die weiteren synthetischen Arbeiten zu Derivaten beendet und alle erfolgreich dargestellten Inhibitoren und Derivate abschließend auf ihre enzymatische Aktivität getestet.

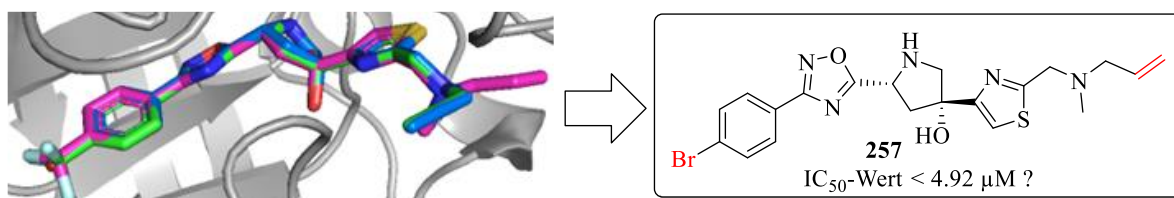
Für die Testung der enzymatischen Aktivität der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen wurde ein fluoreszenzbasierter Assay nach G. KLEBE und A. K. H. HIRSCH *et al.* durchgeführt.<sup>[16,203]</sup> Die dabei erhobenen Daten deckten sich grundsätzlich mit den Beobachtungen der kristallographischen Untersuchungen. Das bei der Kristallstrukturanalyse nicht-bindende 1,3,4-Oxadiazol-Derivat **200** zeigte mit Abstand den höchsten IC<sub>50</sub>-Wert von 366.08 µM und damit die schlechteste Inhibierung des Enzyms. Das bei der Kristallstrukturanalyse nicht bindende *para*-I-substituierte Derivat **142** zeigte bei der Testung der enzymatischen Aktivität hingegen einen ähnlich hohen IC<sub>50</sub>-Wert (28.19 µM), wie das *para*-F-substituierte Derivat **140** (28.37 µM), und stand somit bei der Testung der enzymatischen Aktivität entgegen dem erwarteten Ergebnis durch die Kristallstrukturanalyse. Da keine Kristallstrukturdaten für Verbindung **142** erhoben werden konnten, ist möglicherweise auf kleinste Verunreinigungen beim *soaking* zurückzuführen. Dies sollte in weitergehenden Arbeiten eingehender untersucht werden.

Für Floxazathin (**3**) konnte hingegen ein guter IC<sub>50</sub>-Wert von 13.00 µM erhoben werden. Dieser zeigte im direkten Vergleich zu der enzymatischen Aktivität der einzelnen Fragmente aus dem Fragment-Screening eine Affinitätssteigerung um das 39-fache (im Vergleich zum Pyrrolidin-Fragment **1**) bzw. sogar um das 160-fache (im Vergleich zum Piperidin-Fragment **2**). Zwei deutliche Affinitätssteigerungen im Vergleich zu Floxazathin (**3**) konnten mit dem Allylderivat **114** (IC<sub>50</sub>-Wert = 5.08 µM) und dem *para*-Br-substituierten Derivat **141** (IC<sub>50</sub>-Wert = 4.92 µM) erzielt werden. Aus dem Ergebnis der enzymatischen Testung des Allylderivates **114** wurde gefolgert, dass die beobachtete Interaktion vom H-Atom des terminalen Alkins mit Gly80, welche bei Floxazathin (**3**) und den anderen Derivaten mit terminalem Alkin beobachtet werden konnte, nicht essentiell ist und keinen großen Beitrag zur Bindung im aktiven Zentrum von EP liefert. Zudem kann bei optimaler Orientierung des aliphatischen Restes ohne diese Interaktion scheinbar eine noch bessere Inhibierung erzielt werden. Das Ergebnis der biologischen Testung des *para*-Br-substituierten Derivates **141** wurde mit der Möglichkeit zur Ausbildung von *halogen bonds* und einer dadurch zunehmenden Affinität begründet. Zudem wurde aus diesem und den Ergebnissen der anderen

halogensubstituierten Derivate **140** und **142** gefolgt, dass die Größe des Substituenten einen wesentlichen Einfluss auf die Affinität zu haben scheint. Eine spezifische Interaktion des Br-Substituenten mit einer bestimmten Aminosäure des aktiven Zentrums konnte in der Kristallstruktur jedoch nicht beobachtet werden.

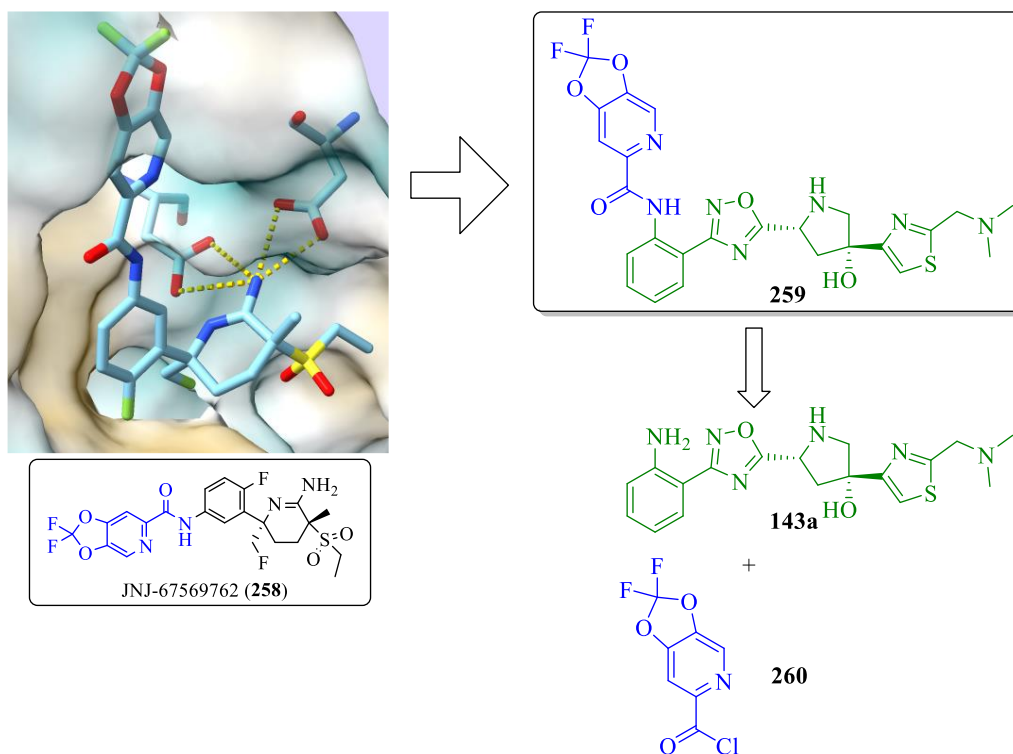
## 4.2 Ausblick

Durch die zum Abschluss der praktischen Arbeiten durchgeführte Testung der enzymatischen Aktivität ergab sich als weiterer Ansatzpunkt vor allem eine Kombination der Derivate **114** und **141** mit den höchsten getesteten Affinitäten von 5.08  $\mu\text{M}$  bzw. 4.92  $\mu\text{M}$ . In Abbildung 58 ist die Überlagerung der Kristallstrukturen von Floxazathin (**3**) (blau), sowie den beiden Derivaten **114** (*N*-Allyl-substituiert, violett) und **141** (*para*-Br-substituiert, grün) gezeigt. Basierend auf dieser Überlagerung ist anzunehmen, dass es bei einer Kombination des *para*-Br-Phenylsubstituenten und des Allylrestes am tertiären Amin der C-2-Thiazolseitenkette zu einer sich im aktiven Zentrum leicht anders orientierenden Struktur kommen könnte. Diese Struktur besitzt möglicherweise durch die Kombination der abweichenden Reste von der Zielverbindung Floxazathin (**3**) eine noch höhere Affinität und sollte in weiteren Arbeiten dargestellt, sowie eingehend untersucht werden.



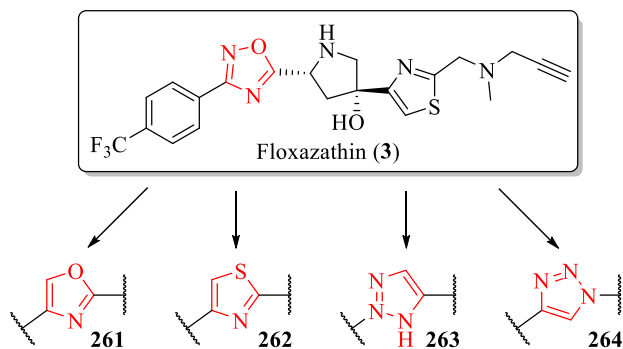
**Abbildung 58:** Überlagerung des Floxazathins (**3**) (blau), des Allylderivates **114** (violett) und des *para*-Br-substituierten Derivates **141** (grün (links)) und der aus den höchsten Affinitäten resultierende Strukturvorschlag **257** (rechts).

Des Weiteren wäre durch kleine Modifikationen von Floxazathin (**3**) bzw. des *ortho*-NH<sub>2</sub>-Derivates **143** eventuell die Synthese eines BACE1-Inhibitors möglich (siehe Schema 93). Dieser könnte in weitergehenden Arbeiten ebenfalls dargestellt werden und röntgenkristallographisch sowie im Enzymassay untersucht werden. Dabei müssten die unterschiedlichen optimalen *pH*-Werte für die Kristallisation (*pH*-Wert = ca. 6) und die enzymatische Aktivität (*pH*-Wert = 4.5) berücksichtigt werden.<sup>[99]</sup>



**Schema 93:** Möglicher BACE1-Inhibitor **259** basierend auf einer Kombination eines Teils (blau) des bekannten BACE1-Inhibitors JNJ-67569762 ((**258**), PDB: 7N66)<sup>[207]</sup> und einer Modifikation **143a** des Endothiapepsin-Inhibitors **143** (grün). Die Grafik mit den verdeutlichten Interaktionen von den zwei katalytisch wirkenden Aspartaten (links) wurde von *AnalytiCon Discovery GmbH* zur Verfügung gestellt.

Bei den synthetischen Arbeiten wäre es weiterhin interessant, acyclische Derivate als mögliche Inhibitoren und Alternativen zu Floxazathin (**3**) zu synthetisieren. Hier könnte bei den getesteten Reaktionen angesetzt werden. Vor allem die Reaktivität der freien Carboxygruppe des Pyrrolidin-Derivates **248** sollte dabei zunächst eingehender untersucht werden. Auch wäre ein weiterer Heterocyclus anstelle des 1,2,4-Oxadiazols interessant, um dessen Stabilität und Bindungseigenschaften im aktiven Zentrum des Endothiapepsins besser bewerten zu können. Erste Ansätze könnten ein 2,4-disubstituiertes Oxazol bzw. Thiazol oder 1,4- bzw. 2,4-disubstituierte 1,2,3-Triazole darstellen (siehe Abbildung 59).



**Abbildung 59:** Vorschläge für weitere Heterocyclen anstelle des 1,2,4-Oxadiazolmotivs.

## 5. Experimenteller Teil

### 5.1 Allgemeines

Die experimentellen Arbeiten wurden grundsätzlich in einer Stickstoff-Inertgasatmosphäre unter Ausschluss von Wasser und Sauerstoff durchgeführt, wohingegen die Aufarbeitungen generell unter Normalatmosphäre durchgeführt wurden. Abweichungen hiervon wurden in den einzelnen Versuchsvorschriften vermerkt. Alle synthetisierten Verbindungen wurden hinreichend charakterisiert ( $R_f$ -Wert, NMR, ESI-MS, IR, Schmelzbereich, optische Aktivität). Für bereits literaturbekannte Verbindungen wurden ebenfalls volle Datensätze erhoben. Diese wurden durch Literaturverweise kenntlich gemacht.

Alle verwendeten Chemikalien wurden, wie vom Hersteller (*Sigma Aldrich, Acros Organics Fluka, TCI, ROTH, BLDpharm, Grüssing, VWR Chemicals* oder *Biosynth*) erhalten, ohne weitere Reinigung verwendet. Die für die experimentellen Arbeiten verwendeten absoluten Lösungsmittel wurden kommerziell erworben, unter Stickstoffatmosphäre verwendet und über Molsieb 4 Å gelagert. Lösungsmittel technischer Qualität wurden vor Gebrauch destillativ gereinigt. Verwendetes Wasser war grundsätzlich demineralisiert.

### 5.2 Analytische Methoden und Gerätschaften

#### Chromatographische Methoden

Für die Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumplatten der Firma *Marcherey-Nagel* (ALUGRAM<sup>®</sup> Xtra Sil G/UV<sub>254</sub>, Schichtdicke 0.2 mm) verwendet. Eine Detektion erfolgte entweder mittels UV-Licht (254 nm/365 nm) oder durch Verwendung eines der folgenden Färbereagenzien:

- 1) Vanillin-Reagenz (1.2 g Vanillin, 22 mL AcOH, 12 mL konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 200 mL EtOH);
- 2) Kaliumpermanganat-Reagenz (2.4 g KMnO<sub>4</sub>, 16 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 4 mL 5%ige NaOH-Lsg., mit H<sub>2</sub>O auf 200 mL auffüllen);
- 3) Ninhydrin (800 mg Ninhydrin, 200 mL EtOH);
- 4) Cersulfat-Färbereagenz (1.0 g Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 2.5 g Phosphormolybdänsäure, 8 mL konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, mit H<sub>2</sub>O auf 100 mL auffüllen).

Für die säulenchromatographische Reinigung der Rohprodukte wurde Kieselgel der Firma *Fluka* verwendet (Kieselgel 60, 230-400 mesh, Korngröße 40-63 µm). Die verwendeten Elutionsgemische sind den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

### NMR-Spektroskopie

Die Aufnahme von  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ - und 2D-Spektren (COSY, HSQC, HMBC, NOESY) erfolgte bei Raumtemperatur an den Spektrometern *Bruker FourierHD-300* ( $^1\text{H}$ : 300 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 75 MHz), *Bruker Avance I-400*, *Bruker Avance II-400*, *Bruker Avance III-400* (jeweils  $^1\text{H}$ : 400 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 101 MHz), *Bruker Avance I-500* ( $^1\text{H}$ : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 126 MHz) oder an einem *Bruker Avance III-600* ( $^1\text{H}$ : 600 MHz,  $^{13}\text{C}$ : 151 MHz,  $^{19}\text{F}$ : 565 MHz). Die Auswertung erfolgte mit der Software *MestReNova* (Version 14.0.1-23559, 2019 Mestrelab Research S.L.). Alle chemischen Verschiebungen  $\delta$  sind relativ in Bezug auf das Lösungsmittelrestsignal ( $\text{CDCl}_3$ :  $\delta = 7.26$  ppm im  $^1\text{H}$ -NMR und  $\delta = 77.2$  ppm im  $^{13}\text{C}$ -NMR,  $\text{MeOH-}d_4$ :  $\delta = 3.31$  ppm im  $^1\text{H}$ -NMR und  $\delta = 49.0$  ppm im  $^{13}\text{C}$ -NMR,  $\text{DMSO-}d_6$ :  $\delta = 2.50$  ppm im  $^1\text{H}$ -NMR und  $\delta = 39.5$  ppm im  $^{13}\text{C}$ -NMR) in *parts per million* (ppm) angegeben. Alle Kopplungskonstanten  $J$  sind in Hertz (Hz) angegeben. Die verwendeten Multiplizitäten zur Charakterisierung der Signale wurden wie folgt verwendet: br.s (breites Singulett), s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), m (Multipllett). Mehrfach aufgespaltete Signale führten zu Kombinationen der Bezeichnungen. Eine eindeutige Zuordnung der Signale erfolgte mit Hilfe der aufgenommenen 2D-Spektren. Die Nummerierung der Atome erfolgte wie in den jeweiligen Abbildungen angegeben nach praktischen Erwägungen und entspricht nicht der IUPAC-Nomenklatur. Bei einigen Verbindungen kommt es zur Bildung von Rotameren, weswegen teilweise doppelte Signale für einzelne Kerne erschienen. In den Fällen wurden die Integrale so gewählt, dass sie nur auf eine Konformation bezogen sind. Die angegebenen Multiplizitäten sind immer für beide Rotamersignale zu sehen. Die Verhältnisse sind bei den jeweiligen Verbindungen vermerkt und wurden mittels  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie bestimmt. Liegen unterschiedliche Verhältnisse der Rotamere vor, wurden die Signale mit geringerer Intensität mit \* kenntlich gemacht.

### Massenspektrometrie

Die Aufnahme von ESI-Massenspektren erfolgte mit dem Gerät *Agilent 6224 ESI-TOF* (Massenbereich: 110-3200 m/z). Für die Aufnahmen von EI-Massenspektren wurde ein *Thermo ISQ LT EI* (Massenbereich: 40-800 m/z) mit Direkteinlass oder GC-MS verwendet. Die Auswertung erfolgte ebenfalls mit der Software *MestReNova* (Version 14.0.1-23559, 2019 Mestrelab Research S.L.).



### **Infrarotspektroskopie**

Alle Infrarot-Spektren wurden mit einem FT-IR-Spektrometer (*ALPHA-P* mit Diamant-ATR) von *Bruker* aufgenommen. Die Auswertung erfolgte mit der Software *Opus 7.2* von *Bruker*. Alle Signale sind als Wellenzahl  $\tilde{\nu}$  in  $\text{cm}^{-1}$  angegeben. Die Intensitäten wurden mit den Abkürzungen m (mittel), s (stark), vs (sehr stark) oder w (schwach) angegeben.

### **Schmelzpunktbestimmung**

Zur Bestimmung der Schmelzpunkte wurde das Gerät *Melting Point M-565* der Firma *Büchi* verwendet.

### **Drehwert-Messungen**

Die Messungen der spezifischen Drehwinkel wurden an einem *P8000* von *A. Krüss Optronic* durchgeführt. Zur Berechnung der spezifischen Drehwerte wurde Gleichung (1) verwendet.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{\text{T}} = \frac{\alpha \cdot 100}{c \cdot l} \quad (1)$$

In Gleichung (1) entspricht  $[\alpha]$  dem spezifischen Drehwert,  $\alpha$  dem absoluten Drehwert, T der jeweiligen Umgebungstemperatur bei der Messung, D der Wellenlänge des Lichts (Natrium-D-Linie = 589 nm),  $c$  der Konzentration in g/100 mL und  $l$  der Küvettenlänge mit  $l = 1$  dm. Vor der Probenmessung wurde jeweils eine Leerwertmessung mit dem verwendeten Lösungsmittel ohne Substanz durchgeführt.

### 5.3 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

#### AAV 1: Synthese von Amidoximen

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine literaturbekannte Vorschrift von F. TIEMANN.<sup>[137,208]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurden das jeweilige Benzonitril (1.0 eq.) und Hydroxylaminhydrochlorid (2.2-2.3 eq.) vorgelegt und mit EtOH (0.13–0.97 M) und Et<sub>3</sub>N (2.3-2.4 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde anschließend für 5-25 Stunden bei 80 °C gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde die Reaktionslösung unter vermindertem Druck entfernt, der kristalline Rückstand in EE aufgenommen und 3x mit H<sub>2</sub>O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Die jeweilige Reinigung ist den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

#### AAV 2: Oxidation mit TEMPO

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von J. J EDMUNDS *et al.*<sup>[209]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurden der jeweilige Alkohol (1.0 eq.) und TCC (0.75 eq.) in EE (0.10-0.13 M) gelöst, auf 0 °C gekühlt, und es erfolgte die Zugabe von TEMPO (5 mol%). Nach 20-40 Minuten wurde die Kühlung entfernt und die Reaktion wurde für weitere 1.5-3.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von H<sub>2</sub>O beendet und die wässrige Phase wurde 5x mit EE extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, und es folgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel. Das jeweils verwendete Elutionsgemisch ist den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

#### AAV 3: STEGLICH-analoge Veresterung mit anschließend basischer Cyclokondensation (*one-pot Synthese*)

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine literaturbekannte Vorschrift von R. S. SCHWAB *et al.* zur Darstellung der *O*-Acylamidoxim-Zwischenstufe,<sup>[104]</sup> gefolgt von einer basischen Cyclokondensation in Anlehnung an L. A. KAYUKOVA.<sup>[210]</sup>

Abs. DCM (0.2 M-0.3 M) wurde vorlegt und auf 0 °C bis -40°C gekühlt. Es erfolgte die Zugabe einer Pyrrolidin-Verbindung (1.0-1.1 eq.), dem jeweiligen Amidoxim (1.0-1.1 eq.), DCC (0.9-1.1 eq.) und DMAP (0.1 eq.). Die Kühlung wurde nach 5-30 Minuten entfernt und die Reaktionslösung wurde für weitere 50 Minuten bis 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt.

Nach vollständigem Umsatz wurde der Niederschlag der Suspension mittels Filtration entfernt und das Filtrat unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Der entstandene Schaum wurde in abs. Pyridin (0.1 M-0.3 M) aufgenommen und für 30-60 Minuten bei 115 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, und es erfolgte eine säulenchromatographische Reinigung des Rohproduktes an Kieselgel. Das jeweils verwendete Elutionsgemisch ist den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

#### **AAV 4: Reduktive Aminierung der Thiazol-Derivate**

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine literaturbekannte Vorschrift von R. D. SHAH *et al.*<sup>[211]</sup>

4-Bromthiazol-2-carbaldehyd (**89**) (1.0 eq.) wurde in abs. DCE (0.3-0.7 M) vorgelegt und mit dem jeweiligen Amin (1.1 eq.) versetzt. Das Gemisch wurde für 5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von NaBH(OAc)<sub>3</sub> (1.4 eq.). Nach vollständigem Umsatz wurde die Reaktion durch die Zugabe von H<sub>2</sub>O beendet. Die Phasen wurden getrennt und der pH-Wert der wässrigen Phase wurde mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> auf pH = 10 eingestellt. Die wässrige Phase wurde 5x mit DCM oder EE extrahiert und die vereinte organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Das jeweils verwendete Elutionsgemisch ist den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

#### **AAV 5: Aromatische FINKELSTEIN-Reaktion**

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine literaturbekannte Vorschrift von A. KLAPARS und S. L. BUCHWALD.<sup>[158]</sup>

Das jeweilige Bromthiazol (1.0 eq.) wurde mit NaI (3.7-3.8 eq.) und Cu(I)I (0.1 eq.) in abs. 1,4-Dioxan (0.16-0.24 M) vorgelegt. Anschließend wurde *N,N'*-DMCDA zugetropft (0.2 eq.) und die Suspension für 18-25 h bei 110 °C gerührt, wobei eine deutliche Blaufärbung der Suspension sichtbar wurde. Zum Beenden der Reaktion wurde die Suspension auf Raumtemperatur abgekühlt und über einen *Silica-Plug* filtriert, der ausgiebig mit EE gespült wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Das jeweils verwendete Elutionsgemisch ist den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

**AAV 6: GRIGNARD-Addition**

Das jeweilige Iodthiazol (1.0 eq.) wurde in abs. THF (0.11 M-0.45 M) gelöst und auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Tropfenweise erfolgte die Zugabe von  $i\text{-PrMgCl}\cdot\text{LiCl}$ -Lsg. (1.3 M in THF, 1.2-1.5 eq.), und das GRIGNARD-Gemisch wurde für 15-30 Minuten bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Parallel wurde das jeweilige Keton (1.0-1.1 eq.) bei Raumtemperatur in abs. THF gelöst (0.11 M-0.30 M) und nach 15-30 Minuten langsam zum metallierten Intermediat bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  getropft. Die Kühlung wurde nach 30 Minuten bis 1.5 Stunden entfernt und die Reaktionslösung für 24 Stunden bis 2 Tage bei Raumtemperatur gerührt, bis sie durch die Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  beendet wurde. Es erfolgte eine Trennung der Phasen, und die wässrige Phase wurde 5x mit DCM extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel gereinigt. Das jeweils verwendete Elutionsgemisch ist den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

**AAV 7: Boc-Entschützung mittels TFA**

Die jeweilige Boc-geschützte Verbindung (1.0 eq.) wurde unter Normalatmosphäre in DCM (0.01-0.03 M) gelöst und auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Nach 5 Minuten erfolgte die langsame Zugabe von TFA (10-130 eq.). Nach 5 Minuten bis 1.5 Stunden wurde die Kühlung entfernt und für weitere 3-45 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt, und die wässrige Phase wurde 5x mit DCM extrahiert. Anschließend wurde die vereinte organische Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde durch säulenchromatographische Trennung an Kieselgel gereinigt. Das jeweils verwendete Elutionsgemisch ist den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

**AAV 8: Metallierung von Thiazolen mit anschließender Silylierung**

Das jeweilige Thiazol (1.0 eq.) wurde in abs. THF (0.1 M) gelöst und auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Tropfenweise erfolgte die Zugabe eines Metallorganyls (1.6 M  $n\text{-BuLi}$ -Lsg. in  $n\text{-Hexan}$  oder 1.3 M  $i\text{-PrMgCl}\cdot\text{LiCl}$ -Lsg. in THF; 1.0-1.3 eq.) und das Reaktionsgemisch wurde für 10 Minuten bis 3.5 Stunden bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Anschließend wurde das jeweilige Trialkylsilylchlorid (1.0-2.6 eq.) zur Reaktionslösung gefügt, und es wurde für weitere 10 Minuten bis 1.5 Stunden bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt, bis die Kühlung entfernt wurde und die Reaktionslösung für 2-30 Stunden bei Raumtemperatur gerührt wurde. Die Reaktion wurde anschließend durch die Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  beendet. Es erfolgte eine Trennung der Phasen und die wässrige Phase wurde 5x mit DCM extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel gereinigt. Das jeweils verwendete Elutionsgemisch ist den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

#### **AAV 9: TBAF-Entschützung**

Der jeweilige Silylether (1.0 eq.) wurde unter Normalatmosphäre in THF (0.02-0.09 M) gelöst. Tropfenweise erfolgte die Zugabe von TBAF-Lsg. (1 M in THF, 1.8-2.2 eq.), und die Reaktion wurde anschließend für 3.5-24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lsg. beendet, und die wässrige Phase wurde mit DCM extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Das jeweils verwendete Elutionsgemisch ist den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

#### **AAV 10: Boc-Schützung mit DMAP**

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Patentvorschrift von ADDEPALLI *et al.*<sup>[183]</sup>

Das jeweilige Aminophenylderivat (1.0 eq.) wurde unter Normalatmosphäre bei Raumtemperatur in DCM (0.23-0.85 M) gelöst und nacheinander mit Et<sub>3</sub>N (1.5-1.6 eq.), DMAP (0.1 eq.) und Boc<sub>2</sub>O (1.2 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 18-24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurde die Reaktion durch die Zugabe von H<sub>2</sub>O beendet. Die wässrige Phase wurde 5x mit DCM extrahiert und die vereinte organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, und das Rohprodukt wurde anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Das jeweils verwendete Elutionsgemisch ist den einzelnen Versuchsvorschriften zu entnehmen.

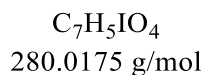
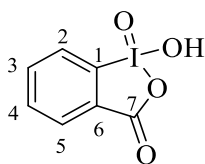
#### **AAV 11: Amidsynthese mit Ester**

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Patentvorschrift von R. A. FAIRHURST *et al.*<sup>[212]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurde der jeweilige Methylester (1.0 eq.) in einer NH<sub>3</sub>-Lsg. (7 M in MeOH, 36-50 eq.) gelöst und für 24 Stunden bis 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und es folgte die jeweilige Reinigung des Rohproduktes.

## 5.4 Synthesen von Reagenzien

### Synthese von 2-Iodoxybenzoesäure (IBX)



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von S. SPATORE *et al.*<sup>[213]</sup>

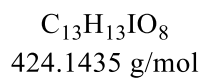
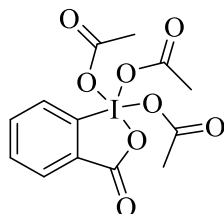
Unter Normalatmosphäre wurde Oxone<sup>®</sup> (111.5 g, 181.4 mmol, 3.0 eq.) in H<sub>2</sub>O (600 mL) suspendiert, mit 2-Iodbenzoesäure (15.00 g, 60.47 mmol, 1.0 eq.) versetzt und für 20 Stunden bei 70 °C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 0 °C gekühlt und im Kalten filtriert. Der Filterkuchen wurde mit H<sub>2</sub>O (50 mL) und Aceton (3x je 10 mL) gewaschen und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. IBX (12.13 g, 43.31 mmol, **72%**) konnte als farbloser Feststoff erhalten werden.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 8.15 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, 1H, H-5), 8.04 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, 1H, H-2), 8.00 (t, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, 1H, H-4), 7.85 (t, <sup>3</sup>*J* = 7.4 Hz, 1H, H-3) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 167.5 (C-7), 146.6 (C-6), 133.4 (C-1), 133.0 (C-4), 131.5 (C-3), 130.1 (C-2), 125.0 (C-5) ppm.

Die erhaltenen NMR-Daten stimmen mit den NMR-Daten aus der Literatur überein.<sup>[214]</sup> Auf eine weitere Charakterisierung des Produktes wurde wegen der mehrfach publizierten analytischen Daten verzichtet.

### Synthese von 1,1,1-Triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3-(1H)-on (DMP)



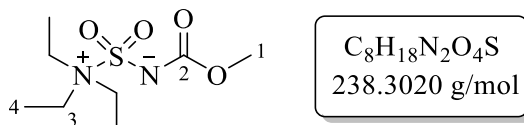
Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von D. B. DESS und J. C. MARTIN.<sup>[142]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurden IBX (10.0 g, 35.7 mmol, 1.0 eq.) und Essigsäureanhydrid (40.0 mL, 43.2 g, 423 mmol, 12 eq.) in AcOH (35 mL) gelöst und für 2 Stunden bei 100 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der

verbleibende Feststoff wurde mit Et<sub>2</sub>O (80 mL) gewaschen und mehrfach coevaporiert. DMP (13.1 g, 30.9 mmol, **87%**) konnte als farbloser Feststoff erhalten werden.

Wegen der Instabilität des Produktes wurde auf eine vollständige Charakterisierung verzichtet. Zur Testung der oxidativen Eigenschaften erfolgte eine Testreaktion mit dem Hydroxyprolin-Derivat **85**. Dabei konnte ein vollständiger Umsatz nach 2 Tagen nachgewiesen werden.

### Synthese von Methyl-*N*-(triethylammoniumsulfonyl)carbamat (**BURGESS-Reagenz**)



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von P.R. SULTANE und C. W. BIELAWSKI.<sup>[215,216]</sup>

Eine Lösung aus Methyl(chlorosulfonyl)carbamate (16.0 g, 92.7 mmol, 1.0 eq.) in abs. Toluol (100 mL) wurde tropfenweise bei 0 °C innerhalb einer Stunde zu einer Lösung aus abs. Et<sub>3</sub>N (22.2 g, 30.4 mL, 220 mmol, 2.4 eq.) in abs. Toluol (40 mL) gegeben. Die Reaktionslösung wurde für 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich farbloser Niederschlag bildete. Zur Aufarbeitung wurde die Suspension filtriert und das Filtrat wurde mittels Vakuumdestillation konzentriert. Das gelbe Rohprodukt wurde in abs. THF (25 mL) kristallisiert. Die Kristallisationslösung wurde im Kalten filtriert und die hellgelben Kristalle wurden mit abs. Petrolether (20 mL) gewaschen. Das BURGESS-Reagenz (8.07 g, 33.9 mmol, 37 %) wurde in Form von beigefarbenen Kristallen erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*) δ: 3.69 (s, 3H, H-1), 3.47 (q, <sup>3</sup>J = 7.29 Hz, 6H, H-3), 1.41 (t, <sup>3</sup>J = 7.27 Hz, 9H, H-4) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*) δ: 158.4 (C-2), 53.4 (C-1), 50.6 (C-3), 11.7 (C-4) ppm.

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3473 (m), 2993 (w), 2979 (w), 1688 (s), 1453 (s), 1401 (s), 1241 (vs), 1091 (s), 855 (s), 598 (s).

HRMS (ESI<sup>+</sup>): m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 239.1060, gefunden = 239.1067;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 261.0879, gefunden = 261.0891.

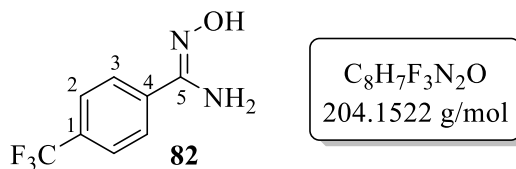
**Schmelzbereich:** 78.6-80.4 °C.

Die erhaltenen Daten stimmen mit den Daten aus der Literatur überein.<sup>[215]</sup>

## 5.5 Spezielle Synthesevorschriften und analytische Daten

### 5.5.1 Synthesen zur Darstellung der Zielverbindung Floxazathin (3)

#### Synthese von 4-(Trifluormethyl)benzamidoxim (82)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: 4-(Trifluormethyl)benzonitril (4.00 g, 23.4 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (3.58 g, 51.5 mmol, 2.2 eq.), Et<sub>3</sub>N (7.45 mL, 5.59 g, 55.2 mmol, 2.4 eq.) in EtOH (40 mL); 5 Stunden bei 80 °C; keine weitere Reinigung. 4-(Trifluormethyl)benzamidoxim (**82**) (4.67 g, 22.9 mmol, **98%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.33 (PE/EE = 4:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.75 (s, 1H, OH), 7.75 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-3), 7.66 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-2), 4.93 (s, 2H, -NH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 151.7 (C-5), 135.9 (C-4), 132.2 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 32.5 Hz, C-1), 126.4 (C-3), 125.8 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.7 Hz, C-2), 123.0 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 272.4 Hz, CF<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = -62.85 ppm.

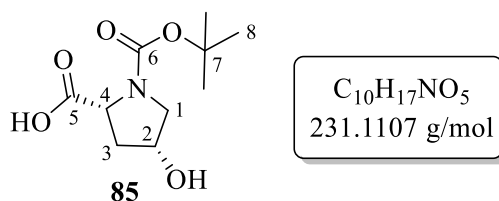
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3488 (w), 3364 (w), 3168 (m), 1664 (s), 1595 (s), 1439 (w), 1410 (w), 1322 (s), 1190 (w), 1157 (s), 1105 (vs), 1064 (vs), 974 (w), 925 (s), 839 (s), 745 (s), 689 (s), 629 (s), 599 (w), 563 (w), 435 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 205.0583, gefunden = 205.0589.

**Schmelzbereich:** 127.1-128.7 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[217]</sup>



**Synthese von (2*R*,4*R*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-4-hydroxyprolin (**85**)**

Von Verbindung **85** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.7\* vor.

Variante 1: Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von GU *et al.*<sup>[141]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurde *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (2.00 g, 15.3 mmol, 1.0 eq.) in THF:H<sub>2</sub>O (2:1, 30 mL) gelöst und mit festem NaOH (700 mg, 17.5 mmol, 1.1 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von Di-*tert*-butyldicarbonat (4.56 mL, 4.33 g, 19.8 mmol, 1.3 eq.) und das Reaktionsgemisch wurde für weitere 26 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Für die Aufarbeitung des Produktes wurde THF unter vermindertem Druck entfernt und der pH-Wert der wässrigen Phase mit HCl (37%ig) auf pH = 2 eingestellt. Anschließend wurde die wässrige Phase mit EE (5x je 50 mL) extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lsg. (50 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt **85** (3.38 g, 14.6 mmol, **95%**) wurde ohne weitere Reinigung als farbloser Feststoff erhalten.

Variante 2: Der Methyl ester **229** (100 mg, 408 μmol, 1.0 eq.) wurde unter Normalatmosphäre in MeOH:H<sub>2</sub>O (3:1, 4 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es erfolgte die portionsweise Zugabe von LiOH·H<sub>2</sub>O (86 mg, 2.04 mmol, 5.0 eq.) und die Reaktionslösung wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 5 Stunden wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde in H<sub>2</sub>O (2 mL) aufgenommen. Der pH-Wert der wässrigen Phase wurde mit HCl (37%ig) auf pH = 2 eingestellt und anschließend wurde die wässrige Phase mit EE (5x je 10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **85** (93 mg, 403 μmol, **99%**) konnte ohne weitere Reinigung als farbloser Feststoff erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.13 (PE:EE 1:1+4% AcOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 12.33 (br.s, 1H, -COOH), 4.92 (br.s, 1H, -OH), 4.24-4.15 (m, 1H, H-4), 4.12-3.99 (m, 1H, H-2), 3.49\* und 3.47 (dd, <sup>2</sup>*J* = 10.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.2 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 3.10\* und 3.08 (dd, <sup>2</sup>*J* = 10.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.1 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.33 und 2.29\* (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8.9 Hz, 5.7 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 1.85-1.77 (m, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.39\* und 1.34 (s, 9H, H-8) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (76 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 173.8 und 173.4\* (C-5), 153.5\* und 153.1 (C-6), 78.64\* und 78.60 (C-7), 68.5\* und 67.6 (C-4), 57.4 und 57.1\* (C-2), 54.1\* und 53.5 (C-1), 38.4 und 37.6\* (C-3), 28.1\* und 27.9 (C-8) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3440 (m), 2977 (w), 2878 (w), 1728 (m), 1668 (vs), 1477 (w), 1371 (vs), 1302 (m), 1253 (s), 1214 (m), 1162 (s), 1128 (s), 1089 (s), 971 (m), 902 (s), 847 (w), 768 (s), 606 (vs), 509 (w), 417 (w).

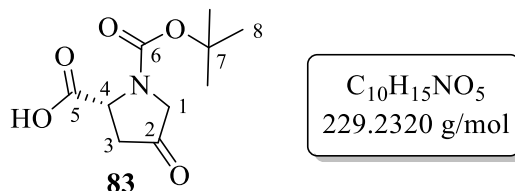
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 254.0999, gefunden = 254.1001.

**Schmelzbereich:** 140.2-141.7 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>18</sup>** = +46.3° (*c* 0.65, DMSO).

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[141]</sup>

### Synthese von (*R*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-4-oxopyrrolidin-2-carbonsäure (**83**)



Von Verbindung **83** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.9\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der Allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 2**.

Ansatzgröße: Pyrrolidin-Derivat **85** (3.01 g, 13.0 mmol, 1.0 eq.), TCC (2.27 g, 9.77 mmol, 0.75 eq.), EE (100 mL), 0 °C, TEMPO (103 mg, 659  $\mu$ mol, 5 mol%); 20 Minuten 0 °C, dann 1.5 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 1:2+1% AcOH). Das Produkt **83** (2.90 g, 12.7 mmol, **98%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.39 (PE:EE 2:1+4% AcOH).

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 12.91 (s, 1H, -COOH), 4.55\* und 4.52 (dd,  $^3J$  = 10.6 Hz, 2.5 Hz, 1H, H-4), 3.84\* und 3.80 (d,  $^2J$  = 18.4 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 3.68\* und 3.66 (d,  $^2J$  = 18.4 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 3.12 und 3.09\* (dd,  $^2J$  = 14.4 Hz,  $^3J$  = 10.9 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 2.53-2.46 (m, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.41\* und 1.39 (s, 9H, H-8) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 209.2\* und 208.6 (C-2), 173.5 und 173.3\* (C-5), 153.7\* und 153.2 (C-6), 79.83\* und 79.75 (C-7), 56.3 und 55.6\* (C-4), 52.6\* und 52.3 (C-1), 40.9 und 40.5\* (C-3), 28.0\* und 27.8 (C-8) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3388 (m), 3297 (w), 3178 (m), 2977 (w), 2869 (w), 1747 (m), 1667 (vs), 1473 (w), 1395 (vs), 1342 (w), 1308 (w), 1258 (w), 1192 (w), 1153 (s), 1125 (s), 1076 (m), 998 (w), 886 (w), 853 (m), 766 (m), 633 (m), 543 (w), 421 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 230.1023, gefunden = 230.0090;

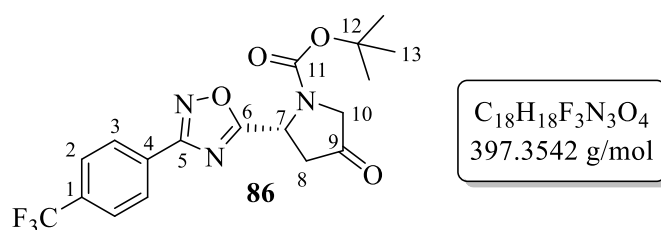
m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 252.0842, gefunden = 252.0849.

**Schmelzbereich:** 155.5-157.1 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18}$  = -12.1° (c 0.58, DMSO).

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[209]</sup>

**Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-4-oxo-2-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**86**)**



Von Verbindung **86** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.9\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (10 mL) auf -15 °C vorgelegt; Pyrrolidon **83** (420 mg, 1.83 mmol, 1 eq.), DCC (397 mg, 1.92 mmol, 1.1 eq.), DMAP (23 mg, 0.19 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **82** (394 mg, 1.93 mmol, 1.1 eq.) zugefügt; 5 Minuten bei -15 °C, dann 50 Minuten bei Raumtemperatur; getrocknetes Filtrat in Pyridin (15 mL) bei 115 °C für 30 Minuten; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1).

Das Produkt **86** (534 mg, 1.34 mmol, **73%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.49 (PE:EE 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.19 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-3), 7.75 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-2), 5.73\* und 5.60 (br.s, 1H, H-7), 4.10-3.99 (m, 2H, H-10), 3.17 (br.s, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.87-2.80 (m, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.48\* und 1.39 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 207.4 und 206.6\* (C-9), 179.5 und 179.2\* (C-6), 167.7 (C-5), 153.2 (C-11), 133.3 (C-4), 129.7 (C-1)<sup>(1)</sup>, 128.0 (C-3), 126.1 (C-2)<sup>(1)</sup>, 122.9 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 273.0 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(2)</sup>, 82.2 (C-12), 52.7\* und 52.2 (C-10), 50.8 und 50.4\* (C-7), 42.6 und 42.2\* (C-8), 28.4\* und 28.3 (C-13) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.06 ppm.

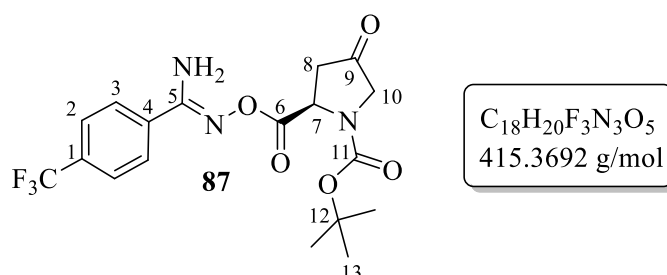
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3007 (w), 2939 (w), 1762 (s), 1697 (s), 1592 (w), 1540 (w), 1475 (w), 1395 (s), 1320 (s), 1268 (m), 1211 (w), 1157 (s), 1124 (vs), 1106 (vs), 1036 (m), 986 (w), 809 (s), 766 (s), 715 (s), 559 (m), 480 (m), 388 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 420.1142, gefunden = 420.1154.

**Schmelzbereich:** 145.5-147.0 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>18</sup>** = +23.9° (c 0.57, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von *tert*-Butyl-(*R,Z*)-2-(((amino(4-(trifluormethyl)phenyl)methylen)amino)-oxy)carbonyl)-4-oxopyrrolidin-1-carboxylat (**87**)**



Von Verbindung **87** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.9\* vor.

Die Synthese erfolgte nach dem ersten Schritt der Allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (3 mL) auf 0 °C vorgelegt; Pyrrolidon **83** (116 mg, 506  $\mu$ mol, 1 eq.), DCC (107 mg, 519  $\mu$ mol, 1.0 eq.), DMAP (8 mg, 0.07 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **82** (109 mg, 534  $\mu$ mol, 1.1 eq.) zugefügt; 50 Minuten bei 0 °C, dann 2 Stunden bei

<sup>(1)</sup> Keine Kopplungskonstante *J* ermittelbar. <sup>(2)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

Raumtemperatur; Entfernung Lösungsmittel unter vermindertem Druck; dann direkte säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 3:1 → 1:1). Das Produkt **87** (50 mg, 0.12 mmol, **24%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.14 (PE:EE 3:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 7.93 (d, 2H, <sup>3</sup>*J* = 8.3 Hz, H-3), 7.85 (d, 2H, <sup>3</sup>*J* = 8.3 Hz, H-2), 7.08 (br.s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.91-4.87 (m, 1H, H-7), 3.89-3.84 (m, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.81-3.76 (m, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.17\* und 3.14 (d, <sup>2</sup>*J* = 18.7 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.70\* und 2.64 (dd, <sup>2</sup>*J* = 18.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.9 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.43 und 1.38\* (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 207.9 und 207.4\* (C-9), 169.6 (C-6), 157.8 und 157.0\* (C-11), 154.9 (C-5), 134.3 (C-4), 133.2 (q, <sup>2</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 31.9 Hz, C-1)<sup>(1)</sup>, 127.4 (C-3), 125.8 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 3.5 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 122.8 (q, <sup>1</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 268.3 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 82.0 (C-12), 56.0\* und 55.0 (C-7), 52.9 und 52.7\* (C-10), 41.0 und 40.3\* (C-8), 28.4 und 28.3\* (C-13) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.00 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3451 (w), 3358 (m), 3213 (m), 2922 (w), 1931 (w), 1650 (s), 1586 (m), 1409 (m), 1321 (vs), 1172 (vs), 1127 (vs), 1064 (vs), 1014 (m), 926 (s), 843 (s), 763 (m), 677 (m), 562 (w), 451 (s).

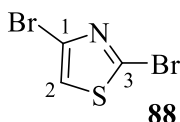
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 416.1428, gefunden = 416.1416;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 438.1247, gefunden = 438.1231.

**Schmelzbereich:** 56.7-58.7 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>19</sup>** = +10.8° (c 0.54, MeOH).

### Synthese von 2,4-Dibromthiazol (**88**)



$C_3HBr_2NS$ 242.9160 g/mol
--------------------------------

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von D. SIEGEL *et al.*<sup>[151]</sup>

Zu vorgetrocknetem Phosphorpentoxid (35.31 g, 124.4 mmol, 2.4 eq.) wurden 2,4-Thiazolidindion (5.996 g, 51.19 mmol, 1.0 eq.) und Tetrabutylammoniumbromid (34.83 g, 108.0 mmol, 2.1 eq.) gegeben und mit abs. Toluol (120 mL) versetzt.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

Die Suspension wurde für 24 Stunden bei 110 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung mit dest. H<sub>2</sub>O (120 mL) gequenchet und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit DCM (5x je 80 mL) extrahiert. Anschließend wurde die organische Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE:DCM 3:1). Als Produkt wurde 2,4-Dibromthiazol (**88**) (10.21 g, 42.03 mmol, **82%**) in Form eines farblosen Feststoffs erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.47 (PE/DCM = 3:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.21 (s, 1H, H-2) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 136.5 (C-3), 124.5 (C-1), 120.9 (C-2) ppm.

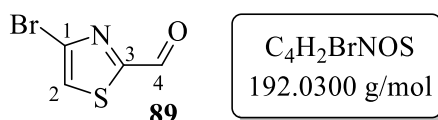
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3116 (m), 2749 (w), 1690 (w), 1452 (s), 1385 (m), 1252 (w), 1232 (m), 1071 (m), 1016 (vs), 871 (m), 813 (m), 740 (vs), 651 (w), 502 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 241.8269, gefunden = 241.8265.

**Schmelzbereich:** 80.4-82.0 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[152]</sup>

### Synthese von 4-Bromthiazol-2-carbaldehyd (**89**)



Die Synthese erfolgte nach einer Vorschrift von HOARAU *et al.*<sup>[153]</sup>

2,4-Dibromthiazol (**88**) (1.00 g, 4.12 mmol, 1.0 eq.) wurde in abs. THF (40 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. Tropfenweise erfolgte die Zugabe von <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (4.10 mL, 1.3 M in THF, 5.35 mmol, 1.3 eq.) und die Reaktionslösung wurde für 15 Minuten bei -78 °C weitergerührt. Anschließend wurde 4-Formylmorpholin (2.10 mL, 2.42 g, 21.0 mmol, 5.1 eq.) langsam über 6 Minuten zugegeben und die Kühlung nach 10 Minuten bei -78 °C auf 0 °C erwärmt. Nach 1.5 Stunden bei 0 °C wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lsg. (40 mL) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit DCM (4x je 50 mL) extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lsg. (2x je 60 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Eine

säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:DCM 3:1) führte zum Aldehyd **89** (642 mg, 3.35 mmol, **82%**) in Form eines blassgelben Feststoffes.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.22 (PE:DCM 3:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 9.94 (d, <sup>5</sup>J = 1.3 Hz, 1H, H-4), 7.67 (d, <sup>5</sup>J = 1.3 Hz, 1H, H-2) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (76 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.6 (C-4), 165.9 (C-3), 128.7 (C-1), 125.0 (C-2) ppm.

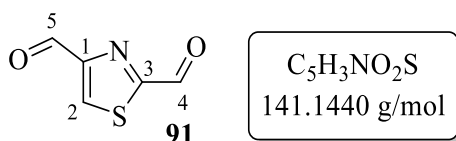
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3120 (m), 2875 (w), 1709 (w), 1671 (vs), 1550 (m), 1453 (s), 1385 (s), 1334 (m), 1261 (m), 1224 (vs), 1135 (w), 1086 (m), 898 (m), 843 (vs), 766 (s), 654 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 191.9113, gefunden = 191.9107.

**Schmelzbereich:** 68.1-69.7 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[153]</sup>

### Synthese von Thiazol-2,4-dicarbaldehyd (**91**)



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von D. HEPWORTH *et al.*<sup>[218]</sup>

2,4-Dibromthiazol (**88**) (1.05 g, 4.31 mmol, 1.0 eq.) wurde in abs. Et<sub>2</sub>O (15 mL) gelöst und auf -78 °C gekühlt. Anschließend erfolgte die Zugabe von *n*-BuLi (3.60 mL, 1.3 M in *n*-Hexan, 4.68 mmol, 1.1 eq.) tropfenweise und die Reaktionslösung wurde für 30 Minuten bei -78 °C weitergerührt. Im Anschluss wurde DMF (670  $\mu$ L, 630 mg, 8.62 mmol, 2.0 eq.) zugegeben und die Kühlung nach weiteren 20 Minuten entfernt. Nach einer weiteren Stunde bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lsg. (40 mL) beendet. Die wässrige Phase wurde mit Et<sub>2</sub>O (6x je 50 mL) extrahiert, die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:DCM 2:1  $\rightarrow$  DCM  $\rightarrow$  DCM+2%MeOH) gereinigt. Der doppelte Aldehyd **91** (19 mg, 135  $\mu$ mol, **3%**) konnte als hellgelber Feststoff isoliert werden. Ebenfalls konnte der Aldehyd **89** (187 mg, 974  $\mu$ mol, **23%**) als hellgelber Feststoff erhalten werden (Analytik siehe S.157).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.35 (DCM).

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 10.15 (s, 1H, H-5), 10.06 (d,  $^5J = 1.4$  Hz, 1H, H-4), 8.52 (d,  $^5J = 1.4$  Hz, 1H, H-2) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (76 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 184.5 (C-5), 183.5 (C-4), 166.8 (C-3), 156.6 (C-1), 132.0 (C-2) ppm.

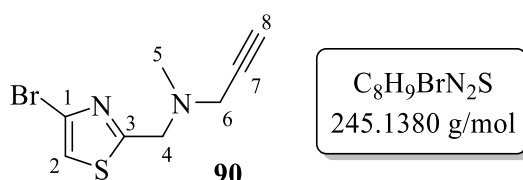
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3358 (w), 3091 (w), 3063 (m), 2876 (w), 1685 (vs), 1461 (w), 1443 (s), 1352 (w), 1225 (m), 1130 (s), 971 (s), 880 (m), 821 (w), 733 (vs), 698 (vs), 632 (vs), 506 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 141.9957, gefunden = 141.9949.

**Schmelzbereich:** 57.6-59.1 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[219]</sup>

### Synthese von *N*-((4-Bromthiazol-2-yl)methyl)-*N*-methylprop-2-yn-1-amin (**90**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4**.

Ansatzgröße: Aldehyd **89** (1.50 g, 7.81 mmol, 1.0 eq.), *N*-Methylpropargylamin (730  $\mu\text{L}$ , 594 mg, 8.59 mmol, 1.1 eq.) in abs. DCE (12 mL), nach 5 Minuten  $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$  (2.32 g, 10.9 mmol, 1.4 eq.); 60 Minuten bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 7:1). Das Produkt **90** (1.61 g, 6.55 mmol, **84%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Des Weiteren konnte Alkohol **92** (165 mg, 0.85 mmol, **11%**) als farblose Flüssigkeit isoliert werden (Analytik siehe S.176).

**$R_f$ -Wert** = 0.41 (PE/EE = 7:1).

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.19 (s, 1H, H-2), 3.92 (s, 2H, H-4), 3.45 (d,  $^4J = 2.2$  Hz, 2H, H-6), 2.44 (s, 3H, H-5), 2.28 (t,  $^4J = 2.4$  Hz, 1H, H-8) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 172.2 (C-3), 124.4 (C-1), 117.7 (C-2), 77.2 (C-7)<sup>(1)</sup>, 74.0 (C-8), 57.2 (C-4), 46.0 (C-6), 42.2 (C-5) ppm.

<sup>(1)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC-Spektrum entnommen.

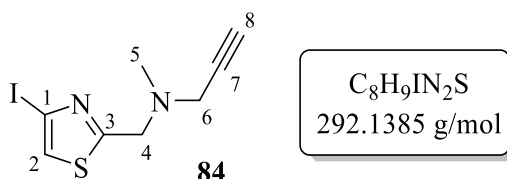


**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3234 (s), 3123 (m), 2931 (w), 2870 (w), 2803 (w), 2100 (w), 1482 (s), 1460 (m), 1429 (w), 1346 (m), 1303 (w), 1240 (m), 1182 (s), 1119 (m), 1081 (s), 1030 (s), 967 (m), 902 (s), 832 (s), 735 (s), 699 (vs), 589 (m), 462 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 244.9743, gefunden = 244.9741.

**Schmelzbereich:** 41.9-43.4 °C.

**Synthese von *N*-((4-Iodthiazol-2-yl)methyl)-*N*-methylprop-2-yn-1-amin (**84**)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**.

Ansatzgröße: Bromthiazol **90** (0.50 g, 2.1 mmol, 1.0 eq.), NaI (1.1 g, 7.6 mmol, 3.7 eq.), Cu(I)I (39 mg, 0.21 mmol, 0.1 eq.), *N,N*-Dimethylcyclohexan-1,2-diamin (64  $\mu$ L, 58 mg, 0.41 mmol, 0.2 eq.) in abs. 1,4-Dioxan (10 mL); 24 Stunden bei 110 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 7:1). Das Produkt **84** (0.4 g, 1.4 mmol, **70%**) wurde als eierschalenfarbener Feststoff erhalten. Des Weiteren konnte das dehalogenierte Thiazol **93** (43 mg, 0.3 mmol, **14%**) als hellgelbes Öl isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.34 (PE/EE = 7:1).

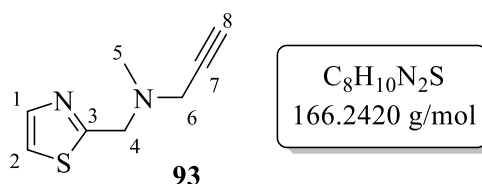
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.40 (s, 1H, H-2), 3.95 (s, 2H, H-4), 3.45 (d, <sup>4</sup>J = 2.3 Hz, 2H, H-6), 2.43 (s, 3H, H-5), 2.28 (t, <sup>4</sup>J = 2.3 Hz, 1H, H-8) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 173.2 (C-3), 124.4 (C-2), 93.2 (C-1), 78.0 (C-7), 73.9 (C-8), 57.0 (C-4), 46.1 (C-6), 42.1 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3302 (m), 3222 (s), 3054 (m), 2955 (m), 2802 (m), 2096 (m), 1849 (w), 1471 (s), 1424 (s), 1306 (w), 1265 (s), 1179 (vs), 1031 (s), 965 (s), 898 (s), 818 (s), 740 (s), 706 (vs), 671 (vs), 589 (m), 423 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 292.9604, gefunden = 292.9604.

**Schmelzbereich:** 63.0-64.9 °C.

**Analytik von *N*-Methyl-*N*-(thiazol-2-ylmethyl)prop-2-yn-1-amin (**93**)**

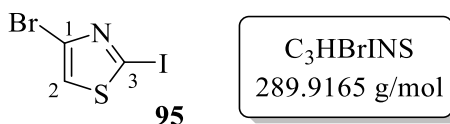
**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.26 (PE/EE = 4:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.71 (d, <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, 1H, H-1), 7.30 (d, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, 1H, H-2), 3.96 (s, 2H, H-4), 3.44 (d, <sup>4</sup>J = 2.2 Hz, 2H, H-6), 2.43 (s, 3H, H-5), 2.28 (t, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 1H, H-8) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.1 (C-3), 142.6 (C-1), 119.7 (C-2), 78.2 (C-7), 73.8 (C-8), 57.2 (C-4), 45.8 (C-6), 42.0 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3292 (m), 3080 (w), 2946 (m), 2796 (m), 1675 (w), 1504 (s), 1351 (m), 1263 (m), 1119 (s), 1032 (vs), 948 (w), 840 (w), 724 (s), 638 (vs), 498 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 167.0637, gefunden = 167.0615.

**Synthese von 2-Iod-4-Bromthiazol (**95**)**

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von M. BAO *et al.*<sup>[160]</sup>

Bromthiazol **88** (202 mg, 832  $\mu$ mol, 1.0 eq.), KI (411 mg, 2.48 mmol, 3.0 eq.), Cu<sub>2</sub>O (13 mg, 91  $\mu$ mol, 0.1 eq.) und L-Prolin (21 mg, 0.18 mmol, 0.2 eq.) wurden in abs. EtOH (1 mL) gelöst und bei 110 °C für 25 Stunden gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung direkt säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:DCM 7:1) gereinigt. Das Produkt **95** (62 mg, 0.21 mmol, **25%** (brsm: 31%)) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Zudem wurde Bromthiazol **88** (40 mg, 0.16 mmol, 19%) reisoliert.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.48 (PE/DCM = 3:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.23 (s, 1H, H-2) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 125.6 (C-1), 123.4 (C-2), 100.1 (C-3) ppm.

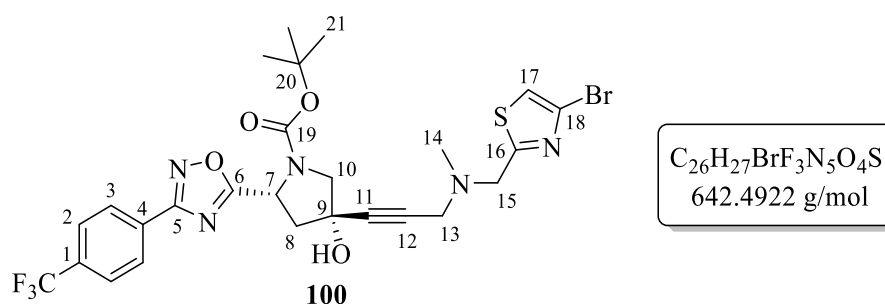
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3164 (s), 2921 (m), 2703 (m), 2291 (w), 1730 (w), 1643 (w), 1485 (s), 1361 (s), 1250 (s), 1067 (s), 984 (vs), 810 (s), 736 (vs), 650 (m), 507 (w), 424 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 289.8131, gefunden = 289.8120.

**Schmelzbereich:** 77.2-79.1 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt.<sup>[161]</sup> Es wurden keine analytischen Daten veröffentlicht.

**Synthese von tert-Butyl-(2R,4S)-4-(3-(((4-bromthiazol-2-yl)methyl)(methyl)amino)prop-1-yn-1-yl)-4-hydroxy-2-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**100**)**



Von Verbindung **100** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.7\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Bromthiazol **90** (50 mg, 0.20 mmol, 1.0 eq.), abs. THF (2 mL), -78 °C, <sup>t</sup>PrMgCl·LiCl (170 µL, 1.3 M in THF, 223 µmol, 1.1 eq.), 60 Minuten bei -78 °C, anschließend 24 Stunden bei Raumtemperatur, stagnierende Intermediatsausbildung; wieder auf -78 °C gekühlt, dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (68 mg, 0.17 mmol, 0.9 eq.) gelöst in abs. THF (1 mL) 30 Minuten bei -78 °C, dann 3 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 3:1 → 1:1). Das Produkt **100** (26 mg, 40 µmol, **20%** (brsm: 27%)) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Zudem konnte Bromthiazol **90** (13 mg, 53 µmol, 27%) reisoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.32 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.18 und 8.15\* (d, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H-3), 7.74 und 7.71\* (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-2), 7.20 (s, 1H, H-17), 5.32\* und 5.22 (d, <sup>3</sup>J = 9.2 Hz, 1H, H-7), 4.20 (br.s, 1H, -OH), 3.97-3.89 (m, 3H, H-10<sub>a</sub>, H-15), 3.84 und 3.77\* (d, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.49 (s, 2H, H-13), 2.81 und 2.77\* (dd, <sup>2</sup>J = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.64 und 2.60\* (d, <sup>2</sup>J = 13.2 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.43 (s, 3H, H-14), 1.47\* und 1.33 (s, 9H, H-21) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 181.2 und 181.0\* (C-6), 171.8\* und 171.7 (C-16), 167.3 und 167.2\* (C-5), 154.1\* und 153.1 (C-19), 133.3 (q,  $^2J_{\text{C,F}} = 33.6$  Hz, C-1)<sup>(1)</sup>, 129.9\* und 129.7 (C-4), 128.0\* und 127.96 (C-3), 126.1 und 126.0\* (q,  $^3J_{\text{C,F}} = 4.0$  Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 124.4 (C-18), 122.9 (q,  $^1J_{\text{C,F}} = 273.5$  Hz,  $\text{CF}_3$ )<sup>(1)</sup>, 117.8 (C-17), 85.0 und 84.8\* (C-11), 81.62 und 81.59\* (C-20), 79.8 und 79.7\* (C-12), 72.3\* und 71.3 (C-9), 61.0\* und 60.5 (C-10), 57.24\* und 57.21 (C-15), 53.0 und 52.9\* (C-7), 46.1 und 46.0\* (C-8), 45.3 (C-13), 42.4 (C-14), 28.5\* und 28.3 (C-21) ppm.

**$^{19}\text{F-NMR}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = -63.01\* und -63.04 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3391 (w), 2926 (w), 1697 (m), 1593 (w), 1542 (w), 1485 (w), 1367 (s), 1321 (m), 1246 (vs), 1165 (m), 1123 (s), 1080 (s), 1035 (s), 967 (w), 888 (m), 852 (m), 729 (s), 647 (w), 553 (w), 417 (w).

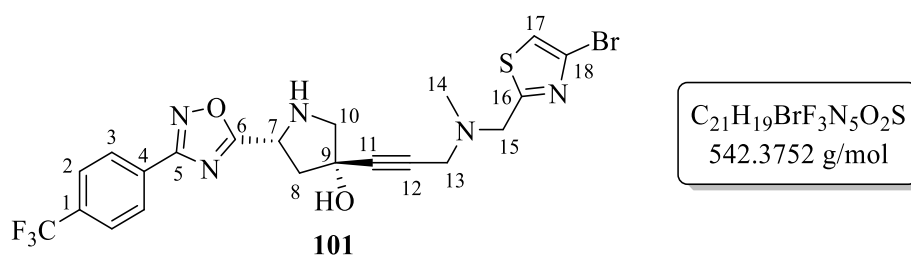
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 642.0992, gefunden = 642.0994;

m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 664.0811, gefunden = 664.0814.

**Schmelzbereich:** 62.7-64.2 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +12.6^\circ$  (c 1.23,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Synthese von (3S,5R)-3-(3-(((4-Bromthiazol-2-yl)methyl)(methyl)amino)prop-1-yn-1-yl)-5-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-3-ol (101)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

**Ansatzgröße:** Die invers verknüpfte Verbindung **100** (34 mg, 53  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), DCM (5 mL), 0 °C, TFA (0.5 mL, 75 mg, 6.5 mmol, 130 eq.); 5 Minuten bei 0 °C, dann 5 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 1:5). Das Produkt **101** (15 mg, 28  $\mu\text{mol}$ , **53%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.35 (PE:EE 1:5).

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.19 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-3), 7.73 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-2), 7.21 (s, 1H, H-17), 4.72 (dd, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 4.5 Hz, 1H, H-7), 3.92 (s, 2H, H-15), 3.49 (s, 2H, H-13), 3.38 (dd, <sup>2</sup>J = 11.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.23 (d, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.49 (s, 2H, H-13), 2.72 (dd, <sup>2</sup>J = 13.9 Hz, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.57 (ddd, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, <sup>3</sup>J = 4.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.44 (s, 3H, H-14) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 181.5 (C-6), 171.9 (C-16), 167.3 (C-5), 133.3 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 33.7 Hz, C-1)<sup>(2)</sup>, 130.0 (C-4), 128.0 (C-3), 126.0 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 4.0 Hz, C-2), 124.3 (C-18), 123.0 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 273.3 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(2)</sup>, 117.8 (C-17), 86.2 (C-11), 79.6 (C-12), 73.3 (C-9), 61.8 (C-10), 57.2 (C-15), 53.9 (C-7), 47.1 (C-8), 46.1 (C-13), 42.4 (C-14) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.01 ppm.

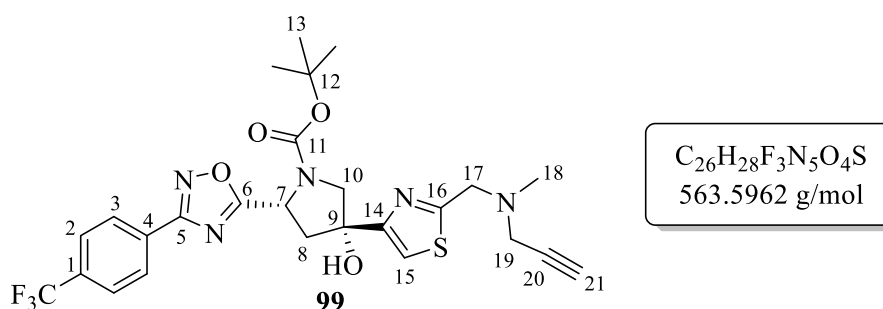
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3317 (w), 2922 (m), 2799 (w), 1594 (w), 1542 (w), 1462 (w), 1417 (m), 1364 (w), 1321 (vs), 1216 (w), 1167 (m), 1122 (s), 1080 (s), 1034 (m), 967 (w), 852 (m), 752 (s), 665 (w), 596 (w), 464 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 542.0468, gefunden = 542.0474;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 564.0287, gefunden = 564.0283.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18}$  = -27.1° (c 0.74, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von tert-Butyl-(2R,4R)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)-methyl)thiazol-4-yl)-2-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (99)**



Von Verbindung **99** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

**Variante 1:** Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (100 mg, 342  $\mu$ mol, 1.0 eq.), abs. THF (3 mL), -78 °C, <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (320  $\mu$ L, 1.3 M in THF, 416  $\mu$ mol, 1.2 eq.), 30 Minuten bei -78 °C,

<sup>(1)</sup> Die Signale für -NH und -OH sind nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

dann Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (136 mg, 342  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (2 mL); 45 Minuten bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , dann 21 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 4:1  $\rightarrow$  2:1). Das *gemergede* Produkt **99** (71 mg, 126  $\mu\text{mol}$ , **37%** (brsm: 46%)) wurde als farbloses Öl erhalten. Zudem konnte Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (28 mg, 70  $\mu\text{mol}$ , 21%) reisoliert und dehalogeniertes Thiazol **93** (10 mg, 60  $\mu\text{mol}$ , **18%**) isoliert werden (Analytik siehe S.160).

Variante 2: Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 9**.

Ansatzgröße: *Gemergede* Verbindung **113** (14mg, 22  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), THF (2 mL), TBAF-Lsg. (50  $\mu\text{L}$ , 1 M in THF, 50  $\mu\text{mol}$ , 2.3 eq.); 24 Stunden bei Raumtemperatur; TBAF-Lsg. (50  $\mu\text{L}$ , 1 M in THF, 50  $\mu\text{mol}$ , 2.3 eq.) nachgegeben; 80 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1). Das Produkt **99** (9 mg, 16  $\mu\text{mol}$ , **73%**) konnte als farbloses Öl erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.06 (PE:EE 4:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.20 und 8.18\* (d, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 2H, H-3), 7.76 und 7.73\* (d, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 2H, H-2), 7.39\* und 7.38 (s, 1H, H-15), 5.40\* und 5.29 (d, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H-7), 5.06 und 4.99\* (br.s, 1H, -OH), 4.12 und 4.07\* (d, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.95 und 3.87 (dd, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz, <sup>4</sup>J = 1.8 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.92\* und 3.91 (s, 2H, H-17), 3.47\* und 3.45 (d, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 2H, H-19), 3.22 und 3.18\* (dd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.45\* und 2.44 (s, 3H, H-18), 2.38 (d, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>)<sup>(1)</sup>, 2.29\* und 2.28 (t, <sup>4</sup>J = 2.3 Hz, 1H, H-21), 1.44\* und 1.35 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.3 und 182.1\* (C-6), 170.9\* und 170.7 (C-16), 167.2\* und 167.1 (C-5), 156.6 (C-14), 153.3 (C-11), 133.3 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 33.4 Hz, C-1)<sup>(2)</sup>, 129.8 und 129.5 (C-4), 128.1 und 128.0 (C-3), 126.1 und 126.0 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.7 Hz, C-2)<sup>(2)</sup>, 122.9 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 268.8 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(2)</sup>, 115.7 (C-15), 81.4\* und 81.3 (C-12), 80.4\* und 79.4 (C-9), 78.0 und 77.9\* (C-20), 74.0\* und 73.9 (C-21), 60.6\* und 60.0 (C-10), 57.18\* und 57.15 (C-17), 53.2 und 53.0\* (C-7), 45.93\* und 45.88 (C-19), 44.7 und 43.90\* (C-8), 42.09\* und 42.06 (C-18), 28.5\* und 28.3 (C-13) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.01\* und -63.05 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3401 (w), 3298 (w), 2975 (m), 2797 (w), 1698 (m), 1593 (m), 1478 (w), 1391 (m), 1321 (vs), 1255 (w), 1165 (m), 1121 (s), 1064 (s), 1016 (w), 947 (w), 852 (m), 764 (m), 653 (w), 595 (w), 440 (w).

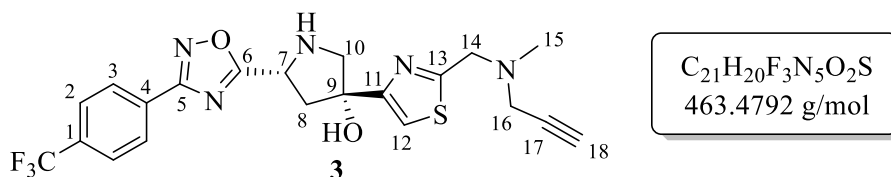
<sup>(1)</sup> Das andere Rotamersignal liegt unter dem Signal von H-18. <sup>(2)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 564.1887, gefunden = 564.1891;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 586.1706, gefunden = 586.1731.

$[\alpha]_D^{21} = -10.9^\circ$  (c 1.07, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von (3R,5R)-3-(2-((Methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-5-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-3-ol (3)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: *Gemergedes* Produkt **99** (22 mg, 39 μmol, 1.0 eq.), DCM (2.2 mL), 0 °C, TFA (0.22 mL, 0.33 g, 2.9 mmol, 74 eq.); 20 Minuten bei 0 °C, dann 5.5 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt Floxazathin (**3**) (11 mg, 24 μmol, **62%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**Rf-Wert** = 0.12 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.22 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H-3), 7.74 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-2), 7.32 (s, 1H, H-12), 4.87 (dd, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 3.3 Hz, 1H, H-7), 3.92 (s, 2H, H-14), 3.56 (d, <sup>2</sup>J = 11.1 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.47 (d, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 2H, H-16), 3.38 (dd, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.03 (dd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.52 (ddd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.45 (s, 3H, H-15), 2.29 (t, <sup>4</sup>J = 2.5 Hz, 1H, H-18) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 182.5 (C-6), 170.7 (C-13), 167.3 (C-5), 158.1 (C-11), 133.1 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 32.5 Hz, C-1)<sup>(2)</sup>, 130.0 (C-4), 128.1 (C-3), 126.0 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.8 Hz, C-2)<sup>(2)</sup>, 123.0 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 267.3 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(2)</sup>, 114.5 (C-12), 81.2 (C-9), 78.1 (C-17), 73.9 (C-18), 60.9 (C-10), 57.2 (C-14), 53.9 (C-7), 45.9 (C-16), 45.8 (C-8), 42.1 (C-15) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = -63.00 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3305 (w), 2924 (m), 2852 (w), 2800 (w), 1723 (w), 1667 (w), 1593 (w), 1541 (w), 1443 (m), 1320 (vs), 1261 (w), 1166 (m), 1121 (s), 1106 (m), 1064 (s), 1016 (m), 907 (w), 852 (m), 717 (m), 661 (w), 596 (w), 465 (w).

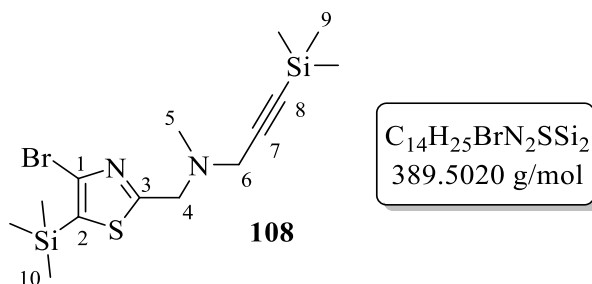
<sup>(1)</sup> Die Signale für -OH und -NH sind nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 464.1363, gefunden = 464.1360;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 486.1182, gefunden = 486.1190.

$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -43.9^{\circ}$  (c 0.26, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von *N*-((4-Brom-5-(trimethylsilyl)thiazol-2-yl)methyl)-*N*-methyl-3-(trimethylsilyl)prop-2-yn-1-amin (**108**)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8**.

Ansatzgröße: Bromthiazol **90** (96 mg, 0.39 mmol, 1.0 eq.), abs. THF (3 mL), -78 °C, *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan, 0.23 mL, 0.37 mmol, 1.0 eq.); 3.5 Stunden bei -78 °C; Zugabe TMSCl (50 µL, 43 mg, 0.39 mmol, 1.0 eq.) 30 Minuten bei -78 °C, dann 2 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 20:1 → 10:1 → EE). Das Produkt **108** (26 mg, 67 µmol, **17%**) wurde als hellgelber Feststoff erhalten. Des Weiteren konnten das einfach silylierte Thiazol **106** (24 mg, 76 µmol, **19%**, Analytik siehe S.169) und das einfach silylierte und protonierte Thiazol **109** (17 mg, 71 µmol, **18%**, Analytik siehe S.167) als gelbe Flüssigkeiten isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.38 (PE:EE 20:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 3.90 (s, 2H, H-4), 3.46 (s, 2H, H-6), 2.41 (s, 3H, H-5), 0.39 (s, 9H, H-10), 0.17 (s, 9H, H-9) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 175.0 (C-3), 130.2 (C-1), 128.9 (C-2), 100.1 (C-7), 91.0 (C-8), 57.1 (C-4), 47.3 (C-6), 42.2 (C-5), 0.2 (C-9), -1.03 (C-10) ppm.

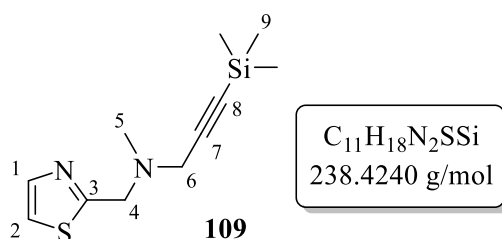
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2952 (m), 2844 (w), 2787 (w), 2166 (w), 1486 (m), 1417 (m), 1345 (m), 1310 (w), 1250 (s), 1190 (s), 1122 (m), 1039 (s), 1012 (s), 948 (w), 830 (vs), 755 (s), 700 (m), 675 (s), 543 (m), 433 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 389.0533, gefunden = 389.0544.



**Schmelzbereich:** 58.2-59.8 °C.

**Synthese von *N*-methyl-*N*-(thiazol-2-ylmethyl)-3-(trimethylsilyl)prop-2-yn-1-amin (**109**)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (119 mg, 408 µmol, 1.0 eq.), abs. THF (3 mL), -78 °C, <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (1.3 M in THF, 330 µL, 429 µmol, 1.1 eq.); 30 Minuten bei -78 °C; Zugabe TMSCl (60 µL, 51 mg, 0.47 mmol, 1.2 eq.) 10 Minuten bei -78 °C, dann 30 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 20:1 → 10:1 → EE). Das Thiazol **109** (58 mg, 0.24 mmol, **60%**) wurde als hellgelbe Flüssigkeit erhalten. Des Weiteren konnten das doppelt silylierte Thiazol **111** (14 mg, 45 µmol, **11%**) und das Thiazol **110** (5 mg, 16 µmol, **4%**) als hellgelbe Flüssigkeiten isoliert werden (Analytik siehe S.168).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.28 (PE:EE 10:1).

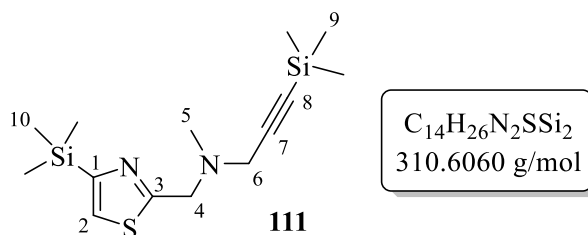
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.71 (d, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, 1H, H-1), 7.29 (d, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, 1H, H-2), 3.94 (s, 2H, H-4), 3.46 (s, 2H, H-6), 2.40 (s, 3H, H-5), 0.18 (s, 9H, H-9) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.4 (C-3), 142.5 (C-1), 119.6 (C-2), 100.3 (C-7), 90.8 (C-8), 57.3 (C-4), 47.05 (C-6), 41.92 (C-5), 0.18 (C-9) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3081 (w), 2957 (m), 2795 (w), 2164 (w), 1609 (m), 1505 (w), 1448 (w), 1323 (s), 1248 (m), 1144 (m), 1036 (m), 981 (s), 837 (vs), 758 (s), 699 (m), 601 (w), 459 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 239.1033, gefunden = 239.1035.

### Analytik von *N*-Methyl-3-(trimethylsilyl)-*N*-((4-(trimethylsilyl)thiazol-2-yl)methyl)prop-2-yn-1-amin (**111**)



**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.47 (PE:EE 20:1).

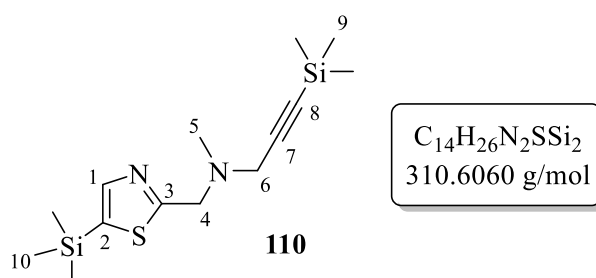
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.40 (s, 1H, H-2), 3.97 (s, 2H, H-4), 3.46 (s, 2H, H-6), 2.41 (s, 3H, H-5), 0.31 (s, 9H, H-10), 0.18 (s, 9H, H-9) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 171.2 (C-3), 160.3 (C-1), 126.4 (C-2), 100.7 (C-7), 90.6 (C-8), 57.4 (C-4), 47.2 (C-6), 42.0 (C-5), 0.2 (C-9), -1.06 (C-10) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2956 (m), 2795 (w), 2164 (w), 1643 (w), 1420 (w), 1323 (w), 1248 (s), 1179 (m), 1038 (m), 913 (m), 837 (vs), 752 (s), 698 (m), 624 (w), 387 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 311.1428, gefunden = 311.1410.

### Synthese von *N*-Methyl-3-(trimethylsilyl)-*N*-((5-(trimethylsilyl)thiazol-2-yl)methyl)prop-2-yn-1-amin (**110**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 9**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (120 mg, 411  $\mu$ mol, 1.0 eq.), abs. THF (3 mL), -78 °C, *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan, 270  $\mu$ L, 432  $\mu$ mol, 1.1 eq.); 25 Minuten bei -78 °C; Zugabe TMSCl (60  $\mu$ L, 51 mg, 0.47 mmol, 1.1 eq.) 30 Minuten bei -78 °C, dann 5.5 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 20:1  $\rightarrow$  10:1  $\rightarrow$  5:1). Das Produkt **110** (17 mg, 54  $\mu$ mol, **13%**) konnte als farblose Flüssigkeit erhalten werden. Des Weiteren konnte das Thiazol **109** (16 mg, 67  $\mu$ mol, **16%**) als hellgelbe Flüssigkeiten isoliert werden (Analytik siehe S.167).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.23 (PE:EE 20:1).

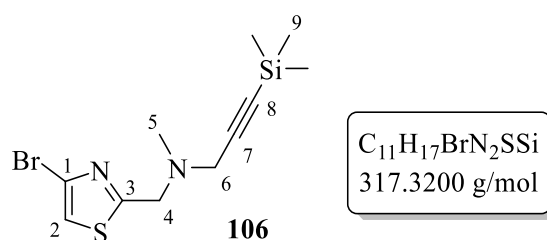
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.70 (s, 1H, H-1), 3.96 (s, 2H, H-4), 3.47 (s, 2H, H-6), 2.41 (s, 3H, H-5), 0.32 (s, 9H, H-10), 0.18 (s, 9H, H-9) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 174.6 (C-3), 148.2 (C-1), 133.5 (C-2), 100.4 (C-7), 90.8 (C-8), 57.2 (C-4), 47.1 (C-6), 42.0 (C-5), 0.2 (C-9), 0.1 (C-10) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2956 (m), 2795 (w), 2164 (w), 1611 (w), 1504 (w), 1427 (w), 1323 (w), 1248 (s), 1147 (w), 1023 (s), 982 (s), 835 (vs), 756 (s), 697 (m), 627 (w), 526 (w), 403 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 311.1428, gefunden = 311.1443.

**Synthese von N-((4-Bromthiazol-2-yl)methyl)-N-methyl-3-(trimethylsilyl)prop-2-yn-1-amin (106)**



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von SHAW *et al.*<sup>[167]</sup>

Bromthiazol **90** (760 mg, 3.10 mmol, 1 eq.) und Zinktriflat (59 mg, 0.16 mmol, 5 mol%) wurden in abs. DCM (15 mL) suspendiert. Es erfolgte die Zugabe von Et<sub>3</sub>N (650  $\mu$ L, 475 mg, 4.69 mmol, 1.5 eq.) und Trimethylsilyltriflat (850  $\mu$ L, 1.05 g, 4.70 mmol, 1.5 eq.) und die Reaktionslösung wurde für 17 Stunden bei 35 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lsg. (20 mL) beendet und die wässrige Phase wurde mit DCM (5x je 30 mL) extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:EE 10:1) gereinigt. Das Produkt **106** (950 mg, 2.99 mmol, **96%**) wurde als hellgelbe Flüssigkeit erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.27 (PE:EE 20:1).

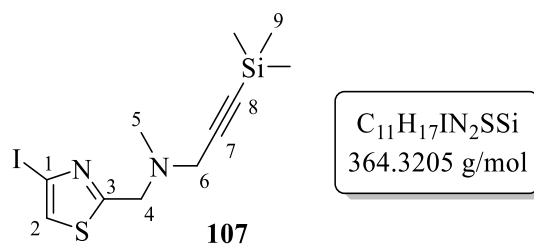
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.19 (s, 1H, H-2), 3.91 (s, 2H, H-4), 3.46 (s, 2H, H-6), 2.42 (s, 3H, H-5), 0.17 (s, 9H, H-9) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 172.4 (C-3), 124.3 (C-1), 117.6 (C-2), 100.0 (C-7), 91.1 (C-8), 57.2 (C-4), 47.2 (C-6), 42.1 (C-5), 0.2 (C-9) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2956 (w), 2796 (w), 2166 (w), 1486 (m), 1348 (w), 1247 (s), 1180 (m), 1122 (m), 1036 (m), 982 (s), 838 (s), 758 (s), 640 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 317.0138, gefunden = 317.0147.

**Synthese von N-((4-Iodthiazol-2-yl)methyl)-N-methyl-3-(trimethylsilyl)prop-2-yn-1-amin (107)**



Variante 1: Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von SHAW *et al.*<sup>[167]</sup>

Iodthiazol **84** (400 mg, 1.37 mmol, 1 eq.) und Zinktriflat (51 mg, 0.14 mmol, 0.1 eq.) wurden in abs. DCM (8 mL) suspendiert. Es erfolgte die Zugabe von Et<sub>3</sub>N (290  $\mu$ L, 212 mg, 2.09 mmol, 1.5 eq.) und Trimethylsilyltriflat (380  $\mu$ L, 467 mg, 2.10 mmol, 1.5 eq.) und die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei 35 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lsg. (10 mL) beendet und die wässrige Phase wurde mit DCM (5x je 15 mL) extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:EE 10:1) gereinigt. Das Produkt **107** (470 mg, 1.29 mmol, **94%**) wurde als gelbe Flüssigkeit erhalten.

Variante 2: Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**.

Ansatzgröße: Bromthiazol **106** (412 mg, 1.30 mmol, 1.0 eq.), NaI (726 mg, 4.84 mmol, 3.7 eq.), Cu(I)I (29 mg, 0.15 mmol, 0.1 eq.), *N,N*-Dimethylcyclohexan-1,2-diamin (40  $\mu$ L, 36 mg, 0.26 mmol, 0.2 eq.) in abs. 1,4-Dioxan (8 mL); 20 Stunden bei 110 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 7:1). Das Produkt **107** (408 mg, 1.12 mmol, **86%**) wurde als gelbe Flüssigkeit erhalten. Des Weiteren konnte das dehalogenierte Thiazol **109** (12 mg, 50  $\mu$ mol, **4%**) als gelbe Flüssigkeit isoliert werden (Analytik siehe S.167).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.36 (PE:EE 20:1).

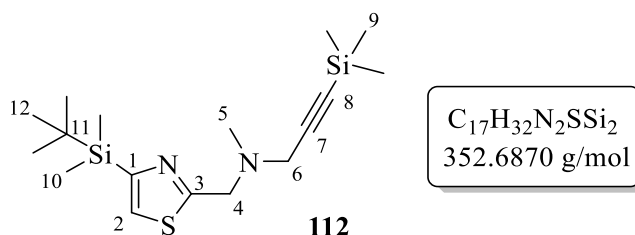
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.39 (s, 1H, H-2), 3.93 (s, 2H, H-4), 3.46 (s, 2H, H-6), 2.41 (s, 3H, H-5), 0.18 (s, 9H, H-9) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 173.5 (C-3), 124.4 (C-2), 100.1 (C-7), 93.2 (C-1), 91.0 (C-8), 57.1 (C-4), 47.2 (C-6), 42.1 (C-5), 0.2 (C-9) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2955 (w), 2795 (w), 2166 (w), 1478 (m), 1424 (w), 1348 (w), 1324 (w), 1248 (s), 1177 (m), 1121 (m), 1038 (m), 981 (s), 838 (s), 758 (s), 641 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 364.9999, gefunden = 365.0038.

**Synthese von *N*-((4-(*tert*-Butyldimethylsilyl)thiazol-2-yl)methyl)-*N*-methyl-3-(trimethylsilyl)prop-2-yn-1-amin (112)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **107** (60 mg, 0.16 mmol, 1.0 eq.), abs. THF (2 mL),  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , *n*-BuLi (1.6 M in *n*-Hexan, 0.11 mL, 0.18 mmol, 1.1 eq.); 15 Minuten bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ ; Zugabe TBSCl (27 mg, 0.18 mmol, 1.1 eq.) 15 Minuten bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , dann 22 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 10:1). Das Produkt **112** (17 mg, 48  $\mu\text{mol}$ , **30%**) konnte als gelber Feststoff erhalten werden.

**$R_f$ -Wert** = 0.63 (PE:EE 10:1).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.71 (s, 1H, H-2), 3.96 (s, 2H, H-4), 3.48 (s, 2H, H-6), 2.41 (s, 3H, H-5), 0.91 (s, 9H, H-12), 0.29 (s, 6H, H-10), 0.18 (s, 9H, H-9) ppm.

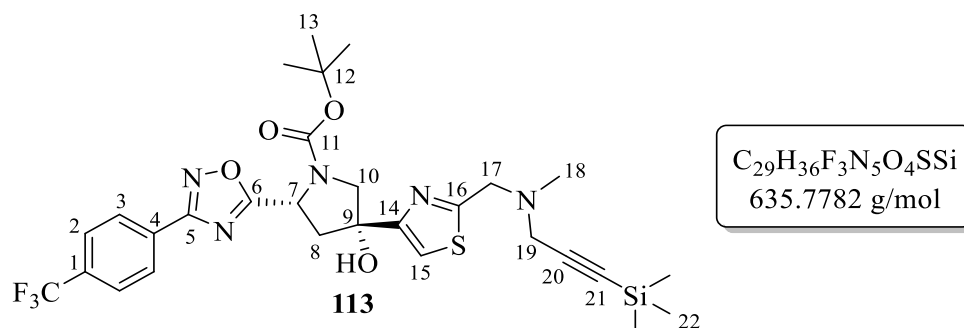
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 174.7 (C-3), 149.3 (C-1), 100.3 (C-7), 90.8 (C-8), 57.2 (C-4), 47.1 (C-6), 42.0 (C-5), 26.4 (C-12), 16.8 (C-11), 0.2 (C-9), -4.68 (C-10) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3069 (m), 2952 (m), 2803 (m), 2165 (w), 1503 (m), 1468 (m), 1345 (w), 1246 (s), 1173 (m), 1118 (m), 1032 (s), 968 (w), 832 (vs), 820 (s), 805 (vs), 700 (m), 652 (m), 617 (m), 577 (w), 441 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 353.1897, gefunden = 353.1913.

**Schmelzbereich:** 43.4-45.3  $^\circ\text{C}$ .

**Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(3-(trimethylsilyl)prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-2-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**113**)**



Von Verbindung **113** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.5\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **107** (245 mg, 672  $\mu$ mol, 1.0 eq.), abs. THF (4 mL),  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $^i\text{PrMgCl}\cdot\text{LiCl}$  (640  $\mu$ L, 1.3 M in THF, 832  $\mu$ mol, 1.2 eq.), 15 Minuten bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (273 mg, 687  $\mu$ mol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL); 60 Minuten bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , dann 44 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1). Das *gemergede* Produkt **113** (60 mg, 94  $\mu$ mol, **14%** (brsm: 15%)) wurde als gelblicher Feststoff erhalten.

***R<sub>f</sub>*-Wert** = 0.38 (PE:EE 2:1).

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 8.23-8.21 (m, 2H, H-3), 7.76 und 7.73\* (d,  $^3J$  = 8.0 Hz, 2H, H-2), 7.24 (s, 1H, H-15), 5.48\* und 5.40 (dd,  $^3J$  = 9.3 Hz, 7.8 Hz, 1H, H-7), 4.05 und 4.01\* (d,  $^2J$  = 11.6 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.96 (d,  $^2J$  = 11.6 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>)<sup>(1)</sup>, 3.88 (s, 2H, H-17), 3.46 (d, 2H, H-19), 3.10 (br.s, 1H, -OH), 2.74-2.68 (m, 2H, H-8<sub>a</sub>, H-8<sub>b</sub>), 2.41 (s, 3H, H-18), 1.45\* und 1.28 (s, 9H, H-13), 0.18 (s, 9H, H-22) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 182.2 und 180.9\* (C-6), 171.8 und 171.5\* (C-16), 167.7 und 167.5\* (C-5), 156.4\* und 156.3 (C-14), 153.7\* und 152.9 (C-11), 133.3 (C-1)<sup>(2)</sup>, 130.4 (C-4)<sup>(2)</sup>, 128.04\* und 127.96 (C-3)<sup>(3)</sup>, 126.1 und 125.9\* (C-2)<sup>(3)</sup>, 121.9 ( $\text{CF}_3$ )<sup>(3)</sup>, 114.6 (C-15), 100.1 (C-20), 91.0 (C-21), 81.2 (C-12), 77.9 (C-9), 59.5\* und 58.9 (C-10), 57.2 (C-17), 53.6 (C-7), 47.1 (C-19), 45.9 (C-8), 42.1 (C-18), 28.5\* und 28.2 (C-13), 0.19 (C-22) ppm.

**$^{19}\text{F-NMR}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = -62.96\* und -63.01 ppm.

<sup>(1)</sup>Das andere Rotamersignal liegt unter H-10<sub>a</sub>. <sup>(2)</sup>Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen. <sup>(3)</sup>Keine Kopplungskonstante *J* ermittelbar.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2958 (w), 1757 (m), 1698 (s), 1392 (s), 1366 (s), 1249 (m), 1204 (m), 1168 (s), 1128 (s), 1098 (s), 1040 (m), 982 (m), 841 (s), 760 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 636.2282, gefunden = 636.2268;

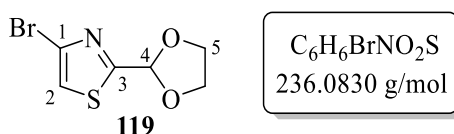
m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{K}]^+$  = 674.1841, gefunden = 674.1821.

**Schmelzbereich:** 59.0-60.9 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{19}$  = -3.3° (c 0.48,  $\text{CHCl}_3$ ).

### 5.5.2 Synthesen zur Derivatisierung am Thiazol-Gerüst

#### Synthese von 4-Brom-2-(1,3-dioxolan-2-yl)thiazol (**119**)



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Patentvorschrift von HAMANN *et al.*<sup>[220]</sup>

Aldehyd **89** (2.00 g, 10.4 mmol, 1.0 eq.) wurde in abs. Toluol gelöst (40 mL) und Ethylenglykol (930  $\mu\text{L}$ , 1.04 g, 16.7 mmol, 1.6 eq.) und Camphersulfonsäure (727 mg, 3.13 mmol, 0.3 eq.) wurden zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 22 Stunden bei 115 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur gekühlt und durch die Zugabe von NaOH-Lsg. (2 M, 20 mL) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase wurde mit  $\text{H}_2\text{O}$  (2x je 20 mL) gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Durch säulenchromatographische Reinigung des Rohproduktes an Kieselgel (PE:EE 5:1  $\rightarrow$  4:1) konnte das Produkt **119** (1.79 g, 7.57 mmol, **73%**) als gelbe Flüssigkeit erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.45 (PE/EE = 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.27 (s, 1H, H-2), 6.11 (s, 1H, H-4), 4.17-4.11 (m, 2H, H-5<sub>a</sub>), 4.11-4.04 (m, 2H, H-5<sub>b</sub>) ppm.

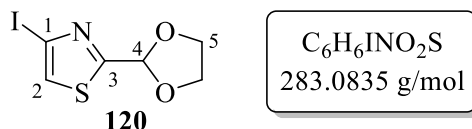
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 169.4 (C-3), 125.7 (C-1), 118.4 (C-2), 99.8 (C-4), 65.8 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3116 (w), 2957 (w), 2889 (m), 1475 (m), 1430 (s), 1338 (m), 1248 (s), 1083 (s), 936 (vs), 888 (s), 836 (s), 741 (s), 711 (m), 631 (m), 520 (w), 422 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 237.9375, gefunden = 237.9350.

Die Verbindung ist literaturbekannt.<sup>[220]</sup> Es wurden keine analytischen Daten veröffentlicht.

### Synthese von 4-Iod-2-(1,3-dioxolan-2-yl)thiazol (**120**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**.

Ansatzgröße: Bromthiazol **119** (760 mg, 3.22 mmol, 1.0 eq.), NaI (1.81 g, 12.1 mmol, 3.8 eq.), Cu(I)I (67 mg, 0.35 mmol, 0.1 eq.), *N,N*-Dimethylcyclohexan-1,2-diamin (0.10 mL, 92 mg, 0.64 mmol, 0.2 eq.) in abs. 1,4-Dioxan (15 mL); 20 Stunden bei 110 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 4:1). Das Produkt **120** (851 mg, 3.00 mmol, **93%**) wurde als gelbe Flüssigkeit erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.67 (PE:EE 4:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.47 (s, 1H, H-2), 6.13 (s, 1H, H-4), 4.17-4.11 (m, 2H, H-5<sub>a</sub>), 4.11-4.05 (m, 2H, H-5<sub>b</sub>) ppm.

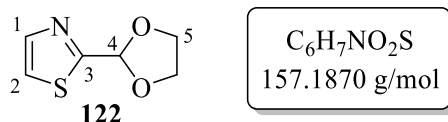
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.6 (C-3), 125.0 (C-2), 99.7 (C-4), 94.4 (C-1), 65.8 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3109 (w), 2956 (w), 2886 (m), 1470 (m), 1416 (m), 1336 (m), 1203 (s), 1082 (vs), 1022 (s), 935 (vs), 879 (s), 743 (m), 706 (m), 649 (w), 558 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 283.9237, gefunden = 283.9228;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 305.9056, gefunden = 305.9055.

### Synthese von 2-(1,3-Dioxolan-2-yl)thiazol (**122**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **120** (504 mg, 1.78 mmol, 1.0 eq.) in THF (4 mL) bei -78 °C, Zugabe <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (2.04 mL, 1.3 M in THF, 2.65 mmol, 1.5 eq.), parallel



1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (706 mg, 1.78 mmol, 1.0 eq.) in THF (6 mL) gelöst, nach 15 Minuten langsame Zugabe der 1,2,4-Oxadiazol-Lsg. zur GRIGNARD-Lsg. bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 30 Minuten bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ , dann zwei Tage bei Raumtemperatur gerührt; Reaktion durch Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  (7 mL) beendet; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 4:1 $\rightarrow$ 2:1). Das dehalogenierte Thiazol **122** (243 mg, 1.55 mmol, **87%**) konnte als gelbe Flüssigkeit isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.42 (PE:EE 4:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.83 (d,  $^3J$  = 3.2 Hz, 1H, H-1), 7.38 (d,  $^3J$  = 3.2 Hz, 1H, H-2), 6.17 (s, 1H, H-4), 4.20-4.14 (m, 2H, H-5<sub>a</sub>), 4.12-4.05 (m, 2H, H-5<sub>b</sub>) ppm.

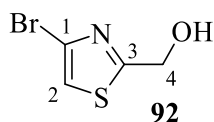
**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 168.5 (C-3), 143.4 (C-1), 120.3 (C-2), 100.4 (C-4), 65.7 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3115 (w), 2973 (w), 2891 (m), 1768 (w), 1700 (m), 1567 (w), 1508 (m), 1435 (m), 1393 (m), 1344 (s), 1213 (s), 1127 (m), 1084 (vs), 1022 (s), 938 (vs), 781 (m), 735 (s), 610 (m), 469 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 158.0270, gefunden = 158.0249.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[221]</sup>

### Synthese von (4-Bromthiazol-2-yl)methanol (**92**)



$\text{C}_4\text{H}_4\text{BrNOS}$   
194.0460 g/mol

**Variante 1:** Aldehyd **89** (193 mg, 1.01 mmol, 1.0 eq.) wurde in abs. MeOH (6 mL) gelöst und die Lösung wurde auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Portionsweise erfolgte die Zugabe von  $\text{NaBH}_4$  (48 mg, 1.27 mmol, 1.3 eq.). Nach 10 Minuten bei  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  wurde die Kühlung entfernt und die Reaktionslösung für 30 Minuten weiter bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  (8 mL) beendet und die wässrige Phase wurde mit EE (5x je 10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1) konnte der Alkohol **92** (190 mg, 0.98 mmol, **97%**) als farblose Flüssigkeit erhalten werden.

Variante 2: Die Synthese erfolgte nach **AAV 9**.

Ansatzgröße: Das TBS-geschützte Thiazol **123** (54 mg, 0.18 mmol, 1.0 eq.), THF (2 mL), TBAF-Lsg. (0.34 mL, 1 M in THF, 0.34 mmol, 1.8 eq.); 24 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1). Alkohol **92** (29 mg, 0.15 mmol, **83%**) konnte als farblose Flüssigkeit erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.13 (PE/EE = 7:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.22 (s, 1H, H-2), 4.96 (d, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 2H, H-4), 2.64 (t, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 1H, -OH) ppm.

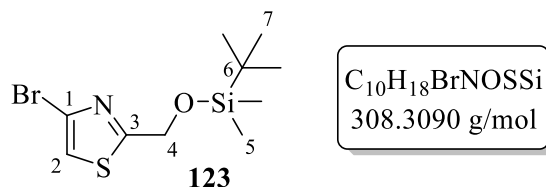
**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 172.4 (C-3), 124.9 (C-1), 117.1 (C-2), 62.3 (C-4) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3337 (m), 3098 (s), 2841 (m), 2730 (w), 2627 (w), 1483 (m), 1442 (m), 1357 (m), 1314 (m), 1250 (s), 1180 (s), 1085 (vs), 1052 (vs), 963 (m), 898 (m), 885 (m), 835 (s), 743 (vs), 637 (w), 617 (s), 560 (w), 455 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 193.9270, gefunden = 193.9287.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[222]</sup>

### Synthese von 4-Brom-2-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)thiazol (**123**)



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von V. W. PIKE *et al.*<sup>[223]</sup>

Alkohol **92** (1.00 g, 5.15 mmol, 1.0 eq.) und Imidazol (1.06 g, 15.6 mmol, 3.0 eq.) wurden in abs. DCM (10 mL) gelöst. Bei Raumtemperatur erfolgte die Zugabe von TBSCl (938 mg, 6.22 mmol, 1.2 eq.) und die Lösung wurde für 45 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von H<sub>2</sub>O (12 mL) wurde die Reaktion beendet, die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit DCM (5x je 20 mL) extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:EE 30:1) gereinigt, sodass das Produkt **123** (1.50 g, 4.87 mmol, **94%**) als farblose Flüssigkeit erhalten werden konnte.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.35 (PE/EE = 30:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.17 (s, 1H, H-2), 4.94 (s, 2H, H-4), 0.95 (s, 9H, H-7), 0.13 (s, 6H, H-5) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 174.7 (C-3), 124.5 (C-1), 116.6 (C-2), 63.1 (C-4), 25.9 (C-7), 18.4 (C-6), -5.33 (C-5) ppm.

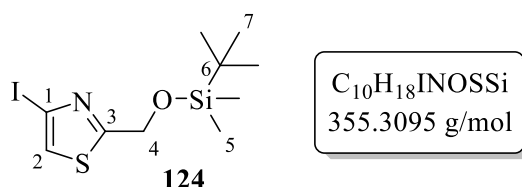
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2953 (m), 2857 (m), 1488 (m), 1390 (s), 1249 (s), 1191 (s), 1103 (s), 1006 (w), 938 (m), 832 (vs), 776 (s), 656 (m), 586 (w), 429 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 308.0135, gefunden = 308.0125;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 329.9954, gefunden = 329.9937.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[223]</sup>

### Synthese von 4-Iod-2-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)thiazol (**124**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**.

Ansatzgröße: Bromthiazol **123** (502 mg, 1.63 mmol, 1.0 eq.), NaI (897 mg, 5.98 mmol, 3.7 eq.), Cu(I)I (35 mg, 0.18 mmol, 0.1 eq.), *N,N*-Dimethylcyclohexan-1,2-diamin (50  $\mu$ L, 46 mg, 0.32 mmol, 0.2 eq.) in abs. 1,4-Dioxan (10 mL); 21 Stunden bei 110 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 15:1). Das Produkt **124** (488 mg, 1.37 mmol, **84%**) wurde als farblose Flüssigkeit erhalten. Des Weiteren konnte das dehalogenierte Thiazol **125** (25 mg, 0.11 mmol, **7%**) als farblose Flüssigkeit isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.66 (PE/EE = 15:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.37 (s, 1H, H-2), 4.96 (s, 2H, H-4), 0.94 (s, 9H, H-7), 0.12 (s, 6H, H-5) ppm.

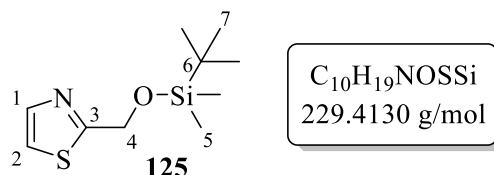
**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 175.8 (C-3), 123.4 (C-2), 93.3 (C-1), 63.0 (C-4), 25.9 (C-7), 18.4 (C-6), -5.33 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3118 (w), 2928 (m), 2856 (m), 1471 (m), 1351 (s), 1254 (s), 1189 (s), 1104 (s), 877 (w), 834 (vs), 777 (s), 677 (m), 611 (w), 502 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 355.9996, gefunden = 355.9985.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[223]</sup>

### Analytik von 2-(((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)methyl)thiazol (**125**)



**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.40 (PE/EE = 15:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.72 (d, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, 1H, H-1), 7.26 (d, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, 1H, H-2), 4.98 (s, 2H, H-4), 0.95 (s, 9H, H-7), 0.13 (s, 6H, H-5) ppm.

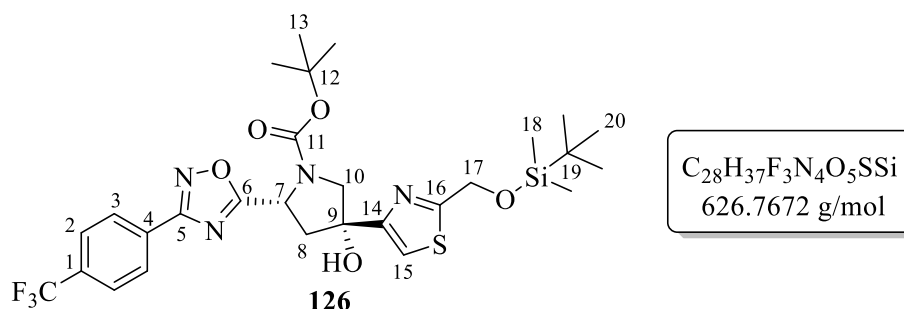
**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 173.5 (C-3), 142.6 (C-1), 118.6 (C-2), 63.4 (C-4), 25.9 (C-7), 18.4 (C-6), -5.30 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3124 (s), 2954 (s), 2856 (s), 1732 (w), 1507 (m), 1390 (m), 1256 (s), 1193 (s), 1106 (s), 905 (w), 838 (vs), 779 (s), 599 (w), 482 (w), 394 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 230.1029, gefunden = 230.1018.

Die Verbindung ist literaturbekannt.<sup>[224]</sup> Es wurden keine analytischen Daten veröffentlicht.

### Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-4-(2-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)thiazol-4-yl)-4-hydroxy-2-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**126**)



Von Verbindung **126** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.9\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **124** (249 mg, 701 μmol, 1.0 eq.), abs. THF (3 mL), -78 °C, <sup>t</sup>PrMgCl·LiCl (650 μL, 1.3 M in THF, 844 μmol, 1.2 eq.), 20 Minuten bei -78 °C,

dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (280 mg, 705  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL); 1.5 Stunden bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ , dann 48 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1). Das Produkt **126** (48 mg, 77  $\mu\text{mol}$ , **11%** (brsm: 13%)) wurde als farbloser Schaum erhalten. Zudem konnten Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (47 mg, 0.12 mmol, 17%) reisoliert und das dehalogenierte Thiazol **125** (61 mg, 0.27 mmol, **39%**) isoliert werden (Analytik siehe S.178).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.44 (PE:EE 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.20\* und 8.18 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H-3), 7.76 und 7.73\* (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-2), 7.37\* und 7.36 (s, 1H, H-15), 5.40\* und 5.29 (d, <sup>3</sup>J = 9.9 Hz, 1H, H-7), 5.02\* und 4.96 (s, 1H, -OH), 4.94\* und 4.93 (s, 2H, H-17), 4.09 und 4.05\* (d, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.95 und 3.87\* (d, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.17 und 3.14\* (dd, <sup>2</sup>J = 14.3 Hz, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.44 und 2.40\* (d, <sup>2</sup>J = 14.3 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.44\* und 1.35 (s, 9H, H-13), 0.95 (s, 9H, H-20), 0.14 (s, 6H, H-18) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.2 und 182.0\* (C-6), 174.1\* und 174.0 (C-16), 167.2 und 167.1\* (C-5), 156.8 (C-14), 154.5\* und 153.3 (C-11), 133.3\* und 133.2 (C-1)<sup>(1)</sup>, 129.9\* und 129.6 (C-4), 128.1\* und 128.0 (C-3), 126.1 und 126.0\* (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.5 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 122.7 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 269.6 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 114.7 (C-15), 81.34 und 81.25\* (C-12), 80.4\* und 79.3 (C-9), 63.3 (C-17), 60.6\* und 60.0 (C-10), 53.2 und 53.1\* (C-7), 44.7 und 43.9\* (C-8), 28.5\* und 28.3 (C-13), 25.9 (C-20), 18.4 (C-19), -5.3 (C-18) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.01\* und -63.05 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3408 (w), 2930 (m), 2858 (m), 1702 (m), 1682 (m), 1562 (w), 1472 (w), 1390 (s), 1321 (vs), 1253 (m), 1166 (s), 1126 (vs), 1064 (vs), 968 (m), 891 (w), 836 (vs), 777 (s), 658 (m), 595 (m), 507 (w), 422 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 627.2279, gefunden = 627.2256;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 649.2098, gefunden = 649.2065;

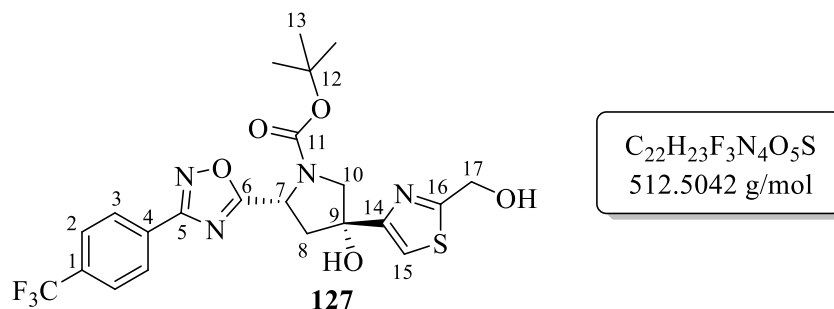
m/z berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 665.1838, gefunden = 665.1800.

**Schmelzbereich:** 63.1-65.0  $^{\circ}\text{C}$ .

**$[\alpha]_{\text{D}}^{19}$**  =  $-7.4^{\circ}$  (c 2.01, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter, weshalb teilweise keine Kopplungskonstanten *J* ermittelbar sind.

**Synthese von *tert*-Butyl (2*R*,4*R*)-4-hydroxy-4-(2-(hydroxymethyl)thiazol-4-yl)-2-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**127**)**



Von Verbindung **127** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Variante 1: Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 9**.

Ansatzgröße: Gemergede Verbindung **126** (32mg, 51  $\mu$ mol, 1.0 eq.), THF (4 mL), TBAF-Lsg. (0.11 mL, 1 M in THF, 0.11 mmol, 2.2 eq.); 3.5 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Et<sub>2</sub>O:DCM 1:1). Das Produkt **127** (8 mg, 16  $\mu$ mol, **31%**) konnte als farbloser Feststoff erhalten werden.

Variante 2: Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **117** (125 mg, 519  $\mu$ mol, 1.0 eq.), abs. THF (2 mL), -78 °C, <sup>4</sup>PrMgCl·LiCl (800  $\mu$ L, 1.3 M in THF, 1.04 mmol, 2.0 eq.), 10 Minuten bei -78 °C, dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (208 mg, 523  $\mu$ mol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL); 40 Minuten bei -78 °C, dann 75 Stunden bei Raumtemperatur; erste säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 3:1→EE), zweite säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Et<sub>2</sub>O:DCM 1:1). Das Produkt **127** (52 mg, 0.10 mmol, **20%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Zudem konnte Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (14 mg, 35  $\mu$ mol, 7%) reisoliert und das dehalogenierte Thiazol **136** (25 mg, 0.22 mmol, **44%**) als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.37 (Et<sub>2</sub>O:DCM 1:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.20 und 8.18\* (d, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 2H, H-3), 7.76 und 7.74\* (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H-2), 7.42\* und 7.41 (s, 1H, H-15), 5.41\* und 5.30 (d, <sup>3</sup>J = 9.2 Hz, 1H, H-7), 5.14 und 5.08\* (br.s, 1H, -OH<sub>tert</sub>), 4.95\* und 4.93 (s, 2H, H-17), 4.10 und 4.06\* (d, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.94 und 3.88\* (d, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.19 und 3.15\* (dd, <sup>2</sup>J = 14.2 Hz, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.76 (br.s, 1H, -OH<sub>prim</sub>), 2.44 und 2.40\* (d, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.45\* und 1.35 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.2\* und 182.0 (C-6), 171.6 und 171.2\* (C-16), 167.2 und 167.1\* (C-5), 156.7 (C-14), 154.5\* und 153.4 (C-11), 133.6\* und 133.4 (C-1)<sup>(1)</sup>, 129.7 und 129.3\* (C-4), 128.1\* und 128.0 (C-3), 126.1 und 126.0\* (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.7 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 122.5 (CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 115.5 (C-15), 81.5 und 81.4\* (C-12), 80.4 und 79.3\* (C-9), 62.4 (C-17), 60.6\* und 60.0 (C-10), 53.1 und 53.0 (C-7), 44.6 und 43.9\* (C-8), 28.5\* und 28.3 (C-13) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.02 und -63.05 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3385 (m), 2977 (w), 2931 (w), 1676 (m), 1563 (w), 1455 (w), 1393 (m), 1367 (m), 1321 (vs), 1249 (w), 1165 (s), 1122 (s), 1064 (s), 1016 (m), 947 (w), 889 (w), 852 (m), 764 (m), 694 (w), 509 (w), 404 (w).

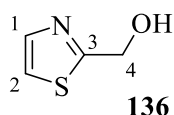
**MS (EI)<sup>(2)</sup>:** m/z (%) = 455 (12) [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>, 411 (8) [M-C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 394 (95) [M-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 355 (2) [M-C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>S]<sup>+</sup>, 241 (48) [M-C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S]<sup>+</sup>, 213 (22) [M-C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S]<sup>+</sup>, 189 (59) [M-C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S]<sup>+</sup>, 158 (62) [M-C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 142 (100) [M-C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 115 (35) [M-C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S]<sup>+</sup>, 57 (28) [M-C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>)<sup>(2)</sup>:** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 513.1414, gefunden = 513.1379.

**Schmelzbereich:** 70.5-72.1 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>18</sup>** = -4.9° (c 0.45, CHCl<sub>3</sub>).

### Analytik von Thiazol-2-ylmethanol (136)



C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> NOS 115.1500 g/mol
---

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.27 (Et<sub>2</sub>O:DCM 1:1).

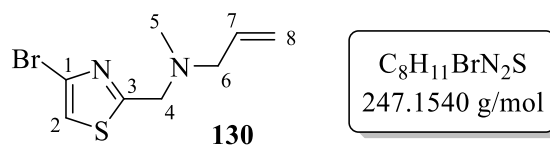
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.69 (d, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, 1H, H-1), 7.29 (d, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, 1H, H-2), 4.93 (s, 2H, H-4), 4.42 (s, 1H, -OH) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 171.9 (C-3), 142.4 (C-1), 119.3 (C-2), 61.81 (C-4) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3098 (s), 2913 (w), 2812 (w), 2637 (m), 1635 (w), 1507 (m), 1409 (w), 1348 (m), 1223 (w), 1187 (s), 1146 (s), 1046 (vs), 891 (w), 741 (vs), 602 (s), 434 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 116.0165, gefunden = 116.0166.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter, weshalb teilweise keine Kopplungskonstanten *J* ermittelbar sind. <sup>(2)</sup> Die HRMS (ESI<sup>+</sup>) Daten konnten trotz mehrfacher Messungen nur mit größeren Abweichungen gemessen werden, weshalb ebenfalls EI-MS Daten erhoben wurden.

**Synthese von *N*-((4-Bromthiazol-2-yl)methyl)-*N*-methylprop-2-en-1-amin (**130**)**

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4**.

Ansatzgröße: Aldehyd **89** (500 mg, 2.60 mmol, 1.0 eq.), *N*-Allylmethylamin (275  $\mu$ L, 204 mg, 2.86 mmol, 1.1 eq.) in abs. DCE (10 mL), nach 5 Minuten  $NaBH(OAc)_3$  (775 mg, 3.66 mmol, 1.4 eq.); 6 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 7:1). Das Produkt **130** (516 mg, 2.09 mmol, **80%**) wurde als farblose Flüssigkeit erhalten. Des Weiteren konnte der Alkohol **92** (20 mg, 0.1 mmol, **4%**) als farblose Flüssigkeit isoliert werden (Analytik siehe S.176).

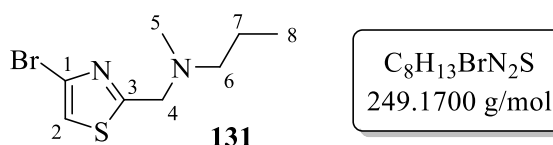
**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.44 (PE:EE 7:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 7.18 (s, 1H, H-2), 5.86 (ddt,  $^3J_{trans}$  = 17.1 Hz,  $^3J_{cis}$  = 10.2 Hz,  $^3J$  = 6.4 Hz, 1H, H-7), 5.23 (dd,  $^3J_{trans}$  = 17.2,  $^4J$  = 1.3 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 5.18 (dd,  $^3J_{cis}$  = 10.2 Hz,  $^4J$  = 1.2 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 3.82 (s, 2H, H-4), 3.12 (d,  $^3J$  = 6.3 Hz, 2H, H-6), 2.34 (s, 3H, H-5) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 173.5 (C-3), 135.1 (C-7), 124.1 (C-1), 118.4 (C-8), 117.5 (C-2), 60.7 (C-6), 58.1 (C-4), 42.9 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 3120 (w), 2978 (w), 2874 (w), 2790 (m), 1643 (w), 1485 (s), 1443 (m), 1342 (m), 1241 (s), 1200 (w), 1180 (s), 1124 (m), 1078 (s), 1033 (s), 921 (s), 885 (vs), 830 (vs), 730 (s), 619 (w), 434 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[M+H]^+$  = 246.9899, gefunden = 246.9894.

**Synthese von *N*-((4-Bromthiazol-2-yl)methyl)-*N*-methylpropan-1-amin (**131**)**

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4**.

Ansatzgröße: Aldehyd **89** (500 mg, 2.60 mmol, 1.0 eq.), *N*-Methylpropylamin (300  $\mu$ L, 209 mg, 2.86 mmol, 1.1 eq.) in abs. DCE (10 mL), nach 5 Minuten  $NaBH(OAc)_3$  (773 mg, 3.65 mmol, 1.4 eq.); 6 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an



Kieselgel (PE:EE 7:1). Das Produkt **131** (571 mg, 2.29 mmol, **88%**) wurde als farblose Flüssigkeit erhalten. Des Weiteren konnte der Alkohol **92** (20 mg, 0.1 mmol, **4%**) als farblose Flüssigkeit isoliert werden (Analytik siehe S.176).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.42 (PE:EE 7:1).

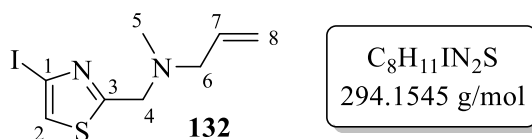
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.17 (s, 1H, H-2), 3.81 (s, 2H, H-4), 2.45 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2H, H-6), 2.34 (s, 3H, H-5), 1.52 (sex., <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2H, H-7), 0.91 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 3H, H8) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 174.1 (C-3), 124.0 (C-1), 117.5 (C-2), 59.8 (C-6), 59.1 (C-4), 42.9 (C-5), 20.8 (C-7), 11.8 (C-8) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3120 (w), 2958 (s), 2933 (m), 2798 (m), 1486 (s), 1381 (m), 1241 (s), 1215 (w), 1179 (m), 1077 (vs), 1021 (w), 964 (w), 885 (vs), 830 (vs), 729 (s), 670 (m), 507 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 249.0056, gefunden = 249.0056.

#### Synthese von *N*-((4-Iodthiazol-2-yl)methyl)-*N*-methylprop-2-en-1-amin (**132**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**.

Ansatzgröße: Bromthiazol **130** (251 mg, 1.02 mmol, 1.0 eq.), NaI (561 mg, 3.76 mmol, 3.7 eq.), Cu(I)I (23 mg, 0.12 mmol, 0.1 eq.), *N,N*-Dimethylcyclohexan-1,2-diamin (32  $\mu$ L, 29 mg, 0.20 mmol, 0.2 eq.) in abs. 1,4-Dioxan (5 mL); 25 Stunden bei 110 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 7:1). Das Produkt **132** (239 mg, 814  $\mu$ mol, **80%**) wurde als farblose Flüssigkeit erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.44 (PE/EE = 7:1).

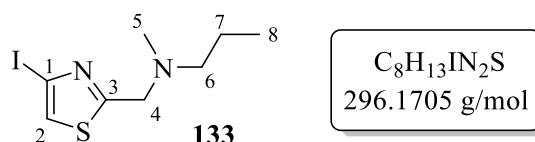
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.38 (s, 1H, H-2), 5.86 (ddt, <sup>3</sup>J<sub>trans</sub> = 17.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>cis</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 1H, H-7), 5.23 (dd, <sup>3</sup>J<sub>trans</sub> = 17.2, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 5.17 (dd, <sup>3</sup>J<sub>cis</sub> = 10.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 3.85 (s, 2H, H-4), 3.13 (d, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 2H, H-6), 2.34 (s, 3H, H-5) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 174.6 (C-3), 135.1 (C-7), 124.3 (C-2), 118.3 (C-8), 93.0 (C-1), 60.7 (C-6), 58.0 (C-4), 42.9 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3077 (w), 2788 (m), 1642 (w), 1477 (s), 1341 (m), 1280 (s), 1200 (s), 1123 (w), 1075 (s), 993 (m), 921 (vs), 876 (vs), 817 (vs), 734 (s), 663 (m), 563 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 294.9760, gefunden = 294.9738.

### Synthese von *N*-((4-Iodthiazol-2-yl)methyl)-*N*-methylpropan-1-amin (**133**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**.

Ansatzgröße: Bromthiazol **131** (249 mg, 1.00 mmol, 1.0 eq.), NaI (558 mg, 3.72 mmol, 3.7 eq.), Cu(I)I (23 mg, 0.12 mmol, 0.1 eq.), *N,N*-Dimethylcyclohexan-1,2-diamin (32  $\mu$ L, 29 mg, 0.20 mmol, 0.2 eq.) in abs. 1,4-Dioxan (5 mL); 25 Stunden bei 110 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 7:1). Das Produkt **133** (240 mg, 892  $\mu$ mol, **89%**) wurde als farblose Flüssigkeit erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.42 (PE/EE = 7:1).

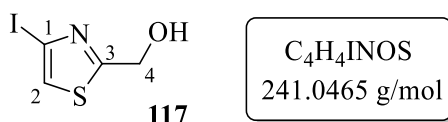
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.38 (s, 1H, H-2), 3.83 (s, 2H, H-4), 2.44 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, H-6), 2.33 (s, 3H, H-5), 1.52 (sex., <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, H-7), 0.91 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, H8) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 175.2 (C-3), 124.3 (C-2), 92.9 (C-1), 59.8 (C-6), 59.0 (C-4), 42.9 (C-5), 20.8 (C-7), 11.8 (C-8) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3113 (w), 2957 (s), 2871 (m), 2797 (s), 1478 (s), 1382 (w), 1337 (s), 1258 (s), 1177 (m), 1075 (vs), 964 (m), 876 (s), 818 (vs), 734 (s), 668 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 296.9917, gefunden = 296.9898.

### Synthese von (4-Iodthiazol-2-yl)methanol (**117**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**.

Ansatzgröße: Bromthiazol **92** (186 mg, 959  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), NaI (532 mg, 3.55 mmol, 3.7 eq.), Cu(I)I (22 mg, 0.12 mmol, 0.1 eq.), *N,N*-Dimethylcyclohexan-1,2-diamin (30  $\mu\text{L}$ , 27 mg, 0.19 mmol, 0.2 eq.) in abs. 1,4-Dioxan (4 mL); 18 Stunden bei 110 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 3:1). Das Produkt **117** (175 mg, 726  $\mu\text{mol}$ , **76%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.45 (PE:EE 3:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.42 (s, 1H, H-2), 4.97 (s, 2H, H-4), 2.78 (s, 1H, -OH) ppm.

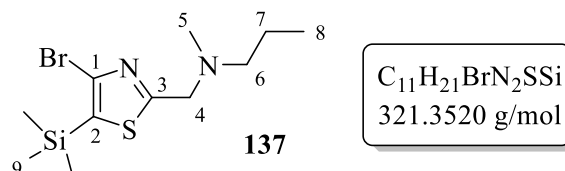
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 173.6 (C-3), 123.8 (C-2), 93.6 (C-1), 62.1 (C-4) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3299 (m), 3096 (s), 2906 (m), 2831 (m), 2664 (w), 2488 (w), 1714 (w), 1493 (m), 1437 (m), 1354 (m), 1311 (s), 1235 (s), 1176 (s), 1080 (s), 1047 (vs), 965 (m), 888 (m), 818 (w), 743 (vs), 623 (m), 499 (w), 445 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 241.9131, gefunden = 241.9127.

**Schmelzbereich:** 67.5-69.1 °C.

**Synthese von *N*-((4-Brom-5-(trimethylsilyl)thiazol-2-yl)methyl)-*N*-methylpropan-1-amin (**137**)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8**.

Ansatzgröße: Bromthiazol **131** (107 mg, 429  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), abs. THF (3 mL), -78 °C, <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (1.3 M in THF, 330  $\mu\text{L}$ , 429  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.); 1.5 Stunden bei -78 °C, dann 22 Stunden Raumtemperatur, stagnierender Umsatz; Zugabe TMSCl (60  $\mu\text{L}$ , 51 mg, 0.47 mmol, 1.1 eq.) bei Raumtemperatur, dann 5 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 10:1). Das Produkt **137** (7 mg, 22  $\mu\text{mol}$ , **5%**) wurde als gelbe Flüssigkeit erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.57 (PE:EE 10:1).

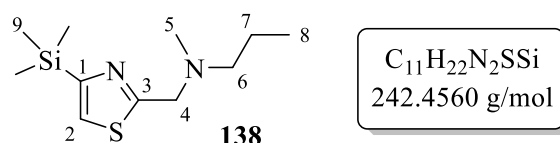
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 3.82 (s, 2H, H-4), 2.46 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, H-6), 2.35 (s, 3H, H-5), 1.52 (sex., <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H, H-7), 0.92 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 3H, H8), 0.39 (s, 9H, H-9) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 176.5$  (C-3)<sup>(1)</sup>, 130.1 (C-2), 125.3 (C-1), 59.8 (C-6), 58.9 (C-4), 42.9 (C-5), 20.8 (C-7), 11.8 (C-8), -0.58 (C-9) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2957 (m), 2872 (w), 2799 (w), 1687 (w), 1482 (m), 1461 (m), 1381 (w), 1251 (s), 1188 (s), 1079 (w), 1016 (s), 839 (vs), 757 (m), 659 (w), 466 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 321.0451$ , gefunden = 321.0455.

### Synthese von *N*-Methyl-*N*-((4-(trimethylsilyl)thiazol-2-yl)methyl)propan-1-amin (**138**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **133** (123 mg, 415  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), abs. THF (3 mL),  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , *n*-BuLi (0.9 M in THF, 600  $\mu\text{L}$ , 540  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq.); 60 Minuten bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , Zugabe TMSCl (60  $\mu\text{L}$ , 51 mg, 0.47 mmol, 1.1 eq.), 1.5 Stunden bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , dann 2 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1). Das Produkt **138** (10 mg, 41  $\mu\text{mol}$ , **10%**) wurde als gelbe Flüssigkeit erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.38 (PE:EE 5:1).

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.69$  (s, 1H, H-2), 3.90 (s, 2H, H-4), 2.46 (t,  $^3J = 7.3$  Hz, 2H, H-6), 2.34 (s, 3H, H-5), 1.56 (sex.,  $^3J = 7.3$  Hz, 2H, H-7), 0.92 (t,  $^3J = 7.3$  Hz, 3H, H8), 0.32 (s, 9H, H-9) ppm.

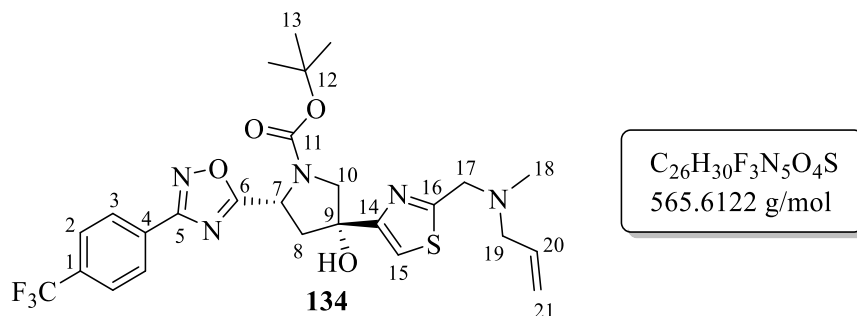
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 176.2$  (C-3)<sup>(1)</sup>, 148.1 (C-2), 133.4 (C-1)<sup>(1)</sup>, 59.6 (C-6), 58.8 (C-4), 42.7 (C-5), 20.7 (C-7), 11.9 (C-8), 0.1 (C-9) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2957 (m), 2796 (w), 1686 (w), 1504 (w), 1458 (m), 1381 (w), 1249 (s), 1176 (m), 1078 (w), 1023 (s), 965 (w), 836 (vs), 754 (s), 626 (m), 608 (w), 520 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 243.1346$ , gefunden = 243.1366.

<sup>(1)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC-Spektrum entnommen.

**Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-4-(2-((allyl(methyl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-4-hydroxy-2-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**134**)**



Von Verbindung **134** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **132** (104 mg, 354  $\mu$ mol, 1.0 eq.), abs. THF (3 mL), -78 °C, <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (310  $\mu$ L, 1.3 M in THF, 408  $\mu$ mol, 1.2 eq.), 40 Minuten bei -78 °C, dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (135 mg, 340  $\mu$ mol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (2 mL); 60 Minuten bei -78 °C, dann 26 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 4:1  $\rightarrow$  2:1). Das Produkt **134** (31 mg, 55  $\mu$ mol, **16%** (brsm: 19%)) wurde als farbloses Öl erhalten. Zudem konnte Verbindung **86** (19 mg, 48  $\mu$ mol, 14%) reisoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.07 (PE:EE 4:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.20 und 8.18\* (d, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, H-3), 7.76 und 7.74\* (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-2), 7.37\* und 7.36 (s, 1H, H-15), 5.89 (ddt, <sup>3</sup>J<sub>trans</sub> = 16.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>cis</sub> = 12.3 Hz, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, 1H, H-20), 5.40\* und 5.29 (d, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-7), 5.24 (d, <sup>3</sup>J<sub>trans</sub> = 16.9, 1H, H-21<sub>a</sub>), 5.19 (d, <sup>3</sup>J<sub>cis</sub> = 10.6, 1H, H-21<sub>b</sub>), 5.00 (br.s, 1H, -OH), 4.11 und 4.06\* (d, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.95 und 3.87\* (dd, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz, <sup>4</sup>J = 1.8 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.82 (s, 2H, H-17), 3.20 und 3.16\* (dd, <sup>2</sup>J = 13.9 Hz, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 3.14 (d, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, 2H, H-19), 2.44 und 2.40\* (d, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.36\* und 2.35 (s, 3H, H-18), 1.44\* und 1.35 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.3 und 182.1\* (C-6), 172.1 (C-16)<sup>(1)</sup>, 167.2 und 167.1\* (C-5), 156.4 (C-14), 154.4\* und 153.3 (C-11), 135.1 (C-20), 133.3 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 32.4 Hz, C-1)<sup>(2)</sup>, 129.8 und 129.5\* (C-4), 128.1\* und 128.0 (C-3), 126.1 und 126.0\* (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.2 Hz, C-2)<sup>(2)</sup>, 122.9 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 274.3 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(2)</sup>, 118.4 (C-21), 115.5 (C-15), 81.4 und 81.3\* (C-12), 80.4\* und 79.3 (C-9), 60.7\* und 60.6 (C-19), 60.56\* und 60.0 (C-10), 58.3\* und 58.2 (C-17), 53.2 und 53.1\* (C-7), 44.7 und 43.90\* (C-8), 42.8 und 42.7\* (C-18), 28.5\* und 28.3 (C-13) ppm.

<sup>(1)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen. <sup>(2)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

$^{19}\text{F-NMR}$  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = -63.02^*$  und  $-63.05$  ppm.

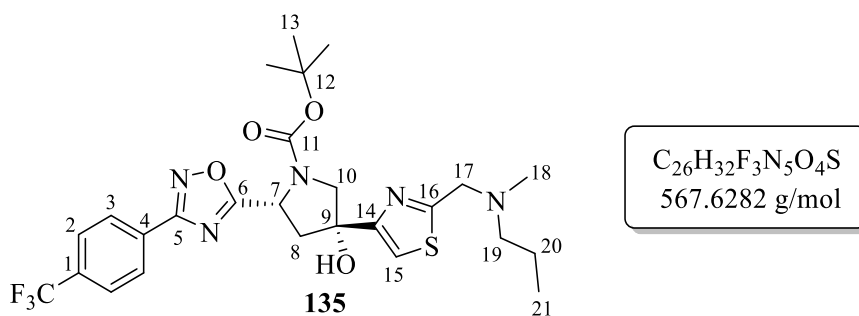
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3389 (w), 2977 (m), 2929 (w), 2793 (w), 1699 (m), 1593 (w), 1542 (w), 1454 (w), 1416 (m), 1321 (vs), 1256 (w), 1166 (s), 1126 (s), 1064 (s), 1017 (m), 967 (w), 919 (m), 853 (m), 766 (m), 731 (m), 646 (w), 596 (w), 465 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 566.2043, gefunden = 566.2029;

m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 588.1868, gefunden = 588.1864.

$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -10.3^\circ$  (c 0.85,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(propyl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-2-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**135**)**



Von Verbindung **135** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.9\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **133** (100 mg, 338  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), abs. THF (3 mL),  $-78^\circ\text{C}$ ,  $i\text{-PrMgCl}\cdot\text{LiCl}$  (310  $\mu\text{L}$ , 1.3 M in THF, 408  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq.), 40 Minuten bei  $-78^\circ\text{C}$ , dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (134 mg, 338  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (2 mL); 60 Minuten bei  $-78^\circ\text{C}$ , dann 26 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 4:1 $\rightarrow$ 2:1). Das Produkt **135** (28 mg, 49  $\mu\text{mol}$ , **14%** (brsm: 19%)) wurde als farbloses Öl erhalten. Zudem konnte Oxadiazol-Pyrrolidon **86** (32 mg, 81  $\mu\text{mol}$ , 24%) reisoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.09 (PE:EE 4:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.20 und 8.18\* (d, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 2H, H-3), 7.76 und 7.74\* (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-2), 7.36 (br.s, 1H, H-15), 5.40\* und 5.29 (d, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H-7), 5.00 und 4.94\* (br.s, 1H, -OH), 4.11 und 4.06\* (d, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.96 und 3.88\* (d, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.81 (s, 2H, H-17), 3.20 und 3.17\* (dd, <sup>2</sup>J = 14.3 Hz, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.47-2.39 (m, 3H, H-8<sub>b</sub>, H-19), 2.36\* und 2.35 (s, 3H, H-18), 1.55 (q, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2H, H-20), 1.45\* und 1.35 (s, 9H, H-13), 0.92 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 3H, H-21) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.3 und 182.1\* (C-6), 172.6 (C-16)<sup>(1)</sup>, 167.2 und 167.0\* (C-5), 156.3 (C-14), 154.6\* und 153.3 (C-11), 133.4 (C-1)<sup>(2)</sup>, 129.8\* und 129.6 (C-4), 128.1\* und 128.0 (C-3), 126.1 und 126.0\* (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.7 Hz, C-2)<sup>(2)</sup>, 122.9 (CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 115.4 (C-15), 81.4 und 81.3\* (C-12), 80.4\* und 79.3 (C-9), 60.6 und 60.0\* (C-10), 59.72 und 59.65\* (C-19), 59.22\* und 59.16 (C-17), 53.2 und 53.1\* (C-7), 44.7 und 43.90\* (C-8), 42.9\* und 42.8 (C-18), 28.5\* und 28.3 (C-13), 20.8 (C-20), 11.8 (C-21) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.01\* und -63.05 ppm.

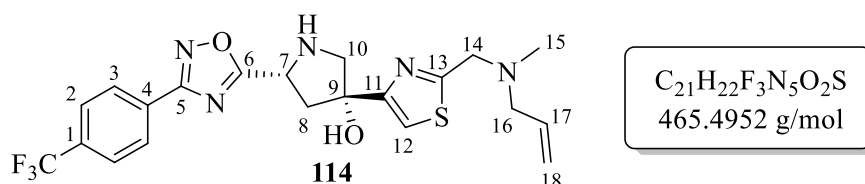
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3400 (w), 2962 (m), 2875 (w), 2797 (w), 1700 (m), 1624 (w), 1563 (w), 1458 (w), 1391 (m), 1321 (vs), 1217 (w), 1165 (s), 1125 (s), 1064 (s), 1016 (m), 949 (w), 852 (m), 765 (m), 695 (w), 596 (w), 465 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 568.2200, gefunden = 568.2179;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 590.2025, gefunden = 590.2006.

$[\alpha]_D^{21}$  = -10.6° (c 0.52, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von tert-Butyl-(2R,4R)-4-(2-((allyl(methyl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-4-hydroxy-2-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (114)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: *Gemergede* Verbindung **134** (27 mg, 47  $\mu$ mol, 1.0 eq.), DCM (2.6 mL), 0 °C, TFA (0.26 mL, 0.39 g, 3.4 mmol, 72 eq.); 10 Minuten bei 0 °C, dann 5.5 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **134** (4 mg, 8.6  $\mu$ mol, **18%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

<sup>(1)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen. <sup>(2)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.10 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.22 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H-3), 7.74 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-2), 7.30 (s, 1H, H-12), 5.89 (ddt, <sup>3</sup>J<sub>trans</sub> = 16.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>cis</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, 1H, H-17), 5.25 (dd, <sup>3</sup>J<sub>trans</sub> = 17.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-18<sub>a</sub>), 5.19 (dd, <sup>3</sup>J<sub>cis</sub> = 10.2 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-18<sub>b</sub>), 4.86 (dd, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 3.4 Hz, 1H, H-7), 3.83 (s, 2H, H-14), 3.54 (d, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.38 (dd, <sup>2</sup>J = 11.2 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.15 (dt, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 2H, H-16), 3.01 (dd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.52 (ddd, <sup>2</sup>J = 13.9 Hz, <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.36 (s, 3H, H-15) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.6 (C-6), 171.8 (C-13), 167.3 (C-5), 158.0 (C-11), 135.2 (C-17), 133.3 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 32.7 Hz, C-1)<sup>(1)</sup>, 130.0 (C-4), 128.1 (C-3), 126.0 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.7 Hz, C-2), 123.0 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 275.8 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 118.4 (C-18), 114.3 (C-12), 81.2 (C-9), 61.0 (C-10), 60.7 (C-16), 58.3 (C-14), 53.9 (C-7), 45.8 (C-8), 42.8 (C-15) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.00 ppm.

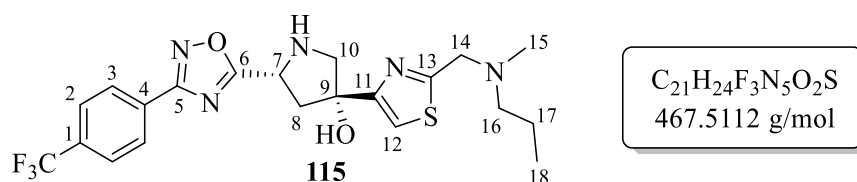
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3310 (w), 2924 (m), 2850 (w), 2792 (w), 1724 (w), 1644 (w), 1593 (w), 1541 (w), 1452 (m), 1322 (vs), 1259 (w), 1168 (m), 1125 (s), 1065 (s), 1017 (w), 923 (m), 853 (m), 762 (w), 697 (w), 597 (w), 466 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 466.1519, gefunden = 466.1493;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 488.1344, gefunden = 488.1300.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup>** = -50.0° (c 0.24, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von (3R,5R)-3-(2-((methyl(propyl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-5-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-3-ol (115)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.



Ansatzgröße: Gemergede Verbindung **135** (27 mg, 48  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), DCM (2.7 mL), 0 °C, TFA (0.27 mL, 0.40 g, 3.5 mmol, 73 eq.); 20 Minuten bei 0 °C, dann 5 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **115** (7 mg, 15  $\mu\text{mol}$ , **31%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.13 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.22 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-3), 7.74 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H-2), 7.28 (s, 1H, H-12), 4.86 (dd, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 3.5 Hz, 1H, H-7), 3.81 (s, 2H, H-14), 3.54 (d, <sup>2</sup>J = 11.2 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.38 (dd, <sup>2</sup>J = 11.2 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.01 (dd, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.52 (ddd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.45 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, H-16), 2.35 (s, 3H, H-15), 1.55 (q, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 2H, H-17), 0.92 (t, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 3H, H-18) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.6 (C-6), 172.6 (C-13), 167.3 (C-5), 157.9 (C-11), 133.3 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 33.3 Hz, C-1)<sup>(1)</sup>, 130.0 (C-4), 128.1 (C-3), 126.0 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.6 Hz, C-2), 123.0 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 272.6 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 114.2 (C-12), 81.2 (C-9), 61.0 (C-10), 59.7 (C-16), 59.2 (C-14), 53.4 (C-7), 45.8 (C-8), 42.3 (C-15), 20.8 (C-17), 11.8 (C-18) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.00 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3326 (w), 2962 (m), 2935 (m), 2874 (w), 2797 (w), 1677 (w), 1593 (w), 1542 (w), 1460 (w), 1417 (m), 1322 (vs), 1243 (w), 1123 (vs), 1064 (s), 1017 (m), 912 (m), 851 (s), 761 (m), 718 (w), 674 (w), 595 (m), 465 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 468.1676, gefunden = 468.1640;

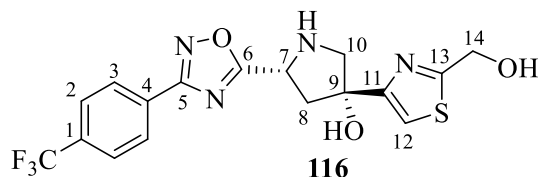
m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 490.1495, gefunden = 490.1461.

**Schmelzbereich:** 158.8-160.3 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup>** = -46.4° (c 0.33, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

**Synthese von (3*R*,5*R*)-3-(2-(hydroxymethyl)thiazol-4-yl)-5-(3-(4-(trifluormethyl)-phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-3-ol (116)**



C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S  
412.3872 g/mol

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: Gemergede Verbindung **127** (46 mg, 91 µmol, 1.0 eq.), DCM (5 mL), 0 °C, TFA (0.50 mL, 0.75 g, 6.5 mmol, 71 eq.); 50 Minuten bei 0 °C, dann 4 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **116** (25 mg, 61 µmol, **67%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.12 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.18 (d, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H-3), 7.72 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-2), 7.30 (s, 1H, H-12), 4.89 (s, 2H, H-14), 4.82 (dd, <sup>3</sup>J = 9.4 Hz, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, 1H, H-7), 3.45 (d, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.35 (dd, <sup>2</sup>J = 11.2 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 2.94 (dd, <sup>3</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.51 (ddd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 182.3 (C-6), 171.9 (C-13), 167.3 (C-5), 158.4 (C-11), 133.1 (q, <sup>2</sup>J = 31.7 Hz, C-1), 129.9 (C-4), 128.0 (C-3), 126.0 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 4.0 Hz, C-2), 122.9 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 272.9 Hz, CF<sub>3</sub>), 114.3 (C-12), 80.9 (C-9), 62.0 (C-17), 60.7 (C-10), 54.0 (C-7), 45.6 (C-8) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = -63.01 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3293 (m), 2923 (w), 2853 (w), 1714 (w), 1624 (m), 1542 (w), 1417 (m), 1321 (vs), 1166 (s), 1121 (vs), 1063 (vs), 1016 (s), 908 (m), 851 (s), 760 (m), 616 (m), 465 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 413.0890, gefunden = 413.0924;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 435.0709, gefunden = 435.0749.

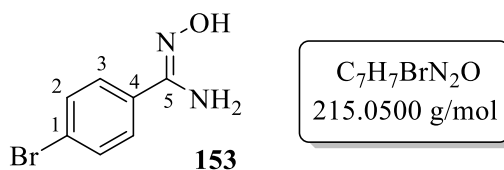
**Schmelzbereich:** 60.4-62.3 °C.

**[α]<sub>D</sub><sup>17</sup>** = -20.6° (c 1.08, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup> Die Signale für -NH und -OH sind nicht sichtbar.

### 5.5.3 Synthesen zur Derivatisierung am Phenyl-Gerüst

#### Synthese von 4-Brombenzamidoxim (153)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: 4-Brombenzonnitril (515 mg, 2.83 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (427 mg, 6.14 mmol, 2.2 eq.), Et<sub>3</sub>N (880 µL, 642 mg, 6.35 mmol, 2.2 eq.) in EtOH (5 mL); 5 Stunden bei 80 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1). Das Produkt **153** (481 mg, 2.24 mmol, **79%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Des Weiteren konnte bei der Reaktion als Nebenprodukt 4-Brombenzamid (**156**) (41 mg, 0.20 mmol, **7%**) als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.10 (PE/EE = 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.55-7.49 (m, 4H, H-2, H-3), 4.85 (s, 2H, NH<sub>2</sub>) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 152.1 (C-5), 132.0 (C-2), 131.5 (C-4), 127.5 (C-3), 124.4 (C-1) ppm.

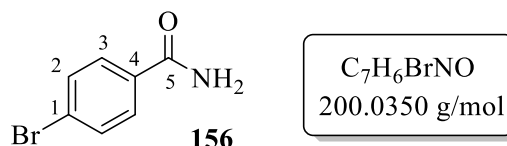
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3451 (m), 3359 (m), 3153 (vs), 2898 (m), 2196 (w), 1905 (w), 1650 (s), 1489 (m), 1394 (s), 1111 (m), 944 (s), 825 (s), 670 (s), 441 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 214.9815, gefunden = 214.9806.

**Schmelzbereich:** 143.4-145.3 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[225]</sup>

#### Analytik von 4-Brombenzamid (156)



**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.22 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) δ = 7.80 (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 2H, H-3), 7.65 (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 2H, H-2) ppm.<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Das Signal für -OH ist nicht sichtbar. <sup>(2)</sup>Das Signal für -NH<sub>2</sub> ist nicht sichtbar.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$  = 171.2 (C-5), 134.1 (C-4), 132.7 (C-2), 130.5 (C-3), 127.4 (C-1) ppm.

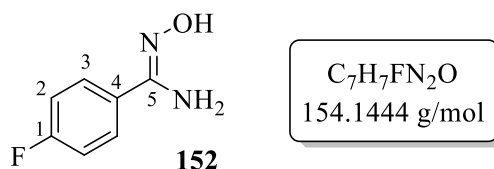
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3327 (w), 2970 (w), 2517 (m), 2347 (m), 1627 (s), 1589 (s), 1451 (s), 1345 (w), 1129 (m), 1067 (m), 842 (s), 752 (vs), 623 (m), 435 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 199.9706, gefunden = 199.9699.

**Schmelzbereich:** 190.5-192.4 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[226]</sup>

### Synthese von 4-Fluorbenzamidoxim (**152**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: 4-Fluorbenzonnitril (342 mg, 2.82 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (424 mg, 6.10 mmol, 2.2 eq.), Et<sub>3</sub>N (880  $\mu\text{L}$ , 642 mg, 6.35 mmol, 2.3 eq.) in EtOH (5 mL); 5 Stunden bei 80 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1). Das Produkt **152** (434 mg, 2.76 mmol, **98%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Des Weiteren konnte bei der Reaktion als Nebenprodukt 4-Fluorbenzamid (**155**) (9 mg, 0.06 mmol, **2%**) als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.35 (PE:EE 2:1).

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 9.62 (s, 1H, OH), 7.70 (dd,  $^3J = 8.9$ ,  $^4J_{\text{H,F}} = 5.4$  Hz, 2H, H-3), 7.65 (dd,  $^3J_{\text{H,F}} = ^3J_{\text{H,H}} = 8.9$  Hz, 2H, H-2), 5.83 (s, 2H, NH<sub>2</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 161.7 (d,  $^1J_{\text{C,F}} = 244.8$  Hz, C-1), 150.1 (C-5), 129.8 (d,  $^4J_{\text{C,F}} = 3.2$  Hz, C-4), 127.5 (d,  $^3J_{\text{C,F}} = 8.3$  Hz, C-3), 114.9 (d,  $^2J_{\text{C,F}} = 21.4$  Hz, C-2) ppm.

**$^{19}\text{F-NMR}$**  (565 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = -112.98 (tt,  $^3J_{\text{H,F}} = 8.7$  Hz,  $^4J_{\text{H,F}} = 5.8$  Hz) ppm.

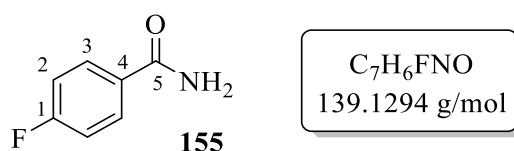
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3453 (w), 3360 (w), 3205 (m), 2896 (w), 1766 (w), 1647 (s), 1597 (m), 1515 (s), 1402 (w), 1382 (m), 1290 (w), 1233 (m), 1156 (m), 1010 (w), 922 (s), 835 (vs), 726 (m), 637 (w), 587 (m), 464 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 155.0615, gefunden = 155.0622.

**Schmelzbereich:** 94.5-97.0 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[227]</sup>

#### Analytik von 4-Fluorbenzamid (155)



**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.18 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) δ = 7.94 (dd, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,F</sub> = 5.3 Hz, 2H, H-3), 7.19 (dd, <sup>3</sup>J<sub>H,F</sub> = <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.8 Hz, 2H, H-2) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) δ = 171.2 (C-5), 165.6 (d, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 251.1 Hz, C-1), 131.3 (d, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 9.3 Hz, C-3), 116.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 22.1 Hz, C-2) ppm.<sup>(2)</sup>

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = -110.46 (tt = <sup>3</sup>J<sub>H,F</sub> = 8.6 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,F</sub> = 5.5 Hz) ppm.

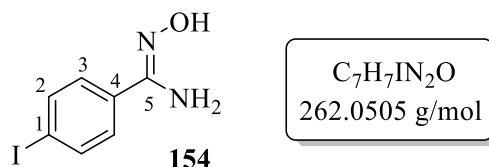
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3314 (m), 3142 (vs), 2923 (w), 2444 (w), 1980 (m), 1623 (vs), 1500 (vs), 1471 (m), 1397 (vs), 1225 (s), 1157 (s), 1026 (m), 948 (w), 849 (s), 694 (vs), 586 (s), 482 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 140.0506, gefunden = 140.0510.

**Schmelzbereich:** 148.2-150.1 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[228]</sup>

#### Synthese von 4-Iodbenzamidoxim (154)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: 4-Iodbenzonnitril (632 mg, 2.76 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (426 mg, 6.13 mmol, 2.2 eq.), Et<sub>3</sub>N (880 μL, 642 mg, 6.35 mmol, 2.3 eq.) in EtOH (5 mL); 5 Stunden bei 80 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 1:1).

<sup>(1)</sup> Das Signal für -NH<sub>2</sub> ist nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Das Signal für C-4 ist nicht sichtbar.

Das Produkt **154** (618 mg, 2.36 mmol, **85%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Des Weiteren konnte bei der Reaktion als Nebenprodukt 4-Iodobenzamid (**157**) (50 mg, 0.20 mmol, **7%**) als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.30 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9.72 (s, 1H, OH), 7.75 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, 2H, H-2), 7.48 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.5 Hz, 2H, H-3), 5.84 (s, 2H, NH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 150.1 (C-5), 136.9 (C-2), 132.9 (C-4), 127.4 (C-3), 95.2 (C-1) ppm.

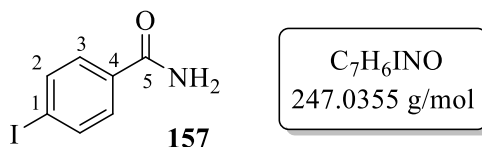
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3482 (w), 3364 (w), 3014 (w), 2833 (m), 1770 (w), 1656 (s), 1582 (s), 1487 (w), 1432 (m), 1395 (s), 1271 (w), 1184 (w), 1107 (w), 1006 (m), 948 (w), 916 (vs), 715 (s), 681 (s), 514 (w), 471 (m), 417 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 262.9676, gefunden = 262.9690.

**Schmelzbereich:** 167.5-169.1 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[229]</sup>

#### Analytik von 4-Iodobenzamid (**157**)



**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.13 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 7.87 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.3 Hz, 2H, H-2), 7.65 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.5 Hz, 2H, H-3) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 171.5 (C-5), 138.9 (C-2), 134.6 (C-4), 130.4 (C-3), 98.3 (C-1) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3347 (m), 3161 (m), 2922 (w), 2470 (w), 2380 (w), 1618 (s), 1524 (m), 1472 (s), 1299 (m), 1181 (m), 1053 (s), 839 (s), 776 (s), 743 (s), 619 (s), 438 (s).

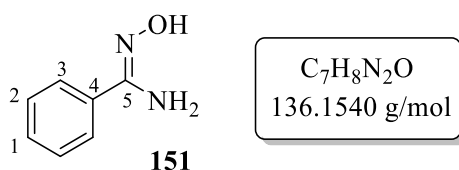
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 247.9567, gefunden = 247.9553.

**Schmelzbereich:** 214.9-216.8 °C.

<sup>(1)</sup> Das Signal für -NH<sub>2</sub> ist nicht sichtbar.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[226]</sup>

### Synthese von Benzamidoxim (**151**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: Benzonitril (1.98 mL, 2.00 g, 19.4 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (2.97 g, 42.7 mmol, 2.2 eq.), Et<sub>3</sub>N (6.18 mL, 4.51 g, 44.6 mmol, 2.3 eq.) in EtOH (20 mL); 8 Stunden bei 80 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 1:1). Das Produkt **151** (1.89 g, 13.9 mmol, **72%**) wurde als hellgrauer Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.49 (PE:EE 1:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 9.07 (s, 1H, OH), 7.65-7.63 (m, 2H, H-3), 7.43-7.38 (m, 3H, H-1, H-2), 4.92 (s, 2H, NH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 152.8 (C-5), 132.6 (C-4), 130.1 (C-1), 128.8 (C-2), 125.5 (C-3) ppm.

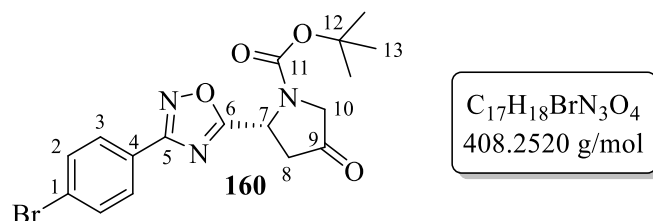
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3450 (m), 3358 (m), 3203 (s), 2891 (w), 1647 (vs), 1588 (m), 1576 (m), 1448 (w), 1383 (s), 1290 (w), 1167 (w), 1025 (w), 925 (vs), 845 (s), 767 (s), 687 (vs), 656 (s), 578 (m), 481 (s), 428 (m), 384 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 137.0709, gefunden = 137.0744.

**Schmelzbereich:** 75.1-77.0 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[217]</sup>

### Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-2-(3-(4-Bromphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-oxopyrrolidin-1-carboxylat (**160**)



Von Verbindung **160** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.9\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (10 mL) auf  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  vorgelegt; Pyrrolidon **83** (500 mg, 2.18 mmol, 1 eq.), DCC (473 mg, 2.29 mmol, 1.1 eq.), DMAP (27 mg, 0.22 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **153** (495 mg, 2.30 mmol, 1.1 eq.) zugefügt; 5 Minuten bei  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , dann 2 Stunden bei Raumtemperatur; getrocknetes Filtrat in Pyridin (10 mL) bei  $115\text{ }^{\circ}\text{C}$  für 30 Minuten; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1 $\rightarrow$ 2:1). Das Produkt **160** (630 mg, 1.54 mmol, **71%**) wurde als hellgelber Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.20 (PE:EE 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.92 (d,  $^3J$  = 8.5 Hz, 2H, H-3), 7.61 (d,  $^3J$  = 8.2 Hz, 2H, H-2), 5.70\* und 5.57 (d,  $^3J$  = 9.6 Hz, 1H, H-7), 4.08-3.97 (m, 2H, H-10<sub>a</sub>, H-10<sub>b</sub>), 3.15 (br.s, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.84 und 2.80\* (d,  $^2J$  = 16.2 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.47\* und 1.38 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 207.6\* und 206.7 (C-9), 179.0 (C-6), 168.0 (C-5), 153.9\* und 153.0 (C-11), 132.3 (C-1), 129.1 (C-2), 126.2 (C-3), 125.3 (C-4), 82.1 (C-12), 52.6\* und 52.2 (C-10), 50.8 und 50.4\* (C-7), 42.4 und 42.2\* (C-8), 28.3 (C-13) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3447 (w), 2971 (m), 2930 (m), 1762 (m), 1694 (s), 1560 (m), 1410 (s), 1394 (m), 1325 (s), 1212 (vs), 1157 (s), 1113 (m), 1063 (m), 1010 (w), 921 (m), 883 (m), 809 (w), 706 (w), 500 (m), 465 (m), 397 (m).

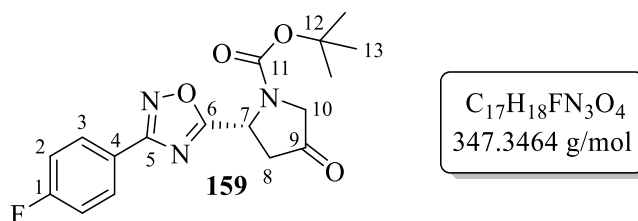
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 430.0373, gefunden = 430.0369.

**Schmelzbereich:** 167.3-169.2  $^{\circ}\text{C}$ .

**$[\alpha]_{\text{D}}^{21}$**  =  $-10.7^{\circ}$  (c 2.11, CHCl<sub>3</sub>).



### Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-2-(3-(4-Fluorphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-oxopyrrolidin-1-carboxylat (**159**)



Von Verbindung **159** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.9\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (5 mL) auf 0 °C vorgelegt; Pyrrolidon **83** (250 mg, 1.09 mmol, 1 eq.), DCC (242 mg, 1.17 mmol, 1.1 eq.), DMAP (17 mg, 0.14 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **152** (180 mg, 1.17 mmol, 1.1 eq.) zugefügt; 30 Minuten bei 0 °C, dann 2 Stunden bei Raumtemperatur; getrocknetes Filtrat in Pyridin (10 mL) bei 115 °C für 30 Minuten; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 3:1). Das Produkt **159** (263 mg, 758 µmol, **70%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.40 (PE:EE 1:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.05 (dd, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,F</sub> = 5.6 Hz, 2H, H-3), 7.17 (dd, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = <sup>3</sup>J<sub>H,F</sub> = 8.7 Hz, 2H, H-2), 5.71\* und 5.57 (br.s, 1H, H-7), 4.10-4.00 (m, 2H, H-10<sub>a</sub>, H-10<sub>b</sub>), 3.14 (br.s, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.84 und 2.80\* (d, <sup>2</sup>J = 16.4 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.48\* und 1.39 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 207.7\* und 206.8 (C-9), 179.0 und 178.7\* (C-6), 167.8 (C-5), 164.0 (d, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 250.7 Hz, C-1), 153.9\* und 153.2 (C-11), 129.8 (d, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 8.9 Hz, C-3), 122.6 (C-4), 116.2 (d, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 21.6 Hz, C-2), 82.1 (C-12), 52.6\* und 52.2 (C-10), 50.8 und 50.4\* (C-7), 42.5 und 42.2\* (C-8), 28.3\* und 28.2 (C-13) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = -107.7 und -108.1\* ppm.

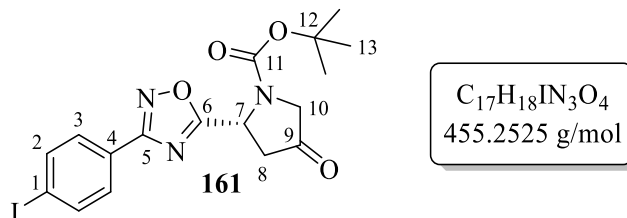
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3009 (w), 2933 (w), 1762 (s), 1697 (vs), 1568 (m), 1480 (m), 1391 (s), 1343 (m), 1231 (m), 1181 (m), 1152 (vs), 1110 (m), 1020 (w), 907 (w), 861 (s), 785 (s), 731 (w), 600 (m), 517 (m), 429 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 370.1174, gefunden = 370.1150.

**Schmelzbereich:** 144.0-145.5 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +27.1^{\circ}$  ( $c$  0.66,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-2-(3-(4-Iodphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-oxopyrrolidin-1-carboxylat (**161**)**



Von Verbindung **161** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:1 vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (10 mL) auf 0 °C vorgelegt; Pyrrolidon **83** (501 mg, 2.19 mmol, 1 eq.), DCC (474 mg, 2.30 mmol, 1.1 eq.), DMAP (33 mg, 0.27 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **154** (600 mg, 2.29 mmol, 1.1 eq.) zugefügt; 15 Minuten bei 0 °C, dann 2 Stunden bei Raumtemperatur; getrocknetes Filtrat in Pyridin (10 mL) bei 115 °C für 60 Minuten; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 4:1). Das Produkt **161** (554 mg, 1.22 mmol, **56%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.36 (PE:EE 4:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.82 (d,  $^3J$  = 8.2 Hz, 1H, H-2), 7.77 (d,  $^2J$  = 8.2 Hz, 2H, H-3), 5.70 und 5.57 (br.s, 1H, H-7), 4.14-3.97 (m, 2H, H-10<sub>a</sub>, H-10<sub>b</sub>), 3.14 (br.s, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.83 und 2.80 (d,  $^2J$  = 15.0 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.46 und 1.38 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 207.6 und 206.7 (C-9), 179.1 und 178.9 (C-6), 168.1 (C-5), 153.9 und 153.1 (C-11), 138.3 (C-2), 129.1 (C-3), 125.8 (C-4), 98.4 (C-1), 82.1 (C-12), 52.6 und 52.2 (C-10), 50.7 und 50.4 (C-7), 42.5 und 42.2 (C-8), 28.3 (C-13) ppm.

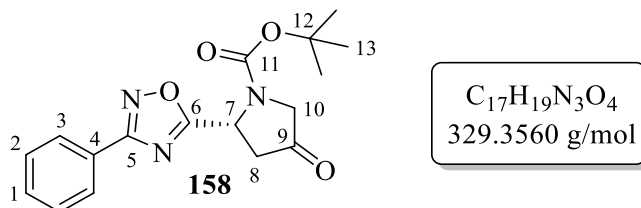
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3004 (w), 2929 (w), 1762 (s), 1697 (vs), 1584 (m), 1469 (w), 1393 (s), 1351 (m), 1269 (w), 1181 (vs), 1155 (s), 1110 (m), 1021 (m), 985 (w), 885 (w), 809 (s), 722 (w), 687 (w), 558 (w), 497 (m), 401 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):**  $m/z$  berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 478.0234, gefunden = 478.0234.

**Schmelzbereich:** 158.8-160.3 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +30.3^{\circ}$  ( $c$  0.79,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Synthese von tert-Butyl-(R)-4-oxo-2-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (158)**



Von Verbindung **158** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (11 mL) auf 0 °C vorgelegt; Pyrrolidon **83** (502 mg, 2.19 mmol, 1 eq.), DCC (426 mg, 2.06 mmol, 0.9 eq.), DMAP (28 mg, 0.23 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **151** (313 mg, 2.30 mmol, 1.1 eq.) zugefügt; 10 Minuten bei 0 °C, dann 2 Stunden bei Raumtemperatur; getrocknetes Filtrat in Pyridin (10 mL) bei 115 °C für 30 Minuten; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+1% MeOH). Das Produkt **158** (407 mg, 1.24 mmol, **57%**) wurde als hellgelber Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.43 (DCM+1% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.05 (d, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 2H, H-3), 7.51-7.46 (m, 3H, H-1, H-2), 5.71\* und 5.57 (d, <sup>3</sup>J = 9.9 Hz, 1H, H-7), 4.05-4.01 (m, 2H, H-10<sub>a</sub>, H-10<sub>b</sub>), 3.15 (br.s, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.85 und 2.81\* (d, <sup>2</sup>J = 16.4 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.48\* und 1.39 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 207.6\* und 206.8 (C-9), 178.8 und 178.6\* (C-6), 168.7 (C-5), 153.8\* und 153.1 (C-11), 131.5 (C-1), 128.9 (C-2), 127.5 (C-3), 126.3 (C-4), 81.9 (C-12), 52.5\* und 52.1 (C-10), 50.7 und 50.4\* (C-7), 42.4 und 42.2\* (C-8), 28.2 (C-13) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3051 (w), 2978 (w), 1761 (s), 1698 (vs), 1592 (w), 1527 (w), 1446 (w), 1424 (s), 1363 (m), 1302 (w), 1212 (m), 1182 (vs), 1110 (w), 1020 (m), 886 (w), 765 (s), 716 (s), 699 (s), 649 (m), 557 (w), 498 (w).

**MS (EI)<sup>(1)</sup>:** m/z (%) = 273 (11) [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>, 256 (1) [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>O]<sup>+</sup>, 229 (11) [M-C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 184 (11) [M-C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 173 (39) [M-C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 145 (23) [M-C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 119 (21) [M-C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 57 (100) [M-C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

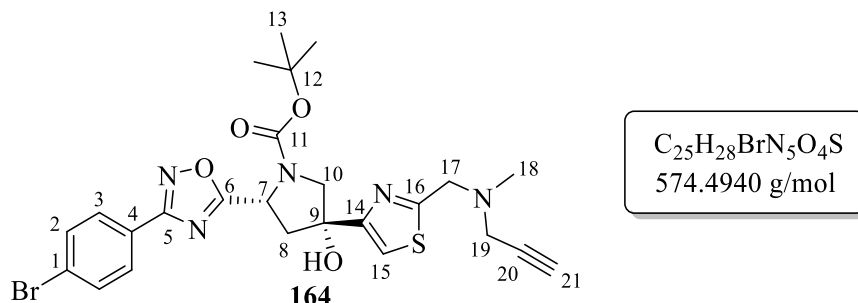
**HRMS (ESI<sup>+</sup>)<sup>(1)</sup>:** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 352.1268, gefunden = 352.1192.

**Schmelzbereich:** 114.8-116.7 °C.

<sup>(1)</sup> Die HRMS (ESI<sup>+</sup>) Daten konnten trotz mehrfacher Messungen nur mit größeren Abweichungen gemessen werden, weshalb ebenfalls EI-MS Daten erhoben wurden.

$[\alpha]_D^{23} = +32.0^\circ$  ( $c$  0.75,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-2-(3-(4-Bromphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**164**)**



Von Verbindung **164** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (151 mg, 517  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), abs. THF (3 mL),  $-78^\circ\text{C}$ ,  $^i\text{PrMgCl}\cdot\text{LiCl}$  (480  $\mu\text{L}$ , 1.3 M in THF, 624  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq.), 20 Minuten bei  $-78^\circ\text{C}$ , dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **160** (211 mg, 517  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL); 45 Minuten bei  $-78^\circ\text{C}$ , dann 45 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 4:1 $\rightarrow$ 2:1). Das Produkt **164** (57 mg, 99  $\mu\text{mol}$ , **19%** (brsm: 23%)) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Zudem konnten Oxadiazol-Pyrrolidon **160** (37 mg, 91  $\mu\text{mol}$ , 18%) reisoliert und das dehalogenierte Thiazol **93** (22 mg, 0.13 mmol, **26%**) isoliert werden (Analytik siehe S.160).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.14 (PE:EE 4:1).

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.93 und 7.91\* (d,  $^3J$  = 8.2 Hz, 2H, H-3), 7.63 und 7.60\* (d,  $^3J$  = 8.6 Hz, 2H, H-2), 7.39\* und 7.38 (s, 1H, H-15), 5.37\* und 5.26 (d,  $^3J$  = 9.8 Hz, 1H, H-7), 5.18 (br.s, 1H, -OH), 4.10 und 4.06\* (d,  $^2J$  = 11.6 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.93 und 3.86\* (d,  $^2J$  = 11.6 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.91\* und 3.90 (s, 2H, H-17), 3.46\* und 3.45 (d,  $^4J$  = 2.6 Hz, 2H, H-19), 3.21 und 3.16\* (dd,  $^2J$  = 14.1 Hz,  $^3J$  = 9.9 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.44\* und 2.43 (s, 3H, H-18), 2.40 und 2.36\* (d,  $^2J$  = 13.8 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.28 (s, 1H, H-21), 1.43\* und 1.34 (s, 9H, H-13) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 182.0 und 181.8\* (C-6), 170.8\* und 170.6 (C-16), 167.5 und 167.3\* (C-5), 156.64\* und 156.62 (C-14), 154.4\* und 153.3 (C-11), 132.4 und 132.3\* (C-2), 129.14\* und 129.08 (C-3), 126.4 und 126.1\* (C-1), 125.3\* und 125.0 (C-4), 115.7 (C-15), 81.3 und 81.2\* (C-12), 80.4 und 79.4\* (C-9), 78.04 und 79.99\* (C-20), 73.96\* und 73.92 (C-21),

60.6\* und 60.1 (C-10), 57.2\* und 57.1 (C-17), 53.1 und 52.9\* (C-7), 45.91\* und 45.86 (C-19), 44.6 und 43.8\* (C-8), 42.1\* und 42.0 (C-18), 28.4\* und 28.3 (C-13) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3402 (m), 3295 (w), 2974 (w), 2852 (m), 2798 (w), 1765 (w), 1697 (s), 1586 (w), 1522 (w), 1470 (m), 1390 (vs), 1295 (w), 1254 (m), 1165 (s), 1094 (s), 1038 (m), 966 (m), 890 (m), 836 (m), 791 (m), 656 (m), 590 (w), 458 (w).

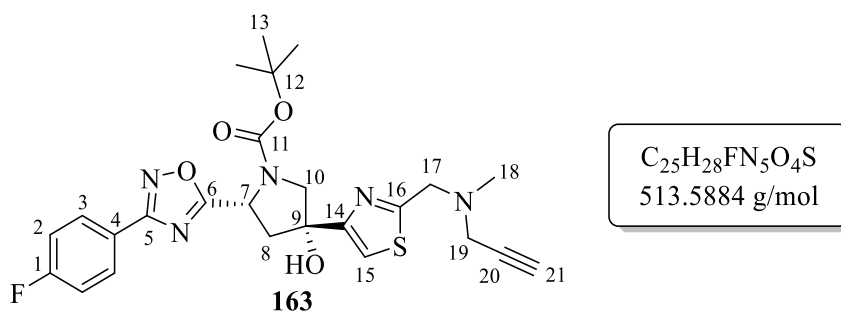
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 576.1118, gefunden = 576.1134;

m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 596.0938, gefunden = 596.0979.

**Schmelzbereich:** 50.4-51.9 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18}$  = -15.5° (c 0.51,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Synthese von tert-Butyl-(2R,4R)-2-(3-(4-Fluorphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (163)**



Von Verbindung **163** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (117 mg, 400  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), abs. THF (2 mL), -62 °C, <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (370  $\mu\text{L}$ , 1.3 M in THF, 481  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq.), 20 Minuten bei -62 °C, dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **159** (134 mg, 386  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL); 60 Minuten bei -78 °C, dann 27 Stunden bei Raumtemperatur; erste säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 4:1 → 2:1), zweite säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+1% MeOH). Das Produkt **163** (31 mg, 59  $\mu\text{mol}$ , **15%** (brsm: 18%)) wurde als farbloses Öl erhalten. Zudem konnten Verbindung **159** (20 mg, 58  $\mu\text{mol}$ , 15%) reisoliert und das dehalogenierte Thiazol **93** (26 mg, 0.16 mmol, **10%**) isoliert werden (Analytik siehe S.160).

**Rf-Wert** = 0.26 (DCM+1% MeOH).

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 8.07$  und  $8.05^*$  (dd,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.8$  Hz,  $^4J_{\text{H,F}} = 5.3$  Hz 2H, H-3),  $7.40^*$  und  $7.39$  (s, 1H, H-15),  $7.18$  und  $7.16^*$  (dd,  $^3J_{\text{H,H}} = ^3J_{\text{H,F}} = 8.5$  Hz, 2H, H-2),  $5.37^*$  und  $5.26$  (d,  $^3J = 9.6$  Hz, 1H, H-7),  $4.11$  und  $4.06^*$  (d,  $^2J = 11.5$  Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>),  $3.94$  und  $3.86$  (d,  $^2J = 11.6$  Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>),  $3.91^*$  und  $3.90$  (s, 2H, H-17),  $3.47^*$  und  $3.45$  (d,  $^4J = 2.4$  Hz, 2H, H-19),  $3.22$  und  $3.17^*$  (dd,  $^2J = 14.0$  Hz,  $^3J = 9.8$  Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>),  $2.44^*$  und  $2.43$  (s, 3H, H-18),  $2.40$  und  $2.35^*$  (d,  $^2J = 14.1$  Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>),  $2.29$  (br.s, 1H, H-21),  $1.44^*$  und  $1.35$  (s, 9H, H-13) ppm.<sup>(1)</sup>

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 181.9$  und  $181.8^*$  (C-6),  $170.8^*$  und  $170.5$  (C-16),  $167.3$  und  $167.2^*$  (C-5),  $164.1$  und  $164.0^*$  (d,  $^1J_{\text{C,F}} = 252.0$  Hz, C-1),  $156.7^*$  und  $156.6$  (C-14),  $154.4^*$  und  $153.3$  (C-11),  $129.9$  und  $129.8^*$  (d,  $^3J_{\text{C,F}} = 4.0$  Hz, C-3),  $122.6^*$  und  $122.3$  (C-4),  $116.4$  und  $116.1^*$  (d,  $^2J_{\text{C,F}} = 22.6$  Hz, C-2),  $115.7$  (C-15),  $81.3$  und  $81.2^*$  (C-12),  $80.5^*$  und  $79.4$  (C-9),  $78.04$  und  $78.00^*$  (C-20),  $74.0^*$  und  $73.9$  (C-21),  $60.7^*$  und  $60.2$  (C-10),  $57.2^*$  und  $57.1$  (C-17),  $53.0$  und  $52.9$  (C-7),  $45.91^*$  und  $45.86$  (C-19),  $44.6$  und  $43.8^*$  (C-8),  $42.1^*$  und  $42.0$  (C-18),  $28.5^*$  und  $28.3$  (C-13) ppm.

**$^{19}\text{F-NMR}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = -107.6$  und  $-108.0^*$  (tt,  $^3J_{\text{H,F}} = 8.9$  Hz,  $^4J_{\text{H,F}} = 5.7$  Hz) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3389 (m), 3298 (m), 2974 (m), 2925 (m), 2799 (w), 1697 (s), 1568 (m), 1481 (m), 1390 (vs), 1365 (vs), 1226 (m), 1156 (s), 1118 (s), 1093 (s), 1015 (w), 946 (w), 845 (s), 765 (m), 688 (m), 520 (m), 422 (w).

**MS (EI)<sup>(2)</sup>:**  $m/z$  (%) = 513 (1)  $[\text{M}]^+$ , 457 (7)  $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_9]^+$ , 395 (11)  $[\text{M}-\text{C}_7\text{H}_2\text{FN}]^+$ , 209 (14)  $[\text{M}-\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{FN}_3\text{O}_3]^+$ , 165 (21)  $[\text{M}-\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_3]^+$ , 164 (100)  $[\text{M}-\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}]^+$ , 123 (15)  $[\text{M}-\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}]^+$ , 57 (11)  $[\text{M}-\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{FN}_5\text{O}_4\text{S}]^+$ .

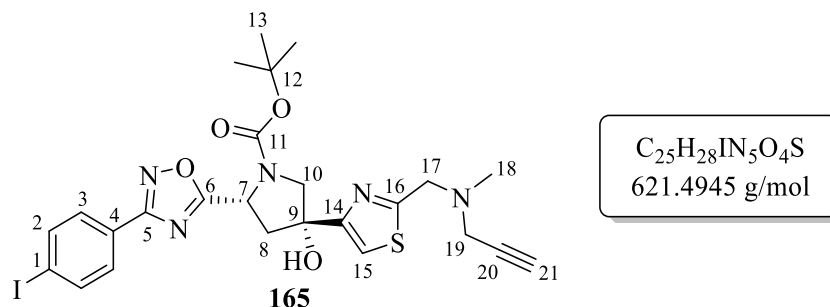
**HRMS (ESI<sup>+</sup>)<sup>(2)</sup>:**  $m/z$  berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 514.1919$ , gefunden = 514.1869;

$m/z$  berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 536.1738$ , gefunden = 536.1657.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18} = -8.1^\circ$  (c 1.43,  $\text{CHCl}_3$ ).

<sup>(1)</sup> Das Signal für -OH ist nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Die HRMS (ESI<sup>+</sup>) Daten konnten trotz mehrfacher Messungen nur mit größeren Abweichungen gemessen werden, weshalb ebenfalls EI-MS Daten erhoben wurden.

**Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-2-(3-(4-Iodphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-hydroxy-4-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**165**)**



Von Verbindung **165** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (150 mg, 514  $\mu$ mol, 1.0 eq.), abs. THF (3 mL), -78 °C, <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (480  $\mu$ L, 1.3 M in THF, 624  $\mu$ mol, 1.2 eq.), 25 Minuten bei -78 °C, dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **161** (233 mg, 512  $\mu$ mol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL); 1.5 Stunden bei -78 °C, dann 48 Stunden bei Raumtemperatur; erste säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1  $\rightarrow$  1:1), zweite säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+1% MeOH). Das Produkt **165** (13 mg, 21  $\mu$ mol, **4%** (brsm: 4%)) wurde als farbloses Öl erhalten. Zudem konnten Oxadiazol-Pyrrolidon **161** (14 mg, 31  $\mu$ mol, 6%) reisoliert und das dehalogenierte Thiazol **93** (33 mg, 0.20 mmol, **39%**) isoliert werden (Analytik siehe S.160).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.10 (DCM+1% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.85 und 7.82\* (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-2), 7.79 und 7.78\* (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-3), 7.40\* und 7.39 (s, 1H, H-15), 5.37\* und 5.27 (d, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H-7), 5.25 und 5.17 (br.s, 1H, -OH), 4.11 und 4.07\* (d, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.95 und 3.87\* (d, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.92\* und 3.91 (s, 2H, H-17), 3.47\* und 3.46 (d, <sup>4</sup>J = 2.5 Hz, 2H, H-19), 3.22 und 3.18\* (dd, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.45\* und 2.44 (s, 3H, H-18), 2.40 und 2.36\* (d, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.29 (br.s, 1H, H-21), 1.44\* und 1.35 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.0 und 181.9\* (C-6), 170.5 (C-16)<sup>(1)</sup>, 167.6 und 167.5\* (C-5), 156.6 (C-14), 153.3 (C-11), 138.4 und 138.3\* (C-2), 129.2\* und 129.1 (C-3), 125.6 (C-4), 115.7 (C-15), 98.2 (C-1)<sup>(1)</sup>, 81.3 und 81.2\* (C-12), 80.5\* und 79.4 (C-9), 78.1 (C-20), 74.0\* und 73.9 (C-21), 60.7\* und 60.1 (C-10), 57.20\* und 57.16 (C-17), 53.0 und 52.9\* (C-7),

<sup>(1)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen.

45.93\* und 45.89 (C-19), 44.6 und 43.8\* (C-8), 42.10\* und 42.06 (C-18), 28.5\* und 28.3 (C-13) ppm.

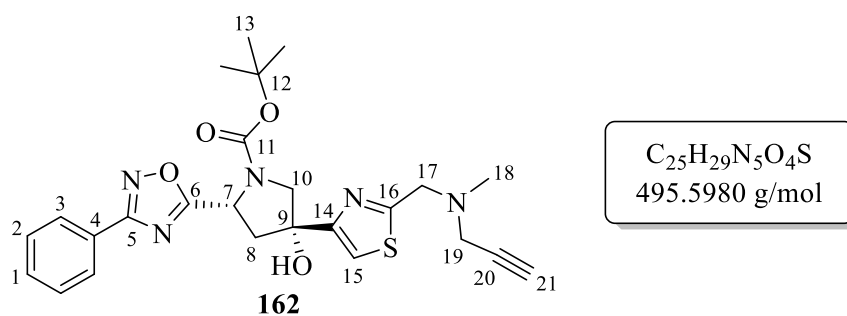
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3393 (w), 3296 (w), 2923 (m), 2796 (w), 1749 (s), 1733 (s), 1654 (m), 1471 (m), 1394 (vs), 1364 (s), 1271 (s), 1255 (m), 1056 (m), 891 (m), 853 (m), 798 (m), 728 (m), 636 (w), 501 (w), 447 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 622.0979 gefunden = 622.0971;

m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 644.0799, gefunden = 644.0780.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18}$  = -10.8° (c 0.57,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)-thiazol-4-yl)-2-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**162**)**



Von Verbindung **162** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.7\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (120 mg, 411  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq.), abs. THF (3 mL), -78 °C, <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (370  $\mu\text{L}$ , 1.3 M in THF, 481  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq.), 40 Minuten bei -78 °C, dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **158** (113 mg, 342  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (2 mL); 30 Minuten bei -78 °C, dann 29 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 4:1→3:1→2:1). Das Produkt **162** (33 mg, 67  $\mu\text{mol}$ , **19%** (brsm: 24%)) wurde als farbloses Öl erhalten. Zudem konnten Oxadiazol-Pyrrolidon **158** (20 mg, 61  $\mu\text{mol}$ , 18%) reisoliert und das dehalogenierte Thiazol **93** (25 mg, 0.15 mmol, **36%**)<sup>(1)</sup> isoliert werden (Analytik siehe S.160).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.22 (PE:EE 2:1).

<sup>(1)</sup> Die Ausbeute ist bezogen auf *n* Thiazol **84**.



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.07-8.05 (m, 2H, H-3), 7.53-7.47 (m, 3H, H-2, H-1), 7.41\* und 7.40 (s, 1H, H-15), 5.55 und 5.44\* (br.s, 1H, -OH), 5.38\* und 5.27 (d, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H-7), 4.11 und 4.07\* (d, <sup>2</sup>J = 11.6 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.95 und 3.87\* (d, <sup>2</sup>J = 11.6 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.91\* und 3.90 (s, 2H, H-17), 3.47\* und 3.45 (d, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 2H, H-19), 3.22 und 3.18\* (dd, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.44\* und 2.43 (s, 3H, H-18), 2.40 und 2.36 (d, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.29\* und 2.28 (t, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 1H, H-21), 1.43\* und 1.35 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 181.8 und 181.7\* (C-6), 170.7\* und 170.5 (C-16), 168.1 und 168.0\* (C-5), 156.74\* und 156.70 (C-14), 154.4\* und 153.3 (C-11), 131.7 und 131.5\* (C-1), 129.1 und 129.0\* (C-2), 127.7\* und 127.6 (C-3), 126.3\* und 126.0 (C-4), 115.7 (C-15), 81.3 und 81.1\* (C-12), 80.5\* und 79.4 (C-9), 78.1 und 77.4\* (C-20), 74.0\* und 73.9 (C-21), 60.8\* und 60.2 (C-10), 57.18\* und 57.15 (C-17), 53.0 und 52.9\* (C-7), 45.91\* und 45.86 (C-19), 44.6 und 43.8\* (C-8), 42.1\* und 42.0 (C-18), 28.5\* und 28.3 (C-13) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3405 (w), 3298 (w), 3120 (w), 2975 (m), 2797 (w), 1697 (vs), 1566 (m), 1445 (m), 1390 (vs), 1365 (vs), 1255 (m), 1166 (s), 1094 (s), 1038 (s), 973 (m), 889 (m), 815 (w), 753 (s), 691 (s), 589 (w), 498 (w).

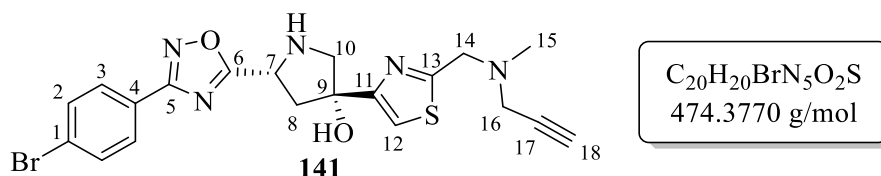
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 496.2013, gefunden = 496.1999;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 518.1826, gefunden = 518.1832;

m/z berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 534.1572, gefunden = 534.1585.

$[\alpha]_{\text{D}}^{23}$  = -12.3° (c 0.22, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von (3R,5R)-5-(3-(4-Bromphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-3-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-3-ol (141)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: Gemergede Verbindung **164** (51 mg, 89  $\mu$ mol, 1.0 eq.), DCM (5 mL), 0 °C, TFA (0.50 mL, 0.75 g, 6.5 mmol, 73 eq.); 50 Minuten bei 0 °C, dann 4 Stunden Raumtemperatur;

säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **141** (13 mg, 27  $\mu\text{mol}$ , **30%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.32 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.96 (d, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 2H, H-3), 7.62 (d, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H-2), 7.31 (s, 1H, H-12), 4.84 (dd, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 3.2 Hz, 1H, H-7), 3.91 (s, 2H, H-14), 3.55 (d, <sup>2</sup>J = 11.2 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.46 (d, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 2H, H-16), 3.36 (dd, <sup>2</sup>J = 11.2 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.01 (dd, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.49 (ddd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.44 (s, 3H, H-15), 2.29 (t, <sup>4</sup>J = 2.5 Hz, 1H, H-18) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.4 (C-6), 170.7 (C-13), 167.6 (C-5), 158.2 (C-11), 132.3 (C-2), 129.2 (C-3), 126.1 (C-1), 125.5 (C-4), 114.5 (C-12), 81.2 (C-9), 78.1 (C-17), 73.9 (C-18), 61.1 (C-10), 57.2 (C-14), 53.9 (C-7), 45.9 (C-16), 45.8 (C-8), 42.1 (C-15) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3294 (m), 2923 (m), 2797 (m), 1917 (w), 1714 (w), 1665 (w), 1588 (m), 1469 (m), 1404 (vs), 1335 (s), 1295 (s), 1179 (m), 1068 (s), 1010 (s), 904 (m), 835 (s), 734 (m), 628 (s), 502 (m), 456 (m).

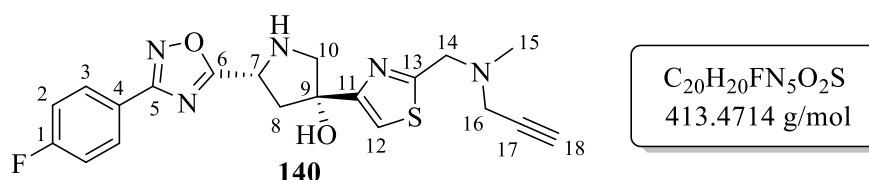
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 474.0594, gefunden = 474.0597;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 496.0413, gefunden = 496.0405.

**Schmelzbereich:** 146.2-148.1 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>17</sup>** = -65.2° (c 0.56, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von (3R,5R)-5-(3-(4-Fluorphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-3-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-3-ol (140)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: *Gemergede* Verbindung **163** (28 mg, 55  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), DCM (3 mL), 0 °C, TFA (0.31 mL, 0.46 g, 4.0 mmol, 73 eq.); 60 Minuten bei 0 °C, dann 4 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **140** (8 mg, 20  $\mu\text{mol}$ , **36%**) wurde als hellgelbes Öl erhalten.

<sup>(1)</sup> Die Signale für -NH und -OH sind nicht sichtbar.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.30 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.96 (dd, <sup>3</sup>J = 9.0 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,F</sub> = 5.2 Hz, 2H, H-3), 7.44 (s, 1H, H-12), 7.12 (dd, <sup>3</sup>J<sub>H,F</sub> = <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.6, 2H, H-2), 5.27 (dd, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 4.3 Hz, 1H, H-7), 4.05 (s, 2H, H-14), 3.85 (d, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.80 (d, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.59 (d, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 2H, H-16), 3.13 (dd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 9.9 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.79 (dd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 4.1 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.56 (s, 3H, H-15), 2.40 (t, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, 1H, H-18) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 176.6 (C-6)<sup>(2)</sup>, 167.6 (C-13), 166.3 (C-5), 164.1 (d, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 257.0 Hz, C-1), 156.1 (C-11), 129.9 (d, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 9.1 Hz, C-3), 121.8 (C-4)<sup>(2)</sup>, 116.8 (C-12), 116.2 (d, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 22.7 Hz, C-2), 79.8 (C-9), 75.5 (C-17), 73.1 (C-18), 58.3 (C-10), 56.3 (C-14), 54.0 (C-7), 45.9 (C-16), 45.6 (C-8), 41.6 (C-15) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = -107.31 (tt, <sup>3</sup>J<sub>H,F</sub> = 8.7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,F</sub> = 5.5 Hz) ppm.

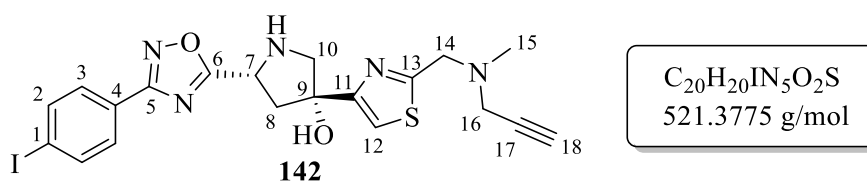
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3302 (w), 2955 (w), 2922 (m), 2852 (w), 1669 (s), 1583 (m), 1483 (m), 1462 (s), 1343 (m), 1289 (w), 1180 (s), 1127 (vs), 1039 (m), 908 (w), 844 (m), 797 (m), 720 (s), 597 (m), 519 (m), 443 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 436.1214, gefunden = 436.1233;

m/z berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 452.0953, gefunden = 452.0963.

[α]<sub>D</sub><sup>17</sup> = -24.1° (c 0.34, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von (3*R*,5*R*)-5-(3-(4-Iodphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-3-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-3-ol (142)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: *Gemergedete* Verbindung **165** (12 mg, 19 μmol, 1.0 eq.), DCM (2 mL), 0 °C, TFA (0.11 mL, 0.16 g, 1.4 mmol, 74 eq.); 60 Minuten bei 0 °C, dann 4 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **142** (4 mg, 7.7 μmol, **41%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.08 (DCM+5% MeOH).

<sup>(1)</sup> Die Signale für -NH und -OH sind nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.85-7.81 (m, 4H, H-2, H-3), 7.32 (s, 1H, H-12), 4.85 (dd, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 3.2 Hz, 1H, H-7), 3.92 (s, 2H, H-14), 3.56 (d, <sup>2</sup>J = 11.6 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.47 (d, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 2H, H-16), 3.36 (dd, <sup>2</sup>J = 11.2 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.02 (dd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.49 (ddd, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.45 (s, 3H, H-15), 2.29 (t, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, 1H, H-18) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.4 (C-6), 171.0 (C-13)<sup>(2)</sup>, 167.8 (C-5)<sup>(2)</sup>, 158.3 (C-11)<sup>(2)</sup>, 138.3 (C-2), 129.2 (C-3), 126.1 (C-4)<sup>(2)</sup>, 114.5 (C-12), 98.8 (C-1)<sup>(2)</sup>, 81.3 (C-9), 78.1 (C-17), 73.9 (C-18), 61.1 (C-10), 57.2 (C-14), 53.8 (C-7), 45.9 (C-16), 45.8 (C-8), 42.1 (C-15) ppm.

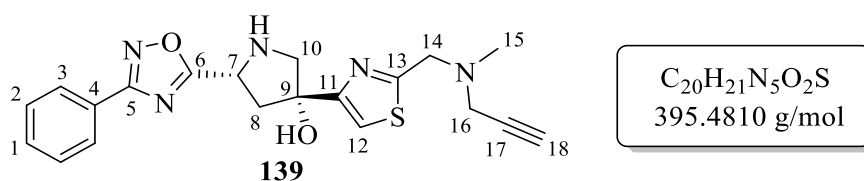
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3294 (m), 2922 (vs), 2852 (s), 2798 (w), 1763 (w), 1714 (m), 1586 (m), 1461 (s), 1401 (s), 1337 (s), 1227 (s), 1156 (m), 1118 (vs), 1007 (s), 903 (m), 832 (s), 758 (m), 653 (m), 628 (m), 521 (w), 442 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 522.0455, gefunden = 522.0418;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 544.0275, gefunden = 544.0281.

$[\alpha]_D^{17} = -13.3^\circ$  (c 0.18, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von (3R,5R)-3-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-5-(3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-3-ol (139)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: *Gemergedete* Verbindung **162** (29 mg, 59  $\mu$ mol, 1.0 eq.), DCM (3.3 mL), 0 °C, TFA (0.33 mL, 0.49 g, 4.3 mmol, 73 eq.); 10 Minuten bei 0 °C, dann 4.5 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **139** (7 mg, 18  $\mu$ mol, **31%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.10 (DCM+5% MeOH).

<sup>(1)</sup> Die Signale für -NH und -OH sind nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.09 (dd, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 2H, H-3), 7.53-7.47 (m, 3H, H-2, H-1), 7.33 (s, 1H, H-12), 4.85 (dd, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 3.0 Hz, 1H, H-7), 3.91 (s, 2H, H-14), 3.57 (d, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.47 (d, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 2H, H-16), 3.37 (dd, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.02 (dd, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.50 (ddd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 1.5 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.45 (s, 3H, H-15), 2.29 (t, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, 1H, H-18) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.2 (C-6), 170.6 (C-13), 168.2 (C-5), 158.3 (C-11), 131.5 (C-1), 129.0 (C-2), 127.7 (C-3), 126.5 (C-4), 114.5 (C-12), 81.3 (C-9), 78.1 (C-17), 73.9 (C-18), 61.2 (C-10), 57.2 (C-14), 53.9 (C-7), 45.93 (C-16), 45.85 (C-8), 42.1 (C-15) ppm.

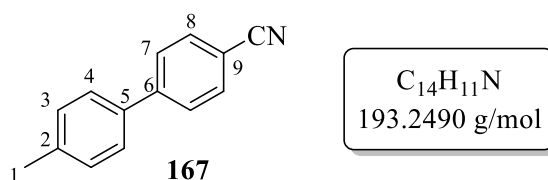
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3291 (m), 2922 (m), 2851 (w), 2797 (w), 1662 (m), 1594 (m), 1526 (w), 1475 (s), 1362 (s), 1348 (s), 1288 (w), 1157 (w), 1120 (s), 1037 (m), 970 (w), 901 (m), 829 (w), 753 (w), 690 (vs), 496 (w), 396 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 396.1489, gefunden = 396.1512;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 418.1308, gefunden = 418.1330.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup>** = -56.5° (c 0.26, CHCl<sub>3</sub>).

### Synthese von 4'-Methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carbonitril (**167**)



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von WU *et al.*<sup>[179]</sup>

4-Iodbenzonitril (44 mg, 0.19 mmol, 1.0 eq.), *para*-Tolylboronsäure (40 mg, 0.30 mol, 1.5 eq.), Kaliumphosphat (0.12 g, 0.57 mmol, 3.0 eq.) und PdXPhos G2 (2.0 mg, 2.5 · 10<sup>-3</sup> mmol, 1 mol%) wurden in abs. EtOH (3 mL) suspendiert und fortan für 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde nach 8 Stunden durch Zugabe von H<sub>2</sub>O (30 mL) beendet. Die wässrige Phase wurde mit DCM (3x je 20 mL) extrahiert und die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und es erfolgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Toluol:DCM 1:1). Das Produkt **167** (31 mg, 0.16 mmol, **84%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.25 (PE:EE 4:1).

<sup>(1)</sup> Die Signale für -NH und -OH sind nicht sichtbar.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.71 (d, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 2H, H-8), 7.67 (d, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 2H, H-7), 7.49 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H-4), 7.29 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H-3), 2.42 (s, 3H, H-1) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 145.8 (C-6), 138.9 (C-2), 136.4 (C-5), 132.7 (C-8), 130.0 (C-3), 127.6 (C-7), 127.2 (C-4), 119.2 (-CN), 110.7 (C-9), 21.3 (C-1) ppm.

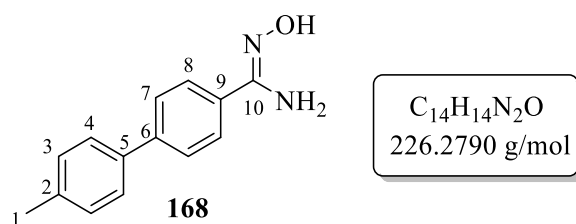
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3450 (m), 3358 (s), 3201 (m), 3057 (m), 2891 (m), 2855 (m), 1646 (vs), 1588 (s), 1576 (s), 1448 (m), 1384 (s), 925 (s), 914 (s), 687 (vs).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 194.0964, gefunden = 194.1003.

**Schmelzbereich:** 103.9-105.8 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[230]</sup>

### Synthese von (Z)-N'-Hydroxy-4'-methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboximidamid (**168**)



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von REIERSØLMOEN *et al.*<sup>[180]</sup>

4-Iodbenzamidoxim (**154**) (20 mg, 76  $\mu$ mol, 1.0 eq.), *para*-Tolylboronsäure (13 mg, 96  $\mu$ mol, 1.5 eq.), Kaliumcarbonat (50 mg, 0.36 mmol, 4.7 eq.) und PdXPhos G2 (3.1 mg,  $3.8 \cdot 10^{-3}$  mmol, 5 mol%) wurden in abs. THF (2 mL) suspendiert und fortan bei Raumtemperatur gerührt. Nach 6 Tagen wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wurde direkt säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:EE 4:1) gereinigt. Das Produkt **168** (14 mg, 62  $\mu$ mol, **82%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Rf-Wert** = 0.24 (PE:EE 4:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 10.39 (s, 1H, -OH), 7.95 (d, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H-8), 7.80 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-4), 7.74 (d, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H-7), 7.31 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-3), 2.36 (s, 3H, H-1) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 158.7 (C-10), 140.9 (C-2), 137.8 (C-8), 133.9 (C-4), 128.9 (C-3), 128.0 (C-7), 127.4 (C-5), 97.8 (C-9), 21.3 (C-1) ppm.<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Das Signal für -NH<sub>2</sub> ist nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Das Signal für C-6 ist nicht sichtbar.

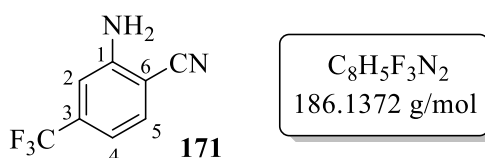
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3399 (m), 2910 (w), 2299 (w), 1593 (m), 1426 (s), 1198 (m), 827 (vs), 724 (s), 631 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 227.1179, gefunden = 227.1186.

**Schmelzbereich:** 212.1-214.6 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt. Es wurden keine vollständigen analytischen Daten veröffentlicht.<sup>[231]</sup>

### Synthese von 2-Amino-4-(trifluormethyl)benzonitril (**171**)



Die Synthese erfolgte nach einer Vorschrift von M. YAMAZAKI *et al.*<sup>[182]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurden 3-Nitrobenzotrifluorid (70 µL, 100 mg, 523 µmol, 1.0 eq.), Cyanoacetat (170 µL, 178 mg, 1.57 mmol, 2.7 eq.) und KOH (90 mg, 1.60 mmol, 3.1 eq.) bei Raumtemperatur in DMF (2 mL) gelöst. Die Reaktionslösung wurde für 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der verbleibende ölige Rückstand wurde mit NaOH-Lsg. (5%ig in H<sub>2</sub>O, 5 mL) versetzt und für 3 Stunden bei 105 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt und die wässrige Phase wurde mit EE (5x je 10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 10:1) konnte das Produkt **171** (54 mg, 289 µmol, **55%**) als blassgelber Feststoff erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.35 (PE:EE 9:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.51 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H, H-5), 6.99 (d, <sup>4</sup>J = 0.8 Hz, 1H, H-2), 6.97 (dd, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>4</sup>J = 0.8 Hz, 1H, H-4), 4.63 (s, 2H, NH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 149.7 (C-1), 135.8 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 32.5 Hz, C-3)<sup>(1)</sup>, 133.4 (C-5), 122.4 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 267.0 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 116.5 (-CN), 114.4 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.8 Hz, C-4), 112.0 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 4.0 Hz, C-2), 99.08 (C-6) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -64.10 ppm.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

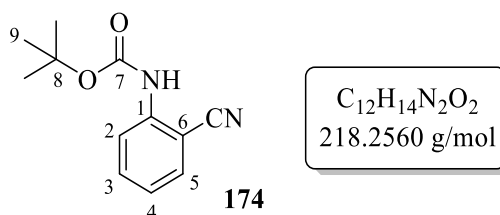
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3326(m), 3211 (m), 2924 (w), 2225 (m), 1907 (w), 1761 (m), 1619 (m), 1504 (m), 1435 (s), 1309 (s), 1166 (s), 1116 (vs), 926 (w), 817 (s), 701 (m), 625 (w), 514 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 187.0478, gefunden = 187.0476.

**Schmelzbereich:** 86.7-88.6 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[182]</sup>

### Synthese von *tert*-Butyl-(2-cyanophenyl)carbammat (**174**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 10**.

Ansatzgröße: 2-Aminobenzonitril (2.30g, 19.5 mmol, 1.0 eq.) in DCM (23 mL), Et<sub>3</sub>N (4.10 mL, 2.99 g, 29.6 mmol, 1.5 eq.), DMAP (236 mg, 1.93 mmol, 0.1 eq.) und Boc<sub>2</sub>O (5.37 mL, 5.11 g, 23.4 mmol, 1.2 eq.); 24 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1→3:1). Das Produkt **174** (1.58 g, 7.25 mmol, **37%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Des Weiteren konnten das cyclische Produkt **176** (166 mg, 0.633 μmol, **3%**) und das doppelt geschützte Produkt **175** (1.39 g, 4.37 mmol, **22%**) jeweils als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.81 (PE:EE 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.23 (d, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H-2), 7.56-7.52 (m, 2H, H-3, H-5), 7.07 (ddd, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 1H, H-4), 7.02 (s, 1H, NH), 1.53 (s, 9H, H-9) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 152.0 (C-7), 141.5 (C-1), 134.3 (C-5), 132.4 (C-3), 122.9 (C-4), 119.3 (C-2), 116.6 (-CN), 100.8 (C-6), 82.05 (C-8), 28.31 (C-9) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3262 (m), 3040 (w), 2981 (m), 2221 (m), 1717 (s), 1603 (s), 1526 (s), 1481 (w), 1392 (w), 1302 (s), 1246 (s), 1152 (vs), 1027 (m), 948 (w), 867 (m), 755 (vs), 642 (m), 503 (m), 452 (w).

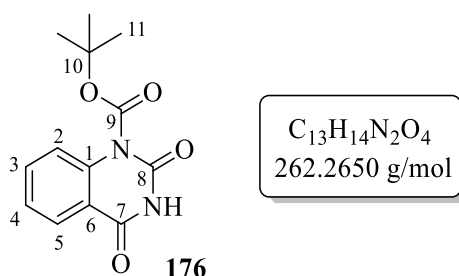
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 241.0947, gefunden = 241.0958.

**Schmelzbereich:** 72.9-74.8 °C.



Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[232]</sup>

### Analytik von *tert*-Butyl-2,4-dioxo-3,4-dihydroquinazoline-1(2*H*)-carboxylat (**176**)



**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.53 (PE:EE 3:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.71-7.65 (m, 2H, H-2, H-3), 7.58 (dd, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz 1H, H-5), 7.45 (ddd, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, 1H, H-4), 1.48 (s, 9H, H-11) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 153.3 (C-7), 150.6 (C-9), 141.5 (C-8), 134.1 (C-3), 133.1 (C-2), 129.4 (C-5), 128.8 (C-4), 116.2 (C-1), 113.7 (C-6), 85.13 (C-10), 27.93 (C-11) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3302 (w), 2922 (m), 2852 (m), 1980 (w), 1722 (w), 1570 (w), 1417 (m), 1321 (vs), 1166 (s), 1121 (s), 1064 (s), 1017 (m), 852 (s), 762 (m), 631 (m), 465 (m).

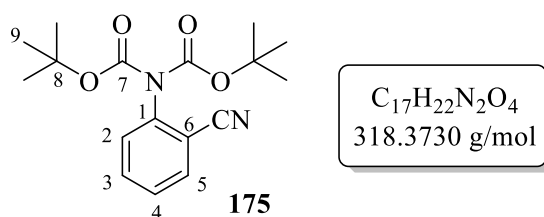
**MS (EI)<sup>(2)</sup>:** m/z = 162 (68) [M-C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 144 (38) [(M-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>4</sub>)]<sup>+</sup>, 118 (48) [M-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 91 (7) [M-C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 57 (100) [M-C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>)<sup>(2)</sup>:** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 263.1026, gefunden = 263.0942;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 285.0840, gefunden = 285.0758.

**Schmelzbereich:** 165.1-167.0 °C.

### Analytik von *tert*-Butyl-(*tert*-butoxycarbonyl)(2-cyanophenyl)carbammat (**175**)



**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.53 (PE:EE 5:1).

<sup>(1)</sup> Das Signal für -NH ist nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Die HRMS (ESI<sup>+</sup>) Daten konnten trotz mehrfacher Messungen nur mit größeren Abweichungen gemessen werden, weshalb ebenfalls EI-MS Daten erhoben wurden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.68 (dd,  $^3J = 7.9$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H, H-5), 7.61 (ddd,  $^3J = ^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz, 1H, H-3), 7.41 (ddd,  $^3J = ^3J = 7.5$  Hz,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H, H-4), 7.28 (dd,  $^3J = 7.9$  Hz,  $^4J = 1.1$  Hz, 1H, H-2), 1.43 (s, 18H, H-9) ppm.

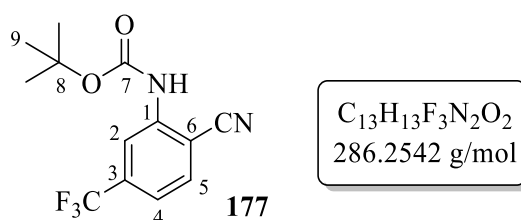
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 150.5 (C-7), 142.2 (C-1), 133.4 (C-3), 133.0 (C-5), 129.5 (C-2), 128.2 (C-4), 116.1 (-CN), 113.3 (C-6), 84.00 (C-8), 27.93 (C-9) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3069 (w), 2977 (m), 2231 (m), 1790 (s), 1753 (s), 1599 (m), 1491 (m), 1394(s), 1274 (s), 1246 (s), 1148 (s), 1097 (vs), 925 (w), 873 (m), 775 (s), 644 (w), 532 (m), 438 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 341.1472$ , gefunden = 341.1468.

**Schmelzbereich:** 67.8-69.7 °C.

### Synthese von *tert*-Butyl-(2-cyano-5-(trifluormethyl)phenyl)carbammat (**177**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 10**.

Ansatzgröße: Aminobenzonitril **171** (1.47 g, 12.4 mmol, 1.0 eq.) in DCM (30 mL),  $\text{Et}_3\text{N}$  (2.64 mL, 1.93 g, 19.1 mmol, 1.5 eq.), DMAP (155 mg, 1.27 mmol, 0.1 eq.) und  $\text{Boc}_2\text{O}$  (3.50 mL, 3.33 g, 15.2 mmol, 1.2 eq.); 21 Stunden bei Raumtemperatur; erste säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 9:1→5:1), zweite säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel einer Mischfraktion (PE:EE 15:1). Das Produkt **177** (211 mg, 737  $\mu\text{mol}$ , **6%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Des Weiteren konnten das doppelt geschützte Produkt **178** (2.43 g, 6.28 mmol, **51%**) und das Ureaderivat **179** (20 mg, 70  $\mu\text{mol}$ , **<1%**) jeweils als farblose Feststoffe isoliert werden.

**$R_f$ -Wert** = 0.49 (PE:EE 15:1).

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 8.62 (s, 1H, H-2), 7.66 (d,  $^3J = 8.1$  Hz, 1H, H-5), 7.33 (ddd,  $^3J = 8.1$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz,  $^4J_{\text{H,F}} = 0.7$  Hz, 1H, H-4), 7.16 (s, 1H, NH), 1.55 (s, 9H, H-9) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 151.6$  (C-7), 142.2 (C-1), 135.0 (q,  $^2J_{\text{C,F}} = 33.4$  Hz, C-3)<sup>(1)</sup>, 133.0 (C-5), 124.0 ( $\text{CF}_3$ )<sup>(1)</sup>, 119.2 (q,  $^3J_{\text{C,F}} = 3.7$  Hz, C-4), 116.1 (q,  $^3J_{\text{C,F}} = 3.7$  Hz, C-2), 115.5 (-CN), 103.4 (C-6), 83.0 (C-8), 28.28 (C-9) ppm.

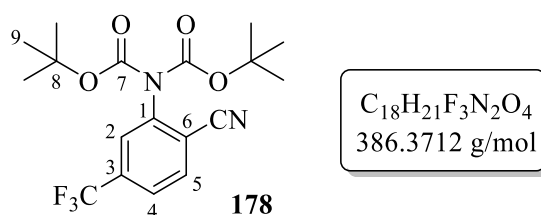
**$^{19}\text{F-NMR}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = -63.69$  ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3333 (m), 2937 (m), 2228 (m), 1801 (w), 1710 (s), 1578 (m), 1523 (s), 1388 (w), 1333 (s), 1275 (s), 1244 (s), 1129 (vs), 1072 (s), 961 (w), 862 (s), 766 (m), 571 (s), 459 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 309.0821$ , gefunden = 309.0817.

**Schmelzbereich:** 88.8-90.7 °C.

**Analytik von *tert*-Butyl-(2-cyano-5-(trifluormethyl)phenyl)(3,3-dimethylbutanoyl)-carbamat (178)**



**$R_f$ -Wert** = 0.76 (PE:EE 9:1).

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.82$  (d,  $^3J = 8.1$  Hz, 1H, H-5), 7.69 (d,  $^3J = 8.1$  Hz, 1H, H-4), 7.56 (s, 1H, H-2), 1.45 (s, 18H, H-9) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 150.0$  (C-7), 143.0 (C-1), 135.0 (q,  $^2J_{\text{C,F}} = 33.4$  Hz, C-3), 133.6 (C-5), 126.9 (q,  $^3J_{\text{C,F}} = 3.7$  Hz, C-2), 125.0 (q,  $^3J_{\text{C,F}} = 3.5$  Hz, C-4), 121.9 (q,  $^1J_{\text{C,F}} = 267.7$  Hz,  $\text{CF}_3$ ), 116.9 (-CN), 114.9 (C-6), 84.8 (C-8), 27.9 (C-9) ppm.

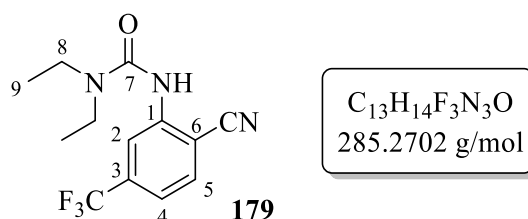
**$^{19}\text{F-NMR}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = -63.42$  ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3093 (w), 2984 (m), 2233 (w), 1800 (s), 1618 (w), 1482 (w), 1328 (s), 1279 (s), 1256 (s), 1150 (s), 1093 (vs), 1024 (m), 917 (w), 856 (s), 776 (m), 691 (m), 572 (m), 540 (m), 450 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 409.1346$ , gefunden = 409.1338.

**Schmelzbereich:** 114.0-115.9 °C.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter. Für die  $\text{CF}_3$ -Gruppe konnte deshalb keine  $J$  ermittelt werden.

**Analytik von 3-(2-Cyano-5-(trifluormethyl)phenyl)-1,1-diethylurea (179)**

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.30 (PE:EE 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.74 (s, 1H, H-2), 7.63 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H, H-5), 7.29 (dd, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-4), 7.14 (s, 1H, -NH), 3.44 (q, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, 4H, H-8), 1.30 (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 6H, H-9) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 153.1 (C-7), 143.4 (C-1), 135.8 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 32.1 Hz, C-3)<sup>(1)</sup>, 132.4 (C-5), 121.9 (CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 118.8 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.7 Hz, C-4), 117.2 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 4.0 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 116.1 (-CN), 103.5 (C-6), 42.3 (C-8), 13.9 (C-9) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.67 ppm.

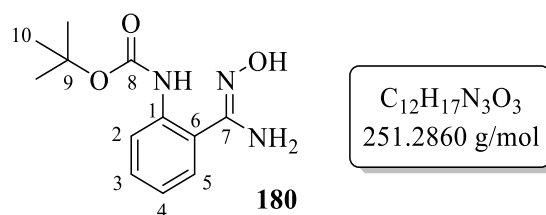
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3212 (w), 2981 (w), 2921 (m), 2851 (w), 1738 (w), 1643 (vs), 1523 (m), 1471 (s), 1392 (m), 1331 (s), 1234 (s), 1164 (w), 1132 (s), 1098 (vs), 1071 (s), 975 (w), 895 (m), 855 (m), 744 (m), 621 (m), 539 (m), 418 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 286.1162, gefunden = 286.1168;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 308.0981, gefunden = 308.0994.

**Schmelzbereich:** 99.7-101.6 °C.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter. Für die CF<sub>3</sub>-Gruppe konnte deshalb keine *J* ermittelt werden.

**Synthese von *tert*-Butyl-(*Z*)-(2-(*N'*-hydroxycarbamimidoyl)phenyl)carbammat (**180**)**

Variante 1: Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: Monogeschütztes Benzonitril **174** (1.09 g, 5.00 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (773 mg, 11.1 mmol, 2.2 eq.), Et<sub>3</sub>N (1.59 mL, 1.16 g, 11.5 mmol, 2.3 eq.) in EtOH (20 mL); 6 Stunden bei 80 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 3:1). Das Produkt **180** (951 mg, 3.78 mmol, **76%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Des Weiteren konnte Benzamid **182** (40 mg, 169 μmol, **3%**) als farbloser Feststoff isoliert werden.

Variante 2: Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: Doppelt geschütztes Benzonitril **175** (0.11 g, 0.35 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (50 mg, 0.72 mmol, 2.1 eq.), Et<sub>3</sub>N (0.10 mL, 73 mg, 0.72 mmol, 2.1 eq.) in EtOH (2 mL); 6 Stunden bei 80 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1). Das Produkt **180** (45 mg, 0.18 mmol, **51%**, (brsm: 84%)) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Zudem konnte doppelt geschütztes Benzonitril **175** (43 mg, 0.14 mmol, 40%) als farbloser Feststoff reisoliert werden (Analytik siehe S.216).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.24 (PE:EE 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 9.52 (s, 1H, -OH), 8.29 (d, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 1H, H-2), 7.44 (dd, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-5), 7.36 (ddd, <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 7.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-3), 7.04 (ddd, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H-4), 6.35 (s, 1H, NH), 4.91 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 1.52 (s, 9H, H-10) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 153.2 (C-8), 152.8 (C-7), 137.6 (C-1), 130.7 (C-3), 127.0 (C-5), 122.2 (C-4), 119.9 (C-2), 119.2 (C-6), 80.44 (C-9), 28.52 (C-10) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3466 (m), 3330 (m), 2977 (m), 1692 (s), 1580 (s), 1517 (vs), 1391 (s), 1228 (s), 1154 (vs), 1144 (vs), 1046 (s), 944 (s), 873 (m), 777 (m), 742 (vs), 654 (m), 609 (s), 467 (s), 446 (s).

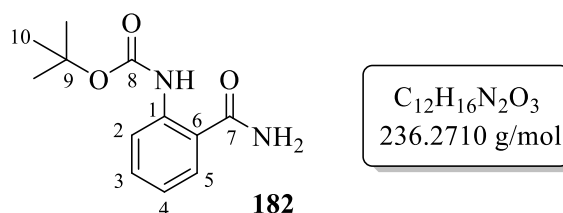
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 252.1361, gefunden = 252.1343;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 274.1162, gefunden = 274.1178.

**Schmelzbereich:** 115.2-117.1 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[183]</sup>

**Analytik von *tert*-Butyl-(2-carbamoylphenyl)carbammat (182)**



**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.25 (PE:EE 3:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 10.20 (s, 1H, -NH), 8.34 (dd, <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H-2), 7.48 (dd, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-5), 7.43 (ddd, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 7.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-3), 6.95 (ddd, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz = <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 1H, H-4), 6.25 (br.s, 1H, NH<sub>2a</sub>), 6.11 (br.s, 1H, NH<sub>2b</sub>), 1.51 (s, 9H, H-10) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 171.6 (C-7), 153.2 (C-8), 140.8 (C-1), 133.2 (C-3), 127.5 (C-5), 121.5 (C-4), 120.1 (C-2), 118.5 (C-6), 80.5 (C-9), 28.4 (C-10) ppm.

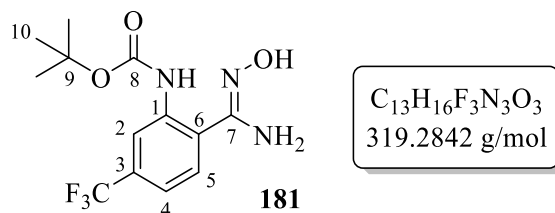
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3463 (m), 3357 (m), 3230 (m), 2980 (m), 1854 (w), 1710 (s), 1648 (s), 1521 (s), 1389 (vs), 1251 (m), 1151 (vs), 1046 (s), 905 (w), 835 (m), 765 (vs), 625 (m), 513 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 259.1053, gefunden = 259.1087.

**Schmelzbereich:** 170.3-172.2 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[233]</sup>

**Synthese von *tert*-Butyl-(*Z*)-(2-(*N'*-hydroxycarbamimidoyl)-5-(trifluormethyl)phenyl)-carbammat (**181**)**



Variante 1: Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: Monogeschütztes Benzonitril **177** (70 mg, 0.25 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (39 mg, 0.56 mmol, 2.2 eq.), Et<sub>3</sub>N (80 µL, 57 mg, 0.57 mmol, 2.3 eq.) in EtOH (2 mL); 4.5 Stunden bei 80 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1). Das Produkt **181** (72 mg, 0.23 mmol, **92%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Variante 2: Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: Doppelt geschütztes Benzonitril **178** (733 mg, 1.90 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (296 mg, 4.26 mmol, 2.2 eq.), Et<sub>3</sub>N (605 µL, 442 mg, 4.36 mmol, 2.3 eq.) in EtOH (15 mL); 24 Stunden bei 80 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 9:1→5:1). Das Produkt **181** (350 mg, 1.10 mmol, **58%** (brsm: 68%)) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Zudem wurde das Edukt **178** (107 mg, 277 µmol, 15%) reisoliert. Monogeschütztes Benzonitril **177** (27 mg, 94 µmol, **5%**) konnte als Zersetzungsprodukt ebenfalls isoliert werden (Analytik siehe S.217). Ebenfalls konnte Benzamid **183** (37 mg, 91 µmol, **5%**) als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.24 (PE:EE 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 9.70 (s, 1H, -OH), 8.65 (s, 1H, H-2), 7.55 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 1H, H-5), 7.26 (dd, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 1H, H-4), 6.72 (br.s, 1H, NH), 4.96 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 1.53 (s, 9H, H-10) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 152.9 (C-8), 151.9 (C-7), 138.3 (C-1), 132.5 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 33.0 Hz, C-3)<sup>(1)</sup>, 127.4 (C-5), 124.0 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 272.2 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 121.56 (C-6), 118.5 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.9 Hz, C-4), 116.7 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.4 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 81.1 (C-9), 28.5 (C-10) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = -63.04 ppm.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

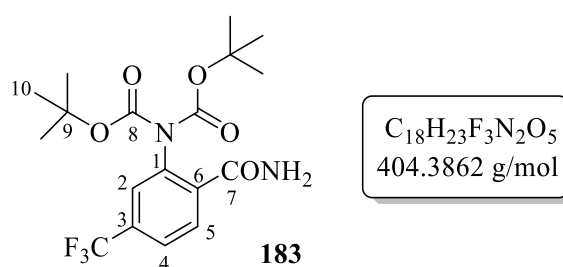
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3489 (w), 3419 (m), 3370 (m), 2984 (w), 1684 (s), 1640 (s), 1529 (m), 1476 (w), 1364 (s), 1333 (vs), 1274 (m), 1154 (s), 1120 (vs), 961 (m), 859 (w), 794 (m), 688 (w), 584 (w), 435 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 320.1217, gefunden = 320.1214;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 342.1036, gefunden = 342.1039.

**Schmelzbereich:** 163.0-164.9 °C.

**Analytik von *tert*-Butyl-(*tert*-butoxycarbonyl)(2-carbamoyl-5-(trifluormethyl)phenyl)-carbammat (183)**



Von Verbindung **183** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:1 vor.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.58 (PE:EE 4:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 9.75 (s, 1H, -NH<sub>2a</sub>), 8.75 (s, 1H, H-2), 7.92 (s, 1H, -NH<sub>2b</sub>), 7.59 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 1H, H-5), 7.27-7.25 (m, 1H, H-4), 6.72 (s, 1H, NH), 1.55 und 1.51 (s, 18H, H-10) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 166.3 (C-7), 152.7 und 148.9 (C-8), 141.8 (C-1), 135.4 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 32.8 Hz, C-3), 127.7 (C-5), 122.4 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 268.9 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 121.1 (C-6), 118.0 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.8 Hz, C-4)<sup>(1)</sup>, 117.5 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.7 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 83.8 und 81.6 (C-9), 28.4 und 28.1 (C-10) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.51 ppm.

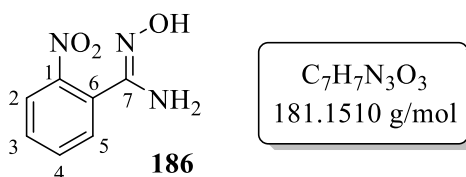
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3257 (w), 2981 (w), 2930 (w), 2115 (w), 1764 (s), 1513 (m), 1441 (m), 1369 (m), 1280 (m), 1128 (vs), 1026 (w), 942 (m), 770 (m), 697 (m), 605 (w), 447 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 427.1451, gefunden = 427.1472.

**Schmelzbereich:** 230.1-232.0 °C.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.



**Synthese von (Z)-N'-Hydroxy-2-nitrobenzimidamid (186)**

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: 2-Nitrobenzonnitril (1.00 g, 6.75 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (1.07 g, 15.4 mmol, 2.3 eq.), Et<sub>3</sub>N (2.15 mL, 1.57 g, 15.5 mmol, 2.3 eq.) in EtOH (25 mL); 25 Stunden bei 80 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 3:1→2:1→1:1). Das Produkt **186** (440 mg, 2.43 mmol, **36%**, (brsm: 40%)) wurde als gelber Feststoff erhalten. Zudem wurde 2-Nitrobenzonnitril (100 mg, 675 μmol, 10%) reisoliert. Des Weiteren konnte bei der Reaktion als Nebenprodukt 2-Nitrobenzamid (**188**) (257 mg, 1.55 mmol, **23%**, (brsm: 26%)) als gelber Schaum isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.38 (PE:EE 1:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = 9.70 (s, 1H, OH), 7.85 (dd, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H-5), 7.71 (ddd, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H-3), 7.65 (dd, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-2), 7.62 (ddd, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, 1H, H-4), 6.01 (s, 2H, NH<sub>2</sub>) ppm.

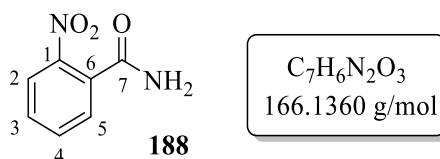
**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = 149.0 (C-7), 148.8 (C-1), 132.2 (C-3), 130.2 (C-2), 129.9 (C-4), 128.1 (C-6), 123.5 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3480 (w), 3383 (m), 3093 (w), 2915 (w), 1673 (m), 1575 (m), 1467 (vs), 1386 (w), 1356 (vs), 1101 (w), 990 (s), 883 (m), 785 (s), 570 (w), 505 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 182.0560, gefunden = 182.0673.

**Schmelzbereich:** 145.3-147.2 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[234]</sup>

**Analytik von 2-Nitrobenzamid (188)**

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.19 (PE:EE 1:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 8.13 (s, 1H, NH<sub>2a</sub>), 7.97 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.0 Hz, 1H, H-5), 7.75 (ddd, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.2 Hz, 1H, H-3), 7.66 (s, 1H, NH<sub>2b</sub>), 7.65 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1H, H-2), 7.62 (ddd, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, H-4) ppm.

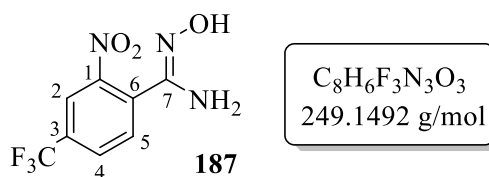
**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 167.2 (C-7), 147.2 (C-1), 133.3 (C-3), 132.6 (C-6), 130.6 (C-2), 128.8 (C-4), 123.9 (C-5) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3355 (m), 3165 (m), 2776 (w), 2050 (w), 1651 (m), 1621 (m), 1518 (vs), 1405 (s), 1355 (s), 1159 (m), 995 (w), 891 (m), 781 (s), 666 (vs), 581 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 189.0271, gefunden = 189.0283.

**Schmelzbereich:** 174.5-176.4 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[235]</sup>

**Synthese von (Z)-N'-Hydroxy-2-nitro-4-(trifluormethyl)benzimidamid (187)**

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Ansatzgröße: 2-Nitro-4-(Trifluormethyl)benzimidamid (2.02 g, 9.35 mmol, 1.0 eq.), Hydroxylaminhydrochlorid (1.43 g, 20.6 mmol, 2.2 eq.), Et<sub>3</sub>N (2.95 mL, 2.15 g, 21.3 mmol, 2.3 eq.) in EtOH (30 mL); 5 Stunden bei 80 °C; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1→EE). Das Produkt **187** (1.45 g, 5.83 mmol, **62%**) wurde als gelber Feststoff erhalten. Des Weiteren konnte 2-Nitro-4-(trifluormethyl)benzimidamid (**189**) (179 mg, 762 μmol, **8%**) als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.40 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 9.98 (s, 1H, OH), 8.31 (d, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1H, H-2), 8.11 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.3 Hz, 1H, H-4), 7.90 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.1 Hz, 1H, H-5), 6.17 (s, 2H, NH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 149.1 (C-7), 147.8 (C-1), 131.6 (C-5), 129.8 (q, <sup>2</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 33.9 Hz, C-3)<sup>(1)</sup>, 128.7 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 3.8 Hz, C-4), 122.0 (q, <sup>1</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 272.5 Hz, CF<sub>3</sub>), 120.9 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 3.9 Hz, C-2)<sup>(1)</sup> ppm.<sup>(2)</sup>

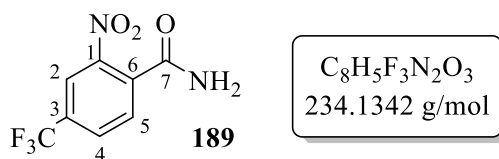
**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = -56.63 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3508 (m), 3393 (m), 3258 (w), 2899 (w), 1660 (s), 1583 (m), 1537 (s), 1402 (vs), 1320 (m), 1122 (vs), 1065 (vs), 899 (s), 780 (m), 697 (m), 657 (w), 424 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 250.0434, gefunden = 250.0460.

**Schmelzbereich:** 166.5-168.4 °C.

#### Analytik von 2-Nitro-4-(trifluormethyl)benzamid (189)



**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.16 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 8.41 (d, <sup>4</sup>*J* = 1.0 Hz, 1H, H-2), 8.26 (s, 1H, NH<sub>2a</sub>), 8.19 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, H-4), 7.91 (s, 1H, NH<sub>2b</sub>), 7.88 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, 1H, H-5) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 165.9 (C-7), 147.3 (C-1), 136.1 (C-6), 130.5 (q, <sup>2</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 33.7 Hz, C-3)<sup>(1)</sup>, 130.3 (C-5), 130.1 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 3.5 Hz, C-4)<sup>(1)</sup>, 122.0 (q, <sup>1</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 273.1 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 121.3 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 4.1 Hz, C-2) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = -61.49 ppm.

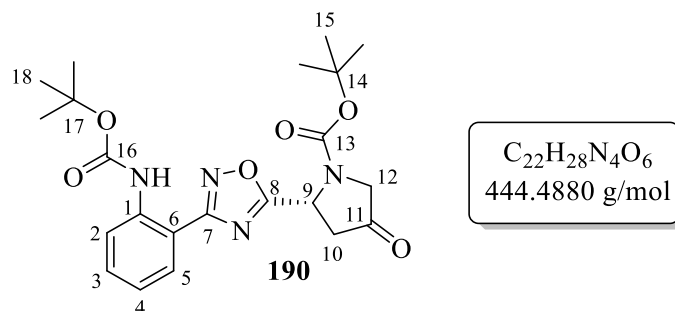
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3443 (m), 3292 (w), 3195 (m), 2884 (w), 1956 (w), 1814 (w), 1674 (s), 1574 (s), 1400 (m), 1322 (s), 1179 (vs), 1065 (vs), 907 (m), 858 (m), 718 (m), 632 (m), 533 (s), 473 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 257.0144, gefunden = 257.0135.

**Schmelzbereich:** 156.0-157.9 °C.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter. <sup>(2)</sup> Das Signal für C-6 ist nicht sichtbar.

**Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-2-(3-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-oxopyrrolidin-1-carboxylat (**190**)**



Von Verbindung **190** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.9\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (10 mL) auf  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  vorgelegt; Pyrrolidon **83** (525 mg, 2.29 mmol, 1.0 eq.), DCC (490 mg, 2.37 mmol, 1.0 eq.), DMAP (33 mg, 0.27 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **180** (579 mg, 2.30 mmol, 1.0 eq.) zugefügt; 15 Minuten bei  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , dann 2.5 Stunden bei Raumtemperatur; getrocknetes Filtrat in Pyridin (10 mL) bei  $115\text{ }^{\circ}\text{C}$  für 55 Minuten; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1). Das Produkt **190** (687 mg, 1.26 mmol, **55%**) wurde als farbloser Schaum erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.31 (PE:EE 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 9.35 (s, 1H, -NH), 8.40 (d, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 1H, H-2), 8.09 (dd, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-5), 7.48-7.45 (m, 1H, H-3), 7.11-7.08 (m, 1H, H-4), 5.73\* und 5.61 (br.s, 1H, H-9), 4.11-3.96 (m, 2H, H-12<sub>a</sub>, H-12<sub>b</sub>), 3.16 (br.s, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.82 (dd, <sup>2</sup>J = 18.6 Hz, <sup>3</sup>J = 2.2 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 1.54 (s, 9H, H-18), 1.46\* und 1.38 (s, 9H, H-15) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 207.3 und 206.4\* (C-11), 178.1 und 177.7\* (C-8), 167.9 (C-7), 153.0 (C-13+C-16), 138.8 (C-1), 132.7 (C-3), 129.7 (C-5), 122.3 (C-4), 119.5 (C-2), 112.8 (C-6), 82.2 (C-14), 80.8 (C-17), 52.7\* und 52.2 (C-12), 50.8\* und 50.2 (C-9), 42.5\* und 42.3 (C-10), 28.5 (C-18), 28.3 (C-15) ppm.

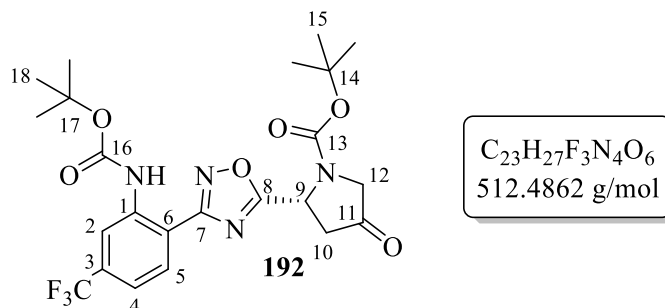
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3319 (w), 2977 (w), 2931 (w), 1768 (m), 1704 (s), 1596 (m), 1533 (m), 1458 (w), 1389 (s), 1366 (m), 1235 (s), 1151 (vs), 1045 (m), 985 (w), 889 (m), 832 (m), 752 (s), 648 (m), 538 (w), 465 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 467.1901, gefunden = 467.1901.

**Schmelzbereich:** 124.2-126.1  $^{\circ}\text{C}$ .

$[\alpha]_D^{19} = +23.5^\circ$  ( $c$  0.64,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-2-(3-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)4-(trifluormethyl)-phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-oxopyrrolidin-1-carboxylat (**192**)**



Von Verbindung **192** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:1 vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (10 mL) auf 0 °C vorgelegt; Pyrrolidon **83** (601 mg, 2.62 mmol, 1.1 eq.), DCC (516 mg, 2.20 mmol, 0.9 eq.), DMAP (34 mg, 0.28 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **181** (748 mg, 2.34 mmol, 1.0 eq.) zugefügt; 10 Minuten bei 0 °C, dann 5 Stunden bei Raumtemperatur; getrocknetes Filtrat in Pyridin (10 mL) bei 115 °C für 45 Minuten; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1). Das Produkt **192** (846 mg, 1.65 mmol, **71%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.48 (PE:EE 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 9.50 (s, 1H, -NH), 8.80 (s, 1H, H-2), 8.23 (d,  $^3J = 8.1$  Hz, 1H, H-5), 7.33 (d,  $^3J = 8.1$  Hz, 1H, H-4), 5.75 und 5.64 (br.s, 1H, H-9), 4.13-3.97 (m, 2H, H-12<sub>a</sub>, H-12<sub>b</sub>), 3.20 (br.s, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.82 (d,  $^2J = 18.8$  Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 1.56 (s, 9H, H-18), 1.49 und 1.39 (s, 9H, H-15) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 207.1 und 206.4 (C-11), 178.6 und 178.3 (C-8), 167.2 (C-7), 152.7 (C-13+C-16), 139.3 (C-1), 130.3 (C-5), 122.6 (q,  $^1J_{\text{C,F}} = 271.6$  Hz,  $\text{CF}_3$ )<sup>(1)</sup>, 118.6 (C-4)<sup>(1)</sup>, 116.4 (C-2)<sup>(1)</sup>, 115.3 (C-6), 82.4 (C-14), 81.6 (C-17), 52.5 und 52.2 (C-12), 50.7 und 50.3 (C-9), 42.5 und 42.1 (C-10), 28.4 (C-18) 28.3 (C-15) ppm.<sup>(2)</sup>

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = -63.23 und -63.26 ppm.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter, weshalb teilweise keine Kopplungskonstante  $J$  ermittelbar ist. <sup>(2)</sup> Das Signal für C-3 ist nicht sichtbar.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3309 (w), 2975 (m), 2931 (w), 1755 (m), 1701 (s), 1599 (m), 1509 (m), 1455 (s), 1365 (s), 1309 (m), 1237 (s), 1157 (vs), 1121 (s), 1030 (w), 943 (m), 828 (s), 740 (m), 660 (m), 530 (w), 461 (w), 407 (w).

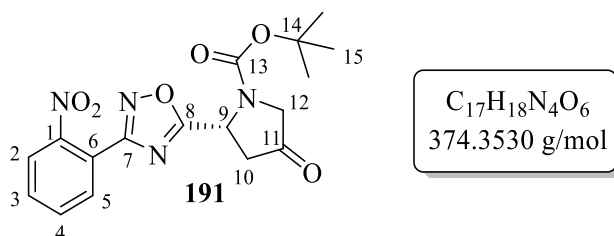
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 537.1775, gefunden = 537.1738;

m/z berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 551.1514, gefunden = 551.1548.

**Schmelzbereich:** 122.7-124.6 °C.

$[\alpha]_D^{18}$  = +24.8° (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-2-(3-(2-nitrophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-oxopyrrolidin-1-carboxylat (**191**)**



Von Verbindung **191** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.7\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (7 mL) auf 0 °C vorgelegt; Pyrrolidon **83** (443 mg, 1.93 mmol, 1.0 eq.), DCC (424 mg, 2.05 mmol, 1.1 eq.), DMAP (25 mg, 0.20 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **186** (353 mg, 1.94 mmol, 1.0 eq.) zugefügt; 30 Minuten bei 0 °C, dann 4 Stunden bei Raumtemperatur; getrocknetes Filtrat in Pyridin (10 mL) bei 115 °C für 45 Minuten; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1). Das Produkt **191** (341 mg, 910 µmol, 47%) wurde als gelbes Harz erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.45 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.97 (br.s, 1H, H-5), 7.85-7.81 (m, 1H, H-4), 7.73-7.69 (m, 2H, H-2, H-3), 5.70\* und 5.59 (br.s, 1H, H-9), 4.08-4.00 (m, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.97-3.92 (m, 1H, H-12<sub>b</sub>), 3.14 (br.s, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.82 (d, <sup>2</sup>J = 18.4 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 1.47\* und 1.43 (s, 9H, H-15) ppm.<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Wegen zu starker Überlappung der Rotamersignale und Signalen höherer Ordnung konnten nur wenige Multiplizitäten bestimmt werden.

$^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 207.4\* und 206.6 (C-11), 179.2 und 179.0\* (C-8), 166.6 und 166.4\* (C-7), 153.9\* und 153.1 (C-13), 149.1 (C-1), 132.9 (C-3), 132.1 (C-2), 131.5 (C-4), 124.7 (C-5), 121.2 (C-6), 82.4 und 82.2\* (C-14), 52.6\* und 52.2 (C-12), 50.8 und 50.4\* (C-9), 42.6 und 42.2\* (C-10), 28.3\* und 28.2 (C-15) ppm.

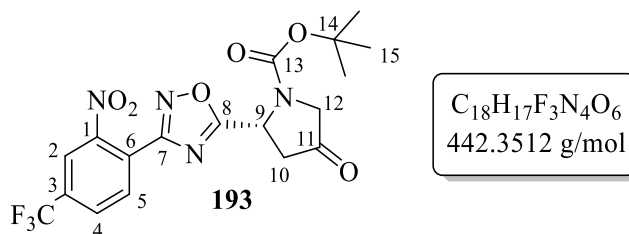
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2978 (w), 2929 (w), 1766 (s), 1699 (s), 1587 (w), 1533 (s), 1476 (m), 1387 (s), 1365 (vs), 1349 (s), 1258 (m), 1149 (vs), 1041 (w), 887 (m), 852 (m), 770 (m), 717 (m), 648 (w), 535 (w), 472 (m).

**MS (EI)<sup>(1)</sup>:**  $m/z$  (%) = 318 (4)  $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_9]^+$ , 301 (5)  $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_9\text{O}]^+$ , 274 (49)  $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2]^+$ , 218 (100)  $[\text{M}-\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_3]^+$ , 192 (9)  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_{15}\text{NO}_3]^+$ , 149 (7)  $[\text{M}-\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4]^+$ , 57 (35)  $[\text{M}-\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_6]^+$ .

**HRMS (ESI<sup>+</sup>)<sup>(1)</sup>:**  $m/z$  berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 397.1119, gefunden = 397.1192.

$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +23.2^\circ$  ( $c$  0.98,  $\text{CHCl}_3$ ).

### Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-2-(3-(2-((2-nitrophenyl)amino)-4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-oxopyrrolidin-1-carboxylat (**193**)



Von Verbindung **193** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.9\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (10 mL) auf 0 °C vorgelegt; Pyrrolidon **83** (501 mg, 2.19 mmol, 1.0 eq.), DCC (478 mg, 2.32 mmol, 1.1 eq.), DMAP (31 mg, 0.25 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **187** (548 mg, 2.20 mmol, 1.0 eq.) zugefügt; 20 Minuten bei 0 °C, dann 2 Stunden bei Raumtemperatur; getrocknetes Filtrat in Pyridin (10 mL) bei 115 °C für 45 Minuten; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2.5:1). Das Produkt **193** (534 mg, 1.21 mmol, **55%** (brsm: 66%)) wurde als hellgelber Feststoff erhalten. Zudem konnte Amidoxim **187** (95 mg, 0.38 mmol, 17%) reisoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.66 (PE:EE 2.5:1).

<sup>(1)</sup> Die HRMS (ESI<sup>+</sup>) Daten konnten trotz mehrfacher Messungen nur mit größeren Abweichungen gemessen werden, weshalb ebenfalls EI-MS Daten erhoben wurden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.21 und 8.19\* (s, 1H, H-2), 8.05 (br.s, 1H, H-4), 7.98 und 7.97\* (s, 1H, H-5), 5.70\* und 5.61 (d, <sup>2</sup>J = 10.2 Hz, 1H, H-9), 4.08-4.00 (m, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.95-3.87 (m, 1H, H-12<sub>b</sub>), 3.17 (br.s, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.80 (br.s, 1H, H-10<sub>b</sub>), 1.47\* und 1.43 (s, 9H, H-15) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 207.1 und 206.3\* (C-11), 179.8\* und 179.7 (C-8), 165.5 und 165.4\* (C-7), 154.1\* und 152.8 (C-13), 149.2 (C-1), 134.4 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 30.0 Hz, C-3)<sup>(1)</sup> 132.4 (C-5), 129.4 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 9.0 Hz, C-4)<sup>(1)</sup>, 124.4 (C-6), 122.0 (C-2)<sup>(1)</sup>, 121.6 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 272.6 Hz, CF<sub>3</sub>), 82.4 und 82.3\* (C-14), 52.5\* und 52.1 (C-12), 50.8 und 50.4\* (C-9), 42.5 und 42.1\* (C-10), 28.3\* und 28.2 (C-15) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.20 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2956 (w), 2920 (w), 1767 (m), 1701 (s), 1543 (s), 1389 (s), 1367 (m), 1320 (vs), 1257 (m), 1178 (w), 1133 (vs), 1087 (s), 950 (w), 852 (m), 799 (w), 650 (w), 530 (w), 402 (w).

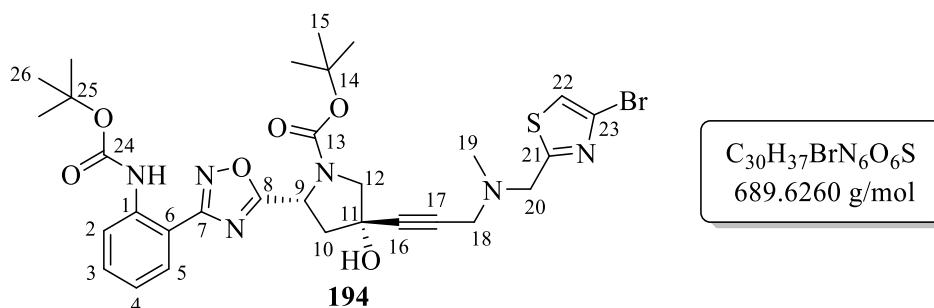
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 465.0992, gefunden = 465.1027;

m/z berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 481.0732, gefunden = 481.0772.

**Schmelzbereich:** 47.7-49.6 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>18</sup>** = +56.3° (c 0.24, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von tert-Butyl-(2R,4S)-4-(3-(((4-bromthiazol-2-yl)methyl)(methyl)amino)prop-1-yn-1-yl)-2-(3-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-hydroxypyrrolidin-1-carboxylat (**194**)**



Von Verbindung **194** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:1 vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter, weshalb teilweise keine Kopplungskonstanten *J* ermittelbar sind.



Ansatzgröße: Bromthiazol **90** (132 mg, 538  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq.), abs. THF (2 mL),  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $i\text{-PrMgCl}\cdot\text{LiCl}$  (630  $\mu\text{L}$ , 1.3 M in THF, 819  $\mu\text{mol}$ , 1.5 eq.), 60 Minuten bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , stagnierende Intermediatsausbildung; dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **190** (201 mg, 452  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL) 50 Minuten bei  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , dann 48 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:Et<sub>2</sub>O 1:1). Das Produkt **194** (18 mg, 26  $\mu\text{mol}$ , **6%** (brsm: 9%)) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Zudem konnten Oxadiazol-Pyrrolidon **192** (29 mg, 0.17 mmol, 38%) und Bromthiazol **90** (3 mg, 12  $\mu\text{mol}$ , 2%)<sup>(1)</sup> reisoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.14 (PE:Et<sub>2</sub>O 1:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 9.32 (s, 1H, -NH), 8.40 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, H-2), 8.06 und 8.04 (d, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 1H, H-5), 7.47 und 7.45 (dd, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, H-3), 7.20 (s, 1H, H-22), 7.10 und 7.07 (d, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 1H, H-4), 5.34 und 5.23 (dd, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, <sup>4</sup>J = 2.8 Hz, 1H, H-9), 3.94 (d, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, 1H, H-12<sub>a</sub>)<sup>(2)</sup>, 3.91 und 3.90 (s, 2H, H-18), 3.77 (d, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, 1H, H-12<sub>b</sub>)<sup>(2)</sup>, 3.49 und 3.48 (s, 2H, H-20), 2.81 und 2.77 (dd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.64 und 2.62 (d, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 2.43 und 2.42 (s, 3H, H-19), 1.54 (s, 9H, H-26), 1.48 und 1.34 (s, 9H, H-15) ppm.<sup>(3)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 179.5 und 179.3 (C-8), 172.2 und 171.7 (C-21), 167.7 und 167.5 (C-7), 154.3 (C-24) 153.11 und 153.05 (C-13), 138.8 (C-1), 133.6 und 132.4 (C-3), 129.9 und 129.8 (C-5), 124.4 (C-23), 122.3 und 122.2 (C-4), 119.5 und 119.4 (C-2), 117.8 (C-22), 113.0 und 112.9 (C-6), 85.0 und 84.9 (C-16), 81.6 (C-14), 80.9 und 80.8 (C-25), 79.8 und 79.7 (C-17), 72.3 und 71.2 (C-11), 61.0 und 60.4 (C-12), 57.3 und 57.2 (C-18), 53.0 und 52.8 (C-9), 46.1 und 46.0 (C-20), 45.4 (C-10), 42.4 (C-19), 28.5 (C-15), 28.3 (C-26) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3324 (m), 3117 (w), 2976 (m), 2930 (w), 1766 (w), 1702 (s), 1595 (m), 1534 (m), 1432 (w), 1391 (s), 1365 (s), 1237 (s), 1154 (vs), 1045 (m), 888 (m), 768 (s), 643 (w), 539 (w), 457 (w).

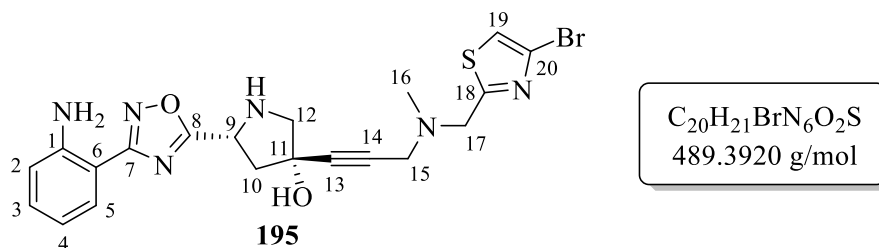
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 711.1571, gefunden = 711.1575.

**Schmelzbereich:** 63.9-65.8  $^\circ\text{C}$ .

**$[\alpha]_{\text{D}}^{18}$**  = +17.5 $^\circ$  (c 0.92, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup> Die Ausbeute bezieht sich auf *n* Thiazol **90**. <sup>(2)</sup> Das andere Rotamersignal überlagert mit dem Rotamersignal von H-12<sub>a</sub>/H-12<sub>b</sub>. <sup>(3)</sup> Die Signale für -OH und -NH sind nicht sichtbar.

**Synthese von (3*S*,5*R*)-5-(3-(2-Aminophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-3-((4-bromthiazol-2-yl)methyl)(methyl)amino)prop-1-yn-1-yl)pyrrolidin-3-ol (**195**)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: *Gemergede* Verbindung **194** (18 mg, 26  $\mu$ mol, 1.0 eq.), DCM (2 mL), 0 °C, TFA (0.15 mL, 0.22 g, 2.0 mmol, 77 eq.); 60 Minuten bei 0 °C, dann 4.5 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **195** (6 mg, 12  $\mu$ mol, **46%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.32 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.02 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8.1 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, H-5), 7.27-7.24 (m, 1H, H-3), 7.21 (s, 1H, H-22), 6.79-6.76 (m, 2H, H-2, H-4), 4.72 (dd, <sup>3</sup>*J* = 9.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.1 Hz, 1H, H-9), 3.92 (s, 2H, H-15), 3.50 (s, 2H, H-17), 3.39 (dd, <sup>2</sup>*J* = 11.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.9 Hz, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.22 (d, <sup>2</sup>*J* = 11.8 Hz, 1H, H-12<sub>b</sub>), 2.71 (dd, <sup>2</sup>*J* = 13.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 9.3 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.57 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 2.44 (s, 3H, H-16) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 179.2 (C-8), 171.9 (C-18), 168.2 (C-7), 146.7 (C-1), 132.3 (C-3), 130.3 (C-5), 124.4 (C-20), 117.8 (C-19), 117.3 (C-4), 116.3 (C-2), 109.1 (C-6), 86.2 (C-16), 79.5 (C-17), 73.4 (C-11), 61.8 (C-12), 57.3 (C-15), 53.8 (C-9), 47.1 (C-17), 46.2 (C-10), 42.4 (C-16) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3447 (w), 3354 (m), 2919 (s), 2798 (w), 1705 (w), 1620 (s), 1565 (s), 1488 (s), 1435 (s), 1364 (s), 1325 (s), 1256 (vs), 1160 (m), 1078 (vs), 949 (w), 888 (m), 831 (m), 748 (vs), 667 (m), 540 (w), 470 (w).

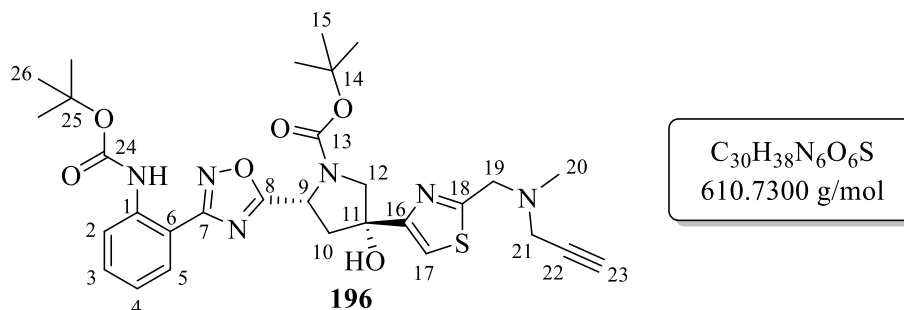
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 511.0522, gefunden = 511.0533;

*m/z* berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 527.0262, gefunden = 527.0279.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>17</sup>** = -7.2° (c 0.27, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup> Die Signale für -OH und -NH sind nicht sichtbar.

**Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-2-(3-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**196**)**



Von Verbindung **196** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:1 vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (232 mg, 794  $\mu$ mol, 1.0 eq.), abs. THF (3 mL),  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $^i\text{PrMgCl}\cdot\text{LiCl}$  (730  $\mu$ L, 1.3 M in THF, 949  $\mu$ mol, 1.2 eq.), 30 Minuten bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ , dann Verbindung **190** (351 mg, 790  $\mu$ mol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL); 30 Minuten bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ , dann 75 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:Et<sub>2</sub>O 1:1). Das Produkt **196** (43 mg, 70  $\mu$ mol, **9%**) wurde als farbloser Schaum erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.33 (PE:Et<sub>2</sub>O 1:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 9.31 und 9.28 (s, 1H, -NH), 8.43 (d,  $^3J$  = 8.5 Hz, 1H, H-2), 8.10-8.07 (m, 1H, H-3), 7.50 und 7.46 (d,  $^3J$  = 8.3 Hz, 1H, H-5), 7.40 und 7.37 (s, 1H, H-17), 7.14-7.09 (m, 1H, H-4), 5.40 und 5.30 (d,  $^3J$  = 9.5 Hz, 1H, H-9), 4.99 und 4.66 (br.s, 1H, -OH), 4.12 und 4.07 (d,  $^2J$  = 11.7 Hz, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.95 und 3.86 (d,  $^2J$  = 11.6 Hz, 1H, H-12<sub>b</sub>), 3.92 und 3.91 (s, 2H, H-19), 3.47 und 3.46 (d,  $^4J$  = 2.5 Hz, 2H, H-21), 3.21 und 3.18 (dd,  $^2J$  = 14.0 Hz,  $^3J$  = 9.1 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.45-2.40 (m, 4H, H-20, H-10<sub>b</sub>), 2.29 und 2.28 (t,  $^4J$  = 2.6 Hz, 1H, H-23), 1.55 (s, 9H, H-26), 1.45 und 1.36 (s, 9H, H-15) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 180.5 und 180.3 (C-8), 170.8 und 170.7 (C-18), 167.6 und 167.4 (C-7), 156.7 (C-16), 154.5 und 153.3 (C-24), 153.1 und 153.0 (C-13), 138.8 und 138.7 (C-1), 132.6 und 132.5 (C-5), 129.87 und 129.85 (C-3), 122.4 und 122.2 (C-4), 119.5 und 119.4 (C-2), 115.7 und 115.6 (C-17), 113.0 und 112.9 (C-6), 81.31 und 81.26 (C-25), 80.9 und 80.8 (C-14), 80.4 und 79.3 (C-11), 78.01 und 77.98 (C-22), 74.0 und 73.9 (C-23), 60.6 und 59.9 (C-12), 57.14 und 57.10 (C-19), 53.2 und 52.9 (C-9), 45.90 und 45.85 (C-21), 44.8 und 43.9 (C-10), 42.1 und 42.0 (C-20), 28.5 (C-26), 28.3 (C-15) ppm.

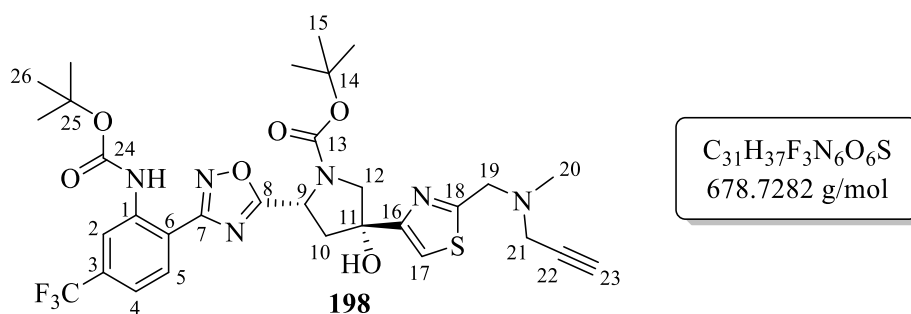
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3304 (m), 2974 (w), 2925 (m), 1701 (m), 1595 (m), 1573 (m), 1508 (m), 1432 (w), 1391 (s), 1365 (s), 1235 (s), 1154 (vs), 1044 (m), 890 (w), 832 (w), 752 (s), 647 (m), 539 (w), 417 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 633.2466, gefunden = 633.2459.

**Schmelzbereich:** 64.7-66.7 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{19} = +7.7^{\circ}$  (c 0.73, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von tert-Butyl-(2R,4R)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)-methyl)thiazol-4-yl)-2-(3-(2-nitrophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**198**)**



Von Verbindung **198** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.9\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (232 mg, 794 μmol, 1.0 eq.), abs. THF (2 mL), -78 °C, <sup>t</sup>PrMgCl·LiCl (730 μL, 1.3 M in THF, 949 μmol, 1.2 eq.), 30 Minuten bei -78 °C, dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **192** (403 mg, 789 μmol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL); 30 Minuten bei -78 °C, dann 74 Stunden bei Raumtemperatur; erste säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1 → EE), zweite säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:Et<sub>2</sub>O 1:1). Produkt **198** (44 mg, 65 μmol, **8%**) wurde als farbloser Schaum erhalten. Zudem konnte das dehalogenierte Thiazol **93** (39 mg, 0.23 μmol, **29%**) isoliert werden (Analytik siehe S.160).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.28 (PE:Et<sub>2</sub>O 1:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 9.48 und 9.47\* (s, 1H, -NH), 8.80 (s, 1H, H-2), 8.22\* und 8.20 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H, H-5), 7.40 und 7.38\* (s, 1H, H-17), 7.35\* und 7.33 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H, H-4), 5.42 und 5.32\* (d, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, H-9), 4.56 und 4.28 (br.s, 1H, -OH), 4.11\* und 4.06 (d, <sup>3</sup>J = 11.3 Hz, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.98 (br.s, 2H, H-19), 3.94\* und 3.87 (d, <sup>3</sup>J = 11.7 Hz, 1H, H-12<sub>b</sub>), 3.53 (br.s, 2H, H-21), 3.19\* und 3.16 (dd, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.50-2.45 (m, 4H, H-20, H-10<sub>b</sub>), 2.34 (br.s, 1H, H-23), 1.55 (s, 9H, H-26), 1.46 und 1.36\* (s, 9H, H-15) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 180.9 und 180.7\* (C-8), 166.9\* und 166.7 (C-7), 156.8 (C-16), 154.5\* und 153.3 (C-24), 152.8 und 152.7\* (C-13), 139.3 (C-1), 133.8 (C-3)<sup>(1)</sup>, 130.43 und 130.38\* (C-5), 122.9 (CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 118.6\* und 118.4 (C-4)<sup>(2)</sup>, 116.4 und 116.3\* (C-2)<sup>(2)</sup>, 116.1\* und 115.6 (C-17), 114.6 (C-6)<sup>(1)</sup>, 81.6\* und 81.5 (C-25), 81.46 (C-14), 80.3 und 79.2\* (C-11), 77.1 (C-22)<sup>(1)</sup>, 74.1 (C-23)<sup>(1)</sup>, 60.4 und 59.7\* (C-12), 56.8 (C-19)<sup>(1)</sup>, 53.4\* und 53.1 (C-9), 45.8 und 45.7\* (C-21), 44.9\* und 44.0 (C-10), 41.9 und 41.8\* (C-20), 28.5\* und 28.3 (C-15), 28.4 (C-26) ppm.<sup>(3)</sup>

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.17 und -63.21\* ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3307 (m), 2977 (m), 2932 (w), 1734 (m), 1698 (m), 1595 (w), 1542 (m), 1424 (m), 1367 (m), 1331 (s), 1235 (s), 1153 (vs), 1126 (vs), 1026 (w), 941 (m), 892 (m), 767 (s), 654 (m), 533 (w), 420 (w).

**MS (EI)<sup>(4)</sup>:** m/z (%) = 678 (4) [M]<sup>+</sup>, 621 (3) [M-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>, 565 (2) [M-C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 482 (1) [M-C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 393 (27) [M-C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 301 (1) [M-C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S]<sup>+</sup>, 209 (20) [M-C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup>, 164 (100) [M-C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 141 (13) [M-C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>, 57 (14) [M-C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>)<sup>(4)</sup>:** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 679.2520, gefunden = 679.2957;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 701.2340, gefunden = 701.2241;

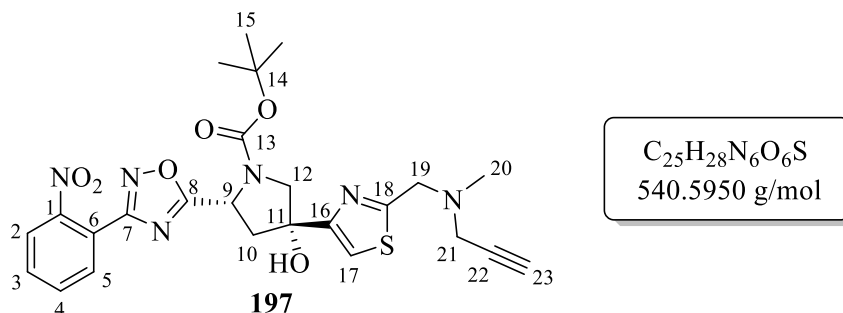
m/z berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 717.2079, gefunden = 717.2143.

**Schmelzbereich:** 73.1-75.0 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup>** = +22.4° (c 0.62, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen. <sup>(2)</sup> Keine Kopplungskonstanten *J* ermittelbar. <sup>(3)</sup> Das Signal für C-18 ist nicht sichtbar. <sup>(4)</sup> Die HRMS (ESI<sup>+</sup>) Daten konnten trotz mehrfacher Messungen nur mit größeren Abweichungen gemessen werden, weshalb ebenfalls EI-MS Daten erhoben wurden.

**Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)-thiazol-4-yl)-2-(3-(2-nitrophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**197**)**



Von Verbindung **197** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (205 mg, 703  $\mu$ mol, 1.0 eq.), abs. THF (4 mL), -78 °C,  $^i$ PrMgCl·LiCl (650  $\mu$ L, 1.3 M in THF, 845  $\mu$ mol, 1.2 eq.), 20 Minuten bei -78 °C, dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrroldion **191** (263 mg, 703  $\mu$ mol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL); 30 Minuten bei -78 °C, dann 50 Stunden bei Raumtemperatur; erste säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1  $\rightarrow$  1:1), zweite säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+2% MeOH). Produkt **197** (86 mg, 0.16 mmol, **23%**) wurde als gelber Schaum erhalten. Zudem konnte das Thiazol **93** (45 mg, 0.27  $\mu$ mol, **39%**) isoliert werden (Analytik siehe S.160).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.34 (DCM+2% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.00 und 7.98\* (d, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 1H, H-5), 7.89\* und 7.85 (d, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 1H, H-2), 7.75-7.67 (m, 2H, H-4, H-3), 7.40\* und 7.37 (s, 1H, H-17), 5.39\* und 5.30 (d, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-9), 4.47 und 4.33\* (s, 1H, -OH), 4.09 und 4.03\* (d, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.91\* und 3.90 (s, 3H, H-19), 3.82 (d, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz, 1H, H-12<sub>b</sub>)<sup>(1)</sup>, 3.47\* und 3.45 (d, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 2H, H-21), 3.21 und 3.18\* (dd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.44-2.40 (m, 4H, H-20, H-10<sub>b</sub>), 2.29 und 2.28\* (t, <sup>4</sup>J = 2.7 Hz, 1H, H-23), 1.46\* und 1.41 (s, 9H, H-15) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.0 und 181.7\* (C-8), 170.8\* und 170.6 (C-18), 163.4 (C-7), 156.7\* und 156.6 (C-16), 153.3 (C-13), 149.1 (C-1)<sup>(2)</sup>, 133.0 und 132.9\* (C-3), 132.1 und 131.9\* (C-2), 131.7\* und 131.6 (C-4), 124.8 und 124.6\* (C-5), 121.2 (C-6)<sup>(2)</sup>, 115.8\* und 115.7 (C-17), 81.4\* und 81.2 (C-14), 80.4\* und 79.3 (C-11), 78.08\* und 78.05 (C-22), 74.0\* und 73.90 (C-23), 60.4\* und 60.0 (C-12), 57.20\* und 57.17 (C-19), 53.2 und 53.1\* (C-9), 45.94\* und 45.90 (C-21), 44.8 (C-10), 42.09\* und 42.06 (C-20), 28.5\* und 28.3 (C-15) ppm.

<sup>(1)</sup> Das andere Rotamersignal wird von H-19 überlagert. <sup>(2)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3391 (m), 3290 (w), 2976 (m), 2798 (w), 1694 (s), 1533 (s), 1444 (w), 1390 (s), 1364 (vs), 1258 (m), 1164 (m), 1128 (s), 1038 (w), 924 (w), 890 (m), 785 (m), 693 (m), 582 (w), 459 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 541.1864, gefunden = 541.1883;

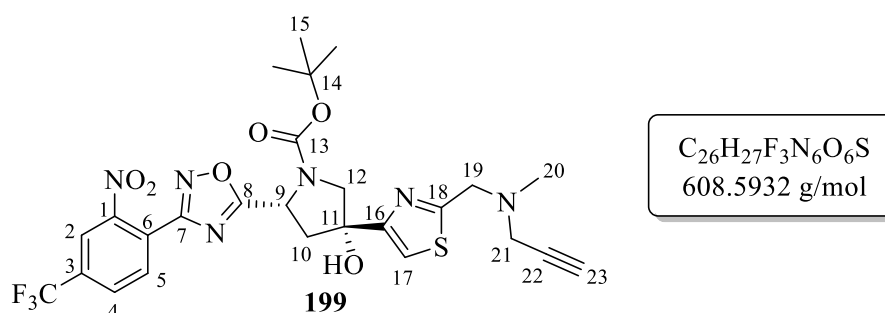
m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 563.1683, gefunden = 563.1697;

m/z berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 579.1423, gefunden = 579.1428.

**Schmelzbereich:** 54.9-56.8 °C.

$[\alpha]_D^{22} = +28.9^\circ$  (c 1.44, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von tert-Butyl-(2R,4R)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-2-(3-(2-nitro-4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**199**)**



Von Verbindung **199** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:1 vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (253 mg, 866 μmol, 1.0 eq.), abs. THF (2 mL), -78 °C, <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (950 μL, 1.1 M in THF, 1.05 mmol, 1.2 eq.), 20 Minuten bei -78 °C, dann 1,2,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **193** (382 mg, 837 μmol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL); 2.5 Stunden bei -78 °C, dann 48 Stunden bei Raumtemperatur; erste säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 1:1), zweite säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+1% MeOH). Produkt **199** (42 mg, 69 μmol, **8%**) wurde als hellgelber Schaum erhalten. Zudem konnte das dehalogenierte Thiazol **93** (26 mg, 0.16 μmol, **18%**) isoliert werden (Analytik siehe S.160).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.29 (DCM+1% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.23 und 8.20 (s, 1H, H-2), 8.07 und 8.03 (d, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 1H, H-4), 7.98 und 7.96 (d, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 1H, H-5), 7.37 und 7.35 (s, 1H, H-17), 5.39 und 5.30 (d, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H-9), 4.08 und 4.02 (d, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.90 und 3.89 (s, 2H, H-19), 3.87 und 3.81 (d, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, 1H, H-12<sub>b</sub>), 3.46 und 3.45 (d, <sup>4</sup>J = 2.5 Hz, 2H, H-21), 3.18 und 3.15 (dd, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.47-2.42 (m, 4H, H-20, H-10<sub>b</sub>), 2.28 (br.s, 1H, H-23), 1.45 und 1.39 (s, 9H, H-15) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.3 und 182.1 (C-8), 170.9 und 170.8 (C-18), 165.0 und 164.9 (C-7), 156.63 und 156.59 (C-16), 154.4 und 153.3 (C-13), 149.1 (C-1), 134.5 und 134.3 (q, <sup>2</sup>J = 24.9 Hz, C-3)<sup>(1)</sup>, 132.6 und 132.5 (C-5), 129.5 und 129.4 (q, <sup>3</sup>J = 3.6 Hz, C-4)<sup>(1)</sup>, 124.7 und 124.6 (C-6), 123.4 (q, <sup>3</sup>J = 273.3 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 122.0 und 121.9 (q, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 115.8 und 115.6 (C-17), 81.5 und 81.3 (C-14), 80.3 und 79.2 (C-11), 78.03 und 78.00 (C-22), 74.0 und 73.9 (C-23), 60.2 und 59.7 (C-12), 57.2 und 57.1 (C-19), 53.4 und 53.3 (C-9), 45.91 und 45.87 (C-21), 44.9 und 44.2 (C-10), 42.07 und 42.05 (C-20), 28.5 und 28.3 (C-15) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.17 und -63.18 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3298 (w), 3092 (w), 2976 (w), 2798 (w), 1697 (m), 1545 (s), 1477 (w), 1392 (s), 1322 (vs), 1258 (m), 1134 (vs), 1089 (s), 971 (w), 892 (m), 815 (m), 769 (m), 670 (m), 560 (w), 411 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 609.1738, gefunden = 609.1716;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 631.1557, gefunden = 631.1538;

m/z berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 647.1296, gefunden = 647.1292.

**Schmelzbereich:** 51.6-53.5 °C.

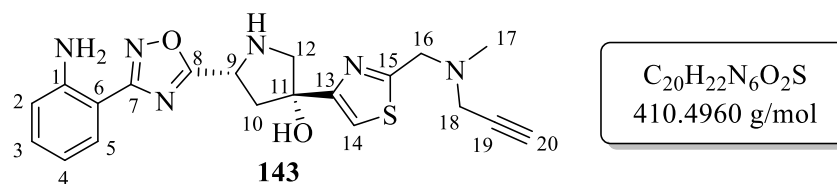
**$[\alpha]_{\text{D}}^{18}$**  = +100.0° (c 0.28, CHCl<sub>3</sub>).

---

<sup>(1)</sup>Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.



**Synthese von (3*R*,5*R*)-5-(3-(2-aminophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-3-(2-((methyl-(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-3-ol (143)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: *Gemergede* Verbindung **196** (53 mg, 87  $\mu$ mol, 1.0 eq.), DCM (5 mL), 0 °C, TFA (0.49 mL, 0.73 g, 6.4 mmol, 74 eq.); 60 Minuten bei 0 °C, dann 4 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **143** (23 mg, 56  $\mu$ mol, **64%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.28 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.03 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7.9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, H-5), 7.31 (s, 1H, H-14), 7.25 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 8.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, H-3), 6.79-6.76 (m, 2H, H-2, H-4), 5.35 (s, 2H, -NH<sub>2</sub>), 4.83 (dd, <sup>3</sup>*J* = 9.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.0 Hz, 1H, H-9), 3.91 (s, 2H, H-16), 3.58 (d, <sup>2</sup>*J* = 11.4 Hz, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.46 (d, <sup>4</sup>*J* = 2.4 Hz, 2H, H-18), 3.35 (dd, <sup>3</sup>*J* = 11.2 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, H-12<sub>b</sub>), 3.00 (dd, <sup>2</sup>*J* = 13.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 9.6 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.49 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.3 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 2.44 (s, 3H, H-17), 2.29 (t, <sup>4</sup>*J* = 2.5 Hz, 1H, H-20) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 180.2 (C-8), 170.6 (C-15), 168.2 (C-7), 158.4 (C-13), 146.7 (C-1), 132.3 (C-3), 130.2 (C-5), 117.3 (C-4), 116.3 (C-2), 114.5 (C-14), 109.1 (C-6), 81.2 (C-11), 78.1 (C-19), 73.9 (C-20), 61.1 (C-12), 57.2 (C-16), 53.8 (C-9), 45.9 (C-18), 45.86 (C-10), 42.1 (C-17) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3290 (m), 2919 (vs), 2850 (s), 2798 (w), 1697 (w), 1620 (s), 1544 (vs), 1489 (w), 1435 (s), 1328 (m), 1257 (s), 1159 (m), 1117 (vs), 906 (w), 807 (w), 747 (vs), 666 (m), 539 (w), 423 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 411.1598, gefunden = 411.1621;

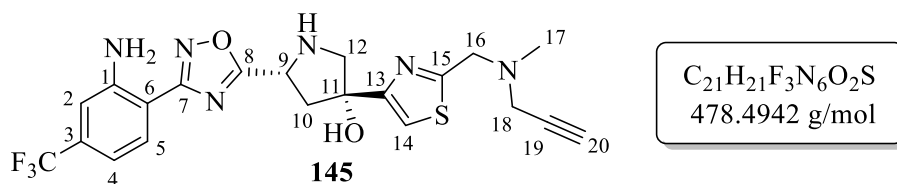
*m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 433.1417, gefunden = 433.1442.

**Schmelzbereich:** 118.5.-120.4 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup>** = +18.0° (*c* 0.25, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup>Die Signale für -NH und -OH sind nicht sichtbar.

**Synthese von (3*R*,5*R*)-5-(3-(2-amino-4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-3-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-3-ol (145)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: Gemergede Verbindung **198** (24 mg, 35  $\mu$ mol, 1.0 eq.), DCM (2 mL), 0 °C, TFA (0.20 mL, 0.30 g, 2.6 mmol, 74 eq.); 60 Minuten bei 0 °C, dann 4 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **145** (6 mg, 13  $\mu$ mol, **37%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.29 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.16 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.5 Hz, 1H, H-5), 7.32 (s, 1H, H-14), 7.02-6.99 (m, 2H, H-4, H-2), 5.59 (s, 2H, -NH<sub>2</sub>), 4.86 (dd, <sup>3</sup>*J* = 9.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.4 Hz, 1H, H-9), 3.92 (s, 2H, H-16), 3.55 (d, <sup>2</sup>*J* = 11.2 Hz, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.47 (d, <sup>4</sup>*J* = 2.4 Hz, 1H, H-18), 3.38 (dd, <sup>2</sup>*J* = 11.0 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, H-12<sub>b</sub>), 3.02 (dd, <sup>2</sup>*J* = 13.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 9.7 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.53 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 2.45 (s, 3H, H-17), 2.29 (t, <sup>4</sup>*J* = 2.5 Hz, H-20) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 180.7 (C-8), 170.8 (C-15), 167.5 (C-7), 158.2 (C-13), 146.6 (C-1), 133.8 (C-3)<sup>(2)</sup>, 131.0 (C-5), 123.3 (q, <sup>1</sup>*J* = 250.2 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(2)</sup>, 114.5 (C-14), 113.4 (q, <sup>3</sup>*J* = 3.5 Hz, C-4)<sup>(2)</sup>, 113.0 (q, <sup>3</sup>*J* = 4.2 Hz, C-2)<sup>(2)</sup>, 111.7 (C-6), 81.2 (C-11), 78.1 (C-19), 73.9 (C-20), 61.1 (C-12), 57.2 (C-16), 53.8 (C-9), 45.9 (C-18), 45.8 (C-10), 42.1 (C-17) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.44 ppm.

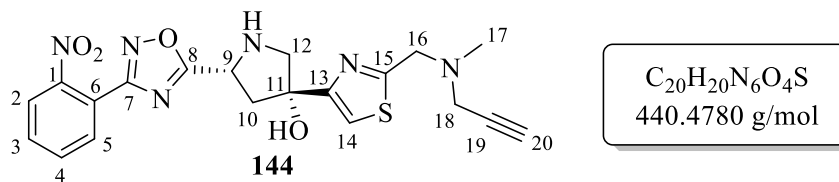
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3297 (m), 2918 (w), 2849 (w), 1630 (m), 1563 (s), 1525 (w), 1433 (m), 1404 (s), 1341 (vs), 1253 (s), 1167 (m), 1118 (vs), 1052 (w), 921 (m), 826 (m), 747 (w), 699 (w), 659 (m), 545 (w), 453 (w).

**MS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* = berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 479.1472, gefunden = 479.1484.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>18</sup>** = +1.7° (*c* 0.35, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup>Die Signale für -NH und -OH sind nicht sichtbar. <sup>(2)</sup>Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter, weshalb teilweise keine Kopplungskonstanten *J* ermittelbar sind.

**Synthese von (3*R*,5*R*)-3-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-5-(3-(2-nitrophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-3-ol (**144**)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: *Gemergedete* Verbindung **197** (51 mg, 94  $\mu$ mol, 1.0 eq.), DCM (5.5 mL), 0 °C, TFA (0.53 mL, 0.79 g, 6.9 mmol, 73 eq.); 60 Minuten bei 0 °C, dann 4 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **144** (8 mg, 18  $\mu$ mol, **19%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.18 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.98 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1H, H-5), 7.88 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, H-2), 7.72 (ddd, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 7.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, H-4), 7.69 7.72 (ddd, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, H-3), 7.31 (s, 1H, H-14), 4.85 (dd, <sup>3</sup>*J* = 9.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.1 Hz, 1H, H-9), 3.91 (s, 2H, H-16), 3.53 (d, <sup>2</sup>*J* = 11.3 Hz, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.46 (d, <sup>4</sup>*J* = 2.5 Hz, 2H, H-18), 3.33 (dd, <sup>3</sup>*J* = 11.3 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, H-12<sub>b</sub>), 3.01 (dd, <sup>2</sup>*J* = 14.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 9.6 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.51 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 14.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.3 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 2.44 (s, 3H, H-17), 2.29 (t, <sup>4</sup>*J* = 2.3 Hz, 1H, H-20) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.4 (C-8), 170.6 (C-15), 166.0 (C-7), 158.3 (C-13), 149.1 (C-1), 132.9 (C-3), 131.9 (C-2), 131.7 (C-4), 124.7 (C-5), 121.6 (C-6), 114.5 (C-14), 81.1 (C-11), 78.2 (C-19), 73.9 (C-20), 61.0 (C-12), 57.2 (C-16), 54.0 (C-9), 46.0 (C-18), 45.9 (C-10), 42.1 (C-17) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3287 (w), 2919 (m), 2850 (m), 2798 (w), 1586 (w), 1530 (vs), 1441 (m), 1349 (s), 1261 (w), 1186 (w), 1122 (m), 1037 (m), 908 (w), 852 (m), 830 (w), 784 (m), 711 (m), 649 (s), 579 (w), 451 (w).

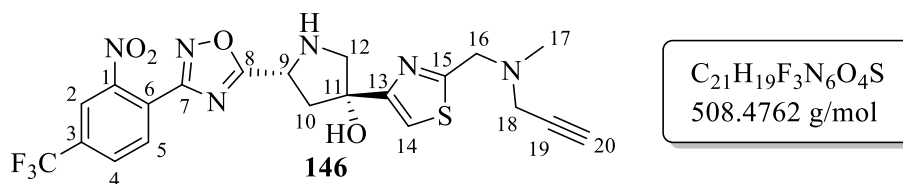
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 441.1340, gefunden = 441.1352;

*m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 463.1159, gefunden = 463.1178.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>18</sup>** = -14.6° (*c* 0.26, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup> Die Signale für -NH und -OH sind nicht sichtbar.

**Synthese von (3*R*,5*R*)-3-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-5-(3-(2-nitro-4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-3-ol (146)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: *Gemergedete* Verbindung **199** (35 mg, 58  $\mu$ mol, 1.0 eq.), DCM (3 mL), 0 °C, TFA (0.32 mL, 0.48 g, 4.2 mmol, 72 eq.); 1.5 Stunden bei 0 °C, dann 4 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **146** (11 mg, 22  $\mu$ mol, **38%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.27 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.21 (d, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, H-2), 8.08 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, 1H, H-5), 7.98 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1H, H-4), 7.30 (s, 1H, H-14), 4.86 (dd, <sup>3</sup>*J* = 9.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.5 Hz, 1H, H-9), 3.91 (s, 2H, H-16), 3.52 (d, <sup>2</sup>*J* = 11.3 Hz, 1H, H-12<sub>a</sub>), 3.46 (d, <sup>4</sup>*J* = 2.5 Hz, 1H, H-18), 3.34 (dd, <sup>2</sup>*J* = 11.2 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, H-12<sub>b</sub>), 3.00 (dd, <sup>2</sup>*J* = 13.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 9.7 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 2.52 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 2.44 (s, 3H, H-17), 2.29 (t, <sup>4</sup>*J* = 2.2 Hz, H-20) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.8 (C-8), 170.7 (C-15), 165.0 (C-7), 158.2 (C-13), 149.2 (C-1), 134.2 (q, <sup>2</sup>*J* = 33.7 Hz, C-3)<sup>(2)</sup>, 132.5 (C-5), 129.4 (q, <sup>3</sup>*J* = 4.0 Hz, C-4), 124.8 (C-6), 121.9 (q, <sup>3</sup>*J* = 4.0 Hz, C-2), 121.6 (q, <sup>1</sup>*J* = 272.9 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(2)</sup>, 114.5 (C-14), 81.0 (C-11), 78.1 (C-19), 73.9 (C-20), 60.8 (C-12), 57.2 (C-16), 54.0 (C-9), 45.9 (C-18), 45.8 (C-10), 42.1 (C-17) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.16 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3294 (m), 2925 (w), 2799 (w), 1635 (w), 1542 (s), 1414 (w), 1357 (m), 1320 (vs), 1259 (m), 1178 (m), 1133 (s), 1088 (s), 970 (w), 904 (w), 850 (m), 758 (w), 668 (m), 561 (w), 412 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 509.1213, gefunden = 509.1243;

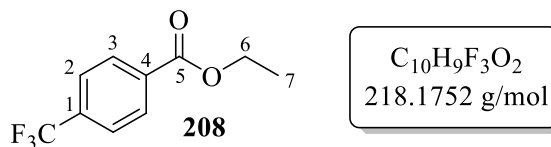
m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 531.1033, gefunden = 531.1076.

<sup>(1)</sup> Die Signale für -NH und -OH sind nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +31.6^\circ$  ( $c$  0.57,  $\text{CHCl}_3$ ).

#### 5.5.4 Synthesen zur Derivatisierung des 1,2,4-Oxadiazolmotivs

##### Synthese von Ethyl-4-(trifluormethyl)benzoat (**208**)



Variante 1: Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von A. K. SINGH *et al.*<sup>[236]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurde 4-(Trifluormethyl)benzonnitril (502 mg, 2.93 mmol, 1.0 eq.) in EtOH (5 mL) gelöst und langsam mit  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (1.22 mL, 1.66 g, 11.7 mmol, 4.0 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 7 Tage bei  $90^\circ\text{C}$  gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufarbeitung direkt säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:EE 50:1) gereinigt. Der Ethylester **208** (229 mg, 1.05 mmol, **36%**) konnte als farblose Flüssigkeit erhalten werden.

Variante 2: Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von Y. XU *et al.*<sup>[237]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurde 4-(Trifluormethyl)benzoesäure (1.04 g, 5.45 mmol, 1.0 eq.) in EtOH (15 mL) gelöst und es erfolgte die langsame Zugabe von  $\text{SOCl}_2$  (5.00 mL, 8.20 g, 68.9 mmol, 12.6 eq.). Die Reaktionslösung wurde auf  $90^\circ\text{C}$  erwärmt und fortan für 5 Stunden gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbleibende Rückstand wurde mit  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) versetzt. Die wässrige Phase wurde mit DCM (4x je 10 mL) extrahiert, die organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 50:1) konnte der Ethylester **208** (1.04 g, 4.78 mmol, **88%**) als hellgelbe Flüssigkeit erhalten werden.

**$R_f$ -Wert** = 0.15 (PE:EE 50:1).

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 8.16 (d,  $^3J$  = 8.0 Hz, 2H, H-3), 7.70 (d,  $^3J$  = 8.2 Hz, 2H, H-2), 4.42 (q,  $^3J$  = 7.1 Hz, 2H, H-6), 1.42 (t,  $^3J$  = 7.1 Hz, 3H, H-7) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 165.6 (C-5), 134.4 (q,  $^2J_{\text{C,F}}$  = 32.8 Hz, C-1)<sup>(1)</sup>, 133.9 (C-4), 130.1 (C-3), 125.5 (q,  $^3J_{\text{C,F}}$  = 3.8 Hz, C-2), 122.7 (q,  $^1J_{\text{C,F}}$  = 272.2 Hz,  $\text{CF}_3$ ), 61.69 (C-6), 14.40 (C-7) ppm.

**$^{19}\text{F-NMR}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = -63.10 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2986 (w), 1720 (s), 1586 (w), 1411 (m), 1369 (w), 1323 (vs), 1272 (vs), 1165 (m), 1097 (vs), 1017 (s), 861 (m), 774 (m), 688 (m), 507 (w).

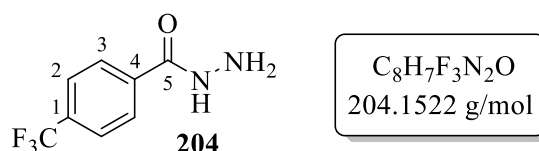
**MS (EI)<sup>(1)</sup>:**  $m/z$  = 218 (17)  $[\text{M}]^+$ , 190 (44)  $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4]^+$ , 173 (100)  $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}]^+$ , 145 (67)  $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2]^+$ .

**HRMS (ESI<sup>+</sup>)<sup>(1)</sup>:**  $m/z$  berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 219.0627$ , gefunden = 219.2139;

$m/z$  berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 241.0447$ , gefunden = 241.0681.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[238]</sup>

### Synthese von 4-(Trifluormethyl)benzohydrazid (**204**)



Die Synthese erfolgte nach einer Vorschrift von C. DUAN *et al.*<sup>[239]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurde der Ethylester **208** (749 mg, 3.43 mmol, 1.0 eq.) in EtOH (35 mL) gelöst und mit Hydrazinhydrat-Lsg. (80%ige Lösung in H<sub>2</sub>O, 5.50 mL, 4.44 g Hydrazin, 88.8 mmol, 25.9 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 24 Stunden bei 110 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt **204** (694 mg, 3.40 mmol, **99%**) wurde ohne weitere Reinigung als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.21 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 10.85 (s, 1H, NH), 8.84 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, 2H, H-3), 8.66 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, 2H, H-2), 5.42 (s, 2H, NH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 164.5 (C-5), 137.1 (C-4), 130.7 (q, <sup>2</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 32.5 Hz, C-1), 127.9 (C-3), 125.3 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 3.8 Hz, C-2), 123.0 (q, <sup>1</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 270.1 Hz, CF<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = -61.36 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3335 (m), 3055 (w), 1935 (w), 1622 (m), 1537 (m), 1409 (w), 1316 (vs), 1159 (m), 1112 (vs), 1065 (vs), 928 (m), 771 (m), 689 (m), 605 (s), 501 (m), 400 (m).

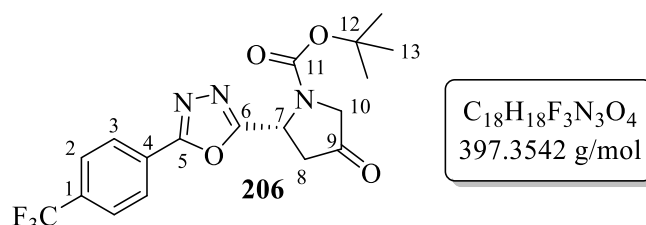
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):**  $m/z$  berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 205.0583$ , gefunden = 205.0580.

<sup>(1)</sup> Die HRMS (ESI<sup>+</sup>) Daten konnten trotz mehrfacher Messungen nur mit größeren Abweichungen gemessen werden, weshalb ebenfalls EI-MS Daten erhoben wurden.

**Schmelzbereich:** 114.6-116.5 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[239]</sup>

**Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-4-oxo-2-(5-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-pyrrolidin-1-carboxylat (**206**)**



Von Verbindung **206** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von O. CURCURUTO *et al.*<sup>[186]</sup>

Pyrrolidon **83** (112 mg, 490  $\mu$ mol, 1.0 eq.), Hydrazid **204** (100 mg, 490  $\mu$ mol, 1.0 eq.) und DIPEA (250  $\mu$ L, 190 mg, 1.47 mmol, 3.0 eq.) wurden in abs. CH<sub>3</sub>CN (6 mL) gelöst und es erfolgte die Zugabe von TBTU (173 mg, 539  $\mu$ mol, 1.1 eq.). Die Reaktionslösung wurde für 23 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte die Zugabe von Tosylchlorid (283 mg, 1.48 mmol, 3.0 eq.) und weiterem DIPEA (170  $\mu$ L, 129 mg, 1.00 mmol, 2.0 eq.) und die Lösung wurde für weitere 29 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und es erfolgte die direkte säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1 $\rightarrow$ 3:1). Produkt **206** (37 mg, 93  $\mu$ mol, **19%**) konnte als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.40 (PE:EE 3:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.14 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-3), 7.77 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H-2), 5.73 und 5.66\* (br.s, 1H, H-7), 4.07 (br.s, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.93 (d, <sup>2</sup>J = 18.9 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.15 (br.s, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.93 (dd, <sup>2</sup>J = 18.6 Hz, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.46 und 1.43\* (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 207.6 (C-9), 166.5 (C-6), 164.2 (C-5), 133.7 (C-1), 127.4 (C-3), 126.8 (C-4), 126.3 (C-2), 122.2 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 272.7 Hz, CF<sub>3</sub>), 82.2 (C-12), 52.3 und 52.2\* (C-10), 50.0\* und 49.6 (C-7), 42.2\* und 42.1 (C-8), 28.4 (C-13) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.17 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2980 (w), 2931 (w), 1757 (s), 1698 (s), 1504 (w), 1474 (w), 1395 (s), 1321 (s), 1269 (w), 1159 (s), 1124 (vs), 1109 (s), 1063 (m), 1016 (m), 963 (w), 886 (w), 845 (s), 785 (m), 700 (m), 658 (w), 593 (m), 483 (m), 393 (w).

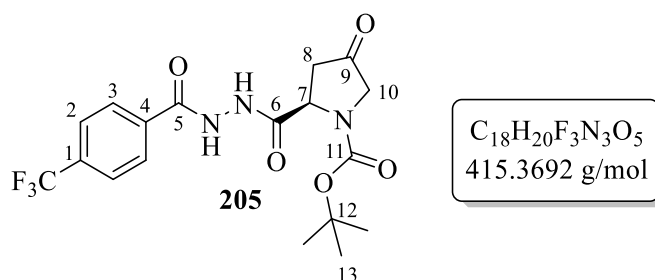
**MS (ESI<sup>+</sup>):** m/z = berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 398.1322, gefunden = 398.1310;

berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 420.1142, gefunden = 420.1124.

**Schmelzbereich:** 135.1-137.0 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -17.0^{\circ}$  (c 0.37, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-4-oxo-2-(2-(4-(trifluormethyl)benzoyl)hydrazin-1-carbonyl)-pyrrolidin-1-carboxylat (**205**)**



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von O. CURCURUTO *et al.*<sup>[186]</sup>

Pyrrolidon **83** (113 mg, 493 μmol, 1.0 eq.), Hydrazid **204** (100 mg, 490 μmol, 1.0 eq.) und TBTU (173 mg, 539 μmol, 1.1 eq.) wurden bei Raumtemperatur in abs. CH<sub>3</sub>CN (6 mL) gelöst und es erfolgte die Zugabe von DIPEA (250 μL, 190 mg, 1.47 mmol, 3.0 eq.). Die Reaktionslösung wurde für 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch die Zugabe von H<sub>2</sub>O (3 mL) wurde die Reaktion beendet. Die wässrige Phase wurde mit EE (5x je 10 mL) extrahiert und die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck erfolgte eine erste säulenchromatographische Reinigung des Rohproduktes an Kieselgel (PE:EE 1:1) und eine zweite säulenchromatographische Reinigung des unreinen Produktes an Kieselgel (DCM+1% MeOH). Das Produkt **205** (50 mg, 0.12 mmol, **24%**) konnte als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.15 (DCM+1% MeOH).



**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 9.82 (s, 1H, -NH<sub>C-5</sub>), 9.38 (s, 1H, -NH<sub>C-6</sub>), 7.87 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H-3), 7.62 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-2), 4.96 (d, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H-7), 3.92 (d, <sup>2</sup>J = 18.7 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.82 (d, <sup>2</sup>J = 19.0 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 2.93 (d, <sup>2</sup>J = 18.7 Hz 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.75 (dd, <sup>2</sup>J = 18.0 Hz, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.49 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 208.3 (C-9), 169.4 (C-6), 163.8 (C-5), 155.4 (C-11), 140.4 (C-4), 134.0 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 29.3 Hz, C-1)<sup>(1)</sup>, 128.0 (C-3), 125.8 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 2.7 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 122.7 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 273.9 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 82.6 (C-12), 54.9 (C-7), 52.8 (C-10), 39.5 (C-8), 28.4 (C-13) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.17 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3247 (m), 2980 (w), 1764 (m), 1671 (s), 1530 (w), 1478 (w), 1396 (m), 1324 (s), 1252 (m), 1115 (vs), 1016 (m), 891 (w), 857 (m), 768 (m), 690 (w), 558 (w), 420 (w).

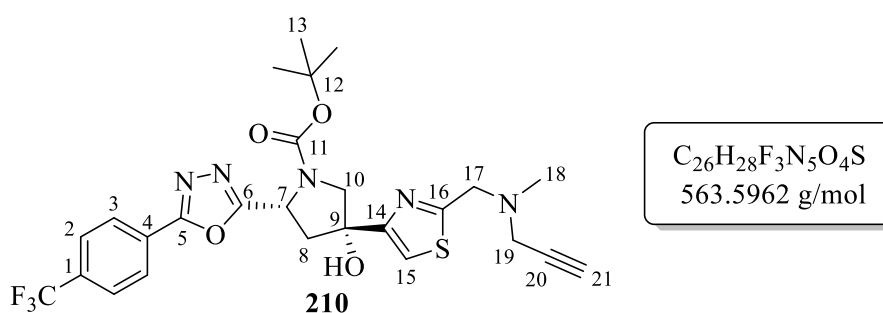
**MS (ESI<sup>+</sup>):** m/z = berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 438.1247, gefunden = 438.1249;

berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 454.0987, gefunden = 454.0973.

**Schmelzbereich:** 141.1-143.0 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup>** = +38.6° (c 1.01, MeOH).

**Synthese von tert-Butyl-(2R,4R)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)-thiazol-4-yl)-2-(5-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (**210**)**



Von Verbindung **210** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.7\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (76 mg, 0.26 mmol, 1.0 eq.), abs. THF (2 mL), -78 °C, <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (240  $\mu$ L, 1.3 M in THF, 312  $\mu$ mol, 1.2 eq.), 15 Minuten bei -78 °C, dann 1,3,4-Oxadiazol-Pyrrolidon **206** (104 mg, 262  $\mu$ mol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (2.5 mL); 1.5 Stunden bei -78 °C, dann 50 Stunden bei Raumtemperatur; erste säulenchromatographische

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter.

Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1→1:1), zweite säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+2% MeOH). Das Produkt **210** (13 mg, 23  $\mu$ mol, **9%**) wurde als farbloses Öl erhalten. Zudem konnte Oxadiazol-Pyrrolidon **206** (3 mg, 8  $\mu$ mol, 3%) reisoliert und das dehalogenierte Thiazol **93** (11 mg, 66  $\mu$ mol, **25%**) isoliert werden (Analytik siehe S.160).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.16 (DCM+2% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.18 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H-3), 7.78\* und 7.75 (d, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 2H, H-2), 7.43 und 7.38\* (s, 1H, H-15), 5.38 und 5.30\* (d, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 1H, H-7), 5.05 und 4.60\* (br.s, 1H, -OH), 4.12\* und 4.06 (d, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.92 und 3.91\* (s, 2H, H-17), 3.88\* und 3.83 (d, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 3.47 und 3.46\* (d, <sup>4</sup>J = 2.6 Hz, 2H, H-19), 3.19 und 3.16\* (d, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.56\* und 2.50 (d, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.45 und 2.43\* (s, 3H, H-18), 2.29 (br.s, 1H, H-21), 1.45 und 1.36\* (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.7 (C-16), 169.8 und 169.4\* (C-6), 163.8 und 163.5\* (C-5), 157.1 (C-14), 154.5 (C-11), 133.5 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 33.7 Hz, C-1)<sup>(1)</sup>, 127.5 und 127.3\* (C-3)<sup>(1)</sup>, 127.0 und 126.9\* (C-4), 126.4 und 126.2 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 2.9 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 122.7 (CF<sub>3</sub>)<sup>(2)</sup>, 115.9 und 115.6\* (C-15), 81.1 und 80.4\* (C-12), 79.0 (C-9), 78.0 (C-20), 74.0 (C-21), 60.7 und 59.9\* (C-10), 57.2 und 57.1\* (C-17), 52.5\* und 52.1 (C-7), 45.91 und 45.89\* (C-19), 45.0\* und 43.90 (C-8), 42.1 (C-18), 28.5 und 28.4\* (C-13) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.12 und -63.15\* ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3306 (w), 2977 (w), 2798 (w), 1734 (s), 1558 (m), 1456 (w), 1391 (s), 1321 (vs), 1245 (m), 1167 (s), 1126 (vs), 1064 (s), 1015 (m), 892 (w), 850 (m), 735 (m), 665 (m), 595 (m), 469 (w).

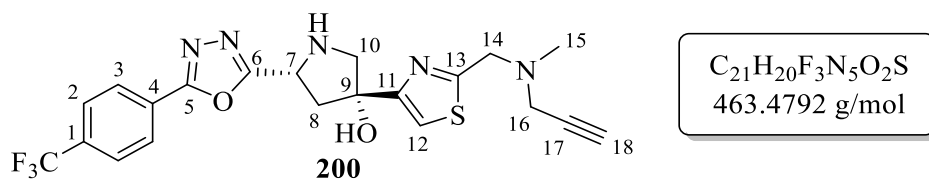
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 564.1887, gefunden = 564.1916;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 586.1706, gefunden = 586.1735.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>18</sup>** = -34.3° (c 0.95, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter. <sup>(2)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen.

**Synthese von (3*R*,5*R*)-3-(2-((Methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)-5-(5-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)pyrrolidin-3-ol (200)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: *Gemergede* Verbindung **210** (21 mg, 37  $\mu$ mol, 1.0 eq.), DCM (2 mL), 0 °C, TFA (0.21 mL, 0.31 g, 2.7 mmol, 73 eq.); 60 Minuten bei 0 °C, dann 4 Stunden Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **200** (8 mg, 17  $\mu$ mol, **46%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**Rf-Wert** = 0.40 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.20 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, 2H, H-3), 7.78 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, 2H, H-2), 7.33 (s, 1H, H-12), 4.86 (dd, <sup>3</sup>*J* = 9.4 Hz, 3.8 Hz, 1H, H-7), 3.92 (s, 2H, H-14), 3.54 (d, <sup>2</sup>*J* = 11.3 Hz, 1H, H-10<sub>a</sub>), 3.47 (d, <sup>4</sup>*J* = 2.4 Hz, 2H, H-16), 3.33 (dd, <sup>2</sup>*J* = 11.5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, H-10<sub>b</sub>), 2.99 (dd, <sup>2</sup>*J* = 14.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 9.7 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.61 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 2.45 (s, 3H, H-15), 2.29 (t, <sup>3</sup>*J* = 2.4 Hz, 1H, H-18) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.7 (C-13), 169.2 (C-6), 164.3 (C-5), 158.7 (C-11), 133.5 (C-1)<sup>(2)</sup>, 127.5 (C-3), 127.1 (C-4), 126.3 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>C,F</sub> = 4.2 Hz, C-2), 122.8 (CF<sub>3</sub>)<sup>(2)</sup>, 114.4 (C-12), 81.2 (C-9), 78.1 (C-17), 73.9 (C-18), 61.1 (C-10), 57.2 (C-14), 53.3 (C-7), 45.9 (C-16), 45.5 (C-8), 42.1 (C-15) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.11 ppm.

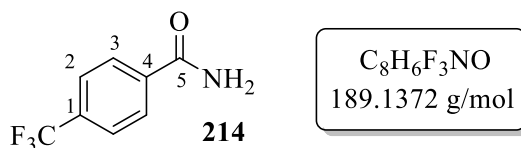
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3302 (w), 2923 (m), 2852 (w), 1720 (w), 1624 (w), 1592 (w), 1458 (w), 1418 (m), 1322 (vs), 1262 (w), 1168 (m), 1123 (s), 1064 (s), 1014 (s), 907 (w), 849 (m), 752 (w), 703 (m), 659 (m), 596 (m), 470 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 464.1363, gefunden = 464.1364;

m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 486.1182, gefunden = 486.1185.

**$[\alpha]_D^{17}$**  = -20.0° (c 0.39, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup> Die Signale für -OH und -NH sind nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen.

**Synthese von 4-(Trifluormethyl)benzamid (214)**

Die Synthese erfolgte nach einer Vorschrift von J. M. WILLIAMS *et al.*<sup>[187]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurden 4-(Trifluormethyl)benzonnitril (1.0 g, 5.8 mmol, 1.0 eq.), Pd(OAc)<sub>2</sub> (70 mg, 0.29 mmol, 5 mol%) und 2,2'-Bipyridyl (50 mg, 0.29 mmol, 5 mol%) mit H<sub>2</sub>O (11.7 mL) versetzt und auf 70 °C erwärmt. Die Reaktion wurde nach 24 Stunden beendet und die wässrige Phase wurde mit EE (7x je 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 1:1) konnte 4-(Trifluormethyl)benzamid (**214**) (0.88 g, 4.6 mmol, **79%**) als farbloser Feststoff erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.23 (PE:EE 1:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = 8.06 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-3), 7.83 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, H-2) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = 166.6 (C-5), 138.0 (C-4), 131.1 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 31.9 Hz, C-1), 128.3 (C-3), 125.3 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.8 Hz, C-2), 123.1 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 272.0 Hz, CF<sub>3</sub>) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = -61.33 ppm.

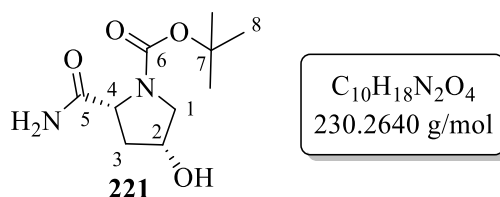
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3366 (m), 3166 (m), 1652 (s), 1619 (s), 1577 (m), 1515 (w), 1415 (m), 1397 (m), 1316 (s), 1194 (w), 1123 (vs), 1063 (s), 1013 (s), 858 (m), 798 (s), 742 (m), 656 (s), 592 (s), 528 (m), 465 (s), 400 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 190.0474, gefunden = 190.0480.

**Schmelzbereich:** 184.7-186.2 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[228]</sup>

<sup>(1)</sup> Das Signal für -NH<sub>2</sub> ist nicht sichtbar.

**Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-2-carbamoyl-4-hydroxypyrrolidin-1-carboxylat (**221**)**

Von Verbindung **221** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.7\* vor.

Variante 1: Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Patentschrift von C. THOMAS *et al.*<sup>[188]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurde das Pyrrolidin-Derivat **85** (2.00 g, 8.65 mmol, 1.0 eq.) und Et<sub>3</sub>N (1.32 ml, 963 mg, 9.51 mmol, 1.1 eq.) in THF (30 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es erfolgte die langsame Zugabe von Ethylchlorformiat (1.82 ml, 2.06 g, 19.0 mmol, 2.2 eq.) und Ammoniak-Lsg. (6.0 mL, 25% in H<sub>2</sub>O, 64.3 mmol, 7.4 eq.). Die Kühlung wurde nach 2 Stunden entfernt und die Reaktionslösung wurde für 72 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch die Zugabe von NH<sub>4</sub>Cl-Lsg (30 mL) beendet. Die wässrige Phase wurde mit THF (5x je 50 mL) extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lsg. (30 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EE+5%MeOH+5% AcOH) gereinigt. Als Produkt konnte das Amid **221** (1.05 g, 7.33 mmol, **85%**) als farbloser Feststoff isoliert werden.

Variante 2: Die Synthese erfolgte nach **AAV 11**.

Unter Normalatmosphäre wurde der Methylester **229** (101 mg, 0.41 mmol, 1.0 eq.) in einer NH<sub>3</sub>-Lsg. (1.0 ml, 7 M in MeOH, 7.0 mmol, 17 eq.) gelöst und für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es erfolgte eine erneute Zugabe der NH<sub>3</sub>-Lsg. (1.0 ml, 7 M in MeOH, 7.0 mmol, 17 eq.) und die Lösung wurde für 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der verbleibende Rückstand 2x mit Et<sub>2</sub>O coevaporiert. Das Amid **221** (95 mg, 0.41 mmol, **100%**) konnte ohne weitere Reinigung als farbloser Feststoff erhalten werden.

**Rf-Wert** = 0.40 (PE:EE 2:1+4% AcOH).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  = 7.46 und 7.43\* (s, 1H,  $-\text{NH}_{2a}$ ), 7.13 und 7.08\* (s, 1H,  $-\text{NH}_{2b}$ ), 5.26 und 5.24\* (s, 1H,  $-\text{OH}$ ), 4.14\* und 4.11 (dd,  $^3J$  = 10.6 Hz, 5.0 Hz, 1H, H-4), 4.05-3.99 (m, 1H, H-2), 3.46\* und 3.44 (dd,  $^2J$  = 10.3 Hz,  $^3J$  = 5.0 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 3.19\* und 3.17 (dd,  $^2J$  = 10.3 Hz,  $^3J$  = 4.7 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.29 und 2.25\* (ddd,  $^2J$  = 13.7 Hz,  $^3J$  = 8.9 Hz, 5.3 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 1.75-1.67 (m, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.39\* und 1.34 (s, 9H, H-8) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  = 175.3 und 175.0\* (C-5), 153.7\* und 153.3 (C-6), 78.7 (C-7), 69.0\* und 68.1 (C-4), 58.6 und 58.5\* (C-2), 55.1\* und 54.4 (C-1), 38.5 und 37.7\* (C-3), 28.1\* und 28.0 (C-8) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3387 (m), 3299 (m), 3182 (m), 2954 (w), 2868 (w), 1667 (vs), 1472 (w), 1454 (w), 1393 (vs), 1308 (w), 1201 (s), 1103 (m), 1076 (s), 998 (w), 910 (m), 873 (w), 811 (m), 721 (w), 632 (s), 543 (s), 437 (m).

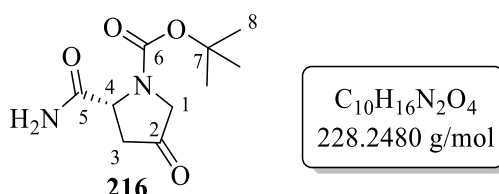
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 253.1159, gefunden = 253.1160.

**Schmelzbereich:** 163.5-165.1 °C.

$[\alpha]_D^{18}$  = -8.4° (c 0.56, DMSO).

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[188]</sup>

### Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-carbamoyl-4-oxopyrrolidin-1-carboxylat (**216**)



Von Verbindung **216** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Oxalylchlorid (77  $\mu\text{L}$ , 0.91 mmol, 2.1 eq.) wurde in abs. THF (2 mL) vorgelegt und auf -78 °C gekühlt. Es erfolgte die Zugabe von abs. DMSO (0.10 mL, 1.4 mmol, 3.3 eq.). Parallel wurde der Alkohol **221** (0.10 g, 0.43 mmol, 1.0 eq.) separat in abs. THF (1 mL) gelöst und anschließend tropfenweise zur DMSO-Lsg. gegeben. Zuletzt wurde  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.41 mL, 0.30 g, 3.0 mmol, 7.0 eq.) zugegeben und die Kühlung direkt im Anschluss entfernt. Die Reaktion wurde 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und durch langsame Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) beendet. Die wässrige Phase wurde mit EE (4x je 20 mL) extrahiert und die vereinte organische Phase wurde mit ges.  $\text{NaCl}$ -Lsg. (20 mL) gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (EE+2% AcOH) konnte das Produkt **216** (62 mg, 0.27 mmol, **63%**) als blaugelber Feststoff erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.16 (EE).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 7.58 (br.s, 1H, -NH<sub>2a</sub>), 7.16 und 7.10\* (s, 1H, -NH<sub>2b</sub>), 4.53\* und 4.48 (dd, <sup>3</sup>*J* = 10.2 Hz, 2.3 Hz, 1H, H-4), 3.82-3.66 (m, 2H, H-1), 3.04 und 2.99\* (dd, <sup>2</sup>*J* = 18.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.2 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 2.31 und 2.28\* (d, <sup>2</sup>*J* = 18.6 Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.41\* und 1.39 (s, 9H, H-8) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 209.8\* und 209.2 (C-2), 174.0 und 173.7\* (C-5), 153.6\* und 153.4 (C-6), 79.5 (C-7), 56.7 und 56.0\* (C-4), 53.0\* und 52.8 (C-1), 41.8 und 41.2\* (C-3), 28.00\* und 27.96 (C-8) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3394 (m), 3190 (w), 2978 (w), 2918 (w), 1769 (s), 1701 (w), 1663 (vs), 1638 (w), 1477 (w), 1397 (s), 1368 (m), 1250 (m), 1159 (s), 1115 (s), 1018 (w), 904 (w), 868 (w), 649 (w), 595 (s), 466 (w), 408 (w).

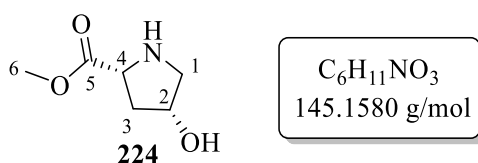
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 251.1002, gefunden = 251.1033.

**Schmelzbereich:** 117.5-119.4 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup>** = -9.6° (*c* 0.52, MeOH).

Die Verbindung ist literaturbekannt.<sup>[189]</sup> Es wurden keine analytischen Daten veröffentlicht.

#### Synthese von Methyl-(2*R*,4*R*)-4-hydroxypyrrolidin-2-carboxylat (**224**)



Zu MeOH (30 mL) wurde unter Normalatmosphäre langsam bei 0 °C SOCl<sub>2</sub> (1.66 mL, 2.72 g, 22.9 mmol, 2.0 eq.) getropft. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und es erfolgte die portionsweise Zugabe von *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (1.50 g, 11.4 mmol, 1.0 eq.). Anschließend wurde die Reaktionslösung für 5.5 Stunden auf 70 °C erwärmt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in MeOH gelöst 2x über Celite filtriert. Das Lösungsmittel wurde erneut unter vermindertem Druck entfernt und der Methylester **224** (1.97 g, 13.6 mmol, **quant.**) konnte als beiger Feststoff ohne weitere Reinigung erhalten werden.<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Ein *R<sub>f</sub>*-Wert konnte wegen der hohen Polarität der Verbindung nicht ermittelt werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 5.41 (s, 1H, -OH), 4.50 (dd, <sup>3</sup>*J* = 9.9 Hz, 3.6 Hz, 1H, H-4), 4.37 (dddd, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 4.1 Hz, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 2.1 Hz, 1H, H-2), 3.75 (s, 3H, H-6), 3.21 (dd, <sup>2</sup>*J* = 11.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.1 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 3.17-3.14 (m, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.32 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 9.9 Hz, 4.4 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 2.14 (dddd, <sup>2</sup>*J* = 11.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = <sup>4</sup>*J* = 1.9 Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 171.3 (C-5)<sup>(2)</sup>, 68.1 (C-2), 57.5 (C-4), 53.1 (C-1), 53.0 (C-6), 37.0 (C-3) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3433 (m), 3383 (s), 3325 (s), 3266 (w), 2981 (s), 2934 (s), 1722 (vs), 1634 (w), 1584 (vs), 1462 (w), 1440 (w), 1382 (m), 1367 (m), 1348 (m), 1334 (m), 1316 (m), 1243 (vs), 1178 (m), 1094 (s), 1063 (s), 1029 (s), 989 (w), 965 (m), 941 (w), 895 (w), 878 (w), 845 (w), 806 (m), 671 (m), 579 (w), 499 (m), 468 (s), 415 (m).

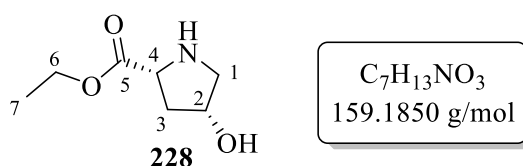
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 146.0817, gefunden = 146.0821.

**Schmelzbereich:** 82.9-84.8°C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18}$  = +10.3° (*c* 1.35, MeOH).

Die Verbindung ist literaturbekannt.<sup>[240]</sup> Es wurden keine analytischen Daten veröffentlicht. Vergleichsdaten des (2*S*,4*R*)-Diastereomers sind bekannt.<sup>[241]</sup>

### Synthese von Ethyl-(2*R*,4*R*)-4-hydroxypyrrolidin-2-carboxylat (**228**)



Zu EtOH (20 mL) wurde unter Normalatmosphäre langsam bei 0 °C SOCl<sub>2</sub> (1.11 mL, 1.82 g, 15.3 mmol, 2.0 eq.) getropft. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und es erfolgte die portionsweise Zugabe von *cis*-4-Hydroxy-D-prolin (998 mg, 7.61 mmol, 1.0 eq.). Anschließend wurde die Reaktionslösung für 4.5 Stunden auf 100 °C erwärmt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in THF gelöst 2x über Celite filtriert. Unter vermindertem Druck wurde das Lösungsmittel erneut entfernt und der Ethylester **228** (1.47 g, 9.23 mmol, **quant.**) konnte als blassgelber Feststoff ohne weitere Reinigung erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.02 (EE+6% AcOH).

<sup>(1)</sup> Das Signal für -NH ist nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC-Spektrum entnommen.



**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 5.46 (s, 1H, -OH), 4.44 (dd, <sup>3</sup>*J* = 9.9 Hz, 3.7 Hz, 1H, H-4), 4.37-4.35 (dddd, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 4.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 2.0 Hz, 1H, H-2), 4.24-4.17 (m, 2H, H-1), 3.22-3.14 (m, 2H, H-6), 2.30 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 9.9 Hz, 4.7 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 2.30 (dddd, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = <sup>4</sup>*J* = 2.0 Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.23 (t, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, 3H, H-7) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 169.1 (C-5), 68.11 (C-2), 62.01 (C-1), 57.4 (C-4), 52.9 (C-6), 37.1 (C-3), 13.86 (C-7) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3260 (s), 2976 (s), 2936 (s), 2160 (w), 1725 (vs), 1583 (m), 1468 (m), 1325 (w), 1244 (vs), 1094 (s), 1034 (s), 975 (m), 807 (m), 751 (w), 647 (s), 472 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 160.0968, gefunden = 160.0966;

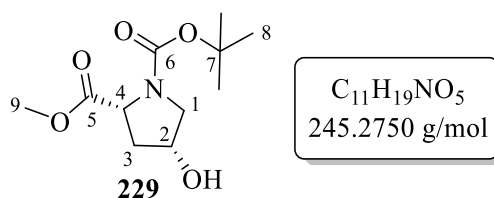
*m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 182.0788, gefunden = 182.0785.

**Schmelzbereich:** 145.1-147.0 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup>** = +22.6° (*c* 0.84, MeOH).

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[242]</sup>

### Synthese von 1-(*tert*-Butyl)-2-methyl (2*R*,4*R*)-4-hydroxypyrrolidin-1,2-dicarboxylat (**229**)



Von Verbindung **229** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.7\* vor.

Variante 1: Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von M. OTSUKA *et al.*<sup>[244]</sup>

Der Methylester **224** (1.59 g, 10.9 mmol, 1.0 eq.) wurde unter Normalatmosphäre in ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lsg.:1,4-Dioxan (1:1, 80 mL) gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und es erfolgte die langsame Zugabe von Boc<sub>2</sub>O (2.76 mL, 2.62 g, 12.0 mmol, 1.1 eq.). Die Suspension wurde anschließend erwärmt und für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck konzentriert. Der farblose, ölige Rückstand wurde in EE:DCM (6:1, 70 mL) gelöst, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und über Celite filtriert. Es erfolgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 1:1). Der *N*-geschützte Methylester **229** (1.39 g, 5.67 mmol, **52%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

<sup>(1)</sup> Das Signal für -NH ist nicht sichtbar.

Variante 2: Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von C. DOMINGUEZ *et al.*<sup>[243]</sup>

Das Pyrrolidin-Derivat **85** (1.00 g, 4.32 mmol, 1.0 eq.) wurde in abs. DCM:MeOH (10:3, 13 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Portionsweise erfolgte die Zugabe von Trimethylsilyldiazomethan (10.8 mL, 0.6 M in *n*-Hexan, 6.48 mmol, 1.5 eq.). Die Reaktion wurde für eine weitere Stunde bei 0 °C gerührt und anschließend für 25 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von AcOH (2 mL) wurde die Reaktion beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und es erfolgte eine säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 1:2). Der Methylester **229** (501 mg, 2.04 mmol, **47%**) konnte als farbloser Feststoff erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.42 (PE:EE 2:1+4% AcOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 4.99 (br.s, 1H, -OH), 4.23-4.18 (m, 2H, H-2, H-4), 3.63 und 3.60\* (s, 3H, H-9), 3.48\* und 3.47 (dd, <sup>2</sup>*J* = 10.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.5 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 3.12\* und 3.10 (dd, <sup>2</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.3 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.34 und 2.29\* (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.1 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8.8 Hz, 5.3 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 1.84-1.80 (m, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.39\* und 1.33 (s, 9H, H-8) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 172.7 und 172.3\* (C-5), 153.5\* und 152.9 (C-6), 78.9\* und 78.75 (C-7), 68.5\* und 67.5 (C-2), 57.4 und 57.1\* (C-4), 54.1\* und 53.5 (C-1), 51.7 und 51.6\* (C-9), 38.4 und 37.7\* (C-3), 28.1\* und 27.9 (C-8) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3460 (s), 2984 (w), 2928 (w), 1726 (s), 1666 (vs), 1546 (w), 1418 (vs), 1337 (w), 1281 (m), 1213 (m), 1158 (s), 1087 (s), 1012 (m), 921 (m), 888 (m), 789 (m), 710 (w), 577 (s), 463 (m), 395 (w).

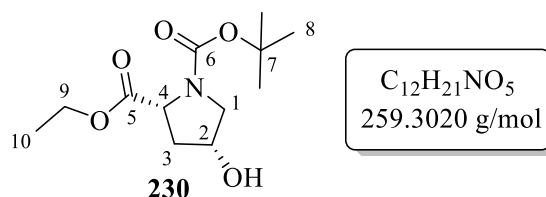
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 268.1155, gefunden = 268.1154.

**Schmelzbereich:** 78.2-79.7 °C.

**$[\alpha]_{\text{D}}^{18}$**  = +56.3° (c 0.49, DMSO).

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[245]</sup>

### Synthese von 1-(*tert*-Butyl)-2-ethyl (2*R*,4*R*)-4-hydroxypyrrolidin-1,2-dicarboxylat (**230**)



Von Verbindung **230** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.6\* vor.

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von M. OTSUKA *et al.*<sup>[244]</sup>

Der Ethylester **228** (401 mg, 2.52 mmol, 1.0 eq.) wurde unter Normalatmosphäre in ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lsg.:1,4-Dioxan (1:1, 13 mL) gelöst und bei 0 °C mit Boc<sub>2</sub>O (640 µL, 608 mg, 2.79 mmol, 1.1 eq.) versetzt. Die Reaktion wurde anschließend für 19 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck konzentriert. Der braune, ölige Rückstand wurde in EE:DCM (4:1, 25 mL) suspendiert, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und über Celite filtriert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:EE 1:1) gereinigt. Der *N*-geschützte Ethylester **230** (475 mg, 1.83 mmol, **73%**) konnte als farbloses Öl erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.67 (PE/EE = 1:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = 4.98 und 4.95\* (d, <sup>3</sup>*J* = 3.7 Hz, 1H, -OH), 4.24-4.14 (m, 2H, H-2, H-4), 4.13-4.01 (m, 2H, H-9), 3.49\* und 3.46 (dd, <sup>2</sup>*J* = 10.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.6 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 3.13\* und 3.10 (dd, <sup>2</sup>*J* = 10.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.8 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.34 und 2.29\* (ddd, <sup>3</sup>*J* = 14.3 Hz, <sup>2</sup>*J* = 8.9 Hz, 5.4 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 1.84-1.79 (m, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.39\* und 1.33 (s, 9H, H-8), 1.19 und 1.17\* (t, <sup>3</sup>*J* = 7.1 Hz, 3H, H-10) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = 172.2 und 171.7\* (C-5), 153.5\* und 152.9 (C-6), 78.8\* und 78.7 (C-7), 68.4\* und 67.5 (C-2), 60.3 und 60.1\* (C-9), 57.4 und 57.2\* (C-4), 54.1\* und 53.6 (C-1), 38.5 und 37.7\* (C-3), 28.1\* und 27.9 (C-8), 14.1 und 14.0\* (C-10) ppm.

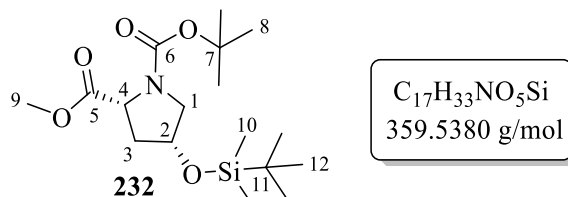
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3446 (w), 2978 (w), 1675 (s), 1477 (w), 1393 (s), 1366 (s), 1255 (w), 1156 (s), 1121 (m), 1085 (s), 1027 (w), 072 (w), 906 (w), 857 (w), 770 (w), 569 (w), 463 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 282.1312, gefunden = 282.1325.

**[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>** = +37.3° (*c* 1.0, MeOH).

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[244]</sup>

### Synthese von 1-(*tert*-Butyl)-2-methyl-(2*R*,4*R*)-4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)pyrrolidin-1,2-dicarboxylat (**232**)



Von Verbindung **232** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.6\* vor.

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Patentvorschrift von VALOGNES *et al.*<sup>[246]</sup>

Zu einer Lösung des Alkohols **229** (951 mg, 2.65 mmol, 1.0 eq.) in abs. DCM (15 mL) wurden DMAP (323 mg, 2.65 mmol, 1.0 eq.) und abs. Et<sub>3</sub>N (370  $\mu$ L, 2.65 mmol, 1.0 eq.) gegeben. Parallel wurde TBSCl (439 mg, 2.91 mmol, 1.1 eq.) in abs. DCM (1 mL) gelöst und im Anschluss über 10 Minuten tropfenweise zur Alkohol-Lsg. gegeben. Die Reaktionslösung wurde für 22 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und durch die Zugabe von H<sub>2</sub>O (5 mL) beendet. Es erfolgte eine Trennung der Phasen und die organische Phase wurde zunächst mit Zitronensäure (5%ig, 8 mL) und anschließend mit ges. NaCl-Lsg. (5 mL) gewaschen. Die entstandene Suspension wurde filtriert, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Filtrat wurde unter vermindertem Druck konzentriert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:EE 6:1) gereinigt. Die TBS-geschützte Verbindung **232** (924 mg, 2.57 mmol, **97%**) konnte als farbloses Öl isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.74 (PE:EE 6:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 4.38\* und 4.28 (dd, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 4.0 Hz, 1H, H-4), 4.35-4.30 (m, 1H, H-2), 3.69 (s, 3H, H-9), 3.62 und 3.55\* (dd, <sup>2</sup>J = 11.2 Hz, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 3.31 und 3.26\* (ddd, <sup>2</sup>J = 11.1 Hz, <sup>3</sup>J = 4.0 Hz, <sup>4</sup>J = 1.0 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.30 und 2.24\* (ddd, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 5.1 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 2.10-2.05 (m, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.46\* und 1.40 (s, 9H, H-8), 0.84\* und 0.83 (s, 9H, H-12), 0.03\* und 0.02 (d, <sup>3</sup>J<sub>H,Si</sub> = 4.9 Hz, 6H, H-10) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 173.0 und 172.6\* (C-5), 154.5\* und 154.0 (C-6), 80.03\* und 80.01 (C-7), 70.8\* und 69.9 (C-2), 57.9 und 57.5\* (C-4), 54.9\* und 54.3 (C-1), 52.1\* und 52.0 (C-9), 39.7 und 38.9\* (C-3), 28.6\* und 28.5 (C-8), 25.7 (C-12), 18.02 (C-11), -4.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>C,Si</sub> = 12.2 Hz, C-10) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2954 (m), 2931 (m), 2900 (m), 2858 (m), 1759 (m), 1701 (vs), 1473 (w), 1463, (w), 1435 (w), 1395 (vs), 1365 (s), 1306 (w), 1254 (s), 1198 (m), 1180 (m), 1158 (s), 1089 (vs), 1053 (m), 1024 (s), 992 (s), 918 (m), 902 (m), 834 (vs) 807 (m), 774 (vs), 685 (w), 570 (w).

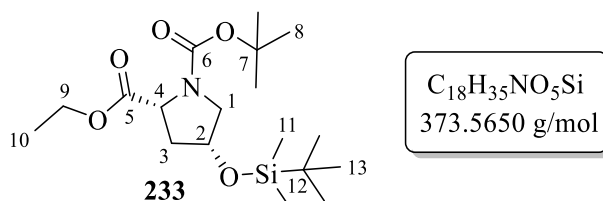
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 382.2026, gefunden = 382.2016.

Schmelzbereich: 82.9-84.8°C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{19} = +89.8^\circ$  (c 0.5, MeOH).

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[240]</sup>

### Synthese von 1-(tert-Butyl)-2-ethyl-(2R,4R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)pyrrolidin-1,2-dicarboxylat (**233**)



Von Verbindung **233** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.6\* vor.

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Patentvorschrift von VALOGNES *et al.*<sup>[246]</sup>

Zu einer Lösung von Alkohol **230** (500 mg, 1.93 mmol, 1.0 eq.) in abs. DCM (8 mL) wurden DMAP (240 mg, 1.96 mmol, 1.0 eq.) und abs. Et<sub>3</sub>N (270  $\mu\text{L}$ , 1.93 mmol, 1.0 eq.) gegeben. TBSCl (340 mg, 2.26 mmol, 1.2 eq.) wurde parallel in abs. DCM (1 mL) gelöst und im Anschluss über 15 Minuten tropfenweise zur Alkohol-Lsg. gegeben. Die Reaktionslösung wurde für 23 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und durch die Zugabe von H<sub>2</sub>O (5 mL) beendet. Es erfolgte eine Trennung der Phasen und die organische Phase wurde zunächst mit Zitronensäure (5%ig, 8 mL) und anschließend mit ges. NaCl-Lsg. (5 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 6:1) konnte die TBS-geschützte Verbindung **233** (276 mg, 739  $\mu\text{mol}$ , **38%**) als farbloses Öl isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.79 (PE:EE 6:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 4.35-4.23 (m, 2H, H-2, H-4), 4.19-4.06 (m, 2H, H-9), 3.63 und 3.55\* (dd, <sup>2</sup>J = 11.1 Hz, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 3.29 und 3.24\* (dd, <sup>2</sup>J = 11.1 Hz, <sup>3</sup>J = 3.9 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.30 und 2.25\* (ddd, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 5.3 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 2.07-2.01 (m, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J = 3.7 Hz, <sup>3</sup>J = <sup>4</sup>J = 2.1 Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.44\* und 1.40 (s, 9H, H-8), 1.24 und 1.22\* (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 3H, H-10), 0.83\* und 0.82 (s, 9H, H-13), 0.02\* und 0.01 (d, <sup>3</sup>J<sub>H,Si</sub> = 4.2 Hz, 6H, H-11) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 172.5 und 172.0\* (C-5), 154.4\* und 154.0 (C-6), 80.0 und 79.9\* (C-7), 70.7\* und 69.9 (C-2), 61.0 (C-9), 57.9 und 57.6\* (C-4), 54.8\* und 54.3 (C-1), 39.6 und 38.8\* (C-3), 28.5\* und 28.4 (C-8), 25.7 (C-13), 18.0 (C-12), 14.3 und 14.2\* (C-10), -4.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>C,Si</sub> = 11.5 Hz, C-11) ppm.

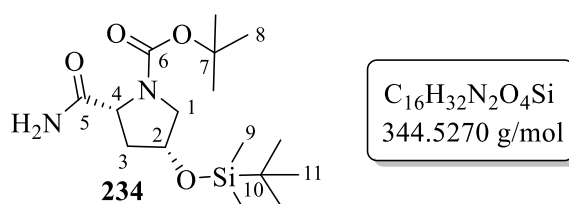
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2956 (m), 2931 (m), 2901 (m), 2858 (m), 1754 (m), 1702 (vs), 1473 (w), 1394 (vs), 1366 (s), 1305 (w), 1254 (s), 1186 (m), 1157 (s), 1090 (vs), 1053 (m), 1021 (s), 918 (m), 902 (m), 835 (vs), 809 (m), 774 (vs), 732 (m), 685 (w), 647 (w), 569 (w), 446 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 396.2182, gefunden = 396.2213.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +84.9^{\circ}$  (c 0.45, MeOH).

Die Verbindung ist literaturbekannt.<sup>[247]</sup> Es wurden keine analytischen Daten veröffentlicht.

### Synthese von *tert*-butyl-(2*R*,4*R*)-4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-carbamoyl-pyrrolidin-1-carboxylat (**234**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 11**.

Ansatzgröße: Methylester **232** (250 mg, 695  $\mu$ mol, 1.0 eq.), NH<sub>3</sub>-Lsg. (2.5 mL, 7 M in MeOH, 17.5 mmol, 25 eq.), 24 Stunden bei Raumtemperatur, erneute Zugabe NH<sub>3</sub>-Lsg. (2.5 mL, 7 M in MeOH, 17.5 mmol, 25 eq.), 5 Tage bei Raumtemperatur; unvollständiger und stagnierender Umsatz; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1). Das Produkt **234** (23 mg, 70  $\mu$ mol, **10%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten. Edukt konnte nicht reisoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.15 (PE:EE 6:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 6.33 (br. s, 1H, -NH<sub>2a</sub>), 5.37 (br.s, 1H, -NH<sub>2b</sub>), 4.37 (br.s, 1H, H-2), 4.21 (br.s, 1H, H-4), 3.53-3.32 (m, 2H, H-1<sub>a</sub>, H-1<sub>b</sub>), 2.30 (br.s, 1H, H-3<sub>a</sub>), 2.19 (br.s, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.46 (s, 9H, H-8), 0.86 (s, 9H, H-11), 0.06 (d, <sup>3</sup>J<sub>H,Si</sub> = 3.44 Hz, 6H, H-9) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 70.7 (C-2), 60.4 (C-4), 56.1 (C-1), 39.7 (C-3), 28.5 (C-8), 25.8 (C-11), 18.1 (C-10), -4.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>C,Si</sub> = 8.3 Hz, C-9) ppm.<sup>(1)</sup>

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3321 (w), 2956 (m), 2937 (m), 2857 (m), 1738 (w), 1689 (m), 1406 (m), 1394 (m), 1251 (m), 1056 (vs), 903 (2), 834 (m), 805 (m), 775 (s), 698 (w), 452 (s).

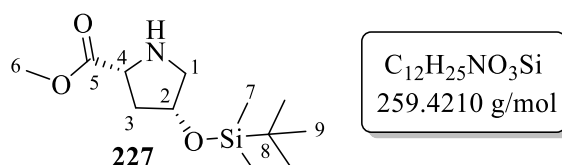
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 367.2029, gefunden = 367.2009.

**[α]<sub>D</sub><sup>19</sup>** = +7.8° (c 0.40, MeOH).

**Schmelzbereich:** 119.2-122.7°C.

Das (2*S*,4*R*)-Diastereomer der Verbindung **234** ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[248]</sup>

**Synthese von Methyl-(2*R*,4*R*)-4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)pyrrolidin-2-carboxylat (**227**)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: Verbindung **232** (317 mg, 881 μmol, 1.0 eq.) in DCM (50 mL), 0 °C, tropfenweise Zugabe TFA (4.95 mL, 64.6 mmol, 73 eq.); 45 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Produkt **227** (100 mg, 385 μmol, **44%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.45 (DCM+5% MeOH).

<sup>(1)</sup>Die Signale für C-5, C-6 und C-7 sind nicht sichtbar.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 4.22 (dddd, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 4.1 Hz, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, 1H, H-2), 3.71 (dd, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 3.6 Hz, 1H, H-4), 3.67 (s, 3H, H-6), 2.92 (ddd, <sup>2</sup>J = 11.6 Hz, <sup>3</sup>J = <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 2.86 (s, 1H, -NH), 2.82 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, <sup>3</sup>J = 3.7 Hz, H-1<sub>b</sub>), 2.14 (ddd, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 4.6 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 1.97 (dddd, <sup>2</sup>J = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J = 3.8 Hz, <sup>3</sup>J = <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>), 0.80 (s, 9H, H-9), -0.02 (d, <sup>3</sup>J<sub>H,Si</sub> = 4.9 Hz, 6H, H-7) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 175.3 (C-5), 72.1 (C-2), 58.9 (C-4), 56.0 (C-1), 52.1 (C-6), 39.9 (C-3), 25.7 (C-9), 17.9 (C-8), -4.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>C,Si</sub> = 9.3 Hz, C-7) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3674 (w), 3320 (w), 2955 (m), 2927 (m), 2857 (m), 1739 (w), 1689 (m), 1462 (w), 1406 (m), 1394 (m), 1251 (m), 1057 (m), 902 (m), 834 (m), 805 (m), 775 (s), 698 (w), 446 (s).

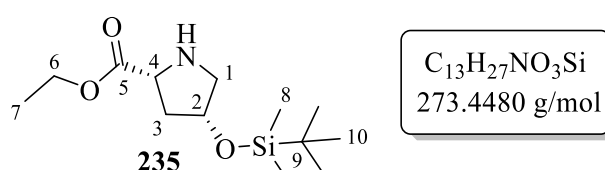
**MS (EI)<sup>(1)</sup>:** m/z = 244 (1) [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 200 (45) [M-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 174 (38) [M-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 101 (21) [M-C<sub>8</sub>H<sub>19</sub>OSi]<sup>+</sup>, 89 (32) [M-C<sub>9</sub>H<sub>21</sub>OSi]<sup>+</sup>, 75 (98) [M-C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>OSi]<sup>+</sup>, 59 (15) [M-C<sub>10</sub>H<sub>23</sub>NOSi]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>)<sup>(1)</sup>:** m/z berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 260.1676, gefunden = 260.1755.

$[\alpha]_D^{19}$  = +73.6° (c 0.5, MeOH).

Das (2*S*,4*R*)-Distereomer der Verbindung **227** ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[249]</sup>

### Synthese von Ethyl-(2*R*,4*R*)-4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)pyrrolidin-2-carboxylat (**235**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: Verbindung **233** (220 mg, 589  $\mu$ mol, 1.0 eq.) in DCM (35 mL), 0 °C, tropfenweise Zugabe TFA (3.30 mL, 43.2 mmol, 73 eq.); 41 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+4% MeOH). Das Produkt **235** (44 mg, 0.16 mmol, **27%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.31 (DCM+4% MeOH).

<sup>(1)</sup> Die HRMS (ESI<sup>+</sup>) Daten konnten trotz mehrfacher Messungen nur mit größeren Abweichungen gemessen werden, weshalb ebenfalls EI-MS Daten erhoben wurden.



**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 4.26 (dddd,  $^3J = ^3J = 4.0$  Hz,  $^3J = ^3J = 2.1$  Hz, 1H, H-2), 4.16 (q,  $^3J = 7.2$  Hz, 2H, H-6), 3.73 (dd,  $^3J = 9.6$  Hz, 3.6 Hz, 1H, H-4), 2.96 (ddd,  $^2J = 11.4$  Hz,  $^3J = ^4J = 1.9$  Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 2.89 (s, 1H, -NH), 2.84 (dd,  $^2J = 11.7$  Hz,  $^3J = 3.9$  Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.83 (dd,  $^2J = 11.4$  Hz,  $^3J = 3.8$  Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.18 (ddd,  $^2J = 13.4$  Hz,  $^3J = 9.6$  Hz, 4.7 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 1.98 (dddd,  $^2J = 13.4$  Hz,  $^3J = 3.7$  Hz,  $^3J = ^4J = 2.1$  Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.26 (t,  $^3J = 7.2$  Hz, 3H, H-7), 0.83 (s, 9H, H-10), 0.02 (d,  $^3J_{\text{H,Si}} = 2.8$  Hz, 6H, H-8) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 174.8 (C-5), 72.2 (C-2), 61.2 (C-6), 59.0 (C-4), 56.1 (C-1), 40.0 (C-3), 25.8 (C-10), 18.0 (C-9), 14.3 (C-7), -4.8 (d,  $^2J_{\text{C,Si}} = 10.1$  Hz, C-8) ppm.

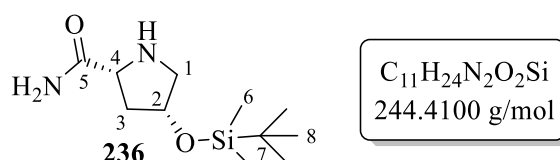
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3674 (w), 2956 (s), 2929 (s), 2901 (s), 2858 (m), 1736 (s), 1472 (m), 1472 (m), 1464 (m), 1440 (m), 1407 (m), 1392 (m), 1364 (m), 1325 (m), 1253 (s), 1204 (s), 1063 (vs), 1029 (s), 1013 (m), 939 (w), 907 (m), 834 (vs), 805 (m), 773 (s), 681 (w), 644 (w), 435 (s).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 274.1838$ , gefunden = 274.1890.

$[\alpha]_{\text{D}}^{19} = +8.0^\circ$  (c 0.25, MeOH).

Das (2*S*,4*R*)-Diastereomer der Verbindung **235** ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[250]</sup>

### Synthese von (2*R*,4*R*)-4-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)pyrrolidin-2-carboxamid (**236**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 11**.

Ansatzgröße: Ethylester **235** (38 mg, 0.14 mmol, 1.0 eq.),  $\text{NH}_3$ -Lsg. (0.76 mL, 7 M in MeOH, 5.0 mmol, 36 eq.), 5 Tage bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5%MeOH). Das Produkt **236** (16 mg, 66  $\mu\text{mol}$ , **47%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.12 (DCM+5% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.45 (s, 1H, -NH<sub>2a</sub>), 5.51 (s, 1H, -NH<sub>2b</sub>), 4.30 (dddd, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, 1H, H-2), 3.74 (dd, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 4.9 Hz, 1H, H-4), 3.09 (dd, <sup>2</sup>J = 10.7 Hz, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 2.87 (dd, <sup>2</sup>J = 10.9 Hz, <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.27 (ddd, <sup>2</sup>J = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 5.2 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 2.17 (s, 1H, -NH), 1.99 (ddd, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J = <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>), 0.85 (s, 9H, H-8), 0.04 (s, 6H, H-6) ppm.

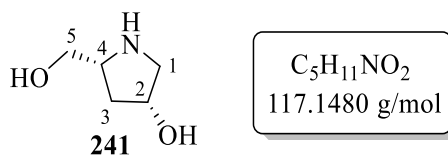
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 178.4 (C-5), 72.8 (C-2), 59.4 (C-4), 55.3 (C-1), 39.7 (C-3), 25.8 (C-8), 18.1 (C-7), -4.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>C,Si</sub> = 6.4 Hz, C-6) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3675 (w), 3351 (w), 2956 (m), 2929 (m), 2901 (m), 1677 (s), 1408 (m), 1394 (m), 1253 (m), 1203 (m), 1077 (vs), 995 (s), 901 (s), 835 (s), 801 (m), 776 (m), 722 (w), 612 (vs), 402 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 267.1499, gefunden = 267.1506.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>19</sup>** = +9.3° (c 0.15, MeOH).

#### Synthese von (3*R*,5*R*)-5-(Hydroxymethyl)pyrrolidin-3-ol (**241**)



LiAlH<sub>4</sub> (1.91 g, 50.3 mmol, 4.0 eq.) wurde auf 0 °C gekühlt und langsam mit abs. THF (80 mL) versetzt. Nach 5 Minuten erfolgte die portionsweise Zugabe des Ethylesters **228** (2.00 g, 12.6 mmol, 1.0 eq.). Die Kühlung wurde nach 10 Minuten entfernt und die Suspension wurde für 4 Stunden bei 60 °C gerührt. Unter Kühlung wurde die Reaktion vorsichtig durch die Zugabe von H<sub>2</sub>O (30 mL) beendet. Der Rückstand wurde 2x über Celite filtriert, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Nach ausgiebigem Trocknen wurde ein hellgelber, cremiger Rückstand (1.30 g) erhalten, der nicht weiter gereinigt werden konnte. Die Reinheit wurde über <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie mit Ethylencarbonat als internem Standard ermittelt und betrug **42%**.<sup>[251]</sup> Das Rohprodukt **241** (546 mg) konnte frei von anderen organischen Molekülen gewonnen werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.13 (MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 4.09 (dddd, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 9.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 4.2 Hz, 1H, H-2), 3.40-3.38 (m, 4H, H-5, -NH, -OH<sub>sec</sub>), 3.15 (br.s, 1H, -OH<sub>prim</sub>), 2.96 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, 6.7 Hz, 5.7 Hz, 1H, H-4), 2.71 (dd, <sup>2</sup>*J* = 10.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.3 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 2.60 (dd, <sup>2</sup>*J* = 10.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.4 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 1.90 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8.1 Hz, 6.8 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 1.26 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6.8 Hz, 4.3 Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 71.2 (C-2), 64.5 (C-5), 59.2 (C-4), 54.9 (C-1), 37.9 (C-3) ppm.

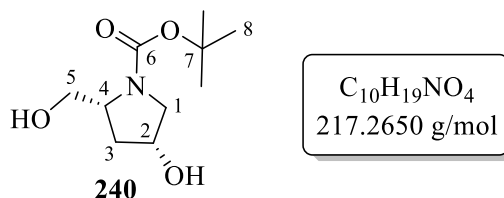
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3254 (m), 2931 (w), 1573 (s), 1417 (s), 1237 (w), 1021 (s), 874 (w), 817 (w), 663 (w), 619 (w), 398 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 118.0863, gefunden = 118.0867.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +7.2^{\circ}$  (*c* 1.0, MeOH).

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[252]</sup>

**Synthese von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-carboxylat (**240**)**



Von Verbindung **240** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:1 vor.

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von GU *et al.*<sup>[141]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurde das Diol **241** (196 mg, 1.67 mmol, 1 eq.)<sup>(1)</sup> in THF:H<sub>2</sub>O (2:1, 7.5 mL) gelöst und mit festem NaOH (184 mg, 4.60 mmol, 2.8 eq.) versetzt. Es erfolgte die Zugabe von Boc<sub>2</sub>O (1.19 mL, 1.13 g, 5.18 mmol, 3.1 eq.) und das Reaktionsgemisch wurde für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Für die Aufarbeitung des Produktes wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der pH-Wert der wässrigen Phase mit HCl (37%ig) auf pH = 2 eingestellt. Die wässrige Phase wurde mit EE (5x je 20 mL) extrahiert, die vereinte organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:EE 3:1) gereinigt. Es erfolgte eine zweite säulenchromatographische Reinigung einer Mischfraktion an Kieselgel (DCM+3% MeOH), sodass das Produkt **240** (44 mg, 0.20 mmol, **12%**)

<sup>(1)</sup> Die Reinheit von Diol **241** konnte nur durch einen internen Standard bestimmt werden (42%). Die eingesetzte Einwaage bezieht sich hierbei auf die Annahme, dass lediglich eine Reinheit von 42% des Eduktes vorlag und wurde dementsprechend mathematisch korrigiert. Tatsächlich Einwaage: 467 mg.

als farbloser Feststoff erhalten werden konnte. Des Weiteren konnte die doppelt geschützte Verbindung **242** (21 mg, 66  $\mu\text{mol}$ , **4%**) als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.26 (EE).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 5.10 (br.s, 1H, -OH<sub>sec</sub>), 4.88 (t, <sup>3</sup>*J* = 5.3 Hz, 1H, -OH<sub>prim</sub>), 4.15 (br.s, 1H, H-2), 3.73 und 3.68 (br.s, 1H, H-4), 3.57-3.52 (m, 2H, H-5), 3.43-3.39 (m, 1H, H-1<sub>a</sub>), 3.09-3.03 (m, 1H, H-1<sub>b</sub>), 2.11-1.99 (m, 1H, H-3<sub>a</sub>), 1.86-1.78 (m, 1H, H-3<sub>b</sub>) 1.39 (s, 9H, H-8) ppm.<sup>(1)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 156.9 und 156.5 (C-6), 81.2 und 81.0 (C-7), 70.8 und 70.1 (C-2), 64.3 und 64.1 (C-5), 59.7 und 59.6 (C-4), 57.1 und 56.7 (C-1), 38.1 und 37.5 (C-3), 28.7 (C-8) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3237 (s), 2976 (s), 2896 (m), 1980 (w), 1682 (vs), 1476 (w), 1388 (vs), 1287 (m), 1165 (s), 1122 (s), 1036 (s), 916 (m), 868 (m), 820 (m), 737 (w), 568 (m), 425 (w).

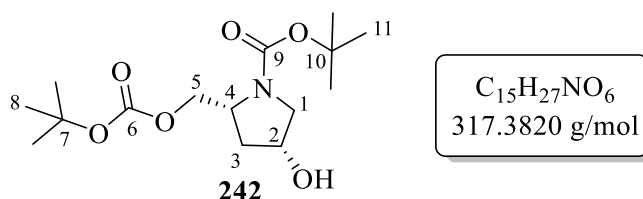
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 240.1206, gefunden = 240.1206.

**Schmelzbereich:** 85.0-86.9 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +40.0^\circ$  (*c* 0.50, MeOH).

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[245]</sup>

**Analytik von *tert*-Butyl-(2*R*,4*R*)-2-(((*tert*-butoxycarbonyl)oxy)methyl)-4-hydroxypyrrolidin-1-carboxylat (**242**)**



Von Verbindung **242** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:1 vor.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.48 (DCM+3% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 4.35 (dddd, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 5.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = <sup>3</sup>*J* = 3.0 Hz, 1H, H-2), 4.29 (br.s, 1H, H-5<sub>a</sub>), 4.18 (dd, <sup>2</sup>*J* = 10.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, 1H, H-5<sub>b</sub>), 4.02 (br.s, 1H, H-4), 3.58 (dd, <sup>2</sup>*J* = 11.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.2 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>), 3.22 (d, <sup>2</sup>*J* = 11.6 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>), 2.16 (br.s, 1H, H-3<sub>a</sub>), 1.94 und 1.92 (br.s, 1H, H-3<sub>b</sub>) 1.48 (s, 9H, H-8), 1.46 (s, 9H, H-11) ppm.

<sup>(1)</sup> Wegen zu starker Überlappung der Rotamersignale und Signalen höherer Ordnung konnten nur wenige Multiplizitäten bestimmt werden.

$^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$  = 156.4 (C-6), 154.9 (C-9), 82.8 (C-7, C-9), 71.1 und 70.3 (C-2), 68.8 und 68.2 (C-5), 56.9 und 56.6 (C-4), 56.1 und 55.7 (C-1), 37.5 und 37.0 (C-3), 28.7 (C-8), 28.0 (C-11) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3376 (m), 2974 (m), 2444 (w), 2092 (w), 1737 (vs), 1663 (vs), 1416 (w), 1390 (s), 1270 (s), 1253 (s), 1131 (s), 1036 (w), 913 (m), 790 (m), 583 (w), 404 (w).

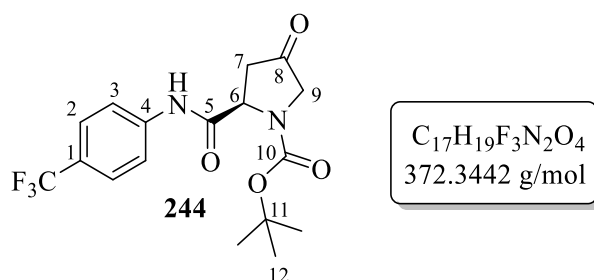
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 340.1731, gefunden = 340.1730;

m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{K}]^+$  = 356.1470, gefunden = 356.1459.

**Schmelzbereich:** 109.2-111.1 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22}$  = +31.5° ( $c$  0.30, MeOH).

**Synthese von *tert*-Butyl-(*R*)-4-oxo-2-((4-(trifluormethyl)phenyl)carbamoyl)pyrrolidin-1-carboxylat (**244**)**



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von C. HUANG und H. C. XU.<sup>[200]</sup>

DMAP (8 mg, 0.06 mmol, 0.1 eq.), DCC (164 mg, 795  $\mu\text{mol}$ , 1.3 eq.) und 4-(Trifluormethyl)anilin (80  $\mu\text{L}$ , 0.10 g, 0.62 mmol, 1.0 eq.) wurden vorgelegt. Es erfolgte die Zugabe von abs. THF (1.2 mL) und die Reaktionslösung wurde auf 0 °C gekühlt. Nach 5 Minuten bei 0 °C erfolgte die portionsweise Zugabe von Pyrrolidon **83** (144 mg, 628  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) und es wurde für weitere 5 Minuten bei 0 °C gerührt. Im Anschluss wurde die Kühlung entfernt und für 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandene Suspension wurde zur Aufarbeitung filtriert und das Lösungsmittel des Filtrats wurde unter vermindertem Druck entfernt. Durch eine säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 5:1  $\rightarrow$  2:1) konnte das Produkt **244** (92 mg, 0.25 mmol, **40%**) als hellgelber Feststoff erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.09 (PE:EE 5:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 9.52 (s, 1H, -NH), 7.57 (d, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, H-3), 7.50 (d, <sup>3</sup>J = 8.6 Hz, 2H, H-2), 5.01 (d, <sup>3</sup>J = 9.9 Hz, 1H, H-6), 3.96 (d, <sup>2</sup>J = 18.8 Hz, 1H, H-9<sub>a</sub>), 3.78 (d, <sup>2</sup>J = 18.8 Hz, 1H, H-9<sub>b</sub>), 3.15 (d, <sup>2</sup>J = 18.9 Hz 1H, H-7<sub>a</sub>), 2.75 (dd, <sup>2</sup>J = 18.2 Hz, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H-7<sub>b</sub>), 1.52 (s, 9H, H-12) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 208.1 (C-8), 169.0 (C-5), 156.0 (C-10), 141.0 (C-4), 126.4 (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 4.2 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 122.8 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 271.5 Hz, CF<sub>3</sub>)<sup>(1)</sup>, 119.4 (C-3), 82.8 (C-11), 57.3 (C-6), 52.7 (C-9), 38.7 (C-7), 28.5 (C-12) ppm.<sup>(2)</sup>

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -62.23 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3291 (w), 2980 (w), 1766 (m), 1666 (s), 1607 (m) 1543 (m), 1408 (s), 1321 (s), 1254 (m), 1152 (s), 1109 (vs), 1065 (s), 1015 (m), 905 (w), 841 (m), 732 (m), 660 (w), 559 (w), 464 (w), 380 (w).

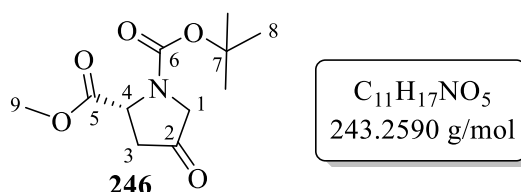
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 395.1189, gefunden = 395.1206;

m/z berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 411.0929, gefunden = 411.0911.

**Schmelzbereich:** 172.9-174.8 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{21}$  = -0.65° (c 0.62, CHCl<sub>3</sub>).

### Synthese von 1-(*tert*-Butyl)-2-methyl-(*R*)-4-oxopyrrolidin-1,2-dicarboxylat (**246**)



Von Verbindung **246** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:1 vor.

**Variante 1:** Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von C. DOMINGUEZ *et al.*<sup>[243]</sup>

Pyrrolidon **83** (1.00 g, 4.37 mmol, 1.0 eq.) wurde in abs. DCM:MeOH (10:3, 13 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Portionsweise erfolgte die Zugabe von Trimethylsilyldiazomethan (10.9 mL, 0.6 M in *n*-Hexan, 6.54 mmol, 1.5 eq.). Die Reaktion wurde für 30 Minuten bei 0 °C gerührt und anschließend für 25 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von AcOH (2 mL) wurde die Reaktion beendet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und es erfolgte eine säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 7:1). Der Methylester **246** (652 mg, 2.68 mmol, **61%**) konnte als farbloses Öl erhalten werden.

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter. <sup>(2)</sup> Das Signal für C-1 ist nicht sichtbar.

Variante 2: Die Synthese erfolgte nach der Allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 2**.

Ansatzgröße: Methylester **229** (100 mg, 408  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.), TCC (73 mg, 0.31 mmol, 0.76 eq.), EE (4 mL), 0 °C, TEMPO (3 mg, 20  $\mu\text{mol}$ , 5 mol%); 40 Minuten bei 0 °C, dann 1.5 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 6:1). Das Oxidationsprodukt **246** (86 mg, 0.35 mmol, **85%**) wurde als farbloses Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.22 (PE:EE 6:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 4.80 und 4.70 (d, <sup>3</sup>J = 10.5 Hz, 1H, H-4), 3.90 (br.s, 1H, H-1<sub>a</sub>), 3.87 (br.s, 1H, H-1<sub>b</sub>), 3.75 (s, 3H, H-9), 2.95 und 2.91 (dd, <sup>2</sup>J = 19.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.7 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 2.59 und 2.56 (br.s, 1H, H-3<sub>b</sub>), 1.47 und 1.45 (s, 9H, H-8) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 208.6 und 207.8 (C-2), 172.4 (C-5), 154.4 und 153.7 (C-6), 81.5 (C-7), 56.4 und 55.7 (C-4), 53.0 und 52.8 (C-9), 52.64 und 52.57 (C-1), 41.3 und 40.9 (C-3), 28.4 und 28.3 (C-8) ppm.

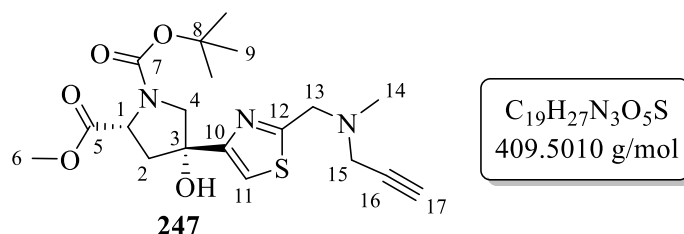
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2977 (w), 1764 (s), 1747 (s), 1698 (vs), 1478 (w), 1436 (w), 1390 (s), 1366 (s), 1254 (w), 1177 (w), 1147 (vs), 1114 (s), 1029 (m), 982 (w), 894 (w), 819 (m), 770 (w), 641 (w), 561 (w), 465 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 266.0999, gefunden = 266.0994.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>18</sup>** = -6.4° (c 0.69, CHCl<sub>3</sub>).

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[253]</sup>

**Synthese von 1-(tert-Butyl)-2-methyl-(2R,4R)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)-amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-1,2-dicarboxylat (247)**



Von Verbindung **247** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (50 mg, 0.17 mmol, 1.0 eq.), abs. THF (2 mL), -78 °C,  $i$ PrMgCl·LiCl (158  $\mu$ L, 1.3 M in THF, 4.60 mmol, 3.1 eq.), 30 Minuten bei -78 °C, dann Pyrrolidon **246** (42 mg, 0.17 mmol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (1 mL) zugefügt; 10 Minuten weiter bei -78 °C, dann 2 Tage bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1). Das Produkt **247** (7 mg, 17  $\mu$ mol, **10%**) wurde als gelbes Öl erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.22 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.35 und 7.33\* (s, 1H, H-11), 4.52 und 4.43\* (dd, <sup>3</sup>J = 9.9 Hz, 1.4 Hz, 1H, H-1), 3.97-3.89 (m, 3H, H-4<sub>a</sub>, H-13), 3.82 und 3.80\* (s, 3H, H-6), 3.75 (dd, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.8 Hz, 1H, H-4<sub>b</sub>)<sup>(1)</sup>, 3.46 und 3.44\* (d, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 2H, H-15), 2.95\* und 2.92 (dd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, H-2<sub>a</sub>), 2.43 und 2.42\* (s, 3H, H-14), 2.28 und 2.27\* (t, <sup>4</sup>J = 2.5 Hz 1H, H-17), 2.19\* und 2.15 (ddd, <sup>3</sup>J = 13.9 Hz, <sup>3</sup>J = <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H-2<sub>b</sub>), 1.45 und 1.43\* (s, 9H, H-9) ppm.<sup>(2)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 176.6 und 175.7\* (C-5), 170.0 (C-10)<sup>(3)</sup>, 156.7\* und 156.6 (C-12), 154.6\* und 153.6 (C-7), 115.5 und 115.4\* (C-11), 80.7 und 80.6\* (C-8), 80.0 und 79.0\* (C-3), 78.1 (C-16), 73.9 (C-17), 60.3 und 59.6\* (C-4), 58.7\* und 58.5 (C-1), 57.2 und 57.1\* (C-13), 53.1 und 52.8\* (C-6), 45.91 und 45.86\* (C-15), 43.6\* und 42.7 (C-2), 42.04 und 42.0\* (C-14), 28.5 und 28.4\* (C-9) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3149 (w), 3283 (w), 2951 (m), 2797 (w), 1753 (w), 1693 (s), 1476 (w), 1393 (vs), 1308 (w), 1206 (m), 1167 (s), 1128 (s), 1095 (s), 1028 (m), 950 (w), 853 (w), 766 (m), 663 (m), 591 (w), 459 (w).

**MS (ESI<sup>+</sup>):** m/z = berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 410.1744, gefunden = 410.1757;

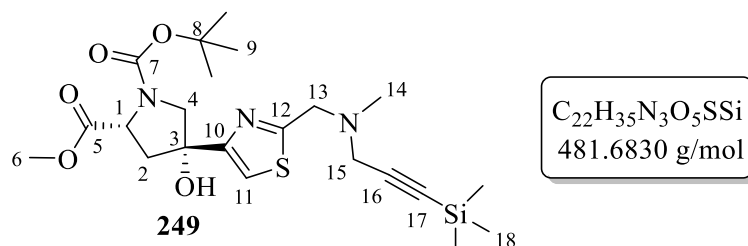
berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 432.1564, gefunden = 432.1580.

**$[\alpha]_{\text{D}}^{24}$**  = +8.7° (c 0.37, CHCl<sub>3</sub>).

<sup>(1)</sup> Das andere Rotamersignal liegt unter dem Signal von H-6. <sup>(2)</sup> Das Signal für -OH ist nicht sichtbar. <sup>(3)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen.



**Synthese von 1-(*tert*-Butyl)-2-methyl-(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(3-(trimethylsilyl)prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-1,2-dicarboxylat (**249**)**



Von Verbindung **249** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.8\* vor.

Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **107** (472 mg, 1.30 mmol, 1.0 eq.), abs. THF (3 mL), -78 °C, <sup>i</sup>PrMgCl·LiCl (1.27 mL, 1.3 M in THF, 1.65 mmol, 1.3 eq.), 30 Minuten bei -78 °C, dann Pyrrolidon **246** (324 mg, 1.33 mmol, 1.0 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL), 30 Minuten bei -78 °C, dann 4 Tage bei Raumtemperatur; erste säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 3:2), zweite säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+2% MeOH). Das Produkt **249** (133 mg, 276 μmol, **21%**) wurde als gelbes Harz erhalten. Zudem konnte das dehalogenierte Thiazol **109** (169 mg, 709 μmol, **55%**) als gelbliches Öl isoliert werden (Analytik siehe S.167).

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.40 (DCM+2% MeOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.35 und 7.33\* (s, 1H, H-11), 4.52 und 4.44\* (dd, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1.7 Hz, 1H, H-1), 3.95\* und 3.92 (d, <sup>2</sup>J = 11.6 Hz, 1H, H-4<sub>a</sub>), 3.88 (br.s, 2H, H-13), 3.83 und 3.81\* (s, 3H, H-6), 3.76 (dd, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H-4<sub>b</sub>)<sup>(1)</sup>, 3.47 und 3.46\* (s, 2H, H-15), 2.96\* und 2.92 (dd, <sup>2</sup>J = 14.4 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H-2<sub>a</sub>), 2.42 und 2.41\* (s, 3H, H-14), 2.20\* und 2.15 (ddd, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, <sup>3</sup>J = <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H-2<sub>b</sub>), 1.45 und 1.43\* (s, 9H, H-9), 0.18 (s, 9H, H-18) ppm.<sup>(2)</sup>

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 176.1 und 175.7\* (C-5), 171.0 (C-10)<sup>(3)</sup>, 156.8\* und 156.6 (C-12), 154.6 (C-7), 115.5 und 115.4\* (C-11), 99.9 (C-16)<sup>(3)</sup>, 90.7 (C-17)<sup>(3)</sup>, 80.7 und 80.6\* (C-8), 80.0 und 79.0\* (C-3), 60.3 und 59.6\* (C-4), 58.7\* und 58.5 (C-1), 57.3 und 57.2\* (C-13), 53.1 und 52.8\* (C-6), 47.1 (C-15), 43.6\* und 42.7 (C-2), 42.1 und 42.0\* (C-14), 28.5 und 28.4 (C-9), 0.20 (C-18) ppm.

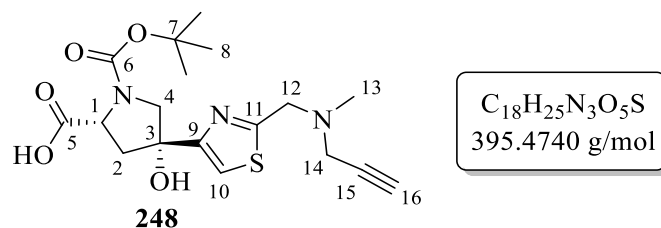
<sup>(1)</sup> Das andere Rotamersignal liegt unter dem Signal von H-6. <sup>(2)</sup> Das Signal für -OH ist nicht sichtbar. <sup>(3)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3435 (w), 2955 (m), 2796 (w), 2163 (w), 1731 (w), 1699 (s), 1523 (w), 1477 (w), 1392 (s), 1249 (m), 1170 (s), 1128 (s), 1096 (s), 981 (m), 892 (w), 840 (vs), 759 (s), 641 (w), 588 (w), 461 (w).

**MS (ESI<sup>+</sup>):** m/z = berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 504.1959, gefunden = 504.1995.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +16.7^\circ$  (c 0.40, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von (2R,4R)-1-(tert-butoxycarbonyl)-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)-amino)methyl)thiazol-4-yl)pyrrolidin-2-carbonsäure (248)**



Von Verbindung **248** liegen zwei Rotamere im Verhältnis 1:0.7\* vor.

Verbindung **249** (113 mg, 235  $\mu$ mol, 1.0 eq.) wurde unter Normalatmosphäre in MeOH:H<sub>2</sub>O 3:1 (4 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es erfolgte die portionsweise Zugabe von NaOH (48 mg, 1.2 mmol, 5.1 eq.). Die Kühlung wurde nach 2 Stunden entfernt und die Reaktionslösung wurde für eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in H<sub>2</sub>O (2 mL) aufgenommen und der pH-Wert wurde mit HCl (37% ig) auf pH = 2 eingestellt. Anschließend wurde die wässrige Phase mit DCM (3x je 10 mL) und EE (3x je 10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (EE+5% MeOH+1% AcOH) konnte das Produkt **248** (26 mg, 66  $\mu$ mol, **28%**) als farbloser Feststoff erhalten werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.29 (EE+5% MeOH+1% AcOH).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.38 und 7.35\* (s, 1H, H-10), 7.14 (br.s, 1H, -OH), 4.48 und 4.45\* (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 1H, H-1), 3.92 (s, 2H, H-12), 3.88-3.79 (m, 1H, H-4<sub>a</sub>), 3.67 (d, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz, 1H, H-4<sub>b</sub>), 3.47 (br.s, 2H, H-14), 2.88\* und 2.82 (dd, <sup>2</sup>J = 13.2 Hz, <sup>3</sup>J = 9.1 Hz, 1H, H-2<sub>a</sub>), 2.44 (br.s, 3H, H-13), 2.38 und 2.35\* (br.s, 1H, H-2<sub>b</sub>), 2.30 (br.s, 1H, H-16), 1.42 (br.s, 9H, H-8) ppm.<sup>(1)(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Das Signal für -COOH ist nicht sichtbar. <sup>(2)</sup> Wegen zu starker Überlappung der Rotamersignale und Signalen höherer Ordnung konnten nur wenige Multiplizitäten bestimmt werden.

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 177.4$  und  $177.3^*$  (C-5),  $169.3$  (C-9),  $157.5$  (C-11),  $154.9$  (C-6),  $116.0$  und  $115.9^*$  (C-10),  $81.1$  (C-7),  $79.7$  und  $78.9^*$  (C-3),  $77.2$  (C-15)<sup>(1)</sup>,  $74.3$  (C-16),  $60.1$  und  $59.7^*$  (C-1),  $59.1$  (C-4),  $56.8$  und  $56.6^*$  (C-12),  $45.7$  und  $45.6^*$  (C-14),  $42.3$  (C-2),  $41.8$  (C-13),  $28.5$  (C-9) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] =  $3292$  (w),  $2977$  (m),  $2883$  (w),  $2796$  (w),  $1683$  (vs),  $1541$  (w),  $1415$  (vs),  $1365$  (m),  $1307$  (w),  $1265$  (m),  $1175$  (s),  $1141$  (s),  $1095$  (s),  $1020$  (w),  $951$  (m),  $909$  (w),  $883$  (w),  $804$  (m),  $769$  (m),  $634$  (s),  $448$  (w).

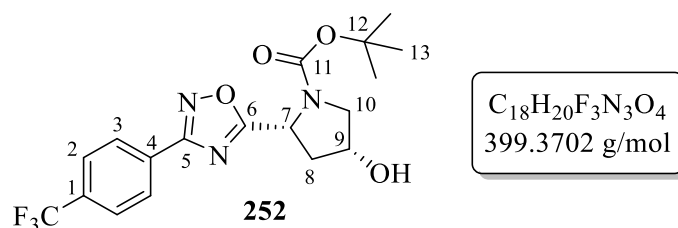
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 418.1407$ , gefunden =  $418.1476$ .

**Schmelzbereich:**  $208.9\text{-}210.8$  °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +189.5^\circ$  ( $c$  0.37, MeOH).

### 5.5.5 Synthesen zu den Fragmenten 1 und 2

**Synthese von *tert*-butyl-(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-2-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-1-carboxylat (252)**



Von Verbindung **252** liegen zwei Rotamere im Verhältnis  $1:0.6^*$  vor.

Die Synthese erfolgte nach **AAV 3**.

Ansatzgröße: Abs. DCM (10 mL) auf  $-25$  °C vorgelegt; Pyrrolidon-Derivat **85** (450 mg, 1.95 mmol, 1 eq.), DCC (427 mg, 2.07 mmol, 1.1 eq.), DMAP (26 mg, 0.21 mmol, 0.1 eq.) und Amidoxim **82** (422 mg, 2.07 mmol, 1.1 eq.); 5 Minuten bei  $-25$  °C, dann 55 Minuten bei Raumtemperatur; getrocknetes Filtrat in Pyridin (15 mL) bei  $115$  °C für 30 Minuten; erste säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 1:1), zweite säulenchromatographische Reinigung der Produktmischfraktion an Kieselgel (DCM+1% MeOH). Das Produkt **252** (127 mg, 0.318 mmol, **16%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.33 (DCM+1% MeOH).

<sup>(1)</sup>Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC entnommen.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 8.17 (d, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H-3), 7.75 und 7.73\* (d, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 2H, H-2), 5.27\* und 5.16 (d, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H-7), 4.55-4.53 (m, 1H, H-9), 4.00 (br.s, 1H, -OH), 3.85-3.68 (m, 2H, H-10<sub>a</sub>, H-10<sub>b</sub>), 2.61 und 2.57\* (ddd, <sup>2</sup>J = 14.4 Hz, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, <sup>4</sup>J = 4.9 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.35 und 2.32\* (d, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>), 1.46\* und 1.34 (s, 9H, H-13) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 182.3 und 182.1\* (C-6), 167.3\* und 167.2 (C-5), 153.4 (C-11), 133.3 (C-4), 129.5 (C-1), 128.0 (C-3), 126.1 und 126.0\* (q, <sup>3</sup>J<sub>C,F</sub> = 3.5 Hz, C-2)<sup>(1)</sup>, 122.6 (CF<sub>3</sub>)<sup>(2)</sup>, 81.4 und 81.2\* (C-12), 71.7\* und 70.7 (C-9), 56.5\* und 56.0 (C-10), 52.5 und 52.4\* (C-7), 39.8 und 39.1\* (C-8), 28.5\* und 28.3 (C-13) ppm.

**<sup>19</sup>F-NMR** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -63.03\* und -63.07 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3449 (m), 2984 (w), 2919 (w), 1692 (s), 1672 (s), 1560 (w), 1475 (w), 1416 (vs), 1326 (vs), 1234 (w), 1159 (s), 1115 (s), 1062 (s), 967 (m), 883 (w), 849 (s), 791 (m), 656 (w), 595 (m), 506 (m), 383 (w).

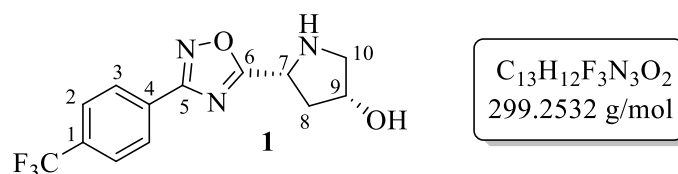
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 422.1298, gefunden = 422.1300;

m/z berechnet für [M+K]<sup>+</sup> = 438.1037, gefunden = 438.1038.

**Schmelzbereich:** 134.5-136.4 °C.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>** = +60.9° (c 1.06, CHCl<sub>3</sub>).

**Synthese von (3*R*,5*R*)-5-(3-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)pyrrolidin-3-ol (1)**



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: Verbindung **252** (50 mg, 0.13 mmol, 1.0 eq.) in DCM (7 mL); 0 °C, dann tropfenweise Zugabe TFA (0.70 mL, 1.0 g, 9.1 mmol, 70 eq.) 10 Minuten bei 0 °C, dann 3 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (DCM+5% MeOH). Das Fragment **1** (25 mg, 84  $\mu$ mol, **65%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.45 (DCM+5% MeOH).

<sup>(1)</sup> Die äußeren Signallinien gehen im Rauschen unter. <sup>(2)</sup> Die chemische Verschiebung wurde aus dem HMBC-Spektrum entnommen.

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 8.18 (d,  $^3J$  = 7.9 Hz, 2H, H-3), 7.72 (d,  $^3J$  = 8.3 Hz, 2H, H-2), 4.62 (dd,  $^3J$  = 9.3 Hz, 3.6 Hz, 1H, H-7), 4.55-4.52 (dddd,  $^3J$  =  $^3J$  = 5.7 Hz,  $^3J$  =  $^3J$  = 1.7 Hz, 1H, H-9), 3.42 (br.s, 2H, -OH, -NH), 3.24-3.20 (m, 2H, H-10<sub>a</sub>, H-10<sub>b</sub>), 2.54 (ddd,  $^2J$  = 14.2 Hz,  $^3J$  = 9.3 Hz, 5.8 Hz, 1H, H-8<sub>a</sub>), 2.28 (dddd,  $^2J$  = 14.2 Hz,  $^3J$  = 3.2 Hz,  $^3J$  =  $^4J$  = 1.5 Hz, 1H, H-8<sub>b</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 182.4 (C-6), 167.2 (C-5), 133.3 (q,  $^2J_{\text{C,F}}$  = 32.2 Hz, C-1), 129.9 (C-4), 128.0 (C-3), 126.0 (q,  $^3J_{\text{C,F}}$  = 3.9 Hz, C-2), 122.9 (q,  $^1J_{\text{C,F}}$  = 272.4 Hz,  $\text{CF}_3$ ), 72.1 (C-9), 56.0 (C-10), 53.1 (C-7), 40.4 (C-8) ppm.

**$^{19}\text{F-NMR}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = -63.03 ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3286 (w), 3156 (m), 2949 (w), 1624 (w), 1592 (w), 1485 (w), 1437 (m), 1322 (vs), 1275 (w), 1210 (w), 1141 (m), 1116 (s), 1062 (vs), 1015 (m), 934 (w), 880 (s), 790 (m), 698 (m), 595 (m), 510 (w), 492 (s), 393 (w).

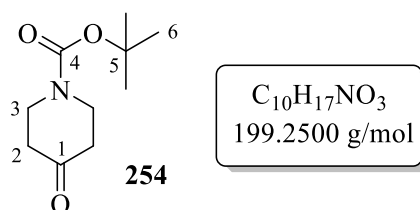
**MS (EI)<sup>(1)</sup>:**  $m/z$  (%) = 280 (2)  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 241 (5)  $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}]^+$ , 205 (4)  $[\text{M}-\text{C}_3\text{HF}_3]^+$ , 185 (1)  $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NO}_2]^+$ , 155 (7)  $[\text{M}-\text{C}_7\text{H}_5\text{F}_3]^+$ , 113 (13)  $[\text{M}-\text{C}_8\text{H}_5\text{F}_3\text{NO}]^+$ , 85 (9)  $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_5\text{F}_3\text{N}_2\text{O}]^+$ , 43 (100)  $[\text{M}-\text{C}_{11}\text{H}_8\text{F}_3\text{N}_3\text{O}]^+$ .

**HRMS (ESI<sup>+</sup>)<sup>(1)</sup>:**  $m/z$  berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 300.0954$ , gefunden = 300.0849.

**Schmelzbereich:** 88.5-90.4 °C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +6.5^\circ$  ( $c$  1.19,  $\text{CHCl}_3$ ).

### Synthese von *tert*-Butyl 4-oxopiperidin-1-carboxylat (254)



Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von G. DE NANTEUIL *et al.*<sup>[201]</sup>

Unter Normalatmosphäre wurde  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1.25 g, 11.8 mmol, 2.5 eq.) in  $\text{H}_2\text{O}$  (12 mL) gelöst. Parallel wurde 4-Piperidonhydrochloridmonohydrat (1.00 g, 6.51 mmol, 1.4 eq.) in THF suspendiert (12 mL). Es erfolgte die langsame Zugabe der  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lsg. zur THF-Suspension, wobei sich der Niederschlag löste. Anschließend erfolgte die Zugabe von  $\text{Boc}_2\text{O}$  (1.00 mL, 1.02 g, 4.67 mmol, 1.0 eq.) und die Reaktion wurde für 22 Stunden bei Raumtemperatur

<sup>(1)</sup> Die HRMS (ESI<sup>+</sup>) Daten konnten trotz mehrfacher Messungen nur mit größeren Abweichungen gemessen werden, weshalb ebenfalls EI-MS Daten erhoben wurden.

gerührt. Das Lösungsmittelgemisch wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufarbeitung direkt säulenchromatographisch an Kieselgel (PE:Et<sub>2</sub>O 2:1) gereinigt. Produkt **254** (930 mg, 4.67 mmol, **72%**) konnte als farbloser Feststoff isoliert werden.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.22 (PE:Et<sub>2</sub>O 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 3.60 (t, <sup>3</sup>*J* = 6.3 Hz, 4H, H-3), 2.34 (t, <sup>3</sup>*J* = 6.3 Hz, 4H, H-2), 1.43 (s, 9H, H-6) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 207.4 (C-1), 153.8 (C-4), 79.17 (C-5), 42.1 (C-3), 40.3 (C-2), 28.0 (C-6) ppm.

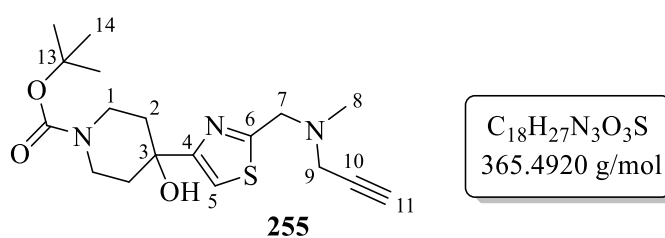
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2999 (m), 2930 (w), 1710 (s), 1679 (s), 1532 (m), 1451 (s), 1378 (s), 1314 (s), 1275 (m), 1236 (vs), 1122 (vs), 1061 (vs), 1021 (w), 986 (s), 946 (w), 831 (m), 765 (s), 757 (s), 694 (m), 557 (m), 499 (w), 434 (m).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 222.1101, gefunden = 222.1101.

**Schmelzbereich:** 70.0-71.6 °C.

Die Verbindung ist literaturbekannt und analytische Daten sind bereits veröffentlicht.<sup>[254]</sup>

### Synthese von *tert*-Butyl-4-hydroxy-4-(2-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)piperidin-1-carboxylat (**255**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6**.

Ansatzgröße: Iodthiazol **84** (200 mg, 685  $\mu$ mol, 1.0 eq.), abs. THF (2 mL), -78 °C, <sup>t</sup>PrMgCl·LiCl (690  $\mu$ L, 1.2 M in THF, 828  $\mu$ mol, 1.2 eq.), 20 Minuten bei -78 °C, dann Piperidon **254** (151 mg, 758  $\mu$ mol, 1.1 eq.) gelöst in abs. THF (3 mL) zugefügt; 1.5 Stunden weiter bei -78 °C, dann 26.5 Stunden bei Raumtemperatur; säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (PE:EE 2:1  $\rightarrow$  1:1). Das Produkt **255** (133 mg, 315  $\mu$ mol, **53%**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.28 (PE:EE 2:1).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 7.37 (s, 1H, H-5), 5.21 (s, 1H, -OH), 3.82 (s, 2H, H-7), 3.76-3.74 (m, 2H, H-1<sub>a</sub>), 3.40 (d, <sup>4</sup>*J* = 2.3 Hz, 2H, H-9), 3.22 (t, <sup>4</sup>*J* = 2.31 Hz, 1H, H-11), 3.13 (br.s, 2H, H-1<sub>b</sub>), 2.29 (s, 3H, H-8), 1.93 (dt, <sup>3</sup>*J* = 13.1 Hz, 4.9 Hz, 2H, H-2<sub>a</sub>), 1.63-1.60 (m, 2H, H-2<sub>b</sub>), 1.40 (s, 9H, H-14) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  = 169.3 (C-6), 163.6 (C-4), 153.9 (C-12), 113.6 (C-5), 78.4 (C-13, C-11)<sup>(1)</sup>, 76.2 (C-10), 69.4 (C-3), 56.7 (C-7), 45.0 (C-9), 41.3 (C-8), 39.7 (C-1), 36.6 (C-2) 28.1 (C-14) ppm.

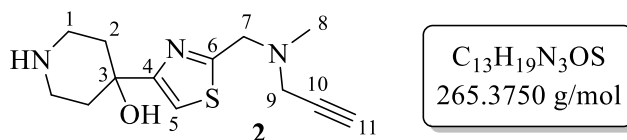
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3393 (m), 3245 (m), 2955 (w), 2797 (w), 1722 (w), 1650 (vs), 1520 (w), 1435 (s), 1363 (m), 1296 (w), 1243 (s), 1156 (vs), 1093 (s), 1029 (w), 960 (m), 897 (w), 761 (s), 675 (m), 596 (m), 541 (m), 459 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** *m/z* berechnet für [M+H]<sup>+</sup> = 366.1846, gefunden = 366.1824;

*m/z* berechnet für [M+Na]<sup>+</sup> = 388.1665, gefunden = 388.1651.

**Schmelzbereich:** 98.4-100.0 °C.

### Synthese von 4-(2-((Methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)thiazol-4-yl)piperidin-4-ol (**2**)



Die Synthese erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7**.

Ansatzgröße: Gemergede Verbindung **255** (79 mg, 0.22 mmol, 1.0 eq.), DCM (5 mL), Raumtemperatur, TFA (100  $\mu$ L, 156 mg, 1.37 mmol, 10 eq.); 25 Stunden bei Raumtemperatur. Die Aufarbeitung erfolgte anders als in AAV 7 beschrieben: Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde in MeOH gelöst. Es erfolgte eine mehrfache Filtration über Celite. Das Lösungsmittel wurde erneut unter vermindertem Druck entfernt und der verbleibende Rückstand wurde mit kaltem Et<sub>2</sub>O gewaschen. Das Fragment **2** (49 mg, 0.18  $\mu$ mol, **82%**) wurde nach Entfernen des Lösungsmittels ohne weitere Reinigung als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>-Wert** = 0.13 (DCM:MeOH 8:1).

<sup>(1)</sup> Signalüberlappung eindeutig aus den 2D-Spektren entnehmbar.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$  = 7.70 (s, 1H, H-5), 4.72 (s, 2H, H-7), 4.17 (s, 2H, H-9), 3.48-3.34 (m, 5H, H-1<sub>a</sub>, H-1<sub>b</sub>, H-11), 3.00 (s, 3H, H-8), 2.48 (dt,  $^3J$  = 14.5 Hz, 4.8 Hz, 2H, H-2<sub>a</sub>), 2.10-2.06 (m, 2H, H-2<sub>b</sub>) ppm.<sup>(1)</sup>

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$  = 164.2 (C-6), 163.8 (C-4), 117.5 (C-5), 79.3 (C-11), 75.0 (C-10), 69.2 (C-3), 55.8 (C-7), 46.2 (C-9), 41.4 (C-1), 41.3 (C-8), 34.8 (C-2) ppm.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3304 (w), 2978 (m), 2848 (m), 2523 (w), 1667 (vs), 1468 (w), 1427 (m), 1322 (w), 1278 (w), 1175 (s), 1123 (vs), 986 (s), 919 (w), 834 (s), 798 (s), 720 (s), 597 (w), 517 (w), 409 (w).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{H}]^+$  = 266.1322, gefunden = 266.1325;

m/z berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  = 288.1141, gefunden = 288.1141.

**Schmelzbereich:** 80.0-81.9 °C.

---

<sup>(1)</sup> Die Signale für -OH und -NH sind nicht sichtbar.



## 5.6 Biochemische Arbeiten

### 5.6.1 Proteingewinnung

Endothiapepsin kann leicht durch die Umpufferung aus Suparen® gewonnen werden.<sup>[100,255]</sup> Suparen® wurde kostenlos von der *CrystalsFirst GmbH* zur Verfügung gestellt. Dieses wird grundsätzlich in der Käseherstellung als Labersatz eingesetzt und aus dem Überstand einer speziellen *Endothia parasitica* Pilzkultur gewonnen.<sup>[256]</sup> Zur Umpufferung wurde Suparen® (7 mL) mit dem Acetat-Zielpuffer (0.1 M NaOAc-Puffer, pH-Wert = 4.6, 8 mL) in einer 10.000 Da Membran (Vivaspin 10.000) vermischt und bei 4 °C mit 3500 U/min für 15 Minuten zentrifugiert. Der verbleibende Rückstand oberhalb der Membran wurde erneut mit NaOAc-Zielpuffer (10 mL) vermischt und analog zentrifugiert. Der Zyklus wurde ca. 10-mal wiederholt. Abschließend wurde eine Proteinkonzentration von 5mg/mL über UV-Absorption bei 280 nm mit einem NanoDrop™ 2000/2000c Spektralphotometer eingestellt. Dabei wurde von einem Extinktionskoeffizienten von 1.43 mg/mL ausgegangen.<sup>[257]</sup> Endothiapepsin in NaOAc-Puffer konnte als blassgelbe Lösung erhalten werden.

### 5.6.2 Affinitätsbestimmung

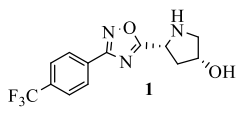
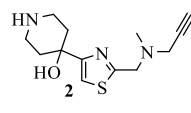
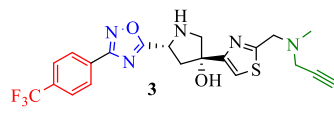
Zur Affinitätsbestimmung der Liganden wurde ein fluoreszenzbasierter Assay nach G.KLEBE und A.K.H. HIRSCH *et al.* durchgeführt.<sup>[16,203]</sup> Die Durchführung erfolgte unter Anleitung und Einweisung von Dr. Patrick ZIEGELMÜLLER und Martino MORICI (Institut für Biochemie und Molekularbiologie, Universität Hamburg, AK Wilson).

Endothiapepsin wurde, wie unter Kapitel 5.6.1 beschrieben, verwendet. Als Substrat wurde das modifizierte Hexapeptid Abz–Thr–Ile–Nle-*p*-NO<sub>2</sub>-Phe–Gln–Arg–NH<sub>2</sub> eingesetzt. Dieses wurde kommerziell von *Bachem* (Schweiz) erworben und von der *AnalytiCon Discovery GmbH* gesponsort. Die transparenten 96-well Microplatten mit flachem Boden wurden von *Greiner Bio-One GmbH* bezogen. Vom jeweiligen zu vermessenden Liganden wurde eine 50 mM Stammlösung angesetzt. Von dieser wurde beginnend bei einer Konzentration von  $c = 1000 \mu\text{M}$  bis zu einer Konzentration von  $0.9765 \mu\text{M}$  halbierend verdünnt, sodass insgesamt von jedem Liganden zehn verschiedene Konzentrationen vermessen werden konnten. Zu Beginn der Experimente wurde der Assay-Puffer (0.1 M NaOAc-Puffer, pH-Wert = 4.6, mit 0.01% Tween20) mit dem Substrat in jedes well vorgelegt. Es erfolgte die Zugabe der unterschiedlichen Konzentrationen eines Liganden. Das gesamte Reaktionsvolumen pro well betrug 200  $\mu\text{L}$ , wobei immer 2.1% (4.2  $\mu\text{L}$ ) DMSO mit der jeweiligen Konzentration des Liganden vorhanden waren und das Substrat in einer Konzentration von 1.8  $\mu\text{M}$  vorlag. Für die

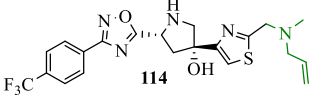
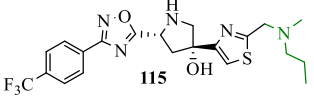
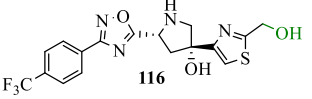
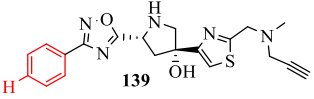
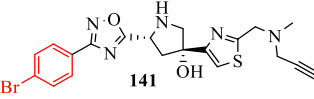
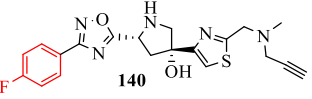
Kontrollen wurde reines DMSO ohne Liganden verwendet. Die Zugabe des Enzyms erfolgte unmittelbar vor der Messung, wobei Endothiapepsin in einer Konzentration von 4 nM vorlag.

Die Assaymessung wurde an einem Tecan Infinite® 200 Pro durchgeführt. Dabei wurde mit 337 nm angeregt und bei 414 nm ausgelesen. Jeder Ligand wurde über 5 Minuten vermessen, wobei die Messwerte in Abständen von 40 Sekunden aufgenommen wurden und für jeden Messwert über 20 µSekunden integriert wurde. Es wurden i.d.R. Dreifachbestimmungen aller Konzentrationen vermessen. Die Auswertung der Daten erfolgte mit Excel und Origin (Version OriginPro 2019). Zur Auswertung der Daten wurde von den erhobenen Messwerten der Mittelwert gebildet und anschließend eine Grundliniensubtraktion (parallel gemessene Daten von Assay-Buffer+Substrat+Ligand ohne Enzym) vorgenommen. Die korrigierten Daten wurden anschließend linear gegen die Zeit aufgetragen, um die anfängliche Steigung bestimmen zu können, wobei diese für alle Verbindungen zwischen 2-3 Minuten lag. Zur weiteren Auswertung wurde für die Messwerte im Bereich der anfänglichen Steigung eine lineare Regression für jede Konzentration durchgeführt. Die daraus ermittelten Steigungen  $m$  wurden gegen die logarithmierte Konzentration  $c$  aufgetragen und mittels DoseResp-Fit gefittet. So konnte für alle Liganden die halbmaximale inhibitorische Konzentration (IC<sub>50</sub>-Wert) ermittelt werden. Die Ergebnisse wurden bereits in Kapitel 3.7 diskutiert und sind hier um die zu den Graphen zugehörigen Parameter ergänzt.

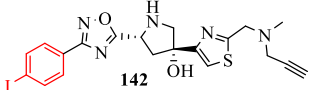
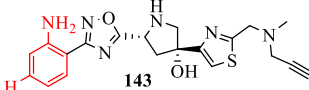
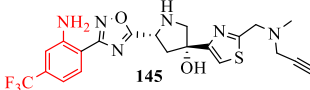
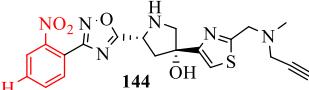
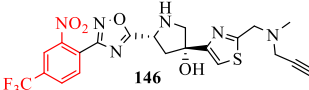

**Tabelle 7:** Zugehörige Parameter der Graphen, die in Kapitel 3.7 diskutiert wurden.

Verbindung			
Modell	DoseResp	DoseResp	DoseResp
Gleichung	$y = A1 + (A2-A1)/(1+10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$
IC <sub>50</sub>	516.71445	2080.24397	12.99522
A1	0 ± 0	0 ± 0	-0.15282 ± 0.05353
A2	1.07141 ± 0.03749	1.0428 ± 0.04124	0.94414 ± 0.06753
LOGx0	2.71325 ± 0.09115	3.31811 ± 0.19437	1.11378 ± 0.08778
p	-0.74579 ± 0.14991	-0.50189 ± 0.14317	-1.46252 ± 0.38308
Chi <sup>2</sup>	0.00444	0.00321	0.00876
Reduziert			
R <sup>2</sup> (COD)	0.93177	0.87588	0.97142
Kor. R <sup>2</sup>	0.91661	0.8483	0.9607

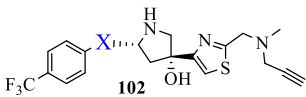
Fortsetzung Tabelle 7

Verbindung			
Modell	DoseResp	DoseResp	DoseResp
Gleichung	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$
IC <sub>50</sub>	5.08321	21.3683	41.70449
A1	0.27361 ± 0.06146	-0.14473 ± 0.37065	-0.3424 ± 0.07138
A2	0.93363 ± 0.10421	1.03972 ± 0.15099	0.90957 ± 0.04925
LOGx0	0.70614 ± 0.14339	1.32977 ± 0.66734	1.62018 ± 0.07582
p	-3.00879 ± 2.43082	-0.47197 ± 0.26991	-1.40424 ± 0.31294
Chi <sup>2</sup>	0.02383	0.01828	0.00744
Reduziert			
R <sup>2</sup> (COD)	0.8308	0.88565	0.98054
Kor. R <sup>2</sup>	0.76735	0.84277	0.97324
Verbindung			
Modell	DoseResp	DoseResp	DoseResp
Gleichung	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$
IC <sub>50</sub>	12.22462	4.91819	28.36577
A1	-0.17406 ± 0.11838	-0.22838 ± 0.02506	-0.17062 ± 0.04895
A2	0.99533 ± 0.14712	1.01057 ± 0.04429	0.90321 ± 0.04473
LOGx0	1.08724 ± 0.19801	0.69181 ± 0.04925	1.45279 ± 0.05669
p	-1.14711 ± 0.53182	-1.17317 ± 0.12848	-2.47977 ± 0.7111
Chi <sup>2</sup>	0.03163	0.00221	0.00834
Reduziert			
R <sup>2</sup> (COD)	0.90369	0.99253	0.97653
Kor. R <sup>2</sup>	0.86757	0.98972	0.96773

Fortsetzung Tabelle 7

Verbindung			
Modell	DoseResp	DoseResp	DoseResp
Gleichung	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$
IC <sub>50</sub>	28.18683	55.18505	7.25172
A1	-0.26452 ± 0.12855	0.03295 ± 0.02928	0.26361 ± 0.10305
A2	0.90659 ± 0.1163	1.04121 ± 0.02046	1.05049 ± 0.11486
LOGx0	1.45005 ± 0.14548	1.74182 ± 0.03176	0.86044 ± 0.20966
p	-2.10785 ± 1.31292	-2.39101 ± 0.36757	-1.28056 ± 0.69856
Chi <sup>2</sup>	0.05123	0.00211	0.01692
Reduziert			
R <sup>2</sup> (COD)	0.88527	0.99269	0.89518
Kor. R <sup>2</sup>	0.84225	0.98995	0.84277
Verbindung			
Modell	DoseResp	DoseResp	DoseResp
Gleichung	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$	$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x0-x)*p)})$
IC <sub>50</sub>	16.38165	27.86697	366.08345
A1	-0.01112 ± 0.01766	0.3563 ± 0.06361	0 ± 0
A2	0.98298 ± 0.01985	1.036 ± 0.06034	1.06589 ± 0.03405
LOGx0	1.21436 ± 0.03057	1.44509 ± 0.09926	2.56358 ± 0.07408
p	-1.38211 ± 0.12097	-3.60414 ± 2.85902	-0.97377 ± 0.17917
Chi <sup>2</sup>	7.95127E-4	0.01717	0.00502
Reduziert			
R <sup>2</sup> (COD)	0.99672	0.89695	0.94637
Kor. R <sup>2</sup>	0.99549	0.8583	0.93445

Fortsetzung Tabelle 7

Verbindung		 102	
Modell	DoseResp	LOGx0	3.15178 ± 3.54436
Gleichung	$y = A1 + (A2-A1)/$	p	-0.63582 ± 0.80802
	$(1 + 10^{((LOGx0-x)*p)})$	Chi <sup>2</sup> Reduziert	0.05943
IC <sub>50</sub>	1418.33987	R <sup>2</sup> (COD)	0.79358
A1	-1.54394 ± 7.82517	Kor. R <sup>2</sup>	0.70512
A2	1.17012 ± 0.20165		

## 5.7 Kristallisationsarbeiten

Alle Kristallstrukturdaten wurden in Kooperation mit der Firma *CrystalsFirst GmbH* erhoben. Die Daten wurden an unterschiedlichen Synchrotron Teilchenbeschleunigern am ESRF (Grenoble, Frankreich) und am DESY (Hamburg) vermessen.

Für die Proteinkristalle wurde zunächst Endothiapepsin mittels Dampfdiffusion nach bekanntem Protokoll kristallisiert.<sup>[258]</sup> Die Liganden wurden anschließend nachträglich über *soaking* eingebracht. Das in Anlehnung an H. KÖSTER und J. SCHIEBEL optimierte *soaking*-Protokoll ist noch nicht veröffentlicht.<sup>[100,258]</sup> Alle initialen Strukturösungen wurden durch *molecular replacement* unter der Verwendung des Programms *Phaser* bestimmt. Die weiteren Verfeinerungszyklen wurden mit *Shelxl* oder *Phenix* vorgenommen und durch die Verwendung von *WinCoot* (Version 0.9.4.1. EL) optimiert. Details zu den Strukturen sind den jeweiligen kristallographischen Tabellen zu entnehmen. Die Bilder der gezeigten Kristallstrukturen wurden alle durch die Verwendung von *PyMol* (Version 4.6) und *WinCoot* (Version 0.9.4.1. EL) erhalten.

Tabelle 8: Kristallographische Tabellen.

Verbindung	(3)	(114)	(115)	(141)	(139)
<b>Datensammlung und Prozessierung</b>					
Sammlungsort	ESRF	ESRF	ESRF	ESRF	ESRF
$\lambda$ [Å]	0.99187	0.99187	0.99187	0.99187	0.99187
Detector type	EIGER2	EIGER2	EIGER2	EIGER2	EIGER2
Raumgruppe	P1 21 1 (4)	P1 21 1 (4)	P1 21 1 (4)	P1 21 1 (4)	P1 21 1 (4)
Einheitszelle					
a [Å]	44.9	44.9	44.9	44.9	44.8
b [Å]	72.8	72.8	72.6	72.6	72.5
c [Å]	52.5	52.5	52.5	52.4	52.5
$\alpha$ [°]	90	90	90	90	90
$\beta$ [°]	109.2	109.1	109.2	109.2	108.9
$\gamma$ [°]	90	90	90	90	90
Auflösung [Å]	1.277	1.494	1.275	1.227	1.215
höchste Schale	1.28-1.35	1.49-1.58	1.28-1.35	1.23-1.30	1.21-1.29
Einzelne Reflexe	82149	51792	82604	89523	94026
Totale Reflexe	310115	193010	309216	342019	348793
$R_{\text{sym}}$ [%] <sup>(a)</sup>	6.7 (50.0)	7.7 (45.5)	7.6 (44.2)	4.9 (23.0)	9.9 (47.4)
$R_{\text{meas}}$ [%] <sup>(a)</sup>	7.8 (58.3)	9.0 (53.2)	8.9 (51.6)	5.6 (26.9)	11.6 (56.4)
Vollständigkeit [%] <sup>(a)</sup>	99.6 (99.7)	98.7 (93.7)	99.1 (96.8)	96.6 (90.1)	98.2 (90.1)
Redundanz <sup>(a)</sup>	3.78 (3.78)	3.73 (3.62)	3.74 (3.69)	3.82 (3.65)	3.71 (3.25)
$I/\sigma$ <sup>(a)</sup>	10.79 (2.37)	9.23 (2.0)	8.97 (2.00)	14.17 (4.20)	7.8 (2.13)
<b>Verfeinerung</b>					
CC(1/2) <sup>(a)</sup>	99.7 (85.7)	99.6 (86.9)	99.4 (80.7)	99.8 (94.7)	99.2 (82.0)
Mosaicity [°]	0.072	0.209	0.08	0.042	0.035
Isa	16,,69	12.58	11.13	16.96	9.78
Wilson B-factor [Å <sup>2</sup> ]	19.314	24.063	20.094	17.868	17.494
Finale R-Werte	14.89/17.14	16.07/18.41	14.28/16.56	13.23/15.19	15.20/17.74
Anzahl H <sub>2</sub> O-Moleküle	234	209	252	259	245
Ramachandran Diagramm					
Bevorzugte Regionen [%]	98.78	98.48	98.78	98.48	98.48
Erlaubte Regionen [%]	1.22	1.52	1.22	1.52	1.52
Erweiterte erl. Reg. [%]	0	0	0	0	0
Durchschnittliche B-Werte (alle Moleküle) [Å <sup>2</sup> ]	15.95	18.01	17.17	15.63	15.55
RMSD Bindungslängen [Å]	0.0043	0.007	0.012	0.006	0.0041
RMSD Bindungswinkel [°]	0.858	1.07	1.193	0.99	0.78

(a) Der Wert in der Klammer bezieht sich auf die höchste Auflösungsschale.

Fortsetzung Tabelle 8

Verbindung	(116)	(140)	(143)	(144)	(145)
<b>Datensammlung und Prozessierung</b>					
Sammlungsort	ESRF	ESRF	DESY	DESY	DESY
$\Lambda$ [Å]	0.99187	0.99187	0.688813	0.688813	0.688813
Detector type	EIGER2	EIGER2	EIGER2	EIGER2	EIGER2
Raumgruppe	P1 21 1 (4)	P1 21 1 (4)	P1 21 1 (4)	P1 21 1 (4)	P1 21 1 (4)
Einheitszelle					
a [Å]	44.9	44.8	44.8	44.8	44.9
b [Å]	72.5	72.5	72.6	72.9	72.7
c [Å]	52.4	52.3	52.1	51.8	52.5
$\alpha$ [°]	90	90	90	90	90
$\beta$ [°]	109.2	108.8	108.7	108.5	109.2
$\gamma$ [°]	90	90	90	90	90
Auflösung [Å]	1.271	1.3	1.171	1.283	1.263
höchste Schale	1.27-1.35	1.30-1.38	1.17-1.24	1.28-1.36	1.26-1.34
Einzelne Reflexe	83117	77022	103571	75363	83863
Totale Reflexe	312969	292407	367252	280889	297474
$R_{\text{sym}}$ [%] <sup>(a)</sup>	6.4 (45.1)	7.4 (49.7)	5.5 (115.7)	5.0 (120.4)	6.6 (87.9)
$R_{\text{meas}}$ [%] <sup>(a)</sup>	7.4 (52.7)	8.6 (57.6)	6.4 (136.2)	5.8 (140.6)	7.8 (104.0)
Vollständigkeit [%] <sup>(a)</sup>	99.3 (98.2)	98.7 (97.1)	97.8 (97.8)	93.4 (92.0)	98.3 (98.7)
Redundanz <sup>(a)</sup>	3.77 (3.76)	3.8 (3.85)	3.55 (3.57)	3.73 (3.68)	3.55 (3.47)
$I/\sigma$ <sup>(a)</sup>	9.79 (2.00)	8.95 (2.00)	11.55 (1.17)	12.04 (1.09)	9.89 (1.30)
<b>Verfeinerung</b>					
CC(1/2) <sup>(a)</sup>	99.7 (81.3)	99.5 (77.4)	99.9 (60.7)	99.9 (61.5)	99.8 (60.8)
Mosaicity [°]	0.077	0.07	0.19	0.161	0.068
Isa	14.68	12.21	34.11	29.1	22.9
Wilson B-factor [Å <sup>2</sup> ]	20.101	20.895	17.899	22.493	18.798
Finale R-Werte	14.41/16.48	15.41/17.86	17.77/19.65	19.20/20.71	14.66/17.61
Anzahl H <sub>2</sub> O-Moleküle	217	196	316	248	310
Ramachandran Diagramm					
Bevorzugte Regionen [%]	98.48	98.48	98.48	98.48	98.78
Erlaubte Regionen [%]	1.52	1.52	1.52	1.52	1.22
Erweiterte erl. Reg. [%]	0	0	0	0	0
Durchschnittliche B-Werte (alle Moleküle) [Å <sup>2</sup> ]	17.7	17.97	19.29	22.84	17.06
RMSD Bindungslängen [Å]	0.004	0.004	0.004	0.0044	0.004
RMSD Bindungswinkel [°]	0.794	0.763	0.834	0.798	0.77

(a) Der Wert in der Klammer bezieht sich auf die höchste Auflösungsschale.

Fortsetzung Tabelle 8

Verbindung (146)			
Datensammlung und Prozessierung		Verfeinerung	
Sammlungsort	DESY	CC(1/2) <sup>(a)</sup>	99.9 (60.8)
$\Lambda$ [Å]	0.688813	Mosaicity [°]	0.147
Detector type	EIGER2	Isa	31.87
Raumgruppe	P1 21 1 (4)	Wilson B-factor [Å <sup>2</sup> ]	16.358
Einheitszelle		Finale R-Werte	15.91/17.76
a [Å]	45.1	Anzahl H <sub>2</sub> O-Moleküle	323
b [Å]	72.7	Ramachandran Diagramm	
c [Å]	52.7	Bevorzugte Regionen [%]	98.78
$\alpha$ [°]	90	Erlaubte Regionen [%]	1.22
$\beta$ [°]	109.4	Erweiterte erl. Reg. [%]	0
$\gamma$ [°]	90	Durchschnittliche B-Werte	
Auflösung [Å]	1.126	(alle Moleküle) [Å <sup>2</sup> ]	16.24
höchste Schale	1.13-1.19	RMSD Bindungslängen [Å]	0.004
Einzelne Reflexe	118845	RMSD Bindungswinkel [°]	0.814
Totale Reflexe	415906		
R <sub>sym</sub> [%] <sup>(a)</sup>	5.1 (87.8)		
R <sub>meas</sub> [%] <sup>(a)</sup>	6.0 (103.5)		
Vollständigkeit [%] <sup>(a)</sup>	98.5 (98.8)		
Redundanz <sup>(a)</sup>	3.5 (3.57)		
I/ $\sigma$ <sup>(a)</sup>	11.84 (1.30)		

(a) Der Wert in der Klammer bezieht sich auf die höchste Auflösungsschale.



## 6. Literaturverzeichnis

- [1] G. Klebe, *Wirkstoffdesign. Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen*, Spektrum Akad. Verl., Heidelberg, **2009**, 2. Auflage, S. 10 ff., 99 ff., 283 ff., 380 ff.
- [2] S. Vigl, *Heilpflanzen* **2021**, 01, 32-33.
- [3] P. Y. Bruice, *Organische Chemie - Studieren kompakt*, Pearson Studium, München, **2011**, 5. aktualisierte Auflage, S.785 ff.
- [4] The Nobel Prize, „Press release“, zu finden unter: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1982/press-release>, letzter Zugriff **09.03.2023**.
- [5] D. W. Cushman, H. S. Cheung, E. F. Sabo, M. A. Ondetti, *Biochemistry* **1977**, 16, 5484-5491.
- [6] T. A. Steitz, M. L. Ludwig, F. A. Quioco, W. N. Lipscomb, *J. Biol. Chem.* **1967**, 242, 4662-4668.
- [7] J. Menard, A. A. Patchett, *Adv. Protein Chem.* **2001**, 56, 13-75.
- [8] K. von der Saal, *Biochemie*, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, **2020**, 1. Auflage, S. 74 ff., S. 89 ff.
- [9] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, G. J. Gatto jr., L. Stryer, *Biochemie*, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, **2018**, 8. Auflage, S.35 ff., S. 268 ff.
- [10] T. Lewis, W. L. Stone, *Biochemistry, Proteins Enzymes*, StatPearls, Treasure Island (FL), **2023**.
- [11] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, 23, 3-25.
- [12] D. Fischer, J. Breitenbach, *Die Pharmaindustrie*, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, **2020**, 5. Auflage, S. 150-157.
- [13] S. M. Paul, D. S. Mytelka, C. T. Dunwiddie, C. C. Persinger, B. H. Munos, S. R. Lindborg, A. L. Schacht, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010**, 9, 203-214.
- [14] G. Klebe, *J. Mol. Med.* **2000**, 78, 269-281.
- [15] a) C. R. Beddell, P. J. Goodford, F. E. Norrington, S. Wilkinson, R. Wootton, *Br. J. Pharmac.* **1976**, 57, 201-209; b) C. R. Bedell, P. J. Goodford, F. E. Norrington, S. Wilkinson, *Br. J. Pharma.* **1973**, 48, 363–364.
- [16] A. M. Hartman, M. Mondal, N. Radeva, G. Klebe, A. K. H. Hirsch, *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, 16, 19184-19194.

- [17] M. Mondal, N. Radeva, H. Köster, A. Park, C. Potamitis, M. Zervou, G. Klebe, A. K. H. Hirsch, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2014**, *53*, 3259-3263.
- [18] R. Macarron, M. N. Banks, D. Bojanic, D. J. Burns, D. A. Cirovic, T. Garyantes, D. V. S. Green, R. P. Hertzberg, W. P. Janzen, J. W. Paslay et al., *Nat. Rev. Drug Discov.* **2011**, *10*, 188-195.
- [19] Y. Yamamura, H. Ogawa, T. Chihara, K. Kondo, T. Onogawa, S. Nakamura, T. Mori, M. Tominaga, Y. Yabuuchi, *Science* **1991**, *252*, 572-574.
- [20] Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA), „Jinarc (Tolvaptan)“, zu finden unter: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/jinarc-epar-medicine-overview\\_de.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/jinarc-epar-medicine-overview_de.pdf), 2018, letzter Zugriff **23.06.2023**.
- [21] D. A. Erlanson, S. W. Fesik, R. E. Hubbard, W. Jahnke, H. Jhoti, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2016**, *15*, 605-619.
- [22] M. Congreve, R. Carr, C. Murray, H. Jhoti, *Drug Discov. Today* **2003**, *8*, 876-877.
- [23] A. Bancet, C. Raingeval, T. Lomberget, M. Le Borgne, J.-F. Guichou, I. Krimm, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 11420-11435.
- [24] a) M. M. Hann, A. R. Leach, G. Harper, *J. Chem. Inf. Comput.* **2001**, *41*, 856-864; b) A. R. Leach, M. M. Hann, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2011**, *15*, 489-496.
- [25] AnalytiCon Discovery GmbH, „A BRAIN Group company“, zu finden unter: <https://ac-discovery.com>, letzter Zugriff **29.06.2023**.
- [26] D. A. Erlanson, R. S. McDowell, T. O'Brien, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3463-3482.
- [27] S. B. Shuker, P. J. Hajduk, R. P. Meadows, S. W. Fesik, *Science* **1996**, *274*, 1531-1534.
- [28] S. Geschwindner, L.-L. Olsson, J. S. Albert, J. Deinum, P. D. Edwards, T. de Beer, R. H. A. Folmer, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5903-5911.
- [29] Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA), „Zelboraf (Vemurafenib)“, zu finden unter: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/zelboraf-epar-summary-public\\_de.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/zelboraf-epar-summary-public_de.pdf), 2018, letzter Zugriff **17.03.2023**.
- [30] A. Millet, A. R. Martin, C. Ronco, S. Rocchi, R. Benhida, *Med. Res. Rev.* **2017**, *37*, 98-148.
- [31] P. N. Ibrahim, D. R. Artis, R. Bremer, S. Mamo, M. Nespi, C. Zhang, J. Zhang, Y. L. Zhu, J. Tsai, K. P. Hirth, G. Bollag, W. Spevak, H. Cho, S. Gillette, G. Wu, H. Zhu, S. Shi (Plexxikon Inc.), WO 2007/002325 A1, **2007**.
- [32] G. Bollag, P. Hirth, J. Tsai, J. Zhang, P. N. Ibrahim, H. Cho, W. Spevak, C. Zhang, Y. Zhang, G. Habets et al., *Nature* **2010**, *467*, 596-599.
- [33] D. L. Hughes, *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 2028-2042.

- [34] L. G. Mureddu, G. W. Vuister, *Front. Mol. Biosci.* **2022**, *9*, 1-14.
- [35] Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA), „Venclyxto (Venetoclax)“, zu finden unter: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/venclyxto-epar-medicine-overview\\_de.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/venclyxto-epar-medicine-overview_de.pdf), 2021, letzter Zugriff **17.03.2023**.
- [36] A. M. Petros, J. Dinges, D. J. Augeri, S. A. Baumeister, D. A. Betebenner, M. G. Bures, S. W. Elmore, P. J. Hajduk, M. K. Joseph, S. K. Landis et al., *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 656-663.
- [37] G. A. Doherty, S. W. Elmore, L. A. Hasvold, A. J. Souers, Z. F. Tao, G. T. Wang, L. Wang, R. Mantei, T. M. Hansen (AbbVie Inc.), US 8,580,794 B2, **2013**.
- [38] Y. Y. Ku, V. S. Chan, A. Christesen, T. Grieme, M. Mulhern, Y.-M. Pu, M. D. Wendt, *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 4814-4829.
- [39] L. O. Santos, A. S. Garcia-Gomes, M. Catanho, C. L. Sodre, A. L. S. Santos, M. H. Branquinha, C. M. d'Avila-Levy, *Curr. Med. Chem.* **2013**, *20*, 3116-3133.
- [40] N. D. Rawlings, A. J. Barrett, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 323-325.
- [41] A. J. Barrett, *Meth. Enzymol.* **1994**, *244*, 1-15.
- [42] D. R. Davies, *Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **1990**, *19*, 189-215.
- [43] A. K. Ghosh, *Aspartic Acid Proteases as Therapeutic Targets*, Wiley-VCH, Weinheim, **2010**, 1. Auflage, S. 23 ff., S. 71 ff., S.549 ff.
- [44] S. K. Garg, B. N. Johri, *Food Rev. Int.* **1994**, *10*, 313-355.
- [45] A. Kumar, S. Grover, J. Sharma, V. K. Batish, *Crit. Rev. Biotechnol.* **2010**, *30*, 243-258.
- [46] P. B. Szecsi, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **1992**, *52*, 5-22.
- [47] P. Desnuelle, H. Neurath, M. Ottesen, *Structure-Function Relationships of Proteolytic Enzymes*, Elsevier, Burlington, **1970**, 1. Auflage, S. 261 ff.
- [48] a) M. Sanches, S. Krauchenco, N. H. Martins, A. Gustchina, A. Wlodawer, I. Polikarpov, *J. Mol. Biol.* **2007**, *369*, 1029-40; b) M. Fujinaga, M. M. Chernaiia, N. I. Tarasova, S. C. Mosimann, M. N. James, *Protein Sci.* **1995**, *4*, 960-972.
- [49] Spektrum Akademischer Verlag, „Lexikon der Biologie: Pepsin“, zu finden unter: <https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/pepsin/50143>, letzter Zugriff **13.03.2023**.
- [50] Schwann T., *Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med.* **1836**, 90-138.
- [51] J. D. Bernal, D. Crowfoot, *Nature* **1934**, *133*, 794-795.
- [52] A. R. Sielecki, A. A. Fedorov, A. Boodhoo, N. S. Andreeva, M. N. James, *J. Mol. Biol.* **1990**, *214*, 143-170.
- [53] N. S. Andreeva, A. S. Zdanov, A. E. Gustchina, A. A. Fedorov, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 11353-11364.

- [54] a) RCSB PDB Protein Data Bank, zu finden unter: <https://www.rcsb.org>, letzter Zugriff **11.07.2023**; b) H. Berman, K. Henrick, H. Nakamura, *Nat. Struct. Biol.* **2003**, *10*, 980.
- [55] L. Coates, H.-F. Tuan, S. Tomanicek, A. Kovalevsky, M. Mustyakimov, P. Erskine, J. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7235-7237.
- [56] a) L. Coates, P. T. Erskine, S. P. Wood, D. A. Myles, J. B. Cooper, *Biochemistry* **2001**, *40*, 13149-13157; b) L. Coates, P. T. Erskine, S. Mall, R. Gill, S. P. Wood, D. A. A. Myles, J. B. Cooper, *Eur. Biophys. J.* **2006**, *35*, 559-566; c) B. Veerapandian, J. B. Cooper, A. Sali, T. L. Blundell, R. L. Rosati, B. W. Dominy, D. B. Damon, D. J. Hoover, *Protein Sci.* **1992**, *1*, 322-328.
- [57] Destatis- Statistisches Bundesamt, „Todesursachenstatistik“, zu finden unter: <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?sequenz=tabelleErgebnis&selectionname=23211-0002#abreadcrumb>, letzter Zugriff **31.08.2023**.
- [58] J. M. Wood, J. Maibaum, J. Rahuel, M. G. Grütter, N.-C. Cohen, V. Rasetti, H. Rüger, R. Göschke, S. Stutz, W. Fuhrer *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, *308*, 698-705.
- [59] D. W. Cushman, M. A. Ondetti, *Nat. Med.* **1999**, *5*, 1110-1113.
- [60] J. B. Cooper, *Curr. Drug Targets* **2002**, *3*, 155-173.
- [61] K. R. Acharya, E. D. Sturrock, J. F. Riordan, M. R. W. Ehlers, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2*, 891-902.
- [62] Spektrum Akademischer Verlag, „Lexikon der Biologie: Renin-Angiotensin-Aldosteron-System“, zu finden unter: <https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/renin-angiotensin-aldosteron-system/56241#>, letzter Zugriff **28.02.2023**.
- [63] H. Wei, H. Cai, J. Wu, Z. Wei, F. Zhang, X. Huang, L. Ma, L. Feng, R. Zhang, Y. Wang *et al.*, *J Biol. Chem.* **2016**, *291*, 24900-24911.
- [64] A. H. J. Danser, *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* **2007**, *50*, 105-111.
- [65] AbZ-Pharma GmbH, *Beipackzettel Captopril AbZ 50 mg Tabletten*, **2019**.
- [66] a) A. Himmelmann, A. Bergbrant, A. Svensson, L. Hansson, M. Aurell, *Am. J. Hypertens.* **1996**, *9*, 517-522; b) H. N. Glassman, H. D. Kleinert, R. S. Boger, D. M. Moyse, A. N. Griffiths, R. R. Luther, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1990**, *16*, 76-81.
- [67] Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA), „Rasilez (Aliskiren)“, zu finden unter: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/rasilez-epar-summary-public\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/rasilez-epar-summary-public_en.pdf), letzter Zugriff **27.06.2023**.
- [68] K. Angelo, T. Tan, K.-L. Huang, *Infect. Dis. Clin. Pract.* **2011**, *19*, 297-298.

- [69] WHO, „World malaria report 2022“, zu finden unter: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240064898>, letzter Zugriff **02.03.2023**.
- [70] WHO, „Fact Sheets Malaria“, zu finden unter: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>, letzter Zugriff **02.03.2023**.
- [71] T. Löscher, W. Lang, C. Bendick, *Tropenmedizin in Klinik und Praxis*, Thieme, Stuttgart, **2010**, 4. Auflage, S. 554 ff.
- [72] B. K. Tyagi, *Desert Malaria*, Springer, Singapore, **2023**, 1. Auflage, S. 3.
- [73] A. S. Nasamu, A. J. Polino, E. S. Istvan, D. E. Goldberg, *J. Biol. Chem.* **2020**, 295, 8425-8441.
- [74] E. Deu, *FEBS J.* **2017**, 284, 2604-2628.
- [75] M. J. Meyers, D. E. Goldberg, *Curr. Top. Med. Chem.* **2012**, 12, 445-455.
- [76] a) D. Bailey, J. B. Cooper, B. Veerapandian, T. L. Blundell, B. Atrash, D. M. Jones, M. Szelke, *Biochem. J.* **1993**, 289, 363-371; b) H. Umezawa, T. Aoyagi, H. Morishima, M. Matsuzaki, M. Hamada, *J. Antibiot.* **1970**, 23, 259-262.
- [77] N. Brown, *Bioisosteres in medicinal chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2012**, 1. Auflage, S.1 ff.
- [78] WHO, „Fact Sheets Dementia“, zu finden unter: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>, letzter Zugriff **03.03.2023**.
- [79] K. Rajasekhar, M. Chakrabarti, T. Govindaraju, *Chem. Comm.* **2015**, 51, 13434-13450.
- [80] J. L. Cummings, *N. Engl. J. Med.* **2004**, 351, 56-67.
- [81] U. Sengupta, A. N. Nilson, R. Kayed, *EBioMedicine* **2016**, 6, 42-49.
- [82] S. A. Kotler, P. Walsh, J. R. Brender, A. Ramamoorthy, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 6692-700.
- [83] D. Erten-Lyons, R. L. Woltjer, H. Dodge, R. Nixon, R. Vorobik, J. F. Calvert, M. Leahy, T. Montine, J. Kaye, *Neurology* **2009**, 72, 354-360.
- [84] S. L. Cole, R. Vassar, *Mol. Neurodegener.* **2007**, 2, 22.
- [85] N. Razzaghi-Asl, O. Firuzi, B. Hemmateenejad, K. Javidnia, N. Edraki, R. Miri, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 6893-6909.
- [86] R. Vassar, *J. Mol. Neurosci.* **2004**, 23, 105-114.
- [87] a) L. Hong, G. Koelsch, X. Lin, S. Wu, S. Terzyan, A. K. Ghosh, X. C. Zhang, J. Tang, *Science* **2000**, 290, 150-153; b) J. S. Tung, D. L. Davis, J. P. Anderson, D. E. Walker, S. Mamo, N. Jewett, R. K. Hom, S. Sinha, E. D. Thorsett, V. John, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 259-262.

- [88] N. Edraki, O. Firuzi, A. Foroumadi, R. Miri, A. Madadkar-Sobhani, M. Khoshneviszadeh, A. Shafiee, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 2396-2412.
- [89] A. A. Thomas, K. W. Hunt, M. Volgraf, R. J. Watts, X. Liu, G. Vigers, D. Smith, D. Sammond, T. P. Tang, S. P. Rhodes et al., *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 878-902.
- [90] K. W. Menting, J. A. H. R. Claassen, *Front. Aging Neurosci.* **2014**, *6*, 165.
- [91] C. Sur, J. Kost, D. Scott, K. Adamczuk, N. C. Fox, J. L. Cummings, P. N. Tariot, P. S. Aisen, B. Vellas, T. Voss et al., *Brain* **2020**, *143*, 3816-3826.
- [92] J. D. Scott, S. W. Li, A. P. J. Brunskill, X. Chen, K. Cox, J. N. Cumming, M. Forman, E. J. Gilbert, R. A. Hodgson, L. A. Hyde et al., *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 10435-10450.
- [93] C. H. van Dyck, C. J. Swanson, P. Aisen, R. J. Bateman, C. Chen, M. Gee, M. Kanekiyo, D. Li, L. Reyderman, S. Cohen et al., *N. Engl. J. Med.* **2023**, *388*, 9-21.
- [94] ALZFORUM-Networking for a cure, „Therapeutics“, zu finden unter: [https://www.alzforum.org/therapeutics/search?fda\\_statuses%5B%5D=184&target\\_types=&therapy\\_types=&conditions=&keywords-entry=&keywords=](https://www.alzforum.org/therapeutics/search?fda_statuses%5B%5D=184&target_types=&therapy_types=&conditions=&keywords-entry=&keywords=), 2023, letzter Zugriff **07.03.2023**.
- [95] N. D. Rawlings, G. Salvesen, *Handbook of proteolytic enzymes*, Acad. Press, Amsterdam, **2013**, 3. Auflage, S. 3 ff.
- [96] a) J. L. Sardinias, *Appl. Microbiol.* **1968**, *16*, 248-255; b) P. C. Moews, C. W. Bunn, *J. Mol. Biol.* **1970**, *54*, 395-397.
- [97] a) V. Barkholt, *FEBS J.* **1987**, *167*, 327-338; b) V. Razanamparany, P. Jara, R. Legoux, P. Delmas, F. Msayeh, M. Kaghad, G. Loison, *Curr. Genet.* **1992**, *21*, 455-461.
- [98] X. Wang, A. Heine, G. Klebe, *Science* **2016**, *273*, 1392-1395.
- [99] J. Böttcher, A. Jestel, R. Kiefersauer, S. Krapp, S. Nagel, S. Steinbacher, H. Steuber, L. C. Kuo, *Methods in enzymology*, Vol. 493, Elsevier, Amsterdam, **2011**, 1. Auflage, S. 61-89.
- [100] H. Köster, T. Craan, S. Brass, C. Herhaus, M. Zentgraf, L. Neumann, A. Heine, G. Klebe, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 7784-7796.
- [101] J. Boström, A. Hogner, A. Llinàs, E. Wellner, A. T. Plowright, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1817-1830.
- [102] B. K. Banik, *Advances in green and sustainable chemistry*, Elsevier, Amsterdam, Kidlington, Oxford, Cambridge, **2020**, 1. Auflage, S.938 ff.
- [103] N. Desai, J. Monapara, A. Jethawa, V. Khedkar, B. Shingate, *Arch. Pharm.* **2022**, *355*, e2200123.

- [104] A. Braga, D. Lüdtke, E. Alberto, L. Dornelles, W. Severo Filho, V. Corbellini, D. Rosa, R. Schwab, *Synthesis* **2004**, 2004, 1589-1594.
- [105] V. J. Ram, A. Sethi, M. Nath, R. Pratap, *The chemistry of heterocycles*, Elsevier, Netherlands, **2017**, 1. Auflage, S. 427 ff.
- [106] B. Rosenkranz, B. R. Winkelmann, M. J. Parnham, *Clin. Pharmacokinet.* **1996**, 30, 372-384.
- [107] J. A. Gruner, J. R. Mathiasen, D. G. Flood, M. Gasior, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2011**, 337, 380-390.
- [108] E. Decuypère, L. Plougastel, D. Audisio, F. Taran, *Chem. Comm.* **2017**, 53, 11515-11527.
- [109] R. S. Mancini, C. J. Barden, D. F. Weaver, M. A. Reed, *J. Med. Chem.* **2021**, 64, 1786-1815.
- [110] Q. Yu, G. Cheng, X. Ju, C. Lu, H. Yang, *New J. Chem.* **2017**, 41, 4797-4801.
- [111] A. Kumar, A. Ito, M. Takemoto, M. Yoshida, K. Y. J. Zhang, *J. Chem. Inf. Model* **2014**, 54, 870-880.
- [112] a) A. Gelain, M. Mori, F. Meneghetti, F. Porta, L. Basile, G. Marverti, A. Asai, M. Hyeraci, A. N. García-Argáez, L. D. Via et al., *Anticancer Res.* **2019**, 39, 135-144; b) L. Liu, Z. Yao, S. Wang, T. Xie, G. Wu, H. Zhang, P. Zhang, Y. Wu, H. Yuan, H. Sun, *J. Med. Chem.* **2021**, 64, 8391-8409.
- [113] F. Tiemann, P. Krüger, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, 17, 1685-1698.
- [114] A. Pace, S. Buscemi, A. P. Piccionello, I. Pibiri, *Recent Advances in the Chemistry of 1,2,4-Oxadiazoles, Vol. 116*, Elsevier, Netherlands, **2015**, S. 85-136.
- [115] A. Palumbo Piccionello, I. Pibiri, A. Pace, S. Buscemi, N. Vivona, *Comprehensive Heterocyclic Chemistry IV, Vol. 5*, Elsevier, Australien, **2022**, S. 147-189.
- [116] A. P. Piccionello, A. Pace, S. Buscemi, N. Vivona, *Org. Lett.* **2009**, 11, 4018-4020.
- [117] E. V. Babaev, *Studies in Natural Products Chemistry, Vol. 52*, Elsevier, Netherlands, **2017**, S. 69-113.
- [118] B. Cosimelli, V. Frenna, S. Guernelli, C. Z. Lanza, G. Macaluso, G. Petrillo, D. Spinelli, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 8010-8018.
- [119] a) S. Borg, R. C. Vollinga, M. Labarre, K. Payza, L. Terenius, K. Luthman, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 4331-4342; b) G. D. Diana, D. L. Volkots, T. J. Nitz, T. R. Bailey, M. A. Long, N. Vescio, S. Aldous, D. C. Pevear, F. J. Dutko, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 2421-2436.
- [120] A. R. Katritzky, *Comprehensive heterocyclic chemistry III, Vol. 5.04*, Elsevier, Netherlands, **2008**, S. 243-314.

- [121] K. Biernacki, M. Daško, O. Ciupak, K. Kubiński, J. Rachon, S. Demkowicz, *Pharmaceuticals* **2020**, *13*, 111.
- [122] M. Carbone, Y. Li, C. Irace, E. Mollo, F. Castelluccio, A. Di Pascale, G. Cimino, R. Santamaria, Y.-W. Guo, M. Gavagnin, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2516-2519.
- [123] J. T. Brogan, S. L. Stoops, C. W. Lindsley, *ACS Chem. Neurosci.* **2012**, *3*, 658-664.
- [124] G. W. Anderson, H. E. Faith, H. W. Marson, P. S. Winner, *J. Org. Chem.* **1942**, 2902-2905.
- [125] C. Gu, C. S. Elmore, J. Lin, D. Zhou, R. Luzietti, P. Dorff, S. W. Grimm, *Drug Metab. Dispos.* **2012**, *40*, 1151-1163.
- [126] C. Ainsworth, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5800-5801.
- [127] M. Luczynski, A. Kudelko, *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 3756-3775.
- [128] a) F. A. Bottino, G. Di Pasquale, P. Iannelli, *Macromolecules* **2001**, *34*, 33-37; b) W. Shi, X. Qian, R. Zhang, G. Song, *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 124-130.
- [129] M. Dabiri, P. Salehi, M. Baghbanzadeh, M. Bahramnejad, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6983-6986.
- [130] C. M. Maciolek, B. Ma, K. Menzel, S. Laliberte, K. Bateman, P. Krolikowski, C. R. Gibson, *Drug Metab. Dispos.* **2011**, *39*, 763-770.
- [131] Z. Li, P. Zhan, X. Liu, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2011**, *11*, 1130-1142.
- [132] Nils Walter, *Masterarbeit*, Universität Hamburg, Hamburg, **2019**.
- [133] F. Huschmann, S. Eckelt, J. Mueller, K. Sparta, M. Ühlein, M. Ruf, J. Senst, S. Glinca, A. Metz, J. Schiebel, A. Heine, L. O. Haustedt, C. B. W. Stark, M. S. Weiss, U. Mueller, G. Klebe, *unveröffentlichte Ergebnisse*. Paper-Entwurf (Word-Datei) von G. Klebe, **28.06.2023**.
- [134] F. Huschmann, M.S. Weiss, U. Mueller, L.O. Haustedt, G.Klebe, *PDB ID: 5QB7, to be published*, **2020**.
- [135] F. Huschmann, M.S. Weiss, U. Mueller, L.O. Haustedt, G.Klebe, *PDB ID: 5QBJ, to be published*, **2020**.
- [136] Spektrum Akademischer Verlag, „Lexikon der Biologie: L-Pipecolinsäure“, zu finden unter: <https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/l-pipecolinsaeure/51931>, letzter Zugriff **29.06.2023**.
- [137] T. Sahyoun, A. Arrault, R. Schneider, *Molecules* **2019**, *24*, 2470-2489.
- [138] a) A. S. Novikov, D. S. Bolotin, *J. Phys. Org. Chem.* **2018**, *31*, 3772-3777; b) A. Głębocka, E. D. Raczyńska, A. Chylewska, M. Makowski, *J. Phys. Org. Chem.* **2016**, *29*, 326-335.



- [139] J. Clayden, N. Greeves, S. G. Warren, *Organische Chemie*, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, **2013**, 2. Auflage, S. 208 f.; S 227 ff.; S. 606 ff.
- [140] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective groups in organic synthesis*, Wiley-Interscience, Hoboken, NJ, **2002**, 3. Auflage, S. 138 ff., 502 ff., S. 736 ff.
- [141] J. Shi, Z. Gu, E. A. Jurica, X. Wu, L. E. Haque, K. N. Williams, A. S. Hernandez, Z. Hong, Q. Gao, M. Dabros et al., *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 681-694.
- [142] D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155-4156.
- [143] E. J. Corey, J. Suggs, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 2647-2650.
- [144] K. Nishide, P. K. Patra, M. Matoba, K. Shanmugasundaram, M. Node, *Green Chem.* **2004**, *6*, 142-146.
- [145] K. Omura, D. Swern, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1651-1660.
- [146] A. J. Mancuso, S. L. Huang, D. Swern, *J. Org. Chem.* **1978**, 2480-2482.
- [147] R. Kumar, D. C. Barmna, A. Nath, M. Prasad (Sun Pharmaceutical Industries Ltd.), WO/2016/079699, **2016**.
- [148] a) W. P. Griffith, S. V. Ley, G. P. Whitcombe, A. D. White, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1987**, 1625-1627; b) T. J. Zerk, P. W. Moore, J. S. Harbort, S. Chow, L. Byrne, G. A. Koutsantonis, J. R. Harmer, M. Martínez, C. M. Williams, P. V. Bernhardt, *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 8435-8442.
- [149] J. D. More, N. S. Finney, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3001-3003.
- [150] T. D. Sheppard, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1043-1052.
- [151] M. P. Christy, T. Johnson, C. D. McNerlin, J. Woodard, A. T. Nelson, B. Lim, T. L. Hamilton, K. M. Freiberg, D. Siegel, *Org. Lett.* **2020**, *22*, 2365.
- [152] A. Grubb, M. Schmidt, A. Seed, P. Sampson, *Synthesis* **2012**, *44*, 1026-1029.
- [153] L. Pop, P. Lassalas, L. C. Bencze, M. I. Toşa, B. Nagy, F. D. Irimie, C. Hoarau, *Tetrahedron: Asymmetry* **2012**, *23*, 474-481.
- [154] A. Krasovskiy, P. Knochel, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 3396-3399.
- [155] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen*, Springer Spektrum, Heidelberg, Berlin, **2004**, 3. Auflage, S. 330 ff., 429 f.
- [156] R. L.-Y. Bao, R. Zhao, L. Shi, *Chem. Comm.* **2015**, *51*, 6884-6900.
- [157] A. Hermann, R. Seymen, L. Brieger, J. Kleinheider, B. Grabe, W. Hiller, C. Strohmam, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, 489-494.
- [158] A. Klapars, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14844-14845.
- [159] X. Jin, R. P. Davies, *Catal. Sci. Technol.* **2017**, *7*, 2110-2117.
- [160] X. Feng, L. Li, X. Yu, Y. Yamamoto, M. Bao, *Catal. Today* **2016**, *274*, 129-132.

- [161] A. Dondoni, A. R. Mastellari, A. Medici, E. Negrini, P. Pedrini, *Synthesis* **1986**, 1986, 757-760.
- [162] Sigma-Aldrich, „Sicherheitsdatenblatt. Trimethylzinnchlorid“, zu finden unter: <https://www.sigmaaldrich.com/DE/de/sds/aldrich/146498>, letzter Zugriff **06.04.2023**.
- [163] a) C. Makino, A. Watanabe, T. Deguchi, H. Shiozawa, I. Schreck, V. Rozehnal, T. Ishizuka, N. Watanabe, O. Ando, N. Murayama et al., *Xenobiotica* **2019**, 49, 961-969; b) C. D. Tsaltas, A. Madatian, E. M. Schubert, F. Xia, W. M. Hardesty, Y. Deng, J. L. Seymour, P. D. Gorycki, *Drug Metab. Dispos.* **2011**, 39, 1620-1632.
- [164] G. A. Allan, J. I. Gedge, A. N. R. Nedderman, S. J. Roffey, H. F. Small, R. Webster, *Xenobiotica* **2006**, 36, 399-418.
- [165] D. K. Dalvie, A. S. Kalgutkar, S. C. Khojasteh-Bakht, R. S. Obach, J. P. O'Donnell, *Chem. Res. Toxicol.* **2002**, 15, 269-299.
- [166] Moritz Grunwald, *Bachelorarbeit*, Universität Hamburg, Hamburg, **2022**.
- [167] R. J. Rahaim, J. T. Shaw, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 2912-2915.
- [168] R. Siddaraj, R. Ningegowda, N. S. Shivananju, B. S. Priya, *Eur. J. Chem.* **2018**, 9, 317-321.
- [169] H. Abe, S. Matsunaga, S. Takekawa, M. Watanabe (Takeda Pharmaceutical Company Ltd.), WO 2004/046107 A1, **2004**.
- [170] M. Argyle, C. Bartholomew, *Catalysts* **2015**, 5, 145-269.
- [171] R. Filler, R. Saha, *Future Med. Chem.* **2009**, 1, 777-791.
- [172] N. A. Meanwell, *J. Med. Chem.* **2018**, 61, 5822-5880.
- [173] R. Wilcken, M. O. Zimmermann, A. Lange, A. C. Joerger, F. M. Boeckler, *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 1363-1388.
- [174] G. Cavallo, P. Metrangolo, R. Milani, T. Pilati, A. Priimagi, G. Resnati, G. Terraneo, *Chem. Rev.* **2016**, 116, 2478-2601.
- [175] a) V. Oliveira, E. Kraka, D. Cremer, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, 18, 33031-33046; b) P. Metrangolo, F. Meyer, T. Pilati, G. Resnati, G. Terraneo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 6114-6127.
- [176] L. Hillers, *Protokoll- CHE121 Angewandte Organische Synthese*, Universität Hamburg, Hamburg, **2022**.
- [177] C. D. Varnado, C. W. Bielawski, *Polymer Science: A Comprehensive Reference*, Vol. 5.08, Elsevier, USA, **2012**, S. 175-194.
- [178] A. F. Littke, G. C. Fu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 4176-4211.
- [179] G.-J. Wu, F.-S. Han, Y.-L. Zhao, *RSC Adv.* **2015**, 5, 69776-69781.

- [180] A. C. Reiersølmoen, T. I. Aarhus, S. Eckelt, K. G. Nørsett, E. Sundby, B. H. Hoff, *Bioorg. Chem.* **2019**, *88*, 102918.
- [181] M. D. Congdon, E. S. Childress, N. N. Patwardhan, J. Gumkowski, E. A. Morris, Y. Kharel, K. R. Lynch, W. L. Santos, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 4956-4960.
- [182] Y. Tomioka, K. Ohkubo, M. Yamazaki, *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 1360-1366.
- [183] D. M. Wetzel, I. Ullah, J. Ready, S. Gaha-Lawat, B. Hu, Y. Addepalli (The Board of Regents of The University of Texas System), WO2021077102A1, **2021**.
- [184] F. Z. Xu, Y. Y. Wang, D. X. Luo, G. Yu, S. X. Guo, H. Fu, Y. H. Zhao, J. Wu, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 6306-6314.
- [185] C. Li, H. D. Dickson, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 6435-6439.
- [186] P. Stabile, A. Lamonica, A. Ribecai, D. Castoldi, G. Guercio, O. Curcuruto, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 4801-4805.
- [187] D. D. Sanz Sharley, J. M. Williams, *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 4090-4093.
- [188] L. Hennequin, A. Francois, C. T. Halsall (Astrazeneca Ab, Astrazeneka Uk Ltd.), WO2005026156A1, **2005**.
- [189] T. Koike, Y. Kajita, M. Yoshikawa, S. Ikeda, E. Kimura, T. Hasui, T. Nishi, H. Fukuda (Takeda Pharmaceutical Company Ltd.), WO2014092100, **2014**.
- [190] J. P. Whitten, D. P. Matthews, J. R. McCarthy, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1891-1894.
- [191] J. M. Muchowski, D. R. Solas, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 203-205.
- [192] A. C. Reiersølmoen, J. Han, E. Sundby, B. H. Hoff, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *155*, 562-578.
- [193] P. M. Holstein, D. Dailler, J. Vantourout, J. Shaya, A. Millet, O. Baudoin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 2805-2809.
- [194] Z. K. Wan, Y. Jiang, X. Dai, Q. Liu, W. S. Cheung, G. Deng, L. Fu (Jansen Pharmaceutica N.V., Johnson & Johnson (China) Investment Ltd.), WO2019001420A1, **2019**.
- [195] A. A. Mikhaylov, A. D. Dilman, Y. A. Khomutova, D. E. Arkhipov, A. A. Korlyukov, S. L. Ioffe, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 5670-5677.
- [196] S. Hussak, *Protokoll- CHE120 Naturstoffchemie und Medizinische Chemie*, Universität Hamburg, Hamburg, **2021**.
- [197] S. K. Chaudhary, O. Hernandez, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 99-102.
- [198] P. Patschinski, C. Zhang, H. Zipse, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 8348-8357.
- [199] F. Xu, B. Simmons, R. A. Reamer, E. Corley, J. Murry, D. Tschaen, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 312-315.
- [200] C. Huang, H.-C. Xu, *Sci. China Chem.* **2019**, *62*, 1501.

- [201] S. Hanessian, T. Jennequin, N. Boyer, V. Babonneau, U. Soma, C. La Mannoury Cour, M. J. Millan, G. de Nanteuil, *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 550-555.
- [202] M. F. Schmidt, *Chemische Biologie und Wirkstoffentwicklung*, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, **2020**, 1. Auflage, S. 11 ff.
- [203] M. Mondal, N. Radeva, H. Fanlo-Virgós, S. Otto, G. Klebe, A. K. H. Hirsch, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 9422-9426.
- [204] a) M. Mondal, M. Y. Unver, A. Pal, M. Bakker, S. P. Berrier, A. K. H. Hirsch, *Chemistry* **2016**, *22*, 14826-14830; b) V. R. Jumde, M. Mondal, R. M. Gierse, M. Y. Unver, F. Magari, R. C. W. van Lier, A. Heine, G. Klebe, A. K. H. Hirsch, *Chem. Med. Chem.* **2018**, *13*, 2266-2270.
- [205] A. P. Demchenko, *Introduction to fluorescence sensing*, Springer, New York, **2009**, 1. Auflage, S. 95 ff.
- [206] M. V. Toth, G. R. Marshall, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1990**, *36*, 544-550.
- [207] F. J. R. Rombouts, K.-I. Kusakabe, R. Alexander, N. Austin, H. Borghys, M. de Cleyn, D. Dhuyvetter, H. J. M. Gijssen, B. Hrupka, T. Jacobs et al., *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 14175-14191.
- [208] F. Tiemann, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 126-129.
- [209] C. A. van Huis, A. Casimiro-Garcia, C. F. Bigge, W. L. Cody, D. A. Dudley, K. J. Filipinski, R. J. Heemstra, J. T. Kohrt, R. J. Leadley, L. S. Narasimhan et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2501-2511.
- [210] L. A. Kayukova, *Pharm. Chem. J.* **2005**, *39*, 539-547.
- [211] A. F. Abdel-Magid, K. G. Carson, B. D. Harris, C. A. Maryanoff, R. D. Shah, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3849-3862.
- [212] R. A. Fairhurst, M. Gerspacher, R. Mah (Novartis AG), EP2448946A1, **2011**.
- [213] M. Frigerio, M. Santagostino, S. Sputore, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4537-4538.
- [214] M. Frigerio, M. Santagostino, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8019-8022.
- [215] P. R. Sultane, C. W. Bielawski, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 1046-1052.
- [216] G. M. Atkins, E. M. Burgess, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2502-2503.
- [217] J. C. Mayer, A. C. Sauer, B. A. Iglesias, T. V. Acunha, D. F. Back, O. E. Rodrigues, L. Dornelles, *J. Organomet. Chem.* **2017**, *841*, 1-11.
- [218] K. C. Nicolaou, N. P. King, M. R. Finlay, Y. He, F. Roschangar, D. Vourloumis, H. Vallberg, F. Sarabia, S. Ninkovic, D. Hepworth, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 665-697.
- [219] V. Kovalishyn, D. Hodyna, V. O. Sinenko, V. Blagodatny, I. Semenyuta, S. R. Slivchuk, V. Brovarets, G. Poda, L. Metelytsia, *Curr. Drug Discov. Technol.* **2020**, *17*, 365-375.

- [220] T. Wang, F. J. Kadow, Z. Zhang, Z. Yin, A. N. Meanwell, A. Regueiro-Ren, J. Swidorski, Y. Han, D. J. Carini, L. G. Hamann (Bristol Myers Squibb Co), US20080139572A1, **2008**.
- [221] Z. Xie, Y. Cai, H. Hu, C. Lin, J. Jiang, Z. Chen, L. Wang, Y. Pan, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4600-4603.
- [222] M. Gopinathan, C. Jin, K. Rehder, *Synthesis* **2009**, *2009*, 1979-1982.
- [223] F. G. Siméon, A. K. Brown, S. S. Zoghbi, V. M. Patterson, R. B. Innis, V. W. Pike, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 3256-3266.
- [224] O. Bezencon, C. Boss, D. Bur, O. Cormin-Boeuf, W. Fischli, C. Grisostomi, L. Remen, S. Richard-Bildstein, T. Sifferlen, T. Weller (Actelion Pharmaceuticals Ltd.), WO2006131884, **2006**.
- [225] K. Kumpan, A. Nathubhai, C. Zhang, P. J. Wood, M. D. Lloyd, A. S. Thompson, T. Haikarainen, L. Lehtiö, M. D. Threadgill, *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 3013-3032.
- [226] X. Wen, J. He, H. Xi, Q. Zheng, W. Liu, *Asian J. Org. Chem.* **2022**, *11*, e202100781.
- [227] X. Yang, G. Liu, H. Li, Y. Zhang, D. Song, C. Li, R. Wang, B. Liu, W. Liang, Y. Jing et al., *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1015-1022.
- [228] R. Ray, A. S. Hazari, S. Chandra, D. Maiti, G. K. Lahiri, *Chemistry* **2018**, *24*, 1067-1071.
- [229] N. P. Pitcher, J. R. Harjani, Y. Zhao, J. Jin, D. R. Knight, L. Li, P. Putsathit, T. V. Riley, G. P. Carter, J. B. Baell, *ACS omega* **2022**, *7*, 6737-6759.
- [230] S. Pan, C. Gao, J. Gui, B. Hu, L. Gai, C. Qiao, C. Liu, *Arab. J. Chem.* **2023**, *16*, 104410.
- [231] M. F. Boehm, E. Martinborough, M. Moorjani, J. Tamiya, L. Huang, T. Fowler, A. Novak, P. Meghani, E. Brahmachary, A. Yeager (Receptos Inc.), WO2012166951A1, **2012**.
- [232] J. T. Reeves, C. A. Malapit, F. G. Buono, K. P. Sidhu, M. A. Marsini, C. A. Sader, K. R. Fandrick, C. A. Busacca, C. H. Senanayake, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 9481-9488.
- [233] S. Das, P. Natarajan, B. König, *Chemistry* **2017**, *23*, 18161-18165.
- [234] S. M. Holzwarth, V. E. Dneprovskaia (Antidote Ip Holdings LLC.), US20200299282A1, **2020**.
- [235] R. García-Álvarez, A. E. Díaz-Álvarez, J. Borge, P. Crochet, V. Cadierno, *Organometallics* **2012**, *31*, 6482-6490.
- [236] G. Jayachitra, N. Yasmeeen, K. Srinivasa Rao, Samuel L. Ralte, R. Srinivasan, A. K. Singh, *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 3461-3466.
- [237] G. He, Q. Song, J. Wang, A. Xu, K. Peng, Q. Zhu, Y. Xu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, *30*, 127236.

- [238] B. Rammurthy, S. Peraka, A. Vasu, G. Krishna Sai, Y. Divya Rohini, N. Narender, *Asian J. Org. Chem.* **2021**, *10*, 594-601.
- [239] S. Zheng, L. Zhao, J. Wei, C. He, G. Liu, C. Duan, *Inorg. Chem. Commun* **2019**, *109*, 107558.
- [240] T. Rosen, D. T. Chu, I. M. Lico, P. B. Fernandes, K. Marsh, L. Shen, V. G. Cepa, A. G. Pernet, *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1598-1611.
- [241] C. J. Moreno, K. Hernández, S. J. Charnok, S. Gittings, M. Bolte, J. Joglar, J. Bujons, T. Parella, P. Clapés, *ACS Catal.* **2021**, *11*, 4660-4669.
- [242] M. J. I. Andrews, M. S. Chambers, H. van de Poel, G. Bar (Galapagos N.V.), WO2009135885, **2009**.
- [243] J. Wityak, M. E. Prime, F. A. Brookfield, S. M. Courtney, S. Erfan, S. Johnsen, P. D. Johnson, M. Li, R. W. Marston, L. Reed et al., *ACS Med. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 1024-1028.
- [244] A. Watanabe, N. Kiyota, T. Yamasaki, K. Tanda, T. Miyagoe, M. Sakamoto, M. Otsuka, *J. Heterocycl. Chem.* **2011**, *48*, 1132-1139.
- [245] Q. Jing, H. Li, L. J. Roman, P. Martíásek, T. L. Poulos, R. B. Silverman, *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 56-60.
- [246] C. Jorand-Lebrun, J. Dorbais, A. Quattropani, M. Schwarz, D. Valognes (Research Systems ARS Holding N.V.), US7115754B2, **2005**.
- [247] T. H. S. Tan, D. T. Hickman, J. Morral, I. G. Beadham, J. Micklefield, *Chem. Comm.* **2004**, 516-517.
- [248] T. Nakamura, T. Noguchi, H. Kobayashi, H. Miyachi, Y. Hashimoto, *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 1709-1714.
- [249] M.-J. Blanco, F. J. Sardina, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4748-4755.
- [250] T. Imaoka, O. Iwamoto, K. Noguchi, K. Nagasawa, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3799-3801.
- [251] Sigma-Aldrich, "Quantitative NMR", zu finden unter: <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/Brochure/1/qnmr-brochure-rjo.pdf>, letzter Zugriff **07.01.2023**.
- [252] V. Vaněk, M. Buděšínský, M. Rinnová, I. Rosenberg, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 862-876.
- [253] R. Lacheretz, D. G. Pardo, J. Cossy, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1245-1248.
- [254] R. Zhang, R. Zhang, R. Jian, L. Zhang, M.-T. Zhang, Y. Xia, S. Luo, *Nat. Commun.* **2022**, *13*, 428-438.
- [255] M. K. Larson, J. R. Whitaker, *J. Dairy Sci.* **1970**, *53*, 253-261.

- [256] Nelson-Jameson, “Your Safe, Quality Food is our Business”, zu finden unter: [https://nelsonjameson.com/suparen\\_600\\_microbial\\_coagulant.html](https://nelsonjameson.com/suparen_600_microbial_coagulant.html), letzter Zugriff **23.02.2023**.
- [257] J. A. Read, J. B. Cooper, L. Toldo, D. Bailey, *PDB ID: 1E5O*, **2000**.
- [258] J. Schiebel, N. Radeva, S. G. Krimmer, X. Wang, M. Stieler, F. R. Ehrmann, K. Fu, A. Metz, F. U. Huschmann, M. S. Weiss et al., *ACS Chem. Biol.* **2016**, *11*, 1693-1701.
- [259] Merck, „Germany“, zu finden unter: <https://www.sigmaaldrich.com/germany.html>, letzter Zugriff **30.12.2022**.
- [260] Brewes Magazin, „für Sicherheit und Kennzeichnung“, zu finden unter: <https://www.brewes.de/magazin/neues-zur-ghs-verordnung-frist-zur-kennzeichnung-von-gemischen-laeuft-ab>, letzter Zugriff **31.08.2023**.
- [261] Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA), „Verordnung zum Schutz vor Gefahrstoffen. Gefahrstoffverordnung – GefStoffV“, zu finden unter: [https://www.baua.de/DE/Themen/Arbeitsgestaltung-im-Betrieb/Gefahrstoffe/Arbeiten-mit-Gefahrstoffen/Gefahrstoffverordnung/Gefahrstoffverordnung\\_node.html](https://www.baua.de/DE/Themen/Arbeitsgestaltung-im-Betrieb/Gefahrstoffe/Arbeiten-mit-Gefahrstoffen/Gefahrstoffverordnung/Gefahrstoffverordnung_node.html), letzter Zugriff **07.07.2023**.
- [262] Universität Hamburg, „Arbeitssicherheit und Entsorgung“, zu finden unter: <https://www.chemie.uni-hamburg.de/service/sicherheit-und-entsorgung.html>, letzter Zugriff **07.07.2023**.

## 7. Anhang

### 7.1 Sicherheitshinweise verwendeter Gefahrenstoffe

In Tabelle 9 sind alle verwendeten Chemikalien, inklusive deren GHS-Piktogramme, Gefahrenwörtern und H- und P-Sätzen aufgeführt.

**Tabelle 9:** Alle verwendeten Gefahrenstoffe inklusive ihrer Sicherheitshinweise.<sup>[259]</sup>

Substanz	GHS-Piktogramme	H-Sätze	P-Sätze
Aceton	GHS 02, 07 Gefahr“	H225, 319, 336, EUH066	P210, 233, 240, 241, 242, 305+351+338
Acetonitril	GHS 02, 07 „Gefahr“	H225, 319, 302+312+332	P210, 280, 301+312, 303+361+353, 304+340+312, 305+351+338
<i>N</i> -Allylmethylamin	GHS 02, 05, 06 „Gefahr“	225, 314, 301+311+331	210, 233, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
2-Aminobenzonitril	GHS 07 „Gefahr“	315, 317, 319, 335, 302+312+332	280, 301+312+330, 302+352+312, 304+340+312, 305+351+338
2-Amino-4-(trifluormethyl)-benzonitril	GHS 06 „Gefahr“	H315, 319, 301+311+331	P261, 280, 301+310+330, 302+352+361+364, 304+340+311, 305+351+338+337+313
Ammoniaklösung (25%)	GHS 05, 07, 09 „Gefahr“	314, 335, 410	261, 271, 273, 280, 303+361+353, 305+351+338
Ammoniaklösung (7 M in MeOH)	GHS 02, 05, 06, 08 „Gefahr“	225, 314, 370, 412, 301+311+331 EUH071	210, 273, 280, 301+310+330, 303+361+353, 305+351+338+310
Ammoniumchlorid	GHS 07 Achtung“	302, 319	264, 270, 280, 301+312, 337+313, 305+351+338
Benzamidoxim	GHS 06 „Gefahr“	301, 3185, 319, 335	302+352, 301+310+330, 305+351+338
Benzonitril	GHS 07 „Achtung“	302+312	264, 270, 280, 301+312, 362+364, 302+352+312
2,2'-Bipyridyl	GHS 06 „Gefahr“	301+311	264, 270, 280, 301+310, 361+364, 302+352+312
<i>N</i> -Boc- <i>cis</i> -4-hydroxy-D-prolin	GHS 07 “Achtung”	319	305+351+338



Fortsetzung Tabelle 9

Bortrifluorid-diethyletherat	GHS 02, 05, 06, 08 „Gefahr“	226, 302, 314, 330, 372, 412 EUH014	210, 273, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
4-Brombenzamid	GHS 07 „Achtung“	315, 319, 335	261, 264, 271, 280, 302+352, 305+351+338
4-Brombenzotrinitril	GHS 07 „Achtung“	319, 412, 302+312	264, 273, 280, 301+312, 302+352+312, 305+351+338
4-Bromthiazol-2-carbaldehyd	GHS 07, 08 „Gefahr“	302, 319, 334	261, 264, 270, 280, 301+312, 305+351+338
BURGESS-Reagenz	GHS 07 „Achtung“	315, 319, 335	261, 264, 271, 280, 302+352, 305+351+338
<i>tert</i> -Butyl-chlordimethylsilan	GHS 02, 05, 09 „Gefahr“	228, 314, 411	210, 260, 273, 280, 303+361+353, 305+351+338+310
<i>n</i> -Butyllithium-Lösung (1.6 M in <i>n</i> -Hexan)	GHS 02, 05, 07, 08, 09 „Gefahr“	225, 250, 260, 304, 314, 336, 361f, 411 EUH014	210, 280, 231+232, 370+378, 301+330+331, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
(+)-Campher-10-sulfonsäure	GHS 05 „Gefahr“	290, 314	234, 260, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Cer(III)-chlorid	GHS 05, 09 „Gefahr“	314, 410	260, 273, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Chlortrimethylsilan	GHS 02, 05, 06 „Gefahr“	225, 312, 314, 301+331 EUH014	210, 233, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Chloroform & Chloroform- <i>d</i>	GHS 06, 08 „Gefahr“	302, 315, 319, 331, 336, 351, 361d, 372	202, 301+312, 302+352, 308+313, 304+340+311, 305+351+338
<i>N</i> -Chlorsuccinimid	GHS 05, 07, 09 „Gefahr“	290, 302, 314, 335, 410	260, 273, 280, 301+312, 303+361+353, 305+351+338
Cyanessigsäure-ethylester	GHS 07 „Achtung“	319	264, 280, 337+313, 305+351+338
DESS-MARTIN Periodinan	GHS 03, 07 „Gefahr“	272, 315, 319, 335	210, 220, 261, 264, 302+352, 305+351+338
1,2-Dichlorethan	GHS 02, 06, 08 „Gefahr“	225, 302, 304, 315, 319, 331, 335, 350	210, 331, 301+310, 303+361+353, 304+340+311, 305+351+338

Fortsetzung Tabelle 9

Dichlormethan	GHS 07, 08 „Achtung“	315, 319, 336, 351	202, 261, 264, 302+352, 308+313, 305+351+338
2,4-Dibromthiazol	GHS 05, 07 „Gefahr“	302, 315, 318, 335	280, 310, 302+352, 301+312+330, 305+351+338
<i>N,N'</i> -Dicyclohexyl- carbodiimid	GHS 05, 06 „Gefahr“	302, 311, 317, 318	261, 264, 280, 301+312, 302+352+312, 305+351+338
Diethylether	GHS 02, 07 „Gefahr“	224, 302, 336, EUH019, EUH066	210, 233, 240, 241, 301+312, 403+233
Diethylentriamin	GHS 05, 06 „Gefahr“	314, 317, 330, 335, 302+312	260, 280, 301+312, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338,
Diisopropylamin	GHS 02, 05, 06 „Gefahr“	225, 302, 314, 331, 335, 412	210, 273, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
<i>N,N'</i> -Diisopropyl- ethylamin	GHS 02, 05, 06, 09 „Gefahr“	225, 302, 318, 331, 335, 411	210, 273, 280, 310+312, 304+340+311, 305+351+338
<i>trans-N,N'</i> - Dimethylcyclohexan- 1,2-diamin	GHS 05, 07 „Gefahr“	302, 314	270, 280, 301+312, 301+330+331, 303+361+353, 305+351+338
4-Dimethylamino- pyridin	GHS 05, 06, 08, 09 „Gefahr“	310, 315, 318, 370, 411, 301+331	262, 273, 280, 301+310, 302+352+310, 305+351+338
<i>N,N</i> -Dimethyl- ethylendiamin	GHS 02, 05 „Gefahr“	226, 314	210, 233, 240, 280, 303+361+353, 305+351+338
<i>N,N</i> - Dimethylformamid	GHS 02, 07, 08 „Gefahr“	226, 319, 360D, 312+332,	210, 280, 208+313, 303+361+353, 304+340+312, 305+351+338
Dimethylsulfid	GHS 02 „Gefahr“	225	210, 233, 240, 241, 242, 243
1,4-Dioxan	GHS 02, 07, 08 „Gefahr“	225, 319, 335, 350 EUH019,EUH066	202, 210, 233, 240, 308+313, 305+351+338
Di- <i>tert</i> -Butyl- dicarbonat	GHS 02, 05, 06 „Gefahr“	226, 315, 317, 318, 330, 335	210, 233, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Essigsäure	GHS 02, 05 „Gefahr“	226, 314	210, 280, 301+330+331, 303+361+353, 305+351+338+310
Essigsäureanhydrid	GHS 02, 05, 06 „Gefahr“	226, 302, 314, 330 EUH071	210, 280, 301+312, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338

Fortsetzung Tabelle 9

Ethanol	GHS 02, 07 „Gefahr“	225, 319	210, 233, 240, 241, 242, 305+351+338
Ethylacetat	GHS 02, 07 „Gefahr“	225, 319, 336, EUH066	210, 233, 240, 241, 242, 305+351+338
Ethylencarbonat	GHS 07, 08 „Achtung“	302, 319, 373	260, 264, 270, 314, 301+312, 305+351+338
Ethylchlorformiat	GHS 02, 05, 06 „Gefahr“	225, 290, 302, 314, 330	210, 280, 301+312, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Ethylenglykol	GHS 07, 08 „Achtung“	302, 373	206, 264, 270, 314, 501, 301+312
4-Fluorbenzonitril	GHS 02, 07 „Gefahr“	228, 302+312+332	210, 240, 280, 301+312, 302+352+312, 304+340+312
4-Formylmorpholin	GHS 07 „Achtung“	317	261, 272, 280, 302+352, 333+313, 362+364
HATU	GHS 08 „Gefahr“	317, 334	261, 272, 280, 284, 302+352, 304+340+312
HBTU	GHS 07, 08 „Gefahr“	315, 317, 319, 334, 335	261, 264, 280, 302+352, 304+340+312, 305+351+338
<i>n</i> -Hexan	GHS 02, 07, 08, 09 „Gefahr“	225, 304, 315, 336, 361f, 373, 411	202, 210, 273, 331, 301+310, 303+361+353
Hydrazinhydrat (80%ige Lsg. in H <sub>2</sub> O)	GHS 05, 06, 08, 09 „Gefahr“	302, 311, 314, 317, 330, 350, 410	273, 280, 301+312, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Hydroxylamin- hydrochlorid	GHS 05, 07, 08, 09 „Achtung“	290, 315, 317, 319, 351, 373, 400, 302+312	273, 280, 301+312, 308+313, 302+352+312, 305+351+338
Imidazol	GHS 05, 07, 08 „Gefahr“	302, 314, 360D	260, 280, 301+312, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
2-Iodbenzoesäure	GHS 05, 07 „Gefahr“	302, 315, 318, 335	261, 264, 280, 301+312, 302+352, 305+351+338
2-Iodoxybenzoesäure	GHS 05, 07, 08 „Gefahr“	314, 335, 372 EUH044	260, 270, 280, 314, 303+361+353, 305+351+338
Iodmethan	GHS 02, 06, 08, 09 „Gefahr“	226, 312, 315, 319, 335, 351, 410, 301+331	210, 273, 280, 301+310, 303+361+353, 304+340+311

Fortsetzung Tabelle 9

<i>N</i> -Iodsuccinimid	GHS 07, 08, 09 „Achtung“	315, 317, 319, 341, 410	201, 273, 280, 302+352, 308+313, 305+351+338
Isopropyl- magnesiumchlorid- Lithiumchlorid- Komplex-Lsg. (1.3 M in THF)	GHS 02, 05, 07, 08 „Gefahr“	225, 314, 335, 351 EUH014, EUH018, EUH019	201, 210, 280, 301+330+331, 303+361+353, 305+351+338+310
Isopropyl- magnesiumchlorid- Lösung (2.0 M in THF)	GHS 02, 05, 07, 08 „Gefahr“	225, 260, 314, 335, 336, 351 EUH014, EUH019	210, 280, 231+232, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Kaliumcarbonat	GHS 07 „Achtung“	315, 319, 335	261, 264, 271, 280, 302+352, 305+351+338
Kaliumhydroxid	GHS 05, 07 „Gefahr“	290, 302, 314	234, 260, 280, 301+312, 303+361+353, 305+351+338
Kaliumiodid	GHS 08 „Gefahr“	372	260, 264, 270, 314, 501
Kaliumpermanganat	GHS 03, 05, 07, 08, 09 „Gefahr“	272, 302, 314, 361d, 373, 410	210, 260, 273, 280, 303+361+353, 305+351+338
Kupfer(I)iodid	GHS 05, 07, 09 „Gefahr“	302, 315, 317, 318, 410	273, 280, 301+312+330, 302+352, 305+351+338+310
Kupfer(I)oxid	GHS 05, 07, 09 „Gefahr“	318, 410, 302+332	261, 273, 280, 301+312, 304+340+312, 305+351+338
LINDLAR-Katalysator	GHS 02, 08, 09 „Gefahr“	228, 360FD, 362, 373, 410	201, 210, 260, 263, 273, 308+313
Lithiumaluminium- hydrid	GHS 02, 05 „Gefahr“	260, 314	223, 260, 280, 231+232, 303+361+353, 305+351+338
Lithiumdiisopropyl- amid	GHS 02, 05 „Gefahr“	250, 314	222; 231; 280, 310, 422, 305+351+338
Lithiumhydroxid Monohydrat	GHS 05, 07 „Gefahr“	301, 314	260, 270, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Methanol & Methanol- <i>d</i> <sub>4</sub>	GHS 02, 06, 08 „Gefahr“	225, 370, 301+311+331	210, 233, 280, 301+310, 303+361+353, 304+340+311

Fortsetzung Tabelle 9

4-Methylmorpholin- <i>N</i> -oxid	GHS 02,08 „Gefahr“	228, 361f	202, 210, 240, 241, 280, 308+313
<i>N</i> -Methyl- propargylamin	GHS 02, 05 „Gefahr“	225, 314	210, 280, 310, 305+351+338
<i>N</i> -Methylpropylamin	GHS 02, 05 „Gefahr“	225, 314	210, 280, 310, 305+351+338
Natriumborhydrid	GHS 02, 05, 06, 08 „Gefahr“	260, 301, 314, 360FD EUH014	260, 280, 231+232, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Natriumhydrid (60% in Paraffin)	GHS 02, 05 „Gefahr“	228, 260, 290, 314	210, 260, 280, 231+232, 303+361+353, 305+351+338
Natriumhydroxid	GHS 05 „Gefahr“	290, 314	234, 260, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Natriumiodid	GHS 07, 08, 09 „Gefahr“	315, 319, 372, 400	260, 264, 273, 314, 302+352, 305+351+338
Natriumcarbonat	GHS 07 „Achtung“	319	264, 280, 337+313, 305+351+338
Natriumtriacetoxy- borhydrid	GHS 02, 05, 07, 08 „Gefahr“	228, 260, 302, 318, 360FD EUH014	210, 280, 231+232, 301+312, 308+313, 305+351+338
Ninhydrin	GHS 07 „Achtung“	302, 315, 319	264, 270, 280, 301+312, 302+352, 305+351+338
2-Nitrobenzonitril	GHS 07 „Achtung“	302+332	261, 264, 270, 271, 301+312, 304+340+312
3-Nitrobenzotrifluorid	GHS 06 „Gefahr“	302, 315, 319, 330, 335	260, 264, 301+312, 302+352, 304+340+310, 305+351+338
Oxalylchlorid	GHS 02, 05, 06 „Gefahr“	260, 314, 301+331, EUH014, EUH029, EUH071	223, 280, 231+232, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Oxone ®	GHS 05, 07, 09 „Gefahr“	302, 314, 411	260, 273, 280, 301+312, 303+361+353, 305+351+338
Palladium(II)acetat	GHS 05, 07, 08, 09 „Gefahr“	317, 318, 361d, 410	202, 273, 280, 302+352, 308+313, 305+351+338
Petrolether	GHS 02, 07, 08, 09 „Gefahr“	224, 304, 315, 336, 411	210, 233, 273, 331, 301+310, 403+233

Fortsetzung Tabelle 9

Phosphormolybdänsäure Hydrat	GHS 03, 05 „Gefahr“	272, 314	210, 220, 260, 280, 303+361+353, 305+351+338
Phosphorpentoxid	GHS 05 „Gefahr“	314, EUH014	260, 280, 363, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Phosphoroxychlorid	GHS 05, 06, 08 „Gefahr“	302, 314, 330, 372 EUH014, EUH029	280, 314, 301+312, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
4-Piperidonhydrat- hydrochlorid	GHS 07 „Achtung“	315, 319	264, 280, 302+352, 332+313, 337+313, 305+351+338
2-Propanol	GHS 02, 07 „Gefahr“	225, 319, 336	210, 233, 240, 241, 242, 305+351+338
Pyridin	GHS 02, 07 „Gefahr“	225, 315, 319, 302+312+332	210, 280, 301+312, 303+361+353, 304+340+312, 305+351+338
Pyridinium- chlorochromat	GHS 03, 07, 08, 09 „Gefahr“	272, 317, 350i, 410	202, 210, 273, 280, 302+352, 308+313
Ruthenium(IV)-oxid	GHS 07 „Achtung“	319	305+351+338
Salzsäure (37%)	GHS 05, 07 „Gefahr“	290, 314, 335	234, 261, 271, 280, 303+361+353, 305+351+338
Schwefelsäure (95%)	GHS 05 „Gefahr“	290, 314	234, 280, 363, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
TBTU	GHS 02, 07 „Gefahr“	228, 317	210, 240, 241, 261, 280, 302+352
TEMPO	GHS 05 „Gefahr“	314, 412	260, 273, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Tetrabutyl- ammoniumbromid	GHS 07, 08 „Achtung“	302, 315, 319, 361fd, 412	202, 273, 301+312, 302+352, 308+313, 305+351+338
Tetrabutylammonium- fluorid-Lösung (1 M in THF)	GHS 02, 07, 08 „Gefahr“	225, 302, 315, 319, 335, 336, 351, 412	210, 273, 301+312, 308+313, 303+361+353, 305+351+338
Tetrabutyl- ammoniumiodid	GHS 07 „Achtung“	302	301+312+330
Tetrahydrofuran	GHS 02, 07, 08 „Gefahr“	225, 302, 319, 335, 336, 351, EUH019	201, 202, 210, 301+312, 308+313, 305+351+338

Fortsetzung Tabelle 9

Thionylchlorid	GHS 05, 06 „Gefahr“	302, 314, 331, 335, EUH014, EUH029	261, 280, 301+312, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Toluol	GHS 02, 07, 08 „Gefahr“	225, 304, 315, 336, 361d, 373, 412	202, 210, 273, 331, 301+310, 303+361+353
<i>p</i> -Toluolsulfonylchlorid	GHS 05, 07 „Gefahr“	290, 315, 317, 318	234, 261, 264, 280, 302+352, 305+351+338
Trichlorisocyanursäure	GHS 03, 07, 09 „Gefahr“	272, 302, 319, 335, 410 EUH031	210, 220, 261, 273, 301+312, 305+351+338
Triethylamin	GHS 02, 05, 06 „Gefahr“	225, 302, 314, 335, 311+331	210, 280, 301+312, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
Trifluoressigsäure (99%)	GHS 05, 07 „Gefahr“	314, 332, 412	261, 273, 280, 303+361+353, 304+340+310, 305+351+338
4-(Trifluormethyl)benzamid	GHS 07 „Achtung“	315, 319, 335	261, 280, 302+352, 305+351+338
4-(Trifluormethyl)benzhydrazid	GHS 07 „Achtung“	315, 319, 335	261, 264, 271, 280, 302+352, 305+351+338
4-(Trifluormethyl)benzonnitril	GHS 02, 07 „Gefahr“	228, 302+312+332	210, 240, 280, 301+312, 302+352+312, 304+340+312
4-(Trifluormethyl)benzoesäure	GHS 07 „Achtung“	315, 319, 335	261, 264, 271, 280, 302+352, 305+351+338
4-(Trifluormethyl)benzylamin	GHS 07 „Achtung“	315, 319, 335	261, 264, 271, 280, 302+352, 305+351+338
(Trimethylsilyl)diazomethan-Lösung (2 M in <i>n</i> -Hexan)	GHS 02, 06, 08, 09 „Gefahr“	225, 304, 315, 330, 336, 350, 361fd, 370, 373, 411	202, 210, 273, 331, 303+361+353, 304+340+310
Trimethylsilyltri- fluormethansulfonat	GHS 02, 05 „Gefahr“	226, 314, EUH014	210, 233, 240, 280, 303+361+353, 305+351+338
Vanillin	GHS 07 „Achtung“	319	264, 280, 337+313, 305+351+338
Wasserstoff	GHS 02, 04 „Gefahr“	220, 280	210, 377, 381, 410+403
Zitronensäure	GHS 07 „Achtung“	319, 335	261, 264, 271, 280, 304+340+312, 305+351+338



**Abbildung 60:** Allgemeingültige GHS-Piktogramme der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008.<sup>[260]</sup>

## 7.2 Entsorgung

Alle verwendeten Substanzen und Chemikalien wurden gemäß den Bestimmungen der Gefahrstoffverordnung (Stand 01.10.2021)<sup>[261]</sup> und den Bestimmungen zur Entsorgung der Universität Hamburg entsorgt (Stand 01.02.2023).<sup>[262]</sup> Eine Trennung erfolgte gemäß den dafür vorgesehenen Entsorgungsbehältern in „halogenhaltige“ und „halogenfreie“ Lösungsmittel. Saure oder basische Lösungen wurden neutralisiert und entsprechend den Sammelbehältern „andere Säuren (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-haltig)“ oder „andere Basen“ zugeführt. „Kontaminierte Betriebsmittel“ und „Filter- und Aufsaugmaterialien“ wurden in den jeweilig dafür vorgesehenen Abfallbehältern der Entsorgung zugeführt.



## 8. Danksagung

An allererster Stelle möchte ich mich bei Prof. Dr. Christian B. W. Stark für die Aufnahme in seinem Arbeitskreis, den Freiraum bei der Ausarbeitung dieser Arbeit und den Rückhalt, wenn ich ihn wirklich brauchte, bedanken.

Zudem danke ich Prof. Dr. Chris Meier für die Übernahme des Zweitgutachtens und Prof. Dr. Wolfgang Maison und Dr. Thomas Hackl danke ich für die Übernahme der Begutachtung meiner Disputation. Ebenso möchte ich mich bei Dr. Thomas Hackl für den intensiven und produktiven Austausch bezüglich mancher NMR-Spektren und Anregungen zu diesen bedanken.

Ein weiterer großer Dank richtet sich neben Prof. Dr. Christian B. W. Stark auch an Dr. Lars-Ole Haustedt (*AnalytiCon Discovery*) für die sehr interessante Aufgabenstellung und zusätzlich auch an Dr. Serghei Glinca sowie Dr. Janis Müller (beide *CrystalsFirst*) für die grundsätzliche Ermöglichung dieses Projektes in dieser umfassenden Ausführung. Dabei möchte ich für die Umsetzung vor allem Janis danken, der zu jeder Tages- und Nachtzeit mit mir in die Materie der Kristalle eingetaucht ist und mir stets mit Rat und Tat geholfen hat.

Ein besonderer Dank richtet sich auch an Dr. Patrick Ziegelmeüller, der mir für den biochemischen Teil dieser Arbeit für Fragen und Organisatorisches mit großer Sorgfalt zur Verfügung stand. Diese Unterstützung war sehr wichtig und ich bin für die Zeit und Mühe unglaublich dankbar. Im gleichen Zuge möchte ich ebenfalls Martino Morici danken, unter dessen Anleitung ich im Arbeitskreis Wilson meine Assay-Daten erheben konnte.

Des Weiteren möchte ich den NMR- und MS-Messservice-Teams der Universität Hamburg danken für ihre zahlreichen und schnellen Messungen und Ira Wallbaum, als gute Seele der OC, für jede schnelle Tat und Antwort auf noch so kleine Anliegen und Fragen.

Allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises Stark danke ich für die gemeinsame Zeit in den letzten Jahren. Vor allem der morgens stärkende Kaffee mit anfänglich Carina, Katha und Denise und später mit Daniel, Kirsten und Gunnar hat mich durch die teilweise sehr langen Tage gebracht.

Des Weiteren möchte ich Kirsten vor allem für die schöne und angenehme Laborzeit in den letzten 3 Jahren danken und für die vielen entspannten Gespräche, die mich zu den richtigen Zeiten zurück in die Realität geholt haben. Das war manchmal sehr wichtig.

Auch Daniel gilt ein besonderer Dank insbesondere fürs Aushalten in den letzten zwei Jahren, den regen Austausch, das Versorgen mit leckerem Gebäck und das Verkürzen der unzähligen langen Tage, und Gunnar, insbesondere für den Rückhalt auf den letzten Metern zum Ziel.

Auch möchte ich mich bei all meinen Praktikanten und Bacheloranden, und vor allem bei León bedanken, die mich während der Laborzeit unterstützt haben und den Laboralltag dadurch bunter, vielfältiger und abwechslungsreicher gestaltet haben.

A special thanks to Prof. Dr. Bård Helge Hoff from NTNU in Trondheim (Norway), for being the first scientist to believe in me and my chemical skills. You had a main influence to my further way in chemistry life.

Als Letztes möchte ich mich bei meinen Freunden, meiner Handball-Mannschaft und vor allem meiner Familie bedanken, die mir in den letzten Jahren immer wieder andere schöne Seiten vom Leben gezeigt haben. Meiner ganzen Familie, und vor allem meinen Eltern, danke ich für ihre stets bedingungslose Liebe und das Stärken meines Rückens zu jeder Phase meines Lebens. Ohne euch würde ich nicht da sein, wo ich heute bin.

Nicht zu vergessen ist mein Basti, der mir sowohl mit intellektuellem Austausch als auch mit all seinen anderen positiven Eigenschaften in den letzten Jahren stets zur Seite stand und für mich da war. Auch ohne deine Hilfe wäre ich heute nicht da, wo ich jetzt bin.

Vielen Dank!

## 9. Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass die vorliegende Arbeit von mir selbständig verfasst wurde und ich keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Ich versichere zudem, dass die Arbeit von mir nicht einem anderen Promotionsverfahren eingereicht wurde. Die eingereichte schriftliche Fassung entspricht der auf dem elektronischen Speichermedium.

Hamburg, 12.01.2024  
Ort, Datum

S. Eckelt  
Sarah Eckelt