Multifunktionale Siderophore als Metallchelatoren für die PET-Diagnostik

Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften

Fachbereich Chemie, Institut für Pharmazie

der Universität Hamburg

Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

vorgelegt von

Moritz Münzmay

Hamburg

2019

Erstgutachter: Prof. Dr. Wolfgang Maison

Zweitgutachter: Prof. Dr. Chris Meier

Tag der Disputation: 28.02.2020

Die vorliegende Arbeit wurde von 2015 bis 2019 im Institut für Pharmazie in der Abteilung Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Universität Hamburg unter der Betreuung von Prof. Dr. Wolfgang Maison angefertigt.

Für meine Eltern

Danksagung

Ich danke Prof. Dr. Wolfgang Maison für die herzliche Aufnahme in die Arbeitsgruppe und die Überlassung des spannenden Forschungsthemas. Danke dir für deine großartige Betreuung und dafür, dass du dir immer Zeit genommen hast, um Probleme zu diskutieren und Lösungen zu finden. Ich werde die tolle Arbeitsatmosphäre vermissen.

Ein besonderer Dank gilt auch Herr Prof. Dr. Chris Meier für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Des Weiteren möchte ich mich bei einigen Personen bedanken, die einen wesentlichen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet haben.
Zunächst möchte ich mich bei unserem Kooperationspartner Prof. Dr. John Frangioni bedanken. Ein großer Dank gilt auch allen wissenschaftlichen Serviceabteilungen. Ob NMR-Abteilung, MS-Abteilung, ZEA oder IT-Service: ohne euer Zutun und eure fleißige Arbeit wäre der reibungslose Ablauf des Forschungsbetriebs nicht möglich! Besonders möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Eifler, Frau Alpers und Frau Benkenstein aus der ZEA für die tolle Unterstützung bedanken.
Auch dem technischen Personal des Instituts für Pharmazie gilt mein herzlichster Dank. Danke Anette, Kathleen und Rainer, dass ihr immer bei allen Anliegen sofort geholfen und damit den Laden hier am Laufen gehalten habt. Der morgendliche Klönschnack mit euch wird mir sehr fehlen.

Meinen Bachelor- und Masterstudenten, Wahlpflichtpraktikanten und Azubis Beatriz, Alena, Finnya, Laurence, Paulina, Thuy, und Ceyda und möchte ich herzlich danken, dass sie mich bei dieser Arbeit unterstützt haben. Danke David und Nele, die Zusammenarbeit mit euch hat mir sehr viel Freude bereitet! Auch bei Stefan möchte ich mich für die tolle Zusammenarbeit und die geführten Photoshop-Duelle bedanken!

Ein ganz großer Dank gilt auch meinen Korrekturlesern Steffen, Florian, Erich und Thomas.

Für die unvergesslichen, letzten fünf Jahre möchte ich mich bei der gesamten Arbeitsgruppe bedanken. Über diese Zeit wart ihr für mich nicht nur Kollegen, sondern wir sind alle gute Freunde geworden. Den ehemaligen Kollegen Verena,Carsten, Ella, Julian, Marcel, Jasper, Natalija, Matze und Serge möchte ich für die gemeinsame Zeit danken. Ihr standet mir immer mit Rat und Tat zur Seite. Auch der aktuellen Crew gilt mein Dank! Sharah, Silke, Tugba, Rabia, Turbo, Tim, Tom, Erich und Malte: danke euch für die tollen

Erlebnisse während und abseits der Arbeitszeit und dafür, dass ihr den Laboralltag immer mit einer Prise Verrücktheit versüßt habt. Ein großes Dankeschön auch an die beiden Kaffeesüchtigen aus dem Schreibraum, Malte und Maik, ohne die das Schreiben dieser Arbeit nur halb so schön gewesen wäre. Besonders möchte ich mich bei meinen Lab-Buddys Franziska und Erich bedanken. Es war eine echt tolle Zeit mit euch! Danke das ihr meinen teils skurrilen Musikgeschmack toleriert und mich in frustrierenden Zeiten immer wieder motiviert und auf den Boden der Tatsachen zurückgeholt habt.

Ich möchte mich auch bei den übrigen Mitgliedern des Instituts bedanken. Danke den Arbeitsgruppen AK Schützenmeister, AK Wicha, Claudia, Melanie, Ulli und Thomas. Ob in den Praktika, im Labor oder abseits des Uni-Alltags, mit euch kann man immer Spaß haben. Danke für die Zusammenarbeit!

Ein ganz großer Dank geht auch an alle Freunde abseits des Universitätslebens. Danke, dass ihr immer ein offenes Ohr für meine Problemchen hattet und mir immer die nötige Ablenkung vom Uni-Stress verschafft habt. Liebe Dormagener und Aachener: Ich bin sehr glücklich und stolz euch meine Freunde nennen zu dürfen! Trotz aller Veränderungen die das Leben so mit sich bringt stehen wir immer noch so zusammen wie damals zu Schul- und Studienanfangszeiten. Wahnsinn! Auch bei der Daddelconnection bestehend aus Carsten, Florian und Steffen möchte ich mich bedanken. Ich hoffe, dass das Zocken am Montag als Tradition erhalten bleibt, eure Gesellschaft und Blödeleien möchte ich nicht missen.

Ein ganz besonderer Dank geht an Jana. Danke, dass du mir während der nicht immer leichten Zeit des Chemiestudiums immer mit Zuspruch und Unterstützung zur Seite standest. Während dieses Lebensabschnitts warst du mir in allen Belangen immer eine große Stütze und hast mir stets den Rücken freigehalten. Danke dir für die tollen gemeinsamen Jahre und Erlebnisse, sowie die vielen die noch kommen werden.

Zum Schluss möchte ich meiner Familie von Herzen danken! Ohne eure kompromisslose Unterstützung und Bekräftigung wäre ich nicht an diesem Punkt an dem ich heute bin. Ich hoffe, ich mache euch stolz. Ich bin sehr froh, dass ich euch zu habe!

Vorbemerkung

Diese Doktorarbeit beinhaltet die Ergebnisse mehrerer Bachelorarbeiten, die unter meiner Aufsicht angefertigt wurden.

Aus diesem Grund sind Teile der Ergebnisse bereits in folgenden Bachelorarbeiten zu finden:

- Nele Treblin

  „Synthese modularer peptidischer Hydroxamate als Vorläuferverbindungen neuartiger PET-Liganden“, Hamburg 2016.

- David Victor Labes

  „Synthese modularer, modifizierter DFO-Analoga“, Hamburg 2017.

Des Weiteren wurde die Grundlage zur Entwicklung und Etablierung der Synthese der Monomer-Bausteine in Zusammenarbeit mit Florian Rüping durchgeführt. Somit finden sich Ergebnisse dieser Arbeit ebenfalls in der von Florian Rüping veröffentlichten Dissertation.

- Florian Rüping

  „Synthese modularer Folsäure-Mimetika und funktionalisierter DFO-Derivate zur Anwendung in der Tumordiagnostik“, Hamburg 2017.

Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

„Multifunktionale Siderophore als Metallchelatoren für die PET Diagnostik“

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt zu haben. Die eingereichte schriftliche Fassung entspricht der auf dem elektronischen Speichermedium. Ich versichere, dass diese Dissertation nicht in einem früheren Promotionsverfahren eingereicht wurde.

Hamburg, den _____ _____

Moritz Münzmay

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis I

Abkürzungsverzeichnis IV

1. Einleitung und Kenntnisstand 1

1.1. Positronen-Emissions-Tomographie 1

1.2. Radioisotope und Radiopharmaka für das PET-Imaging 3

1.3. Radiochemie und Herstellung von 89-Zirconium 7

1.4. Chemische und physiologische Bedeutung von Zirconium 8

1.5. Chelatoren für die Komplexierung von Zirkonium 11

1.6. Fazit 21

2. Aufgabenstellung und Planung 23

3. Ergebnisse und Diskussion 26

3.1. Entwicklung der Schutzgruppenstrategie 26

3.2. Syntheseplanung der Monomerbausteine 28

3.3. Synthese des Ornithin-GABA-Monomers 32

3.4. Synthese der Ornithin-β-Alanin- und Lysin-β-Alanin Monomere 39

3.5. Synthese des Peptidrückgrats 43

3.5.1. Festphasenpeptidsynthese 43

3.5.2. Synthese der Ornithin-Chelatoren 45

3.5.3. Synthese der Lysin-Chelatoren 47

3.5.4. Synthese der alternierenden Chelatoren 49

3.6. Seitenkettenmodifikation und Abspaltung der Schutzgruppen 53

3.7. Evaluation der Liganden 66

3.7.1. Transchelatisierungsassay (ETDA) 68

3.7.2. Kinetik der Komplexbildung 75

3.7.3. Evaluation des Tetramer-Orn-Zr-Komplexes 76

4. Zusammenfassung 80

5. Summary ... 83
6. Ausblick ... 86
7. Experimenteller Teil ... 88
7.1. Vorbemerkungen ... 88
7.1.1. Allgemeine Methoden ... 88
7.1.2. Chromatographische Methoden ... 88
7.1.3. Instrumentelle Analytik ... 89
7.1.4. Festphasenpeptidsynthese ... 91
7.1.5. Weitere Methoden ... 92
7.2. Arbeitsvorschriften ... 93
7.2.1. Synthese der Seitenketten ... 93
7.2.2. Synthese des Ornithin-β-Alanin-Monomers ... 99
7.2.3. Synthese des Lysin-β-Alanin-Monomers ... 106
7.2.4. Synthese des Ornithin-γ-Aminobuttersäure-Monomers ... 113
7.2.5. Synthese der Ornithin-basierten Liganden ... 119
7.2.6. Synthese der Lysin-basierten Liganden ... 127
7.2.7. Synthese der alternierenden Liganden ... 135
7.2.8. Seitenkettenfunktionalisierung mittels „Click“-Chemie ... 145
7.2.9. Abspaltung der verbleibenden Schutzgruppen ... 153
7.3. Komplexierungsstudie mit NatZirconium [108] ... 163
7.3.1. Tranchelatisierungsassay ... 163
7.3.2. Kinetik der Bildung des Zr-Komplexes ... 164
8. Anhang ... 165
8.1. NMR- und LC-MS-Spektren ... 165
8.2. LC-MS-Spektren der Komplexevaluation ... 220
8.2.1. Vorevaluation ... 220
8.2.2. Kinetikstudie ... 226

8.2.3. Validierung von Tetra-Orn-Zr 149 229

8.3. Gefahrstoffverzeichnis 232

9. Literaturverzeichnis 237

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorbtionsspektrometrie
AHX	6-Aminohexansäure
Äq.	Äquivalent
β^+	Positron
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
Boc	*tert*-Butyloxycarbonyl-carbamat
BPO	Dibenzoylperoxid
Cbz	Benzyloxycarbonyl-carbamat
Cbz-Cl	Chlorameisensäurebenzylester
CHNO	Elementaranalyse
CN	*coordination number* (Koordinationszahl)
cRGD	cyclisches RGD Protein (RGD = H-Arginin-Glycin-Asparaginsäure-NH_2)
CT	Röntgencomputer Tomographie
CuAAC	*Copper-catalyzed azide-alkyne coupling*
d	Dublett
dd	Dublett von Dublett
DAD	*diode array detector*
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	*N,N*-Dicyclohexylcarbodiimid
demin.	demineralisiert
DFO	Desferrioxamin B
DIC	*N,N*-Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	*N,N*-Diisopropylethylamin
4-DMAP	4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin
DMF	*N,N*-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DOTA	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
EC	*electron capture* (Elektroneneinfang)
EDC · HCl	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid

EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
E_γ	Energie ausgesendeter γ-Strahlen
EIC	*extracted Ion Chromatogram*
EI-MS	*electron ionization mass spectrometry*
ESI	*electron spray ionization*
EtOAc	Ethylacetat
FA	Ameisensäure
^{18}FDG	[^{18}F]-Fluorodeoxyglucose
Fmoc	*N*-(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy)-carbamat
Fmoc-OSu	*N*-(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy)succinimid
FSC	Fusarinin C
GABA	γ-Aminobuttersäure
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
h	Stunde
HAc	Essigsäure
HATU	*O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N′,N′*-tetramethyluronium-hexafluorphosphat
HBTU	2-(1*H*-Benzotriazolyl)-1,1,3,3-Tetramethyluroniumhexafluorophosphat
HER2	Humaner Epidermaler Wachstumsfaktor Rezeptor 2
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HOPO	Hydroxypyridinon
HPLC	*High pressure liquid chromatography*
Hz	Hertz
HSAB	*Hard and Soft Acids and Bases* (Pearson Konzept)
IC	*internal conversion* (Innere Konversion)
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
ICP-MS	*inductive coupled plasma mass spectrometry*
ICP-OES	*inductively coupled plasma optical emission spectrometry*
ID/g	Injizierte Dosis pro Gramm Körpergewicht
IR	Infrarotspektroskopie
J	skalare Kopplungskonstante
konz.	konzentriert

LC-MS	*liquid chromatography mass spectrometry*
Lit.	Literatur
Lsg.	Lösung
Lys	L-Lysin
m	Multiplett
M	molar
*m*CPBA	*meta*-Chlorperbenzoesäure
Milli-Q	Reinstwasser
min	Minute
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Massenspektrometrie
NEt_3	Triethylamin
NHS	*N*-Hydroxysuccinimidyl-
NMM	*N*-Methylmorpholin
NMR	*nuclear magnetic resonance*
Orn	L-Ornithin
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
PDE	P*ermitted Daily Exposure*
PEG	Poly(ethylenglykol)
PET	Positronen-Emissionstomographie
PG	*protecting group*, Schutzgruppe
PLGA	Poly(lactid-co-glycolid)
pos.	Positiv
ppm	*parts per million*
quant.	quantitativ
quin.	Quintett
R_f	Retentionsfaktor für Dünnschichtchromatographie
RT	Raumtemperatur
SPECT	Einzelphotonen Emissions Computer Tomographie
SPPS	*Solid-phase peptide synthesis*
$t_{1/2}$	Halbwertszeit
*t*Bu	*tert*-Butyl
TBTA	Tris[(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin)
TFA	Trifluoressigsäure

TES	Triethylsilan
TIS	Triisopropylsilan
s	Singulett
s_{br}	breites Singulett
t	Triplett
UV	Ultraviolett
UV/Vis	Elektronenabsorptionsspektroskopie
v	Volumen
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl

1. Einleitung und Kenntnisstand

Geht es um die erfolgreiche Behandlung von Krankheiten, so ist wohl kaum ein Faktor von so großer Bedeutung wie die Zeit. Dabei steht vor allem die frühzeitige und präzise Diagnose im Vordergrund, die es den Medizinern erlaubt, insbesondere bei Krankheiten mit raschem und aggressivem Verlauf, bereits im Anfangsstadium eine geeignete Therapie zu entwickeln. In diesem Kontext hat sich die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) als fester Bestandteil des Repertoires bildgebender Verfahren im klinischen und biomedizinischen Alltag etabliert. Durch seine exzellente Sensitivität und die Möglichkeit der Quantifizierung ist die PET, insbesondere in der onkologischen Diagnostik, ein wichtiges Werkzeug, welches in Kombination mit Techniken wie der Computertomographie (PET-CT) oder der Magnetresonanz-Tomographie (PET-MRT) eine besonders attraktive Methode von unschätzbarem Wert darstellt.[1-2] Neben der Kombination mit anderen Tomographiemethoden lieferte die Forschung der letzten Dekade mit neuartigen sogenannten zielgerichteten Radiopharmazeutika auf Basis von biomolekularen Vektoren, wie Antikörpern, Oligopeptiden oder individuell entworfenen *small molecules*, immer wieder neue Ansätze durch die die Vision einer hochleistungsfähigen, personalisierten Diagnostik mittels PET näher denn je ist.[3-5]

1.1. Positronen-Emissions-Tomographie

Die PET ist ein nicht-invasives nuklearmedizinisches Verfahren zur dreidimensionalen Visualisierung unterschiedlicher Gewebestrukturen oder Stoffwechselprozesse. Als bildgebende Komponente werden Neutronen-defiziente Kerne verwendet, welche beim Zerfall Positronen β^+ emittieren (Formel 1-1).[6]

$$ {}^{A}_{Z}X \longrightarrow {}^{A}_{Z-1}Y + \beta^+ \qquad (1\text{-}1) $$

A = Massenzahl

Z = Ordnungszahl

Diese Radionuklide werden dem Patienten in Form eines sogenannten Radiotracers intravenös injiziert, welcher sich seiner Biodistribution entsprechend im Körper verteilt und so in oder in die Peripherie der Zielorgane gelangt.[7] Während der Untersuchung zerfällt der Kern entsprechend seiner Halbwertszeit und emittiert dabei Positronen, welche eine kurze Distanz im umliegenden Gewebe zurücklegen (Abbildung 1-1).[8]

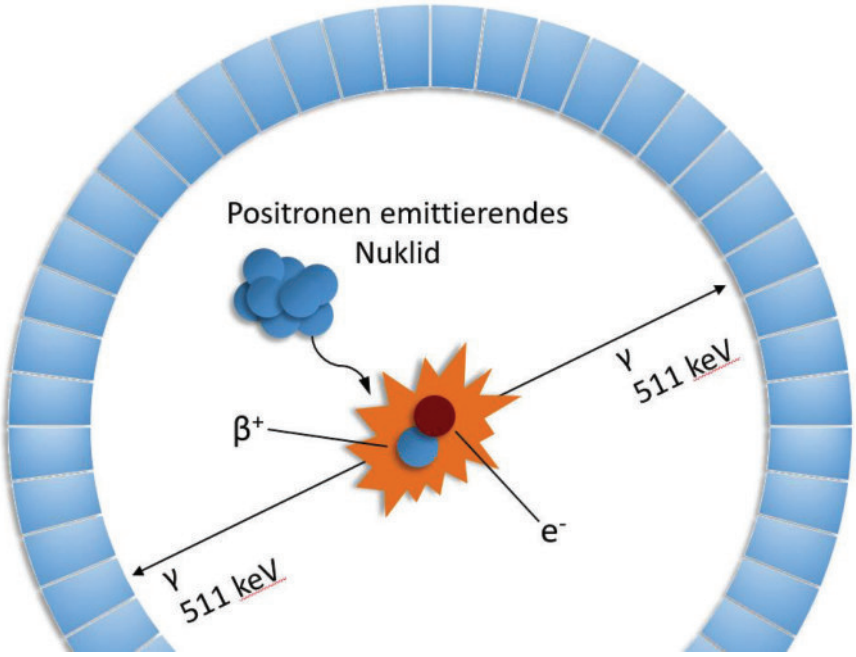


Abbildung 1-1: Funktionsprinzip der PET. Das Radionuklid zerfällt unter Abgabe eines Positrons, welches im umgebenden Gewebe auf ein Elektron trifft. In der sog. Annihilation der beiden Elementarteilchen werden zwei Photonen mit einer Energie von 511 keV freigesetzt, die vom Punkt der Annihilation in einem Winkel von 180 ° zu einander ausstrahlen. Bei Koinzidenz (~5-15 ns) wird vom Detektor-Ring ein Signal detektiert. Spatiale und temporale Verteilung der Ereignisse erlaubt die Berechnung eines Bildes am Computer. [8-9]

Kommt es zur Kollision zwischen dem ausgesendeten Positron und seinem Gegenpart, einem Elektron, übertragen beide Elementarteilchen ihre Ruheenergie und die verbleibende kinetische Energie in einem als Annihilation bezeichneten Ereignis. [10] Hierbei entstehen simultan zwei Photonen mit einer Energie von 511 keV, die in einem Winkel von 180° zueinander antiparallel ausgestrahlt werden. [11] Da es sich um γ-Strahlen handelt wird das umliegende Gewebe penetriert und es kommt zum Austritt der Photonen aus dem Körper. Durch die im PET-Scanner ringförmig angeordneten Szintillationsdetektoren wird bei koinzidentem Auftreffen innerhalb eines Zeitraums von ca. 5-15 ns auf zwei gegenüberliegenden Detektoren ein Signal aufgezeichnet. [12-13] Entgegen des Namens, werden bei der PET also Photonen detektiert, welche repräsentativ für die Annihilation von Positron und Elektron stehen. Mittels computergestützter Methoden lässt sich der Ursprung der Annihilationsereignisse errechnen und aus der räumlichen und zeitlichen Verteilung der Signale ein Bild generieren. [14-15] Da das Detektionsprinzip der Koinzidenz elektronischer Natur ist, erlaubt dies eine Detektionsrate von ca. 1% aller Emissionsereignisse. [16] Im Gegensatz zu anderen nuklearmedizinischen Methoden, wie beispielsweise der Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (SPECT), bei der auf eine Filterung der Photonen mit Hilfe von Kollimatoren zurückgegriffen wird und dadurch nur ca. 0.01-0.02% aller Emissionsereignisse detektiert werden, ergibt sich dadurch für die PET eine deutlich

höhere Sensitivität.[16-18] Aufgrund dieser hohen Sensitivität sind Konzentrationen der Radiopharmaka im Bereich von 10^{-11}-10^{-12} M ausreichend, wodurch die Belastung des Patienten durch radioaktive Strahlung reduziert wird.[19-20] Die Auflösung der erhaltenen PET-Aufnahmen wird durch zwei physikalische Größen limitiert: Positronenreichweite und Photonen Nicht-Kollinearität.[21-22] Wie zuvor beschrieben finden radioaktiver Zerfall und Annihilation nicht notwendigerweise am selben Ort statt, da das ausgestrahlte Positron eine Distanz im umliegenden Gewebe zurücklegen kann. Die Positronenreichweite korreliert mit der für jedes Nuklid spezifischen kinetischen Energie der ausgesendeten Positronen, sodass die Wahl geeigneter Radionuklide einen entscheidenden Einfluss auf die Auflösung der Methodik haben kann.[9, 23] Von weit größerer Bedeutung für die Auswahl des Radioisotopes ist der verwendete Radiotracer in welchen das Nuklid implementiert werden soll. In der Praxis muss hier eine wohlüberlegte Abstimmung von biologischer Halbwertszeit des Radiotracers und der physikalischen Halbwertszeit des Radionuklids erfolgen.

1.2. Radioisotope und Radiopharmaka für das PET-Imaging

Die Entwicklung des ersten Cyclotrons im Jahre 1931 durch LAWRENCE und LIVINGSTON in Berkeley, Kalifornien und die damit verbundene Produktion verschiedener Positronen emittierender Radionuklide, wie ^{11}C, ^{13}N, ^{15}O und ^{18}F, legte den Grundstein für die darauf einsetzende Entwicklung, diese Kerne in Form von Radiopharmazeutika zu verwenden.[24-25] Auch heute noch wird der Großteil aller PET-Radionuklide durch den Einsatz eines Cyclotrons hergestellt, welches daher in der Vergangenheit als „Henne die goldene Eier legt“ tituliert wurde.[26] Die Herstellung der Radioisotope erfolgt im Cyclotron durch Beschuss eines geeigneten Ausganselements mit niedrig- bis mittelenergetischen (10-20 MeV) Protonen. Durch elektronische Beschleunigung von negativ geladenen Hydrid-Ionen entlang eines spiralförmigen Pfads in Anwesenheit eines Magnetfelds, wird der Hydrid-Teilchenstrahl nach Erreichen des gewünschten Energielevels durch eine Graphitfolie gelenkt. Hierbei werden die Elektronen des Hydrids abgetrennt wodurch ein Protonen-Strahl erhalten wird.[27] Die so erhaltenen, auch als „organische“ Radionuklide titulierten Isotope ^{11}C, ^{13}N, ^{15}O und ^{18}F zeichnen sich durch ihre kurze Halbwertszeit aus, die von wenigen Minuten bis circa zwei Stunden reicht (Tabelle 1-1).[28]

Tabelle 1-1: Zerfallseigenschaften ausgewählter nicht-metallischer Radionuklide für das PET-Imaging. Die angegebene Positronen-Energie entspricht den in der Literatur angegebenen Mittelwerten. [28-29]

Radioisotop	Halbwertszeit $t_{1/2}$	Zerfall % β^+	β^+-Energie [keV]
^{11}C	20.4 min	100%	390
^{13}N	9.97 min	100%	492
^{18}F	110 min	100%	252
^{124}I	100 h	22.7%	975

Entsprechend dieser Halbwertszeiten ergeben sich für die Anwendung sowohl Vor- als auch Nachteile. So ist beispielsweise die Exposition für den Patienten durch die kurze Halbwertszeit gering und es können zur Erhöhung der Qualität des Bildes höhere Aktivitäten bzw. Konzentration des entsprechenden Tracers verabreicht werden ohne den Patienten übermäßig zu belasten. Dem gegenüber steht die Notwendigkeit, die Radiopharmaka durch kovalente Verknüpfung der Radioisotope über häufig mehrstufige Synthesen zu markieren, wodurch häufig mehrere Halbwertszeiten des Nuklids durchlaufen werden (Abbildung 1-2).

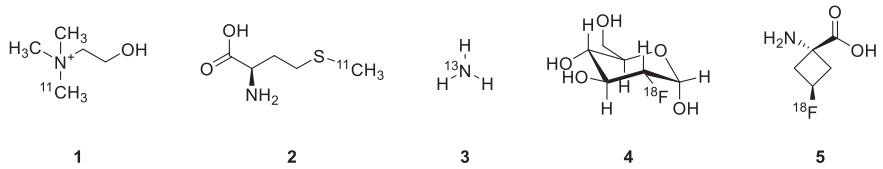


Abbildung 1-2: Ausgewählte Radiopharmaka mit kovalent gebundenen Radioisotopen: **1** [^{11}C]Cholin, **2** [^{11}C]Methionin, **3** [^{13}N]NH_3, **4** [^{18}F]Fluorodeoxyglucose, **5** [^{18}F]Fluciclovin. [30-31]

Darüber hinaus erfordern die kurzen Halbwertszeiten das Vorhandensein eines vollausgestatteten Radiolabors mit Cyclotron, Syntheseplattform und instrumenteller Analytik zur Qualitätssicherung um eine direkte Verwendung nach Produktion des Radioisotopes gewährleisten zu können. [30] ^{18}F nimmt mit einer Halbwertszeit von 110 min eine Sonderstellung ein, da bei Verwendung höherer Aktivitäten der zeitliche Aufwand für Produktion, Qualitätsprüfung und Versand ausgeglichen werden kann. Insbesondere in der Onkologie hat sich ^{18}F in Form von [^{18}F]-Fluorodeoxyglucose **4** (^{18}FDG) für die PET als Radiotracer etabliert. [32-35] Der Wirkmechanismus beruht auf der für Krebszellen erhöhten Glykolyse, die bereits 1924 von WARBURG et. al. beschrieben wurde, und heute nach selbigem als Warburg-Effekt tituliert wird. [36] ^{18}FDG verhält sich in ihrem Metabolismus zunächst wie Glucose und wird, nach Aufnahme in die Zelle durch Glucose-Transporter, mittels Hexokinase phosphoryliert. Durch die Substitution der 2‘-Position und des entsprechend fehlenden Sauerstoff-Atoms ist die folgende Isomerisierung zur Fructose-Form, welche im Falle von Glucose auftreten würde, im weiteren Metabolismus nicht

möglich, sodass sich der Tracer in der Zelle anreichert.[37] Dieser elegante Wirkmechanismus eignet sich insbesondere im Kontext der therapiebegleitenden Diagnostik, um beispielsweise die Remission während einer Chemo- oder Strahlentherapie zu verfolgen.[35] Durch den ubiquitären Verbrauch von Glukose im Körper wird das Signal/Rauschen-Verhältnis bei der Verwendung von ^{18}FDG allerdings stark beeinträchtigt. Aufgrund dieser fehlenden Selektivität ist eine Anwendung für die Früherkennung, in möglichst frühen Phasen der Tumorentstehung (<1-3 g) oder auch zur Lokalisierung sehr kleiner Metastasen, oft problematisch.[38-41]

Vor diesem Hintergrund steht die Entwicklung zielgerichteter Radiopharmaka zur selektiven Visualisierung krankhaften Gewebes im Vordergrund aktueller Forschungsprojekte. Ein in diesem Zusammenhang häufig verwendetes Konzept ist das sogenannte „*tumor targeting*“ oder allgemein das „*disease targeting*“. Dabei bedient man sich Markern, in der Regel Proteine, wie zum Beispiel Integrine, Transmembranproteine oder Rezeptoren, welche auf der Oberfläche kranker Zellen exklusiv vorkommen oder in hohem Maß überexprimiert werden.[42-44] Durch Konjugation eines Radiochelats an ein für den Marker spezifisches Substrat können hochspezifische Diagnostika oder Therapeutika erhalten werden (Abbildung 1-3).[45]

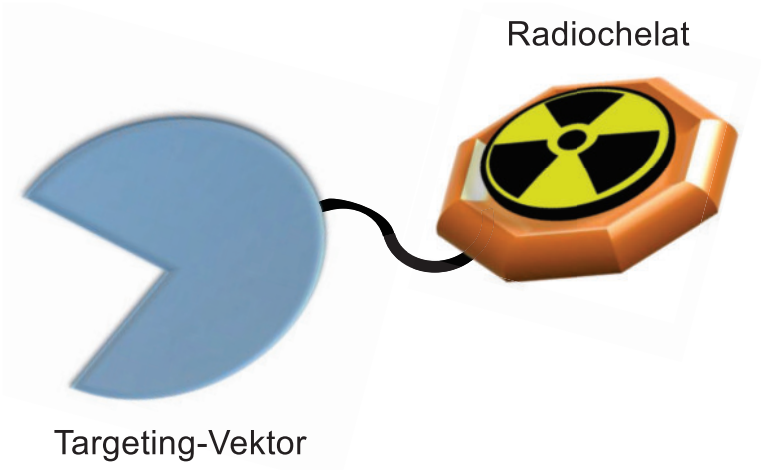


Abbildung 1-3: Schematischer Aufbau eines zielgerichteten Radiopharmazeutikums. Ein Biomolekül (Antikörper, Peptid, *small molecule*) dient als Targeting Vektor welcher gezielt Krankheitsmarker auf der Zelloberfläche erkrankter Zellen ansteuern kann. Als bildgebende Komponente wird der mit dem Radionuklid markierte Chelator an den Targeting Vektor konjugiert (Radiochelat).

Insbesondere Antikörper oder Antikörperfragmente sind aufgrund ihrer evolutionär bedingten Selektivität für ihr spezifisches Antigen attraktive Targeting-Vektoren (sogenanntes immunoPET).[46] Aufgrund der Größe solcher Biomoleküle unterscheiden sich die pharmakokinetischen Eigenschaften von denen kleiner Moleküle. Entscheidender Parameter ist die Kinetik der Biodistribution und Eliminierung, welche im Falle von Antikörpern oder Proteinen typischerweise im Bereich mehrerer Tage liegt und damit die

Verwendung von Radionukliden mit einer entsprechend langen Halbwertszeit voraussetzt. In diesem Zusammenhang wurde die Produktion und Radiochemie langlebiger, metallischer Radioisotope, wie zum Beispiel ^{64}Cu, ^{68}Ga, ^{86}Y und ^{89}Zr, eingehend untersucht (Tabelle 1-2).

Tabelle 1-2: Zerfallseigenschaften ausgewählter metallischer Radionuklide für das PET-Imaging. Die angegebene Positronen-Energie entspricht den in der Literatur angegebenen Mittelwerten.[47-50]

Radioisotop	Halbwertszeit $t_{1/2}$	Zerfall % β^+	β^+-Energie [keV]
^{64}Cu	12.7 h	β^+ (19%)	278
^{68}Ga	1.1 h	β^+ (90%)	830
^{86}Y	14.7 h	β^+ (33%)	535
^{89}Zr	78.4 h	β^+ (23%)	396

Während ^{64}Cu in Kombination mit Antikörpern bereits erfolgreich in mehreren präklinischen Studien im Mausmodell verwendet wurde, stellte sich die vergleichsweise kurze Halbwertszeit von 12.7 h als limitierender Faktor für die Anwendung im menschlichen Körper heraus.[51-55] Ebenso wie für ^{86}Y stellt die Kombination von ^{64}Cu mit kleinen Peptiden oder kleinen Antikörperfragmenten eine effektivere Verwendung dieser Radioisotope dar, deren Anwendungsspektrum bereits für eine Vielzahl von Krankheitsmarkern in mehreren Studien demonstriert wurde.[56-59] Neben metallischen Kernen stand auch das Isotop ^{124}I, welches mit einer Halbwertszeit von 100 h in einer Größenordnung mit der biologischen Halbwertszeit von Antikörpern liegt, im Fokus der Forschung.[60-62] Dabei stellten sich die hohe Energie der ausgesendeten Positronen und eine dadurch verringerte Auflösung, sowie eine *in vivo* beobachtete Dehalogenierung der ^{124}I-markierten Antikörper als Problematik für mögliche klinische Anwendungen heraus.[63]
Ausgehend von den Einschränkungen der zuvor genannten Radioisotope rückte der Positronen-Emitter ^{89}Zr als möglicher Kandidat für das immunoPET in den Fokus der Forschung. Mit einer Halbwertszeit von 78.4 h, liegt das Isotop, wie auch ^{124}I, in einer Größenordnung mit der biologischen Halbwertszeit von Antikörpern.[48] Hierbei konnte bereits im Jahr 1997 das mögliche Potential des Isotops, anhand von ^{89}Zr markierten Antikörpern zur Visualisierung von in Mäusen xenotransplantierten Ovarialtumoren, demonstriert werden.[64] Trotz dieser frühen Erfolge dauerte es weitere 10 Jahre bis die erste klinische Studie mit ^{89}Zr als PET-Radiotracer veröffentlicht wurde bei der mit chimären ^{89}Zr-markierten anti-CD44v6 Antikörpern Plattenepithelkarzinome visualisiert werden konnten.[65] Damit festigte sich endgültig die Position von ^{89}Zr als Radiometall der

Wahl für eine Anwendung in Verbindung mit langzirkulierenden Targeting-Funktionen wie Antikörpern, Peptiden oder Nanopartikeln.[66] In der Folge wurden ^{89}Zr-PET-Radiotracer für eine große Bandbreite an Tumorzelllinien entwickelt und ihr Potential in präklinischen und klinischen Studien demonstriert.[67]

1.3. Radiochemie und Herstellung von 89-Zirconium

Betrachtet man ^{89}Zr in Hinblick auf die PET-Diagnostik so muss diese Betrachtung mit den physikalischen Eigenschaften, also dem Zerfall des Radioisotops, beginnen. ^{89}Zr besitzt eine Halbwertszeit von 78.4 h und liegt damit wie in Abschnitt 1.2 beschrieben in einer Größenordnung mit der biologischen Halbwertszeit größerer Biomoleküle und langzirkulierender Nanopartikel. Der Zerfall des Isotops erfolgt sowohl mittels Elektroneneinfang (EC) als auch durch Positronen-Emission zu metastabilem ^{89m}Y.[68] Die in Folge des Elektroneneinfangs ausgesendeten Auger-Elektronen weisen im Falle von ^{89}Zr eine geringe Intensität auf, sodass keine Interferenz mit den bei der Annihilation ausgesendeten γ-Strahlen (511 keV), auftritt.[69] Das entstandene Intermediat ^{89m}Y zerfällt mit einer Halbwertzeit von 15.7 s durch Photonen-Emission (E_γ = 909 keV) zu stabilem ^{89}Y (Abbildung 1-4 links).[70-71] Auch hier kommt es durch die deutlich höhere Energie der ausgesendeten γ-Strahlen zu keinen störenden Interferenzen bei der Detektion der Koinzidenten der Annihilation.

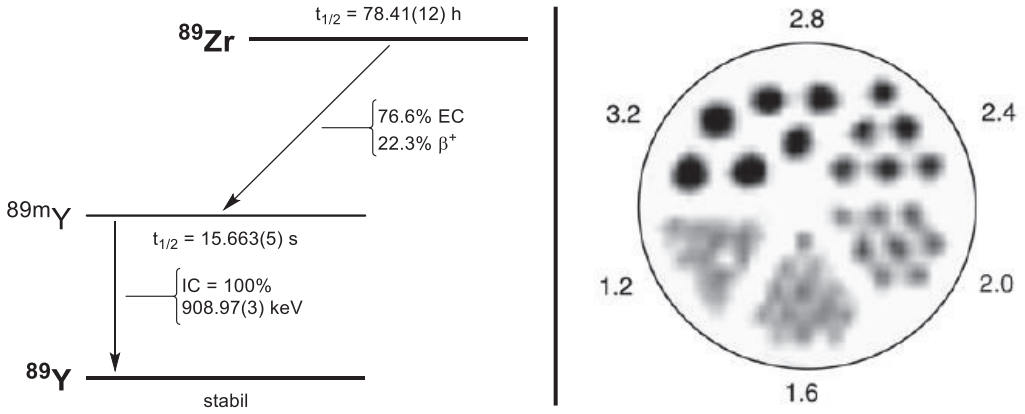


Abbildung 1-4: Links: Vereinfachtes Zerfallsschema von ^{89}Zr, welches zunächst mittels β^+-Emission und Elektroneneinfang (EC) zu metastabilem ^{89m}Y zerfällt. Dieses Isotop wiederum geht nach innerer Konversion (IC) in das stabile ^{89}Y über. Darstellung in Anlehnung an HOLLAND et. al.[68], DILWORTH et. al.[69] und DERI et. al.[67] **Rechts:** Statische PET-Aufnahme (10 min) eines sog. „Derenzo Phantom" (Lochplatte mit eingelassenen Kapillaren Ø = 1.2-3.2 mm) zur Bestimmung der spatialen Auflösung von ^{89}Zr. Verwendung der Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. Jason P. Holland.[68]

Darüber hinaus weisen die ausgesendeten Positronen eine vergleichsweise niedrige durchschnittliche Energie von 395.5 keV auf, wodurch sich mit ^{89}Zr sehr hohe Auflösungen im Bereich von 2-4 mm erreichen lassen (Abbildung 1-4 rechts).[67, 69] Anhand dieser Daten

zeigt sich die Qualität von ^{89}Zr als langlebiges Radioisotop für die PET-Diagnostik, im Vergleich mit anderen Kernen. Der Halogen-Konkurrent ^{124}I weist beispielsweise eine ähnliche Positronen-Ausbeute von 23% auf, diese besitzen allerdings eine mehr als doppelt so große durchschnittliche Energie (975 keV), wodurch die Auflösung stark limitiert wird. Darüber werden beim Zerfall von ^{124}I zum angeregten Zustand ^{124}Te weitere Photonen in einem Energiebereich von 100-150 keV um die Annihilationsenergie von 511 keV ausgesendet, wodurch es zu Interferenzen bei der Detektion kommt.[72]

Neben seinen vorteilhaften Zerfallseigenschaften zeichnet sich ^{89}Zr durch eine einfache Produktion und Reinigung aus. Wie bei den meisten Radioisotopen erfolgt die Herstellung von ^{89}Zr mittels eines Cyclotrons. Als Startmaterial wird für die Herstellung das natürlich vorkommende und kommerziell erhältliche Isotop ^{89}Y in Form einer Folie (meist Y_2O_3) verwendet. Durch Beschuss des Targets mit einem Strahl hochenergetischer Protonen (ca. 13-15 MeV) entsteht ^{89}Zr.[73] Während anfangs die Entstehung der Nebenprodukte ^{88}Zr und ^{88}Y zu einer verringerten Ausbeute führten, konnte im Laufe der Jahre durch geeignete Wahl der Bestrahlungsdauer von HOLLAND et. al. ein Protokoll zur Herstellung von ^{89}Zr mit einer radiochemischen Reinheit von 99.99% etabliert werden.[68, 74] Das entstandene ^{89}Zr wird im Anschluss durch Behandlung mit 2 M HCl herausgelöst und mittels eines Hydroxamat-Harzes gebunden. Nach Waschen mit HCl wird das Radiometall durch Elution mit Oxalsäure als ^{89}Zr-Oxalat mit hohen spezifischen Aktivitäten (17-44 GBq) erhalten.[73] Im Gegensatz zu den nicht metallischen Radionukliden ^{11}C, ^{13}N, ^{18}F oder ^{124}I, welche mittels aufwändiger Syntheseprotokolle kovalent in den Radiotracer eingebracht werden, können Radiometalle in modularen Chelat-Komplexen stabilisiert und anschließend an Targeting-Vektoren konjugiert werden.

1.4. Chemische und physiologische Bedeutung von Zirconium

Bevor in dieser Arbeit eingehender auf die Komplexierung von ^{89}Zr eingegangen wird, müssen im Vorfeld die chemischen Eigenschaften, das nasschemische Verhalten und auch die physiologische Bedeutung von Zirkonium erläutert werden, um daraus fundamentale Anforderungen formulieren zu können, welche ein ^{89}Zr-basierter Radiotracer erfüllen soll. Zirkonium ist ein Element der zweiten Reihe der Übergangsmetalle mit der Ordnungszahl 40. Es liegt in wässrigen Lösungen meist als Kation in der Oxidationsstufe +IV als Zr^{4+} vor.[75] Seine hohe Ladung und ein vergleichsweise kleiner Ionenradius von 0.59 Å klassifizieren Zr^{4+} nach dem HSAB-Konzept als sehr hartes Metallkation, welches in seinen Komplexen typischerweise hohe Koordinationszahlen (CN = 8-9) mit ebenfalls

harten Donoratomen, wie zum Beispiel Sauerstoff eingeht.[76] Die nasschemischen Eigenschaften von Zr^{4+} sind äußerst komplex und werden von einer pH-Wert abhängigen Hydrolyse und Polymerisation dominiert. Das freie Zr^{4+} Kation liegt nur in stark verdünnten wässrigen Lösungen (10^{-4} M) und bei niedrigen pH-Werten (pH < 2) vor. Bei pH-Werten von pH > 2 neigt Zirconium zu einer starken Hydrolyse und Bildung polynuklearer Hydroxide.[77] Hierbei bilden sich schwerlösliche tetranukleare Clusterverbindungen, welche über ihre Hydroxygruppen verbrückt sind und als $[Zr_4(OH)_8(H_2O)_{16}]^{8+}$ mittels Kristallstrukturanalytik charakterisiert werden konnten.[78] Während diese polynuklearen Verbindungen bei weiterem Erhöhen des pH-Wertes teilweise löslich sind, kommt es zu weiteren Hydrolysereaktionen, wobei amorphe, weiße hydratisierte Oxide gebildet werden, welches als gallertartige Maße aus der Lösung ausfallen.[79] Da Protokolle zur Bildung von Metallkomplexen für die PET in den meisten Fällen einen pH-Wert um pH = 7 oder darüber voraussetzen, stellt die pH-Wert abhängige Hydrolyse von Zr^{4+}-Lösungen eine besondere Herausforderung an die Methodik dar.

Neben seiner Bedeutung als Radioisotop für die PET findet Zirconium häufig Anwendung in der Herstellung von Keramiken und aufgrund seiner hohen Korrosionsbeständigkeit in metallischer Form im medizinischen Bereich als Material für Operationsgeschirr und Implantate.[80] In der Synthesechemie spielt Zirconium in der Form von Organometallkatalysatoren eine wichtige Rolle. Prominente Anwendungen sind dabei die Olefinmetathese, Ring-öffnende Polymerisationen oder die Verwendung von Zirconiumverbindungen als Lewis-Säuren.[81-83] Auch im Körper von Tieren und Menschen findet sich Zirconium als Spurenelement in einer Vielzahl von Organen und auch im Blut wieder (Tabelle 1-3).[84] Insbesondere der Nachweis von vergleichsweise hohen Zr-Konzentrationen in Gewebeproben des Gehirns, einem besonders geschützten System des Körpers, könnte auf eine noch unbekannte biologische Funktion des Metalls hindeuten.[85]

Tabelle 1-3: Aus ICP-OES oder ICP-MS Messungen bestimmte Konzentrationen an Zr in unterschiedlichen Organen/Fluiden des menschlichen Körpers. Alle Werte sind Mittelwerte aus Proben mehrerer Patienten (n = 1-5) angegeben in µg/g Nassgewicht.[84]

	Zr [µg/g bezogen auf Nassgewicht]
Serum	0.68
Erythrozyten	6.18
Aorta	9.49
Fett	18.7
Gallenblase	13.9
Leber	6.28
Gehirn	2.61
Urin	0.00

Die tägliche Einnahme an Zirconium über die Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme wird auf circa 4 mg geschätzt. Im Gegensatz zu den meisten anderen Übergangsmetallen wird Zirconium nicht über die Nieren renal ausgeschieden. Diese exklusiv fäkale Eliminierung wird in der Literatur der Tatsache zugeschrieben, dass Zirconium eine starke Bindungsaffinität zu Proteinen aufweist, wodurch das Passieren des Filtrationssystems der Niere erschwert wird.[84] Auch die Biodistribution unterschiedlicher intravenös zugeführter ^{89}Zr-Spezies wurde im Mausmodell untersucht.[86] Hierbei konnte für Verbindungen wie ^{89}Zr-Chlorid (Abbildung 1-5 A) und ^{89}Zr-Oxalat (Abbildung 1-5 B) in denen das Radiometall nur schwach gebunden vorliegt, im Knochengewebe auch nach sechs Tagen noch sehr hohe Konzentrationen an Radioaktivität nachgewiesen werden. Diese erhöhte Aufnahme in das Knochengewebe wird mit einem möglichen Austausch des ^{89}Zr-Kations gegen Ca^{2+}-Ionen, welche einen ähnlichen Ionenradius aufweisen, begründet.[87-90]

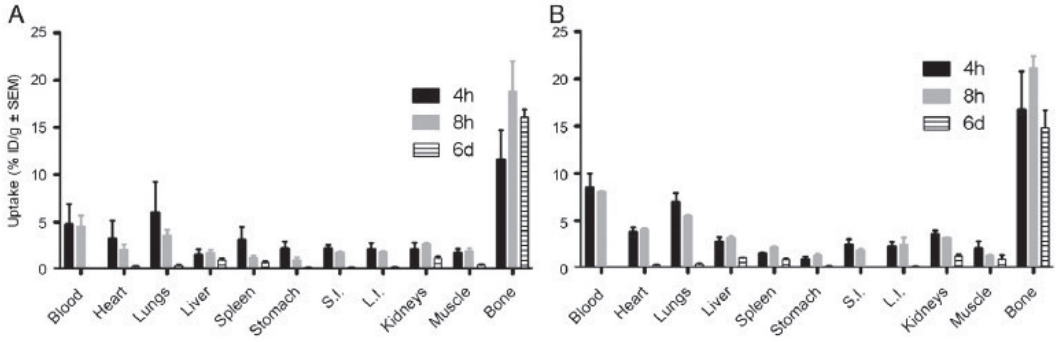


Abbildung 1-5: Biodistribution der Radioaktivität nach intravenöser Administration von [^{89}Zr]Zr-Chlorid und [^{89}Zr]Zr-Oxalat in weiblichen „NIH swiss"-Mäusen. Abkürzungen: S.I.: Dünndarm (small intestine), L.I.: Dickdarm (large intestine). Verwendung der Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. Peter M. Smith-Jones.[86]

Diese Affinität für eine Einlagerung in das Knochengewebe stellt die größte Herausforderung für die Verwendung von ^{89}Zr in der klinischen Praxis dar. Um das Auftreten freier ^{89}Zr-Ionen bei Administration der Radiotracer zu vermeiden muss das Radiometall in einer geeigneten Form stabilisiert werden. Hierfür bedient man sich der Möglichkeit metallische Radioisotope in Form von Komplexen mit multidentaten Chelatoren zu binden und somit eine Freisetzung in den Kreislauf zu verhindern oder auf ein Minimum zu beschränken.

1.5. Chelatoren für die Komplexierung von Zirkonium

Bei der Entwicklung neuer Möglichkeiten zur Behandlung von Krankheiten dient die Natur als eine wichtige Inspirationsquelle der pharmazeutischen und medizinischen Forschung bei der Entwicklung neuer Behandlungsmöglichkeiten. Bei der Suche nach geeigneten Chelatoren für die Verwendung von ^{89}Zr in der klinischen Praxis muss ein Anforderungsprofil bestehend aus mehreren Punkten erfüllt werden:

- **Stabilität:** Hohe kinetische und thermodynamische Stabilität der gebildeten Komplexe, um eine Freisetzung des Radiometalls *in vivo* zu verhindern
- **Modularität:** Möglichkeit zur Funktionalisierung um den Komplex als bildgebende Komponente an einen Targeting-Vektor anbringen zu können, um eine zielgerichtete Diagnostik zu ermöglichen
- Die Funktionalisierung darf die Affinität des Targeting-Vektors zu seinem Target nicht beeinflussen und keinen nachteiligen Einfluss auf die pharmakokinetischen Eigenschaften nehmen
- **Milde Bedingungen für die Komplexierung:** kein nachteiliger Einfluss auf den Targeting-Vektor (Hydrolyse, Denaturierung, etc.)

Um diesen hohen Anforderungen gerecht zu werden und einen geeigneten Chelator für eine klinische Anwendung von ^{89}Zr zu finden, wurden im Laufe der letzten 20 Jahre eine Vielzahl von Chelatoren untersucht, entwickelt und optimiert. Im folgenden Abschnitt werden einige Beispiele etablierter und neuer Chelatoren, sowie in die Ergebnisse von in diesem Kontext durchgeführten *in vitro* und *in vivo* Studien vorgestellt.

Wie Zr^{4+} wird Fe^{3+} als eine harte Lewis-Säure klassifiziert und weißt in seinen hexadentaten und octadentaten Komplexen Ionenradien auf, welche denen des Zr^{4+} sehr ähnlich sind. [76] Aufgrund seiner Einordnung als hartes Metallkation und einer damit verbundenen Präferenz für harte Donoratome, wie zum Beispiel Sauerstoff, wurde als logischer Schluss die Naturstoffklasse der Siderophore eingehend in Bezug auf seine Fähigkeit zur Komplexierung von ^{89}Zr untersucht. Siderophore sind eine Klasse von Naturstoffen, welche in Bakterien, Pilzen und in manchen Pflanzen vorkommt (Abbildung 1-6). [91-93]

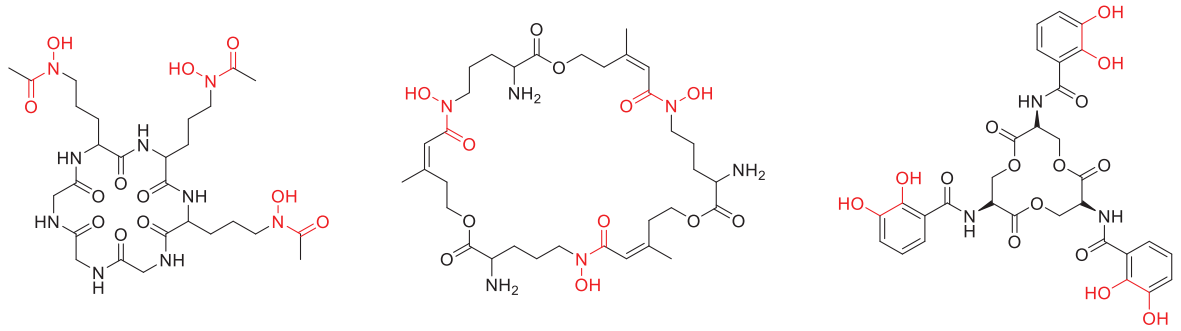


Abbildung 1-6: Strukturformeln ausgewählter Siderophore. Die für die Komplexbildung relevanten Donoratome sind in Rot hervorgehoben.

Es handelt sich um Chelatoren, welche eine hohe Affinität für Metallionen aufweisen und auf zellulärer Ebene für den Transport und die Aufnahme von Eisen dienen.[94-95] Die Komplexierung des Eisens erfolgt bei Siderophoren meist mehrzähnig über die Sauerstoffatome von Hydroxamsäuren, Hydroxycarbonsäuren oder Catecholen.[96-99] Der am eingehendsten untersuchteste Vertreter aus der Gruppe der Siderophore ist Desferrioxamin **9** (DFO), ein acyclisches Pseudopeptid, welches erstmals aus dem Actinobakterium *Streptomyces pilosus* isoliert wurde und in einer Vielzahl von Bakterienstämmen für die Aufnahme von Eisen in die Zelle dient.[91, 100] Darüber hinaus wird es als Antidot bei Eisenvergiftungen unter dem Handelsnamen Desferal® vertrieben, wobei es trotz des ubiquitären Vorkommens kompetitiver Eisenchelatoren im Körper in der Lage ist, Fe^{3+}-Ionen zu komplexieren.[101]

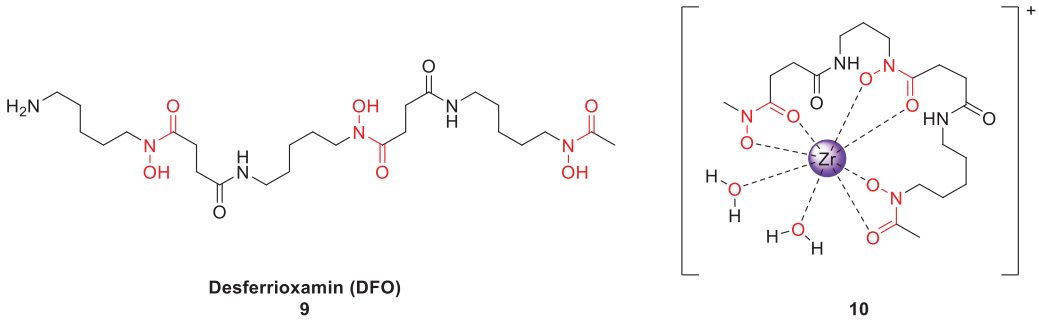


Abbildung 1-7: Strukturformel von Desferrioxamin (DFO) **9** und postulierte Koordinationssphäre des Zr-Komplexes **10** mit zwei zusätzlich gebundenen Wassermolekülen zur Absättigung der Koordinationsstellen des Zr-Zentralatoms.[102]

DFO **9** zeichnet sich durch seine Bifunktionalität aus, da es nicht nur drei Hydroxamsäuregruppen für die Komplexierung von Metallionen besitzt, sondern über seine freie Aminofunktion eine Modifizierbarkeit nach Standardprotokollen ermöglicht (Abbildung 1-7). Obwohl Zirconium bevorzugt in Komplexen mit einer Koordinationszahl von CN = 8-9 vorliegt, weist der Zr-DFO-Komplex eine sehr hohe Stabilität unter physiologischen Bedingungen auf, wodurch es allgemeinhin auch als „Goldstandard“ für die Komplexierung von Zr gilt.[103] Das Metall wird von DFO hexadentat über seine drei

Hydroxamsäuregruppen gebunden, wobei bisher noch keine Kristallstruktur des Komplexes erhalten werden konnte und die genaue Komplexgeometrie daher noch unbekannt ist. DFT-Berechnungen von HOLLAND et. al. geben berechtigten Grund zur Annahme, dass die Koordinationsspähre des Zirkoniums durch zwei zusätzlich gebundene Wassermoleküle als schwach gebundene Liganden abgesättigt wird. [102] In einer der ersten Studien mit DFO als Chelator für das Radiometall ^{89}Zr konnte von MEIJS et. al. eine schnelle und vollständige Markierung des Liganden unter milden Bedingungen erreicht werden. [64] In folgenden Studien wurde darüber hinaus die *in vitro*-Stabilität des Komplexes gegenüber Transmetallierung im Serum untersucht, wobei eine Demetallierung von ca. 2% nach sieben Tagen festgestellt werden konnte. [102] Darüber hinaus konnte durch Verwendung des Komplexes als Antikörperkonjugat im Mausmodell das Potential solcher immunoPET-Radiopharmaka demonstriert werden (Abbildung 1-8).

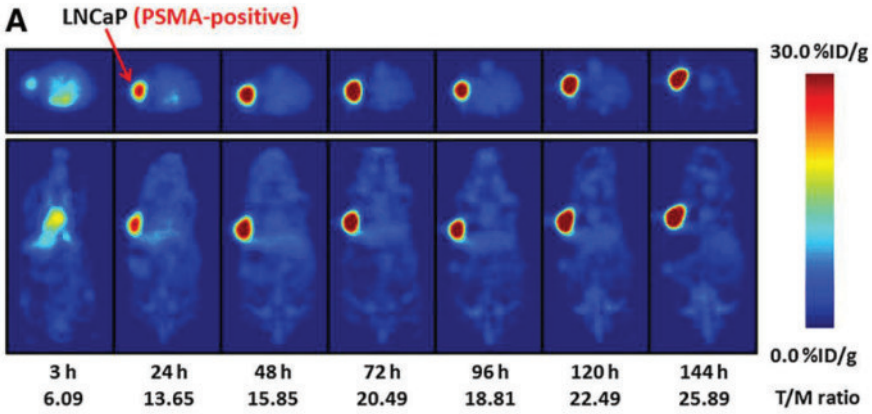
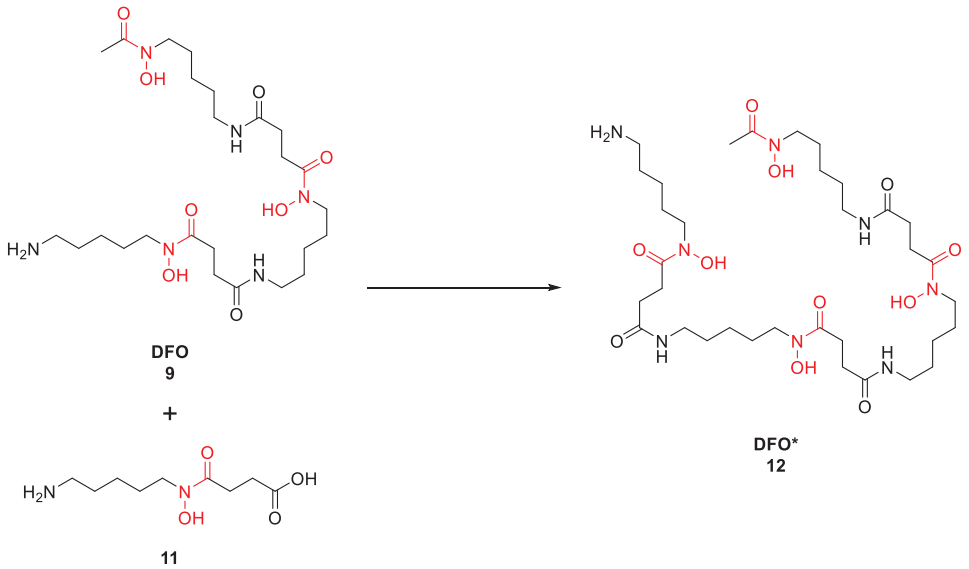


Abbildung 1-8: immunoPET-Aufnahmen des Antikörperkonjugats ^{89}Zr-DFO-J591 zur selektiven Darstellung PSMA-positiver LNCap-Tumorzelllinien. Injektion von 200 µL des Tracers in steriler Salzlösung in Mäuse mit xenotransplantierten LNCaP-Tumoren und anschließende Aufnahme der PET Bilder über einen Zeitraum von 144 h. ID/g = Injizierte Dosis/g Körpergewicht; T/M ratio = Tumor zu Muskel Verhältnis. [102]

Aufbauend auf diesen Pionierarbeiten wurde im Laufe der letzten zwei Dekaden eine ganze Bandbreite an ^{89}Zr-DFO-basierten Radiopharmazeutika für die immunoPET entwickelt. Bis heute wurden für ^{89}Zr-basierte Präparate 75 klinische Studien durchgeführt von denen lediglich drei in die dritte klinische Phase übernommen wurden und es bis heute keine Zulassung für die Verwendung von ^{89}Zr in Radiopharmazeutika gibt. [104] Zurückzuführen ist dies auf die nicht ausreichende Stabilität der ^{89}Zr-DFO-Konjugate, welche zwar eine sehr hohe *in vitro* Stabilität aufweisen, jedoch *in vivo* keine ausreichende Stabilität zeigen. Insbesondere die Affinität der aus dem DFO-Komplex frei werdenden $^{89}Zr^{4+}$-Ionen für das Knochengewebe, mit Wiederfindungswerten von mehr als 10% der injizierten Dosis (ID/g) im Knochen, machen den Chelator für eine Anwendung im klinischen Alltag unbrauchbar. [102, 105-107]

Weiterentwicklungen von DFO

Als hauptursächlich für die unzureichende Stabilität der ^{89}Zr-DFO Komplexe wird die fehlende Absättigung der Koordinationssphäre des Zirconiums durch den sechszähnigen Liganden angesehen. Um eine vollständige Absättigung zu garantieren wird als Ansatz für die Entwicklung neuer Chelatoren ein octadentates Komplexierungsmuster gewählt. So wurde von PATRA et. al. ausgehend von DFO **9** durch Anbringen einer weiteren Wiederholungseinheit **11** der Naturstoff um eine weitere Hydroxamsäurefunktion erweitert und eine achtzähnige Version, welche als DFO* **12** betitelt wurde, erhalten (Schema 1-1).[108]



Schema 1-1: Schematische Darstellung der Synthese von DFO* **12** aus DFO **9** und der pseudopeptidischen Repetitionseinheit **11**.[108]

DFO* **12** zeigt, wie auch DFO **9**, eine äußerst effiziente Kinetik des Radiolabellings mit einer Markierung von 99% des Liganden mit ^{89}Zr nach zwei Stunden. In Untersuchungen zur Stabilität gegenüber Transmetallierung *in vitro* gegen einen 3000-fachen Überschuss an DFO **9** zeigt DFO* **12** eine exzellente Stabilität von mehr als 90% intaktem Komplex nach 24 h. In weiteren Studien von VUGTS et. al. wurden präklinische Studien mit DFO*-Trastuzumab-, einem humanisierten monoklonalen Antikörper, welcher an HER2-Rezeptoren bindet, und DFO-Trastazumab Konjugaten durchgeführt.[109-110] Sowohl in *in vitro* als auch *in vivo* Experimenten konnte dabei eine deutlich bessere Performance des octadentaten Liganden, respektive seiner Stabilität, demonstriert werden. Während die Blutklärungsrate und die Aufnahme in das Tumorgewebe für beide Konjugate vergleichbar war, konnte eine deutliche Verringerung der Aufnahme von ^{89}Zr in das Knochengewebe bei Verwendung von DFO* beobachtet werden (Abbildung 1-9). Während die Aufnahme ins Knochengewebe nach 24 h für beide Konjugate ähnlich war (1:1.5), zeigte sich für das DFO-

Konjugat ein kontinuierlicher Anstieg der ID/g über die nächsten 120 h. Für das DFO*-Konjugat konnte hingegen ein Rückgang der ID/g im Knochen beobachtet werden, sodass das Verhältnis der Aufnahme von radioaktivem Material nach 144 h bei ca. 1:5 (DFO*:DFO) lag.

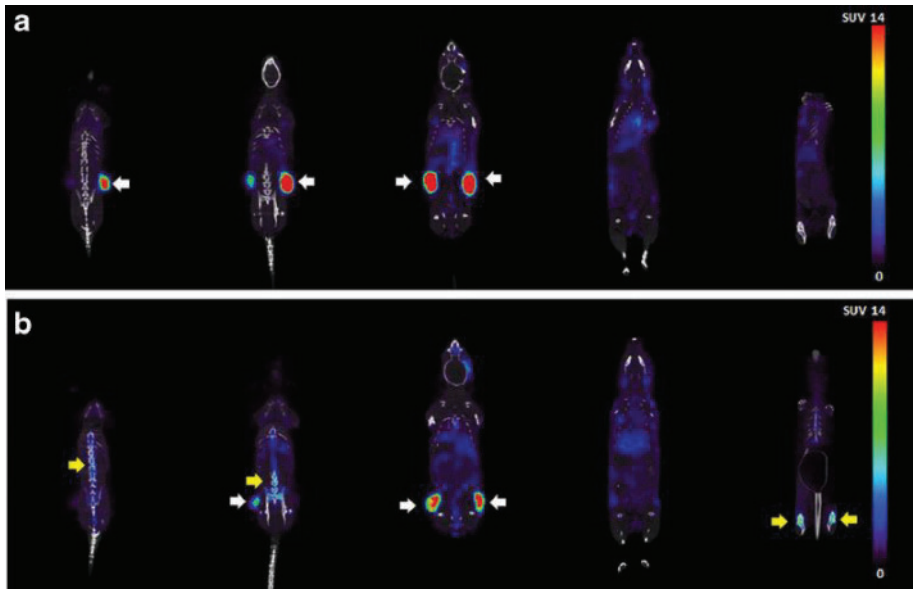
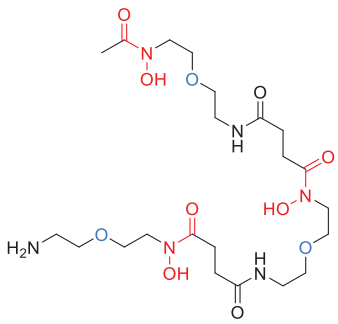


Abbildung 1-9: Koronale PET-Aufnahmen von Mäusen mit N87-Karzinomen (xenotransplantierte Cervixdysplasien) 72 h nach einer Injektion von 2 MBq DFO*-Trastuzumab (**a**) oder DFO-Trastuzumab (**b**). Tumorgewebe ist mit weißen Pfeilen gekennzeichnet. Aufnahme des Radiometalls in das Knochengewebe mit gelben Pfeilen. [110]

Ein möglicher Nachteil von DFO* **12** scheint in der Synthese und Reinigung seiner Biokonjugate zu liegen, da es sich als äußerst schlecht in Wasser löslich zeigte. Da sowohl die Konjugation des Target-Vektors als auch die Komplexierung des Radiometalls notwendigerweise in wässrigem Medium erfolgen müssen ist die Löslichkeit der Liganden ein wichtiger Punkt für die Etablierung neuer Liganden. Als Ansatz für die Erhöhung der Löslichkeit wurden nahezu zeitgleich von RICHARDSON-SANCHEZ et. al. und BRIAND et. al. eine Reihe vollständig wasserlöslicher DFO- **13** bzw. DFO*-Derivate **14** vorgestellt, welche sich durch zusätzliche Ethergruppen im Rückgrat des linearen Pseudopeptids auszeichnen (Abbildung 1-10).



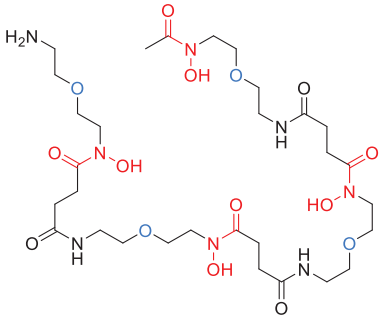


Abbildung 1-10: Strukturen der von RICHARDSON-SANCHEZ et. al. und BRIAND et. al. entwickelten vollständig wasserlöslichen Varianten oxoDFO **13** und oxoDFO* **14**. [111-112]

Zur Darstellung wurde von RICHARDSON-SANCHEZ et. al. ein semisynthetischer Ansatz gewählt, für den Bakterien des Typs *Streptomyces pilosus* anstatt ihres nativen Substrates 1,5-Diaminopentan, den Diaminoether Oxybis(ethanamin) erhielten.[111, 113] Durch anschließende posttranslationale Kettenverlängerung von oxoDFO **13** konnte oxoDFO* **14** erhalten werden.[111] Im Gegensatz dazu setzten BRIAND et. al. auf einen Syntheseweg über Festphasenpeptidsynthese, welcher sich durch eine hohe Effizienz und gute Ausbeuten auszeichnet.[112] Eine anschließende Evaluation der Verbindungen auf ihre Fähigkeit ^{89}Zr zu binden blieb jedoch aus.

In ähnlicher Weise zu DFO* **12** wurden von weiteren Gruppen octadentate DFO-Analoga entwickelt. Hierbei wurde die einfache Modifizierbarkeit der terminalen Aminogruppe des DFO für die Anbringung weiterer Donorgruppen, wie zum Beispiel Squaramid-Ester, Hydroxypyridinone (HOPO) oder Hydroxypiperidinone, verwendet (Abbildung 1-11).

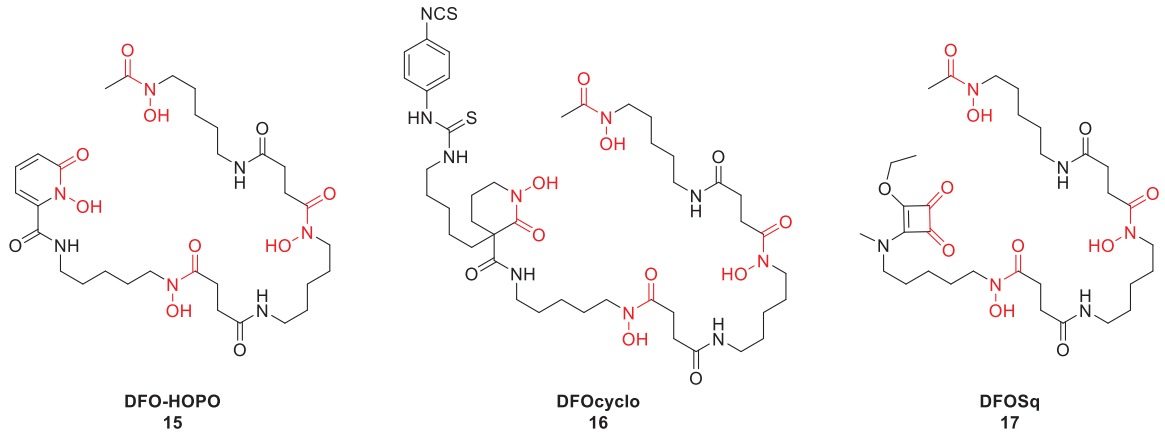


Abbildung 1-11: Octadentate Weiterentwicklungen von DFO. Links: DFO-HOPO **15** mit zusätzlicher Hydroxypyridinon-Einheit unter Verlust der Modifikationsmöglichkeit.[114] Mitte: Hydroxypiperidinone Variante DFOcyclo* **16** mit zusätzlicher Seitenkette und Phe-NCS-Funktion zur Konjugation von Targeting-Vektoren.[115] Rechts: DFOSq **17** um Squaramid-Ester erweiterter Ligand mit Möglichkeit zur Konjugation durch Reaktion mit Amin-Seitenketten des Targeting-Vektors und dem Squaramid-Ester.[116]

ALLOT et. al. stellten 2017 den neuen Liganden DFO-HOPO **15** vor, welcher nach der von PATRA et. al. zur Synthese von DFO* **12** verwendeten Methode dargestellt wurde.[114] Neben guten radiochemischen Ausbeuten für das Labelling mit ^{89}Zr konnte in Mausmodell eine sehr gute Blutklärungsrate und eine Stabilität des Komplexes von >99% demonstriert werden. Da durch die Anbringung der HOPO-Funktion an der Aminogruppe keine weitere Konjugation mit Targeting-Vektoren möglich ist, ist eine Verwendung des Liganden in dieser Form für die weitere klinische Anwendung ausgeschlossen. Als achtzähnige und zusätzlich konjugierbare DFO-Analoga wurden die beiden Derivate DFOSq **17** und DFOcyclo* **16** präsentiert. Während RUDD et. al. mit ihrem Squaramid-Derivat zwar eine schnellere Labelling-Kinetik, bessere Löslichkeit und eine leicht verbesserte *in vivo* Stabilität im Gegensatz zu DFO **9** demonstrieren konnten, wurde ein Vergleich zu DFO* **12**

nicht aufgeführt.[116] Im Gegensatz dazu konnten RAAVE et. al. mit DFOcyclo*-^{89}Zr ein Derivat vorstellen, welches als Trastuzumab Derivat DFO **9** deutlich überlegen und DFO* **12** ebenbürtig in Hinblick auf *in vivo* Stabilität, Blutklärungsrate und Aufnahme von ^{89}Zr in das Knochengewebe ist (Abbildung 1-12).[115]

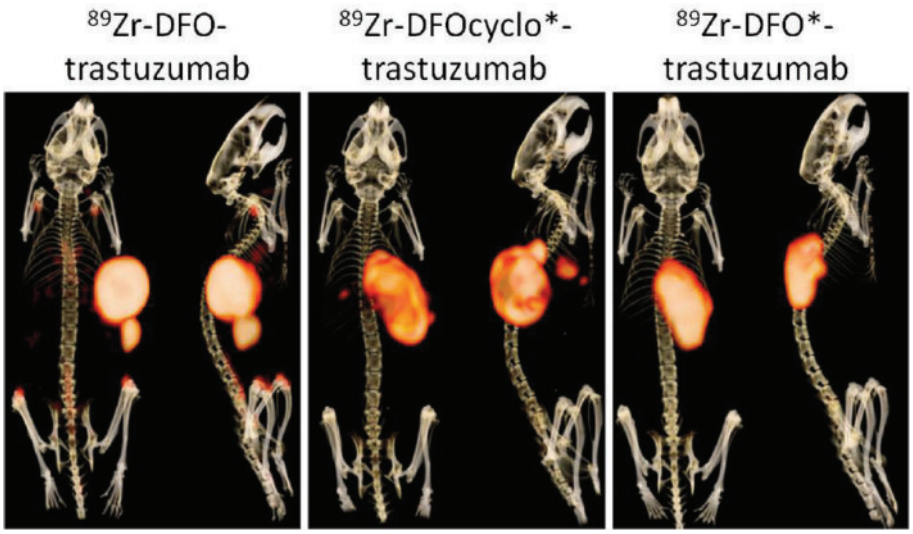


Abbildung 1-12: PET/CT-Aufnahmen von Mäusen mit xenotransplantierten HER2^{+} SKOV-3 oder HER2^{-} MDA-MB-231 Tumoren 168 h nach Injektion von 5 MBq der Radiotracer ^{89}Zr-DFO-trastuzumab, ^{89}Zr-DFOcyclo*-trastuzumab bzw. ^{89}Zr-DFO*-trastuzumab.[115]

Fusarinin C und Desferrichrom als mögliche Chelatoren für ^{89}Zr

Neben DFO **9** wurden auch andere Siderophore auf ihre Fähigkeit ^{89}Zr zu komplexieren untersucht. Zur Erhöhung der Stabilität infolge des makrocyclischen Effekts wurde von ZHAI et. al. das aus dem Pilz *Aspergillus fumigatus* stammende cyclische Siderophor Fusarinin C **7** (Abbildung 1-6) eingehend untersucht.[117] Im Gegensatz zu den meisten Studien fand die Evaluation des Liganden mit dem spezifisch an Integrine bindenden Protein cRGD statt.[118-120] Wie postuliert, konnte die Gruppe eine erhöhte Stabilität des makrocyclischen ^{89}Zr-FSC(succRGD)$_3$-Konjugates *in vivo* gegenüber dem korrespondierenden DFO-Derivat demonstrieren. Eine Weiterentwicklung des Liganden wurde 2019 präsentiert, wobei durch Anbringen von Bernsteinsäure-Fragmenten an den freien Aminogruppen eine octadentate Koordination des ^{89}Zr, bei gleichzeitigem Erhalt der Modifizierbarkeit, realisiert werden konnte.[121]

Die dritte in Hinblick auf eine Komplexierung von ^{89}Zr untersuchte Gruppe von Siderophoren stellen die Ferrichrome dar. Es handelt sich dabei um cyclische oder acyclische Polyornithine, welche an Stelle einer terminalen Aminogruppe eine Hydroxamsäure tragen (Abbildung 1-13).

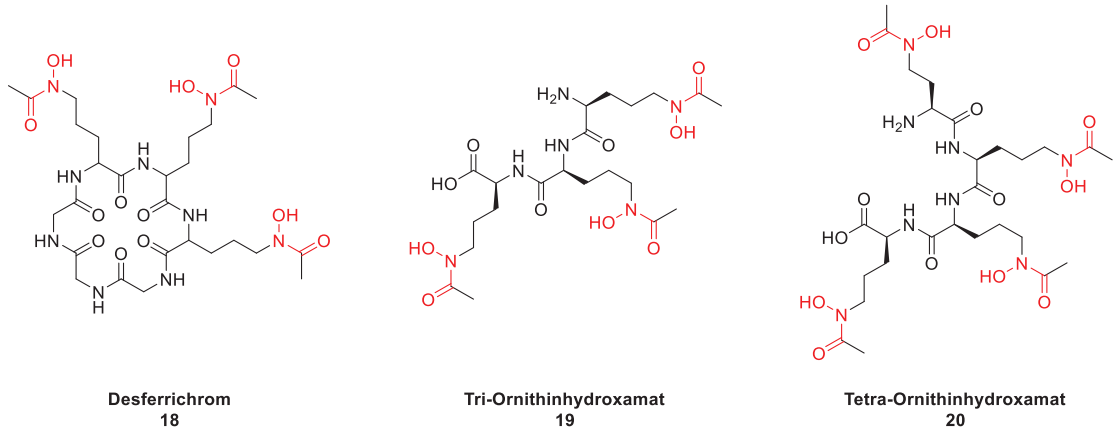


Abbildung 1-13: Polyornithin-basierte Chelatoren für ^{89}Zr. Cyclische Form **18**, Hexadentate acyclische Form **19** und octadentate acyclischer Ligand **20**.

Trotz der makrocyclischen Struktur von Desferrichrom **18** und einer zusätzlichen Hydroxamsäurefunktion im Tetra-Ornithinhydroxamat **20** konnte für keinen der Liganden eine Verbesserung der Stabilität *in vitro* und *in vivo* im Vergleich zu DFO **9** beobachtet werden.[122]

Etablierte Makrocyclen als mögliche Liganden für ^{89}Zr

Cyclen- und Cyclam-basierte Makrocyclen sind eine der am häufigsten verwendeten Komplexbildner für zwei und dreiwertige Metallkationen und gehören in der medizinischen Diagnostik, wie zum Beispiel in der MRT, als Kontrastmittel zum klinischen Alltag.[123] Der wohl meist untersuchte Vertreter dieser Gruppe ist 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure **21** (DOTA), welcher aufgrund seiner rigiden Käfigstruktur eine außerordentlich hohe kinetische und thermodynamische Stabilität in seinen Metallkomplexen aufweist. Im Gegensatz zu den zuvor vorgestellten Liganden kommt in DOTA **21** ein Satz aus vier Sauerstoff- und vier Stickstoffatomen als Donoratome für das Metallion zum Einsatz. Aufgrund der Klassifizierung von Zr^{4+} als hartes Metallion wurde zunächst angenommen, die weichen Stickstoffatome und damit DOTA **21** selbst, seien für die Komplexierung von Zr^{4+} ungeeignet.[124] PANDYA et. al. waren erstmals in der Lage ^{89}Zr mit DOTA **21** zu komplexieren und konnten in ersten *in vitro* und *in vivo* Stabilitätsstudien eine außerordentliche Stabilität der erhaltenen Komplexe beobachten (Abbildung 1-14).[125]

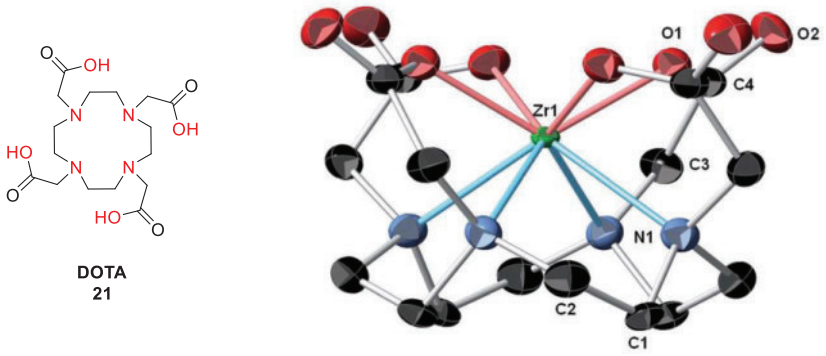


Abbildung 1-14: Strukturformel von DOTA **21** und von PANDYA et. al. erhaltene Kristallstrukturformel des ^{nat}Zr-DOTA Komplexes mit octadentater Chelatisierung. [125]

Ein möglicher Grund für die späte Entdeckung von DOTA **21** als Chelator für ^{89}Zr ist das unkonventionelle Protokoll, welches für die Markierung des Liganden mit ^{89}Zr notwendig ist. Die inerte Käfigstruktur ist für die Komplexbildung mit Zr ein entscheidender Nachteil, da die gebildeten Komplexe zwar sehr stabil sind, eine Bildung des Komplexes erst bei Erhitzen auf 90 °C über einen Zeitraum von 45 Minuten erreicht wird. Diese Bedingungen sind für eine Verwendung in Kombination mit biologischen Targeting-Vektoren nicht vereinbar. Für eine Verwendung von DOTA **21** in Kombination mit zum Beispiel Antikörpern müsste die Markierung mit ^{89}Zr vor der Konjugation erfolgen, was einen nicht unbeträchtlichen technischen Aufwand für die folgenden Reinigungs- und Syntheseschritte bedeuten würde. Darüber hinaus weist DOTA **21** in dieser Form keine Möglichkeit für eine Konjugation von Targeting-Vektoren auf und es zeigte sich, dass die Zr-Komplexe bei Verwendung einer der freien Carbonsäurefunktionen zu einer Zersetzung durch Hydrolyse neigen. [126] Eine mögliche Alternative könnten die von KRIEMEN et. al. entwickelten Azid-Derivate darstellen, welche eine Konjugation der DOTA-Grundstruktur mittels Click-Chemie ermöglichen. [127-128] In einer weiteren Studie von BOROS et. al. wurde eine Reihe von Cyclam-Derivate auf ihre ^{89}Zr-Komplexierung untersucht. [129] Die Carboxylgruppen wurden hierbei gegen Hydroxamsäurereste unterschiedlicher Kettenlängen ausgetauscht und darüber hinaus auch eine bifunktionale Variante mit Möglichkeit zur Konjugation von Targeting-Vektoren entwickelt (Abbildung 1-15).

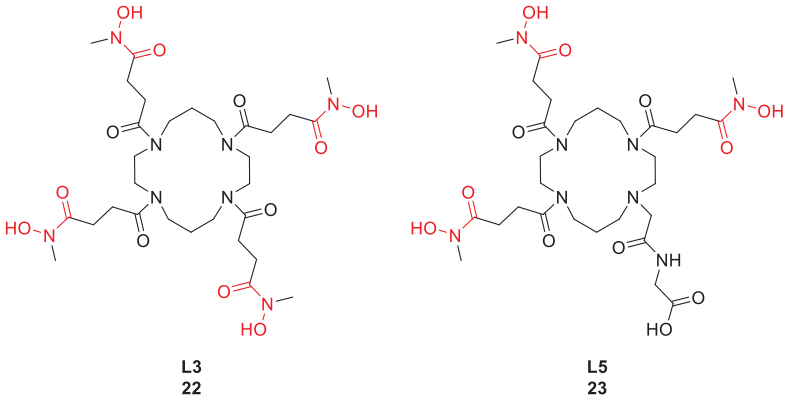


Abbildung 1-15: Strukturformeln der von Boros et. al. entwickelten Cyclam-Hydroxamsäure Liganden für eine octadentate Chelatisierung L3 **22** (links) und als bifunktionaler Chelator mit Konjugationsstelle L5 **23** (rechts).[129]

Entgegen der in der Kristallstruktur für Zr-DOTA gezeigten Koordination, sollte die Chelatisierung der Cyclam-Hydroxamsäuren L3 **22** und L5 **23** Ergebnissen von durchgeführten DFT-Rechnungen ausschließlich über die Hydroxamsäuren erfolgen, wobei das Zentralatom oberhalb des Cyclam-Rings positioniert ist. Obwohl dadurch eine bessere Kinetik der Radiomarkierung erreicht werden konnte, zeigte nur eine geringe Verbesserung der Stabilität gegenüber DFO in *in vitro* Experimenten. Darüber hinaus erwies sich das hexadentate Derivat L5 **23** als äußerst labil gegenüber Hydrolyse, wodurch eine hohe Wiederfindungsrate des Radiometalls von 19% im Knochengewebe im Mausmodell beobachtet wurde.

De novo Synthese neuer ^{89}Zr-Chelatoren

Neben der Entwicklung neuer Liganden basierend auf bekannten Grundgerüsten ist die *de novo* Synthese neuer multidentater Chelatoren ein wichtiges Werkzeug um ^{89}Zr für die PET nutzbar zu machen. So wurden 2015 die beiden HOPO-basierten Chelatoren YM103 **24** von Ma et.al. und HOPO-L^{6} **25** von Deri et. al. vorgestellt (Abbildung 1-16). Erwartungsgemäß zeigte der hexadentate Ligand aufgrund der unzureichenden Absättigung der Koordinationsspähre eine unzureichende *in vivo* Stabilität mit einer Wiederfindungsrate an radioaktiver Dosis von über 25% nach 7 Tagen.[130] Im Gegensatz dazu konnte für den Liganden HOPO-L^{6} **25** mit einer octadentaten Chelatisierung in *in-vitro* Experimenten sehr hohe Stabilitäten gegenüber Transchelatisierung gegen andere Chelatoren und Metallionen demonstriert werden. Darüber hinaus zeigte sich eine sehr gute Blutklärungsrate in einer *in vivo* Studie im Mausmodell mit keiner Aufnahme von ^{89}Zr in das Knochengewebe nach 24 h.

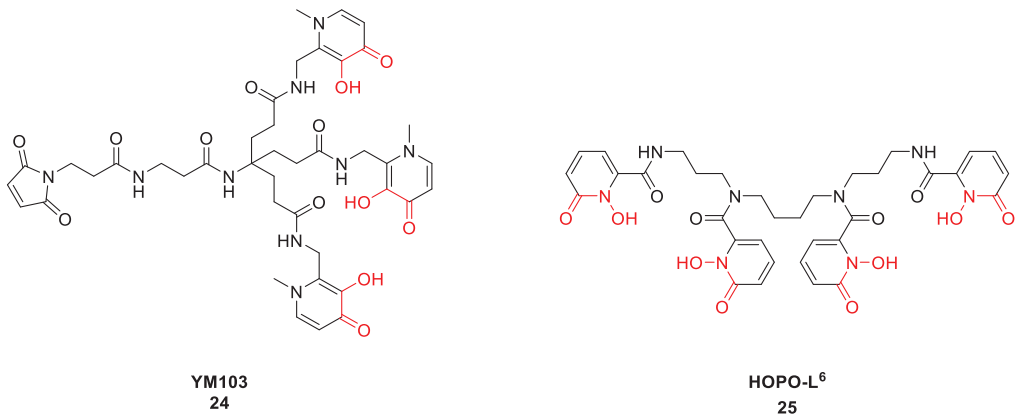


Abbildung 1-16: Strukturformeln der Hydroxypyridinon-basierten Chelatoren YM103 **24** (links) und HOPO-L^6 **25** (rechts). [130-131]

Basierend auf diesen Ergebnissen folgte die Entwicklung eines bifunktionalen Derivates, welches durch Alkylierung einer der Amidgruppen dargestellt werden konnte. Im Vergleich von diesem ^{89}Zr-HOPO-Trastuzumab Konjugat mit einem ^{89}Zr-DFO-Trastuzumab zeigte sich zwar eine verringerte ID/g der Aufnahme in das Knochengewebe, allerdings wurde auch eine deutlich niedrigere Aufnahme des HOPO-Trastuzumab-Derivates in das Tumorgewebe beobachtet. [131]

1.6. Fazit

Die Suche nach geeigneten Chelatoren für das Radionuklid ^{89}Zr um eine hochleistungsfähige und personalisierte Diagnostik mittels immunoPET zur ermöglichen ist ein wichtiges Forschungsfeld im Bereich der Radiopharmazie. In den letzten zwei Dekaden wurde eine Vielzahl an möglichen Kandidaten entwickelt, von denen einzelne Kandidaten im vorherigen Kapitel eingehender behandelt und bewertet wurden. Trotz unzähliger präklinischer und insgesamt 75 klinischen Studien gibt es bis heute kein zugelassenes Radiopharmakon, welches auf ^{89}Zr basiert. Die besondere Schwierigkeit liegt in der komplizierten Komplexchemie des Radiometalls, sowie seiner teils noch unbekannten Rolle als Spurenelement im Körper. Daraus resultiert eine schlechte Extrapolierbarkeit von *in vitro* Studien zum tatsächlichen Verhalten der Komplexe *in vivo*, sei es im Mausmodell oder in klinischen Studien im Mensch. Während der Vorrang bisheriger Kandidaten auf der Entwicklung möglichst stabiler Chelatoren lag, zeigt sich nicht zuletzt durch die ausführlichen Studien der ^{89}Zr-HOPO-Trastuzumab Konjugate, dass auch die pharmakokinetischen Eigenschaften neuer Liganden einen entscheidenden Einfluss auf die Performance selbiger haben. Die Entwicklung äußerst stabiler Liganden, welche die Pharmakokinetik der konjugierten Targeting-Vektoren nicht beeinflussen

bleibt daher ein wichtiges Forschungsgebiet der radiopharmazeutischen Wirkstoffentwicklung.

2. Aufgabenstellung und Planung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Planung und Synthese neuartiger Chelatoren für die Entwicklung ^{89}Zr-basierter PET-Radiotracer. Im Gegensatz zu bekannten Ansätzen sollte hierbei auf ein vollständig modulares Konzept zurückgegriffen werden. Dies erlaubt, den Liganden gezielt an spezifische Anwendungen angepasst modifizieren zu können (Abbildung 2-1).

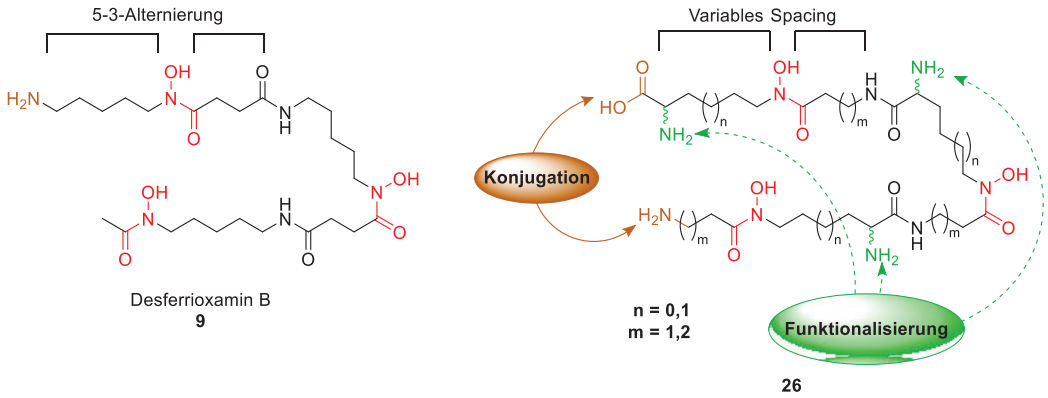
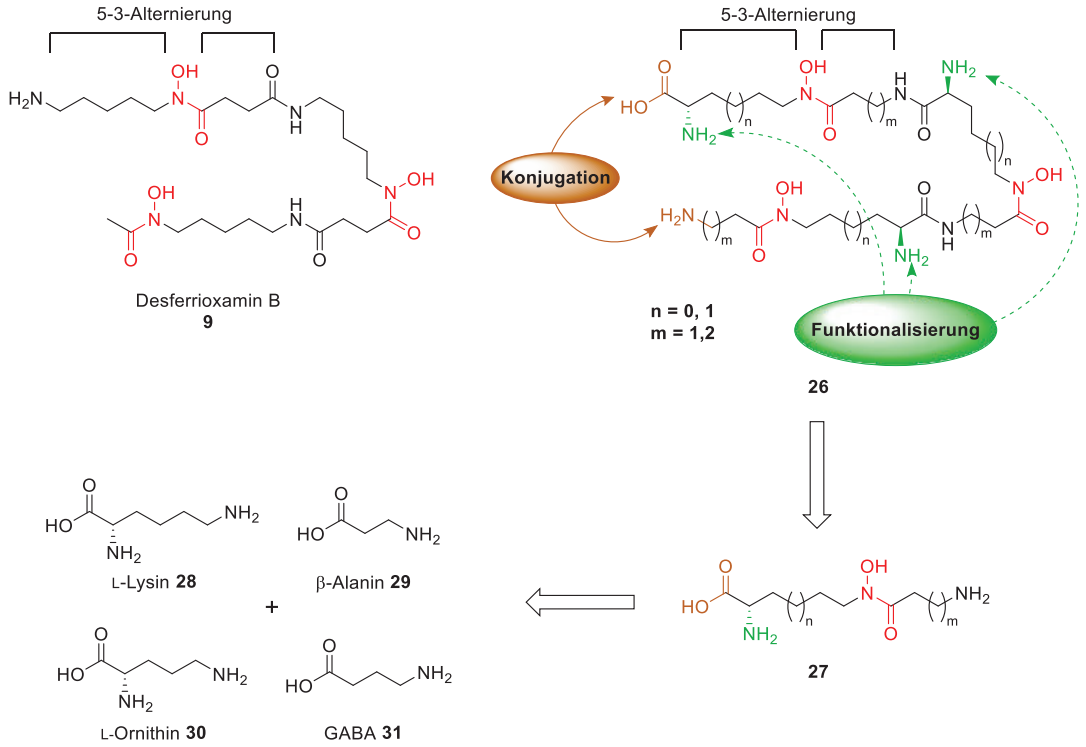


Abbildung 2-1: Naturstoff Desferrioxamin B **9** aus *Streptomyces pilosus* (links), von MAISON et. al. entwickeltes peptidisches Analogon **26** (rechts).

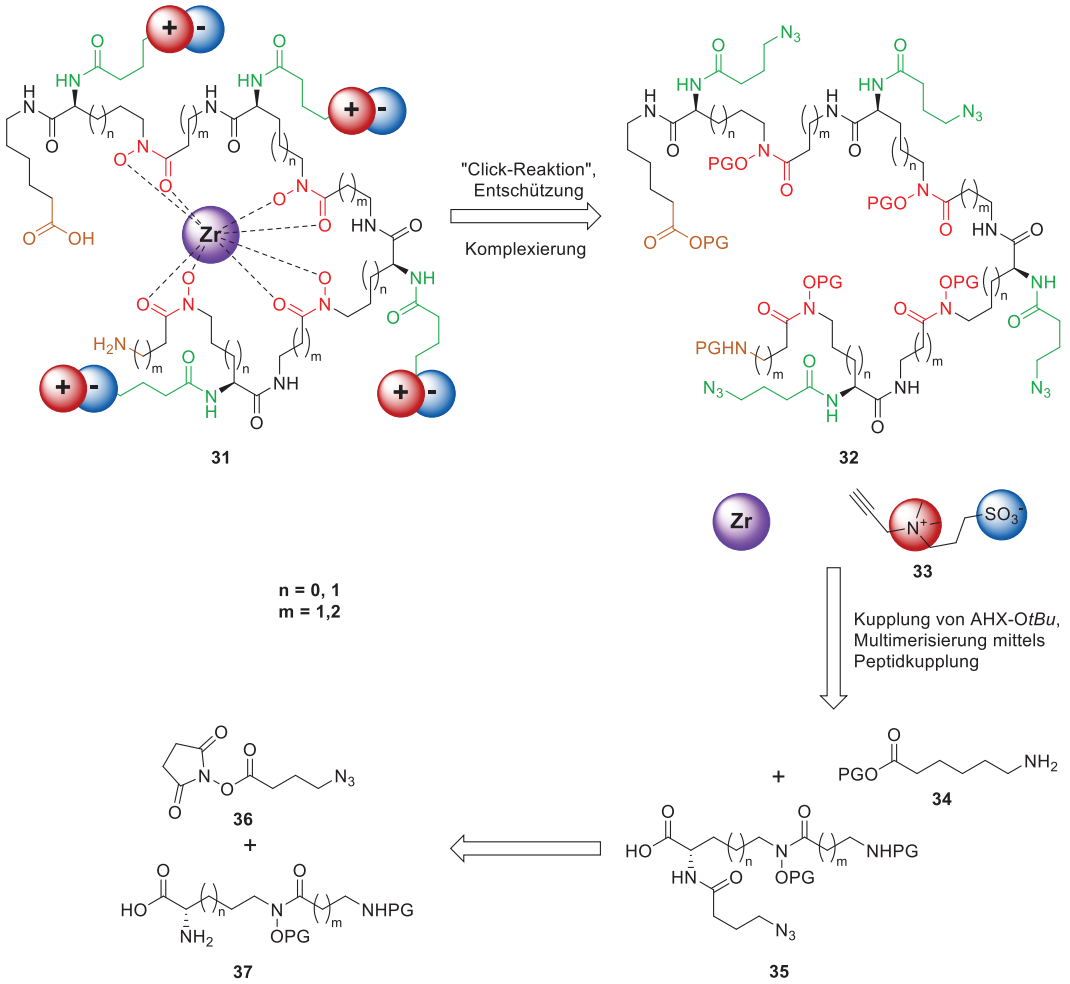
Als strukturelles Vorbild für die Entwicklung des Liganden diente der Naturstoff Desferrioxamin B **9** aus der Gruppe der Siderophore. Durch die Verknüpfung von α-Diaminosäuren mit β- oder γ-Aminosäuren lässt sich ein an den Naturstoff angelehntes Oligopeptid **26** realisieren, welches sich durch zusätzliche Amine als Funktionalisierungsmöglichkeiten auszeichnet. DFO **9** besteht aus Diaminopentan-Bernsteinsäure-Fragmenten in einer alternierenden Abfolge von C5- und C3-Einheiten zwischen den Hydroxamsäure-Einheiten. Dieses Motiv kann durch die Verwendung von L-Lysin **28**, gekuppelt an β-Alanin **29**, imitiert werden, welche in Form eines dipeptidischen Bausteins **27** multimerisiert werden können (Schema 2-1). Darüber hinaus kann durch die Verwendung unterschiedlicher Aminosäuren, wie beispielsweise L-Ornithin **30** oder γ-Aminobuttersäure **31** (GABA), der Abstand zwischen den Hydroxamsäuren variiert werden. Somit kann eine mögliche Abhängigkeit der Stabilität der erhaltenen Zirconium-Komplexe von der Positionierung der Hydroxamsäuren im Backbone untersucht werden.



Schema 2-1: Retrosynthetische Analyse für den Aufbau des Analoga-Backbones, sowie verschiedener Derivate unterschiedlicher Kettenlängen.

In der Entwicklung neuer PET-Anwendungen sind insbesondere zielgerichtete Methoden von hoher Relevanz. Durch den modularen Aufbau des Liganden können Targeting-Vektoren für Krankheitsmarker, wie z.B. Antikörper, Oligopeptide, etc. über den C- oder N-Terminus konjugiert werden. Um eine negative Beeinflussung des Targeting-Vektors durch den Chelator zu minimieren, sollte am C-Terminus eine zusätzliche Aminohexansäure-Kette als Spacer installiert werden.

Wie bereits in früheren Arbeiten von Maison et. al. und Frangioni et. al. gezeigt, bieten zwitterionische Gruppen, welche kovalent am Tracer gebunden werden, die Möglichkeit das Signal-zu-Rauschen Verhältnis um ein Vielfaches zu erhöhen, da eine unspezifische Bindung des polaren, zwitterionischen Radiotracers an Serumproteine im Blut minimiert wird. [128, 132-133] Zu diesem Zweck sollte die α-Aminosäurefunktion mit einer Azid-Seitenkette versehen werden. Somit könnten über eine bioorthogonale Funktionalisierung, mittels 1,3-dipolarer Azid-Alkin-Cycloaddition, funktionelle Gruppen zur Verbesserung der pharmakologischen Eigenschaften am Chelator installiert werden (Schema 2-2).



Schema 2-2: Abgekürzte retrosynthetische Analyse des geplanten Chelatoren.

Der modulare Aufbau des Liganden mittels Peptidkupplungs-Methoden ermöglicht es, sowohl die dem DFO analogen, trimeren Derivate **26**, sowie tetramere Hydroxamsäuren **31** zu erhalten.Durch solche tetrameren Liganden sollte die Koordinationssphäre des Zirconiums vollständig abgesättigt werden und somit eine erhöhte Stabilität des Komplexes erreicht werden (siehe Abschnitt 1.5).[134]

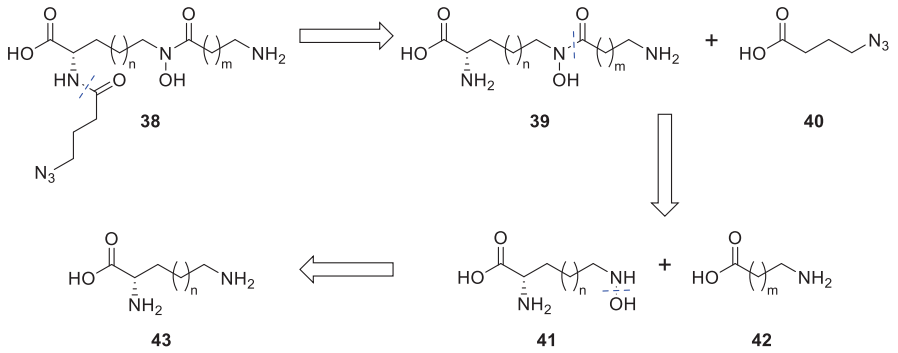
Nach Synthese verschiedener Liganden, sollte zudem die Kinetik der Komplexbildung evaluiert werden. Darüber hinaus sollte in einem Transmetallierungs-Assay die Stabilität der erhaltenen Komplexe mit der von DFO verglichen werden.

3. Ergebnisse und Diskussion

Für die Synthese der Chelatoren wurde ein modularer Ansatz gewählt, bei dem funktionalisierte dipeptidische Monomer-Bausteine mit einer möglichst kurzen Synthese-Sequenz aus günstigen Startmaterialien synthetisiert werden sollten. Mit diesen Bausteinen sollte im Folgenden das peptidische DFO-Analogon durch sequenzielle Peptidkupplung der Monomer-Bausteine synthetisiert werden

3.1. Entwicklung der Schutzgruppenstrategie

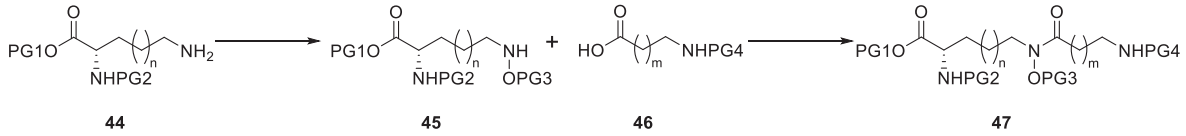
Bei den modularen Monomer-Bausteinen handelt es sich um hochfunktionalisierte Peptide **38**, welche sich in drei grundlegende Fragmente zerlegen lassen (Schema 3-1).



Schema 3-1: Retrosynthetische Analyse der zu synthetisierenden Monomer-Bausteine **38** mit n = 1, 2 und m = 1, 2.

Um eine orthogonale Modifikation des Liganden zu ermöglichen sollte an der α-Position des Monomers **38** eine Azid-tragende Seitenkette eingeführt werden, welche einen Zugang zu bioorthogonaler Azid-Alkin-Cycloaddition ermöglicht. Hierfür sollte γ-Azidobuttersäure **40** verwendet werden. Das Rückgrat der Monomere könnte durch eine Peptidkupplung der entsprechenden Hydroxylamine **41** mit einer kurzkettigen Aminosäure **42**, wie z.B. β-Alanin oder γ-Aminobuttersäure erhalten werden. Das Hydroxylamin **41** wiederum lässt sich durch Oxidation der entsprechenden α -Diaminosäure **43** erhalten.

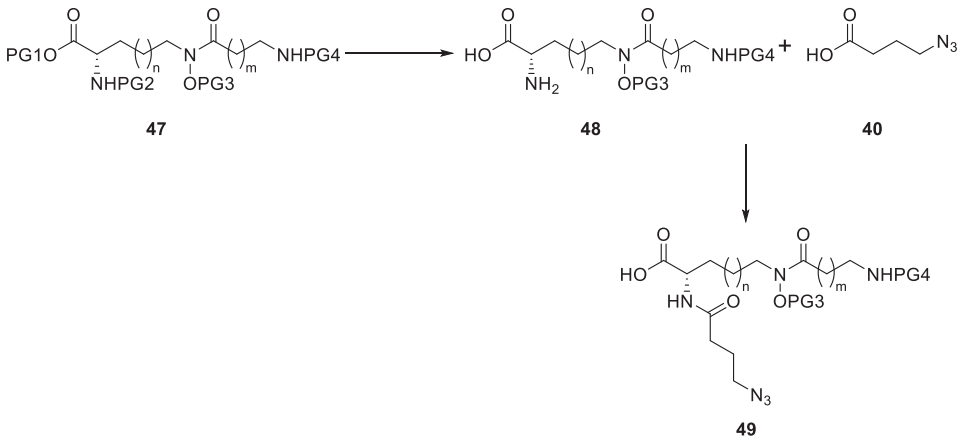
Aufgrund der hohen Dichte an funktionellen Gruppen in den gewählten Ausgangsverbindungen, war die Entwicklung einer geeigneten Schutzgruppenstrategie entscheidend (Schema 3-2).



Schema 3-2: Syntheseschema zur Entwicklung der Schutzgruppenstrategie (Teil A) mit n = 1, 2 und m = 1, 2.

Die ausgewählten Ausgangsverbindungen **44** tragen neben einer Carboxylgruppe, zwei Aminofunktionen. Die Schlüsselschritte der Synthese stellen die Bildung des Hydroxylamins **45** und die anschließende Peptidkupplung an der terminalen Aminofunktion dar. Dies macht es notwendig, beide Aminofunktionen orthogonal zueinander zu schützen, um diese jeweils selektiv modifizieren zu können. Darüber hinaus muss die Hydroxygruppe des Hydroxylamins **45**, beziehungsweise der Hydroxamsäure **47**, bis zum Schluss der Synthese geschützt bleiben, um Nebenreaktionen zu vermeiden. Dies stellt eine besondere Anforderung an die Schutzgruppe **PG3**, da sie sowohl die Bedingungen zur Abspaltung der anderen Schutzgruppen, sowie die Reaktionsbedingungen aller folgenden Synthesestufen tolerieren muss.

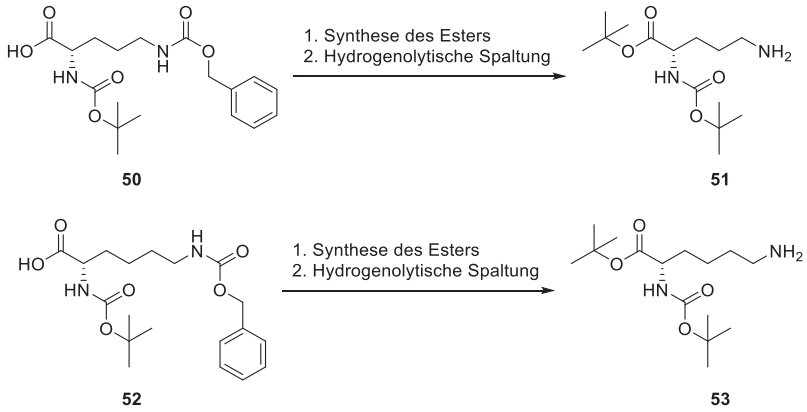
Um die Peptid-Synthese nach dem Fmoc-Protokoll (abgeleitet von *N*-(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy)-) durchführen zu können und eine Festphasensynthese des Liganden zugänglich zu machen, wurde als Schutzgruppe **PG4** des *N*-Terminus die basenlabile Fmoc-Schutzgruppe gewählt. Somit ergäbe sich die Möglichkeit für **PG1** und **PG2**, welche orthogonal zu **PG3** und **PG4** sein müssen, als säurelabile Schutzgruppen in Form des *tert*-Butylesters (O*t*Bu) bzw. des *tert*-Butyloxycarbonyls (Boc) einzuführen. Unter Berücksichtigung dieses Vorgehens, ergäbe sich als orthogonale Schutzgruppe für die Hydroxamsäure-Funktion **PG3** eine hydrolytisch labile Benzoyl- bzw. in der Folge eine hydrogenolytisch labile Benzyl-Schutzgruppe, welche im letzten Schritt der Synthesesequenz vor einer Komplexierung entfernt werden könnte und alle vorangegangenen Reaktionsbedingungen tolerieren könnte. Nach Peptidkupplung zu Dipeptid **47** könnten die Carbonyl- und α-Aminofunktion freigelegt werden um die Azid-tragende Seitenkette einzuführen und somit die Monomer-Einheit **49** (analog **38**) zu erhalten (Schema 3-3).



Schema 3-3: Syntheseschema zur Entwicklung der Schutzgruppenstrategie (Teil B).

3.2. Syntheseplanung der Monomerbausteine

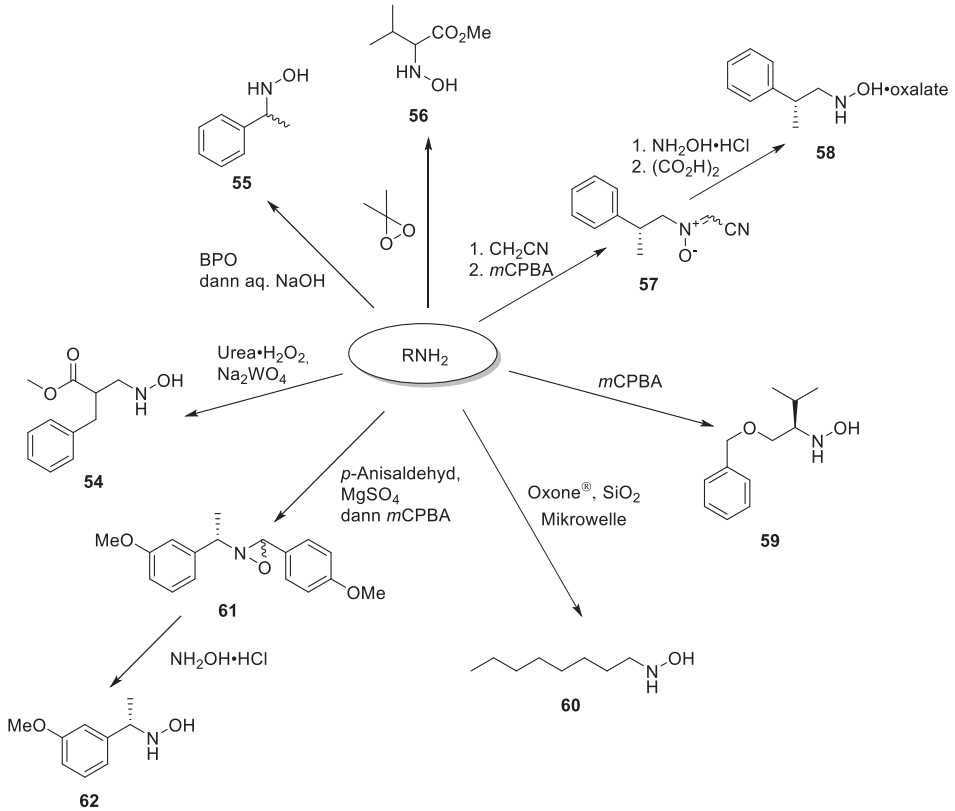
Für die entwickelte Synthese und Schutzgruppenstrategie wurden in Folge die kommerziell erhältlichen Aminosäuren L-Ornithin und L-Lysin als Grundbausteine gewählt. Aus Kostengründen und der Skalierbarkeit der Synthese wurden die α- Boc- und terminal als Cbz-geschützte Derivate **50, 52** erworben, welche in die entsprechenden *tert*-Butylester überführt und die terminalen Aminofunktionen in der Folge hydrogenolytisch freigelegt werden können (Schema 3-4).



Schema 3-4: Ausgangsverbindungen der Synthese sowie geplante Synthesestrategie zur Bildung der terminalen primären Amine.

Zur Oxidation von primären Aminen zu den korrespondierenden *N*-Alkylhydroxylaminen stehen eine Vielzahl von Methoden zur Verfügung, auf die im Folgenden genauer eingegangen wird (Schema 3-5). HEYDARI et. al. stellten mittels katalytischer Oxidation von primären Aminen durch 10mol% Na_2WO_4 in Anwesenheit eines Urea-H_2O_2-Komplexes selektiv die entsprechenden terminalen *N*-Alkylhydroxylamine **54** in guten Ausbeuten her. [135]

Ebenso lassen sich nach WITTMAN et. al. mittels Oxidation durch 2,2-Dimethyldioxiran (DMDO) die freien Hydroxylamine darstellen, wobei häufig eine „Überoxidation“ zu den entsprechenden Oximen beoachtet wird. [136] Die Verwendung von Peroxosäuren wie *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*CPBA) zur Herstellung von Hydroxylaminen wurde erstmals von MURAT et. al. in der Totalsynthese des Antitumor-Reagenz PM-94128 vorgestellt. Eine Weiterentwicklung dieser Methodik, ist die vorangehende selektive Cyanomethylierung mit anschließender Oxidation zu den korrespondierenden Oximen von TOKUYAMA et. al. Durch anschließende Hydrolyse mit Hydroxylamin-Hydrochlorid lässt sich eine große Bandbreite an Startmaterialien zu primären, sekundären und tertiären (chiralen) *N*-Alkylhydroxylaminen in guten bis sehr guten Ausbeuten umsetzen.

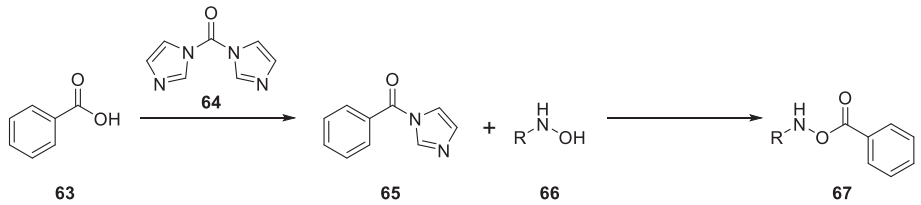


Schema 3-5: Syntheseschema zur Herstellung von *N*-Alkylhydroxylaminen ausgehend von primären Alkylaminen.

Ein weiteres Beispiel für die Verwendung von *m*CPBA bei der Darstellung von Hydroxylaminen ist die von WOVKULICH et. al. entwickelte Hydrolyse von Oxaziridinen **61**.[137] Hierbei werden zunächst durch Umsetzen des primären Amins mit *p*-Anisaldehyd in Anwesenheit von $MgSO_4$ und anschließender Oxidation mit *m*CPBA die entsprechenden Oxaziridine **61** erhalten. Durch anschließende Hydrolyse mit Hydroxylamin-Hydrochlorid lassen sich die korrespondierenden *N*-Alkylhydroxylamine **62** erhalten. Wie von TICKELL et. al. in weiteren Studien demonstriert, lässt sich mit dieser Methodik eine große Bandbreite Aminen, auch stereoselektiv, zu den korrespondierenden Hydroxylaminen überführen.[138] Hierbei ist anzumerken, dass die vorgestellten Ausbeuten bei der Darstellung von *N*-Alkylhydroxylaminen im Gegensatz zu *N*-Benzylhydroxylaminen deutlich geringer waren. Als weiteres klassisches Oxidationsmittel lässt sich auch Oxone® (Kaliumperoxomonosulfat) verwenden. In einem Artikel von FIELDS et. al. berichteten die Autoren, dass sich primäre Amine in einem Lösungsmittel-freien System aus SiO_2 und Oxone® unter Mikrowellen-Bedingungen zu den korrespondierenden Hydroxylaminen **60** umsetzen lassen. Neben Alkylaminen konnten die Autoren ebenso N_α-Boc-L-Lysin zum korrespondierenden N_ε-Hydroxylamin umsetzen, allerdings erfolgte in dieser Synthese eine Aufarbeitung mit Trifluoressigsäure (TFA),

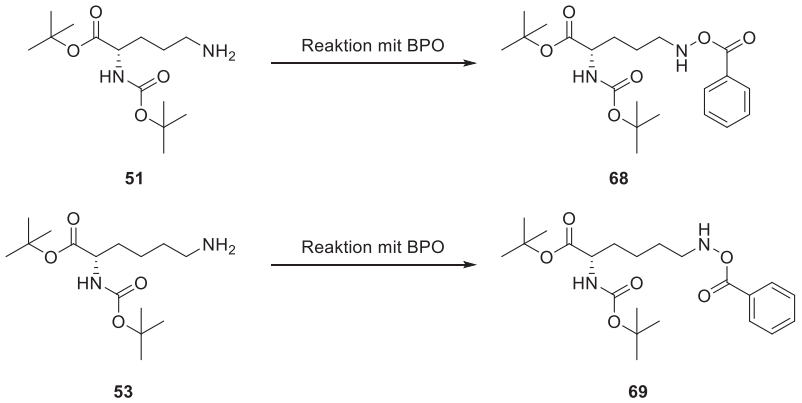
sodass ein Rückschluss auf den Erhalt der Schutzgruppe, unter den verwendeten Reaktionsbedingungen, nicht gezogen werden kann.

Allen bisher genannten Methoden gemein, ist die Verwendung starker Oxidationsmittel unter teilweise harschen Reaktionsbedingungen. Ebenfalls ist häufig eine anschließende Hydrolyse mit Hydroxylamin-Hydrochlorid unter harschen Bedingungen notwendig um die freien *N*-Alkylhydroxylamine zu erhalten. Durch die zuvor entwickelte Schutzgruppenstrategie, welche vorsieht die Diaminosäuren als N_{α}-Boc, *tert*-Butylester zu verwenden, könnte es hierbei zu Komplikationen und größeren Ausbeuteverlusten kommen. Somit wurden Methoden in welchen das Produkt nur durch Umsatz mit Hydroxylamin-Hydrochlorid bei hohen Temperaturen erhalten werden kann als Möglichkeiten ausgeschlossen. Um nach anschließender *N*-Acylierung nicht die freie Hydroxamsäure zu erhalten müsste des Weiteren eine „*one-pot*"–O-Alkylierung des Hydroxamates durchgeführt werden. Alternativ könnte durch die Verwendung von Carbonyldiimidazol eine selektive *O*-Acylierung des Hydroxylamins vorgenommen werden (Schema 3-6).[139]



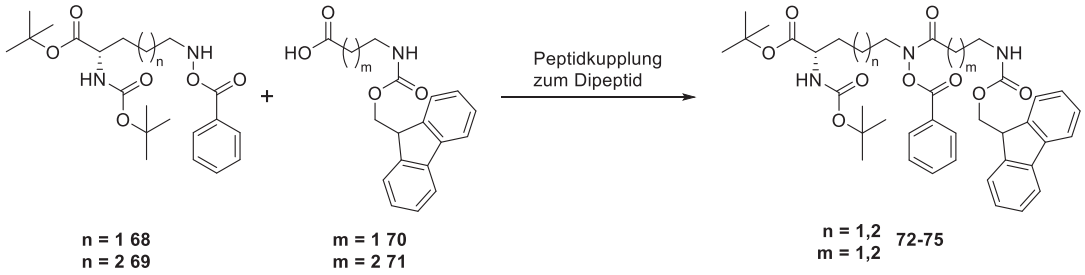
Schema 3-6: Selektive *O*-Acylierung von Hydroxylaminen nach Geffken et. al.[139] Neben Benzoesäure lassen sich auch Benzoesäure-Derivate, Pivalinsäure und andere Carbonsäuren verwenden.

Verbindungen des Typs **67** lassen sich alternativ auch direkt aus primären Aminen nach Zinner et. al. durch Reaktion mit Diacyl-Peroxiden, wie beispielsweise Benzoylperoxid, herstellen (Schema 3-5).[140] Anschließende Aufarbeitung mit wässriger HCl liefert das korrespondierende Hydroxylamin-Hydrochlorid, wohingegen eine basische Hydrolyse die freien Hydroxylamine liefert. Da die Synthese der freien Hydroxylamine in diesem Schritt der Synthese noch nicht notwendig wäre, wurde diese Methode für diese Synthesesequenz gewählt, da unter milden Reaktionsbedingungen in akzeptablen Ausbeuten die *O*-Acylierten Hydroxylamine erhalten werden könnten (Schema 3-7).



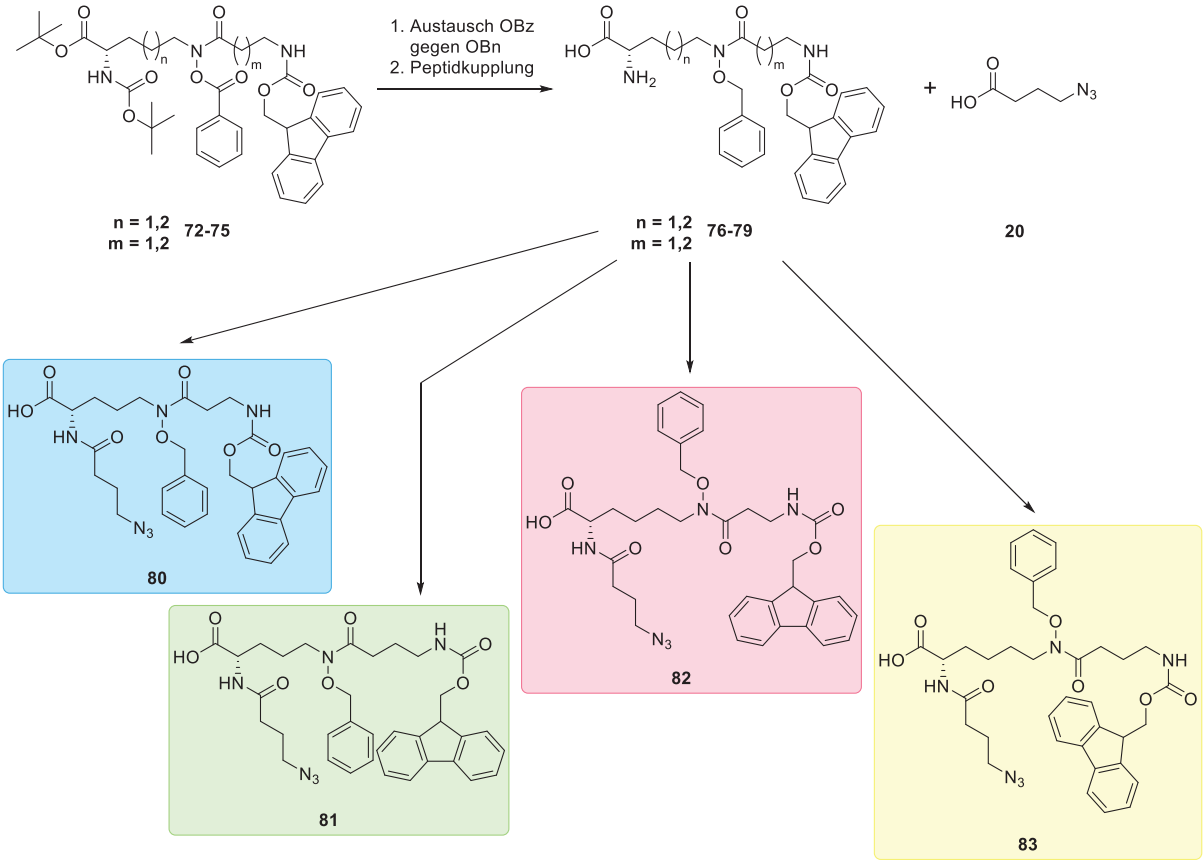
Schema 3-7: Ausgangsverbindungen der Synthese sowie geplante Synthesestrategie zur Bildung der Hydroxylamin-Bausteine **68** & **69**.

Für das Rückgrat der Monomere wurde als zweite Aminosäure β-Alanin **70** beziehungsweise γ-Aminobuttersäure **71** in Fmoc-geschützter Form gewählt. Während **70** kommerziell erhältlich ist, kann **71** durch Reaktion von freier γ-Aminobuttersäure mit Fmoc-OSu erhalten werden. Im Schlüsselschritt der Synthese der Monomere kann durch Peptidkupplung mit den zuvor hergestellten Benzoyloxy-aminen je nach Kombination der Ausgangsverbindungen vier mögliche Dipeptide **72-75** erhalten werden.



Schema 3-8: Schlüsselschritt der Synthesesequenz: Peptidkupplung der Aminosäurefragmente zur Hydroxamsäure.

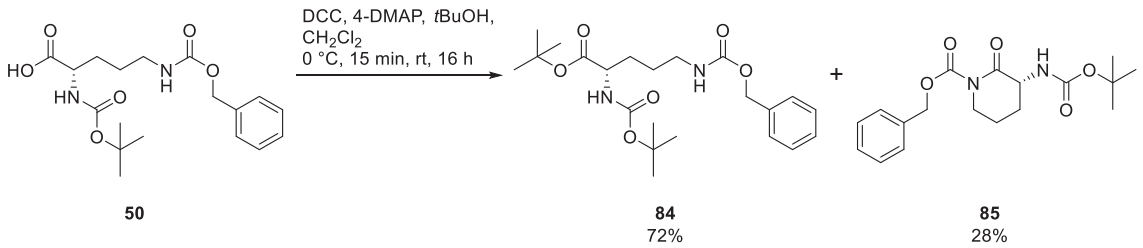
Aufgrund der Hydrolyse-Labilität sollte im Anschluss die Benzoyl-Schutzgruppe gegen eine Benzyl-Schutzgruppe ausgetauscht werden, wodurch der Benzyl-Ester der korrespondierenden Hydroxamsäuren erhalten wird. Durch anschließendes Entfernen der säurelabilen Boc- und *t*Bu-Gruppe und folgender Peptidkupplung mit der Azidosäure **20** können die Monomerbausteine **80-83** erhalten werden.



Schema 3-9: Synthese der Monomerbausteine **80-83**.

3.3. Synthese des Ornithin-GABA-Monomers

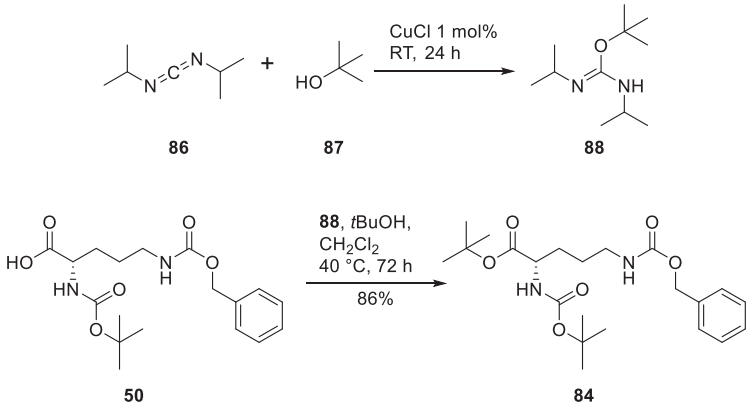
Als Startmaterial der Synthesen für die Ornithin-basierten Monomere wurde kommerziell erhältliches Boc-Orn(Cbz)-OH **50** gewählt. Wie in früheren Arbeiten beschrieben, ist eine Benzoylierung der terminalen Aminofunktion nur unter Abwesenheit sämtlicher anderer funktionellen Gruppen möglich.[141] Somit ergab sich die Notwendigkeit der Einführung einer Ester-Funktion. Die Synthese des *t*Bu-Esters erfolgte zunächst nach STEGLICH et. al.[142-143] wobei sich neben dem Produkt **84** auch das zyklische Nebenprodukt **85** bildete, was zu deutlichen Ausbeuteverlusten führte (Schema 3-10).



Schema 3-10: Synthese des *tert*-Butylesters mittels Steglich-Veresterung.[143]

Die Bildung des Nebenproduktes lässt sich durch die Aktivierung der Carbonsäure durch Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) erklären, woraufhin, vermutlich aus sterischen Gründen, der intramolekulare nukleophile Angriff des Carbamat-Stickstoffatoms auf das

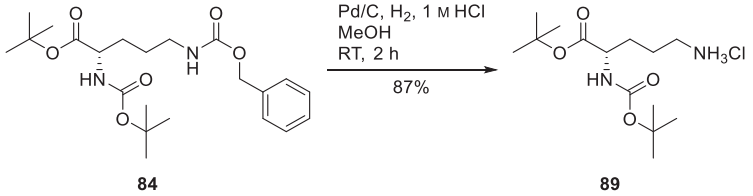
Carbonyl-Kohlenstoffatom stattfindet. Als Alternative wurde daher eine Methode von MATHIAS [144] bzw. ROSENBERG et. al. [145] verwendet. Hierbei bildet sich aus Diisopropylcarbodiimid **86** (DIC) und *t*BuOH **87** unter Verwendung eines Cu(I)-Katalysators *N,N'*-Diisopropyl-*O*-*tert*-butylisoharnstoff **88** (Schema 3-11).



Schema 3-11: Synthese des *t*Bu-Esters **84** unter Verwendung von *N,N'* Diisopropyl *O tert*-butylisoharnstoff **88**.

Zur Abtrennung des Kupfersalzes wurde eine Destillation durchgeführt. HODGES et. al. [146] verwendeten in späteren Arbeiten einen auf Polyvinylpyridin basierten, nicht näher beschriebenen Ionentauscher. In dieser Arbeit wurde als Alternative der auf Polyamiden basierende Ionentauscher Purolite® S985 verwendet, welcher nach dem Quellen in CH_2Cl_2 und anschließender Filtration in die Reaktionslösung gegeben wurde. Nach 30-minütigem Rühren konnte das tiefblau verfärbte Harz abfiltriert und der Isoharnstoff nach Entfernen des Lösungsmittels erhalten werden. Es zeigte sich, dass auch bei Verzicht auf eine Abtrennung des Kupferkatalysators gleiche Ausbeuten erzielt werden konnten, sodass aus Kostengründen auf eine Abtrennung des Kupfersalzes verzichtet wurde. Der *t*Bu-Ester **84** konnte nach Säulenchromatographie in einer Ausbeute von 86% im Multigramm-Maßstab (~20 g) erhalten werden.

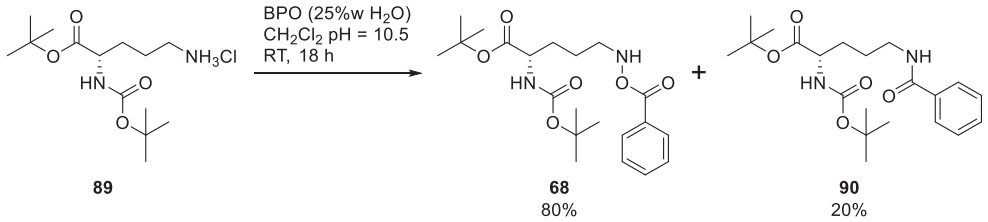
Nach anschließender hydrogenolytischer Spaltung der Cbz-Schutzgruppe im HCl-sauren Milieu konnte das Hydrochlorid-Salz **89** in einer Ausbeute von 87% erhalten werden (Schema 3-12). [147-149]



Schema 3-12: Hydrogenolytische Spaltung der Cbz-Schutzgruppe unter Bildung des Hydrochlorid-Salzes.

Für die Synthese des Hydroxylamins **68** wurde ein von PHANSTIEL et. al. [150] bzw. BILOSKI et. al. [151] etabliertes Protokoll zur Herstellung von *O*-acylierten Hydroxylaminen

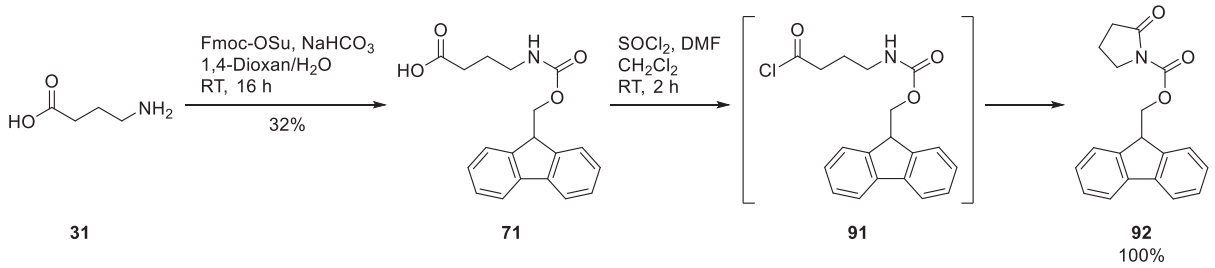
aus primären Aminen verwendet. Durch Reaktion mit BPO wurde das zuvor erhaltene Hydrochlorid **89** zum Benzoyloxy-amin **68** in einer Ausbeute von 80% umgesetzt (Schema 3-13).



Schema 3-13: Synthese von Boc-Orn(*O*Bz)-O*t*Bu **68** aus Boc-Orn(NH_3Cl)-O*t*Bu **89**.

Trotz der Verwendung des in der Literatur beschriebenen zweiphasigen Systems aus CH_2Cl_2 und einem auf pH = 10.5 eingestellten Hydrogencarbonat-Puffers wurde zu 20% das Amid-Nebenprodukt **90** erhalten. Da diese Werte mit den in der Literatur veröffentlichten Ausbeuten von HEEMSTRA et. al.[152] korrelieren, wurde auf eine weitere Optimierung der Reaktionsbedingungen verzichtet.

Für die anschließende Acylierung unter Bildung der Hydroxamsäure wurde Fmoc-geschützte γ-Aminobuttersäure **71** ausgehend von GABA **31** synthetisiert (Schema 3-14).



Schema 3-14: Synthese der GABA-Fragmente für die Acylierung des Benzoyloxy-amins **68**.

Hierbei zeigte sich eine besondere Hydrolyse-Empfindlichkeit des Carbamats, welches unter Abspaltung von Dibenzofulven **94** zum γ-Butyrolactam **93** reagierte (siehe Abbildung 3-1 6.25 ppm, orange). Das erhaltene Produkt **71** wurde durch erneutes Waschen und anschließende Fällung im HCl-Sauren in einer Ausbeute von 32% erhalten und wurde unter Argon bei -20 °C gelagert.

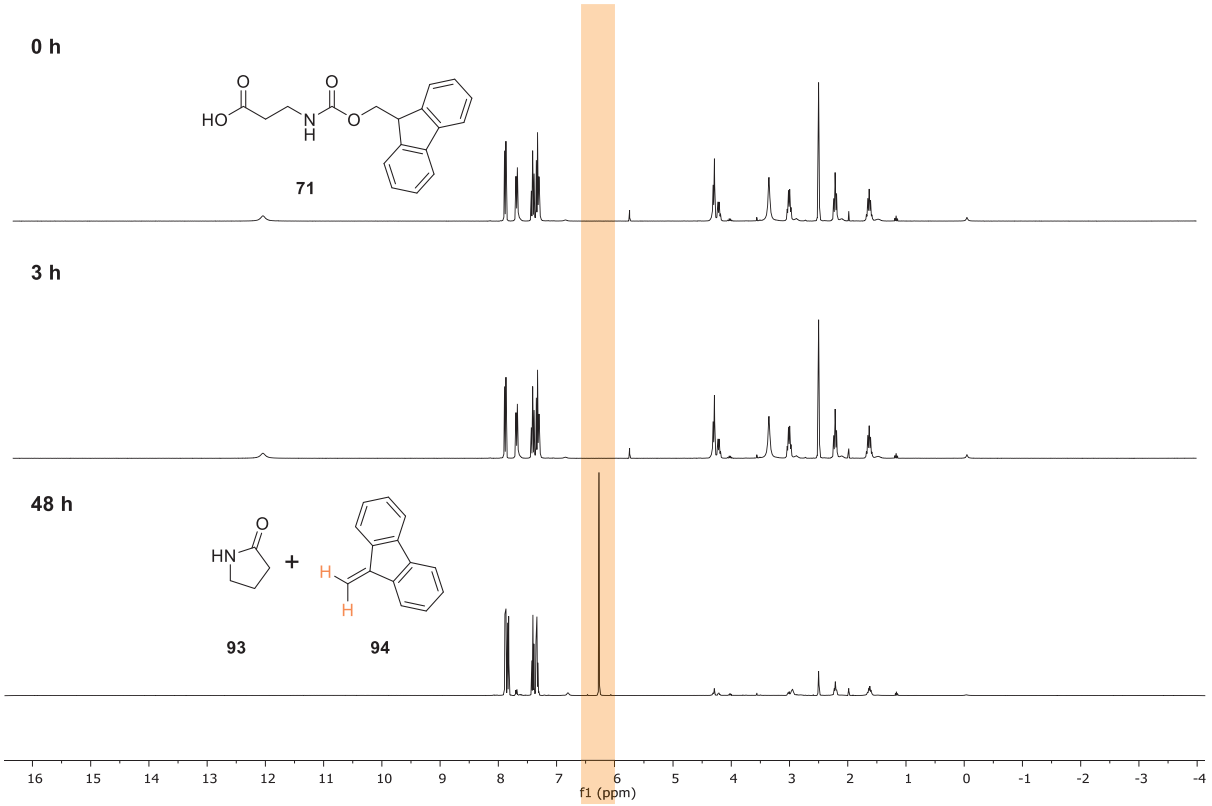
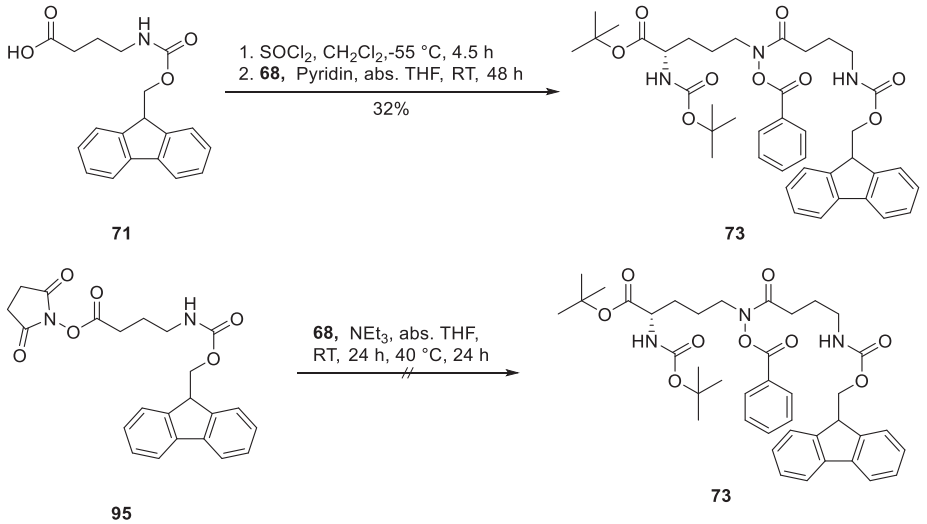


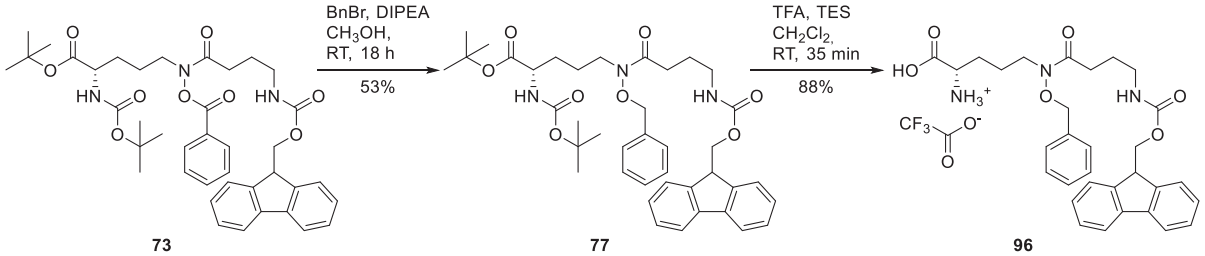
Abbildung 3-1: ^{1}H-NMR-Analyse von Fmoc-GABA-OH; nach 0 h, 3 h und 48 h. Hervorgehoben sind die Signale von Dibenzofulven (orange).

Anschließend sollte die freie Säure **71** durch Reaktion mit $SOCl_2$ in das korrespondierende Carbonsäurechlorid **91** überführt werden. Nach Entfernen aller flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck wurde das Lactam **92** als einziges Reaktionsprodukt gefunden. Durch einen nukleophilen Angriff des Carbamat-Stickstoffatoms auf das Carbonyl-Kohlenstoff des sich intermediär bildenden Carbonsäurechlorids, kommt es zur Bildung des energetisch bevorzugten Fünfring. Zur Suppression der Lactam-Bildung wurde die Reaktion mit stark verringerter Temperatur (-55 °C) erneut durchgeführt. Zum Entfernen der flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck wurde die Reaktionslösung auf -10 °C erwärmt, wodurch das gewünschte Produkt **91** verunreinigt mit **92** erhalten werden konnte. Der erhaltene Rückstand wurde ohne weitere Aufarbeitung für die anschließende Acylierung verwendet, wobei das Produkt **93** in einer Ausbeute von 36% erhalten werden konnte (Schema 3-15). Hierbei stellte vor allem die Lactam-Bildung eine nicht zu überwindende Problematik dar, da neben dem Säurechlorid auch immer das Lactam **92** gebildet wurde. Des Weiteren sind aufgrund der längeren Reaktionszeit Nebenreaktionen, wie zum Beispiel die Abspaltung der basenlabilen Fmoc-Schutzgruppe nicht ausgeschlossen.



Schema 3-15: Syntheseschema zur Bildung des dipeptidischen Bausteins **68** unter Verwendung des Säurechlorids **91** bzw. des NHS-Aktivesters **95**.

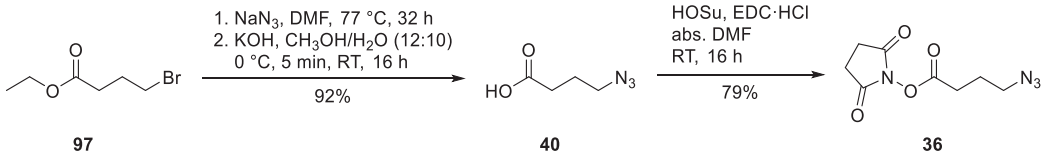
Um eine kinetisch stabilere Acylierungs-Spezies zu testen, wurde durch Reaktion von **71** mit EDC · HCl und *N*-Hydroxysuccinimid der korrespondierende NHS-Aktivester **95** synthetisiert. Bei Verwendung des NHS-Esters zur Kupplung wurde auch nach 48 h und Temperaturerhöhung auf 40 °C kein Umsatz beobachtet (Schema 3-11). Es ist also davon auszugehen, dass der NHS-Ester eine unzureichende elektrophile Aktivierung der Carbonsäure darstellt und daher keine Acylierung des schwach nukleophilen Benzoyloxy-amins stattfinden kann.



Schema 3-16: Austausch der Benzoyl- gegen eine Benzyl-Gruppe und anschließende Abspaltung der säurelabilen Schutzgruppen zur Darstellung des TFA-Salzes **96**.

Im weiteren Verlauf der Synthese wurde an Stelle der hydrolytisch labilen Benzoyl-Gruppe eine Benzyl-Gruppe installiert (Schema 3-12). Hierbei erfolgte zunächst die Hydrolyse durch DIPEA in CH_3OH, mit anschließender Alkylierung der freien Hydroxamsäure durch Benzylbromid unter Bildung des Produkts **77** in einer Ausbeute von 53%. Als Hauptgrund der verringerten Ausbeute ist die Abspaltung der basenlabilen Fmoc-Schutzgruppe infolge der langen Reaktionsdauer zu nennen. Zur Darstellung des Monomer-Bausteins für die anschließende Multimerisierung erfolgte im Anschluss die Abspaltung der säurelabilen Gruppen durch TFA unter Zusatz von TES als Scavenger, wobei das Produkt **96** in einer Ausbeute von 88% nach säulenchromatographischer Reinigung erhalten wurde.

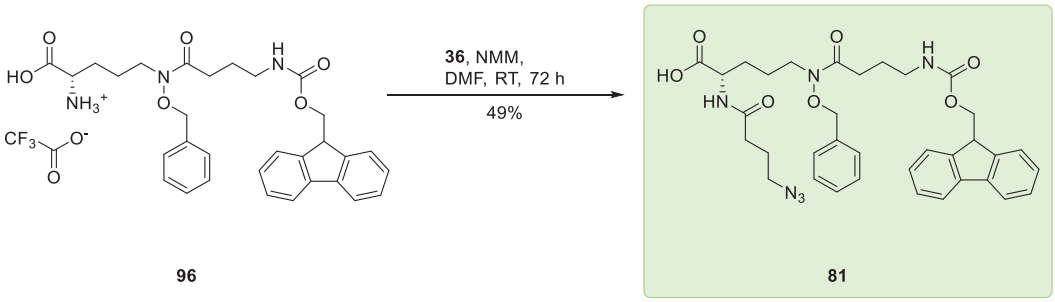
Um eine Möglichkeit zur bioorthogonalen Modifikation der Chelatoren mittels „Click-Chemie“ zu erhalten, erfolgte im Anschluss die Einbringung einer Azid-tragenden Seitenkette, über die durch Konjugation weiterer funktioneller Gruppen die pharmakokinetischen Eigenschaften der Liganden individuell und anwendungsbezogen angepasst werden können. Die Synthese des Azids erfolgte ausgehend von Ethyl 4-Bromobutyrat **97** nach einer Route von DeForest et. al (Schema 3-17).[153]



Schema 3-17: Synthese der Azid-tragenden Seitenkette nach DeForest et. al. ausgehend von Ethyl 4-Bromobutyrat **97** [153]

Nach nukleophiler Substitution des Bromids durch Natriumazid, wurde die freie Säure **40** durch Verseifung des Ethylesters in Anwesenheit von KOH in einer Ausbeute von 92% über zwei Stufen erhalten. Durch anschließende Aktivierung der Carbonsäure mit EDC · HCl in Anwesenheit von *N*-Hydroxysucciniimid (HOSu) konnte der NHS-Aktivester **36** der Carbonsäure in einer Ausbeute von 79% erhalten werden. Ausbeuteverluste lassen sich auf die wässrige Aufarbeitung mit anschließender säulenchromatographischer Reinigung zurückführen, wobei es zur Zersetzung des Aktivesters gekommen sein könnte.

Durch anschließende Peptidkupplung des Aktivesters **36** unter Verwendung von *N*-Methylmorpholin (NMM) konnte der Monomer-Baustein **81** in einer Ausbeute von 49% erhalten werden (Schema 3-18).



Schema 3-18: Aktivester-Kupplung mit dem Salz der freien Aminosäure **96** zur Darstellung des Monomers **81**.

Haupursächlich für die verringerte Ausbeute ist, wie zuvor beschrieben, eine durch die lange Reaktionsdauer bedingte Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe.

Fazit

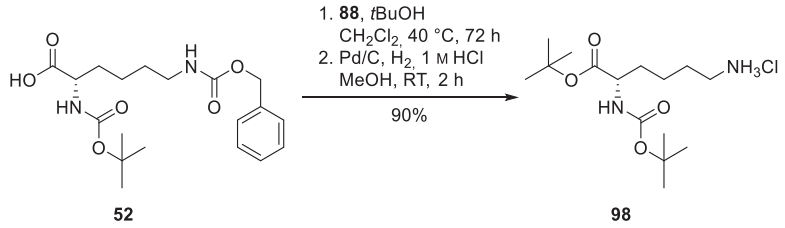
Der Ornithin-GABA Monomer-Baustein **81** konnte in einer Ausbeute von 4% über 7 Stufen erhalten werden. Als besonders problematische Stufen in der Synthesesequenz erwiesen sich die Schlüsselschritte zur Bildung des Benzoyl-oxy Amins **68** und die anschließende

Acylierung unter Bildung der benzoylierten Hydroxamsäure **73**. Es konnte bei der Benzoylierung trotz Einhaltung des in der Literatur empfohlenen pH-Wertes von pH = 10.5 die Bildung des Amides nicht unterdrückt werden.[150] Alternativ könnte statt einer direkten Reaktion mit BPO eine vorangehende Oxidation zum freien Hydroxylamin vorgenommen werden. Hierbei wäre es anschließend möglich eine *N*-Acylierung unter Bildung der freien Hydroxamsäure vorzunehmen und diese im Anschluss durch Verwendung eines geeigneten Halogenids zu alkylieren.

Insbesondere die *N*-Acylierung mit den gewählten Ausgangsverbindungen stellte sich als besonders problematisch heraus, da die dargestellten γ-Aminobuttersäure Derivate auch ohne Aktivierung der Carbonsäure zur Ausbildung des thermisch bevorzugten γ-Butyrolactams neigen. Aufgrund der geringen Reaktivität des *O*-acylierten Hydroxylamins muss auf besonders reaktive Carbonsäure-Derivate für die Bildung der Hydroxamsäure zurückgegriffen werden, wodurch die Lactambildung zusätzlich begünstigt wird und es zu starken Ausbeuteverlusten kommt. Aus diesen Gründen erwiesen sich die Dipeptide unter Verwendung von γ-Aminobuttersäure für die Synthese von Monomer-Bausteinen der neuen Chelatoren als ungeeignet.

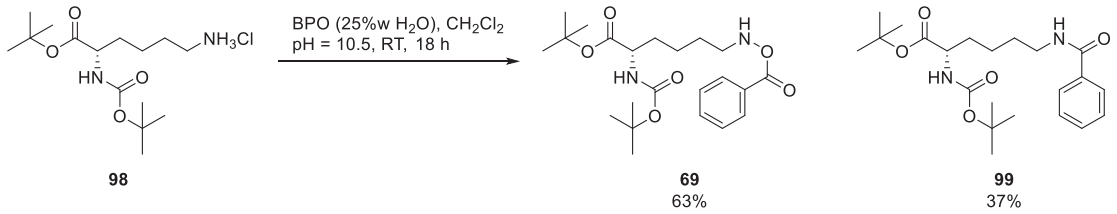
3.4. Synthese der Ornithin-β-Alanin- und Lysin-β-Alanin Monomere

Neben der Synthese von Derivaten, welche im Backbone eine γ-Aminobuttersäure-Einheit tragen, sollten zudem auch die kurzkettigeren Derivate unter Verwendung des C3-Bausteins β-Alanin **29** dargestellt werden. Durch die Wahl der kürzeren Aminosäure kann eine Lactam-Bildung nach Aktivierung der Carbonsäure-Funktion ausgeschlossen werden, sodass eine Synthese der entsprechenden Monomer-Bausteine möglich sein sollte. Als Ausgangsmaterialien wurde analog zu dem zuvor verwendeten Boc-Orn(Cbz)-OH **50**, Verbindung Boc-Lys(Cbz)-OH **52** gewählt. Mit der in Kapitel 3.3 beschriebenen Vorgehensweise, konnte durch Reaktion mit *N,N'*-Diisopropyl-*O*-*tert*-butylisoharnstoff **88** der Lysin-*tert*-Butyl-Ester **156** erhalten werden. Nach hydrogenolytischer Spaltung der Cbz-Gruppe wurde das terminale Amin als HCl-Salz **98** in einer Ausbeute von 90% über zwei Stufen erhalten (Schema 3-19).



Schema 3-19: Synthese des ε-Amin-Bausteins aus Boc-Lys(Cbz)-OH **52** durch Synthese des *t*Bu-Esters und anschließender hydrogenolytischer Spaltung der Cbz-Gruppe.

Das Benzoyl-oxy-Amin des Lysins **69** wurde nach einer etablierten Methode von RÜPING et. al. in einer Ausbeute von 63% synthetisiert, wobei zu 37% das Amid-Produkt **99** gefunden wurde (Schema 3-20).[141]

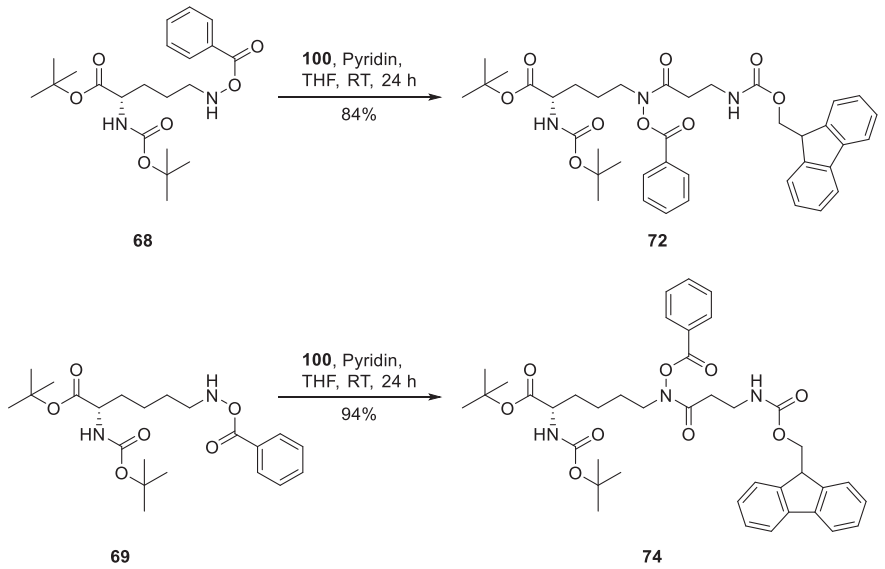


Schema 3-20: Darstellung des Lysin-benzoyl-oxy Amins **69** ausgehend von aus dem primären Amin **98**. Als Nebenprodukt wurde wie zuvor berichtet das Amid **99** gebildet.

Vergleichbar mit den Ergebnissen des Ornithin-Bausteins **68** korreliert diese Ausbeute mit in der Literatur dokumentierten Werten, sodass auf eine weitere Optimierung dieses Reaktionsschrittes verzichtet wurde.

Schema 3-21: Darstellung des Säurechlorids **100** aus Fmoc-β-Alanin **70** für die *N*-Acylierung.

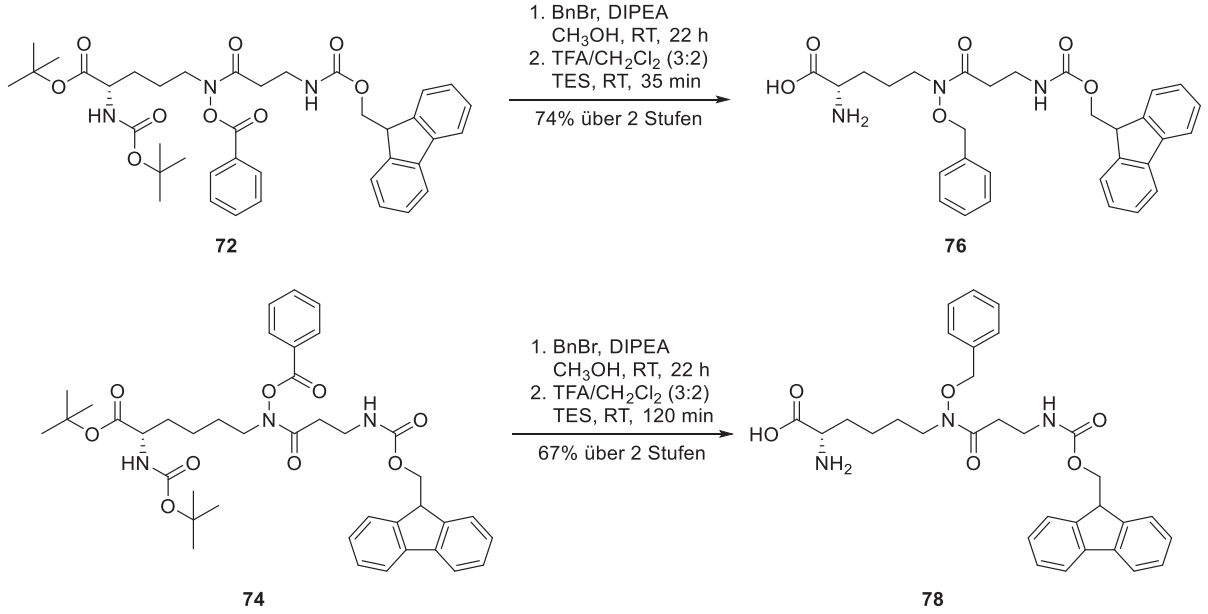
Für die anschließende *N*-Acylierung zur Bildung der Hydroxamsäure-Funktion sollte gemäß den vorherigen Ergebnissen das Säurechlorid von Fmoc-β-Alanin verwendet werden, bei dem eine Bildung des β-Lactams nach Aktivierung der Carbonsäurefunktion unwahrscheinlich sein sollte. Durch Umsetzen von **70** in einer Reaktion mit $SOCl_2$ und katalytischen Mengen an DMF konnte das korrespondierende Säurechlorid **100** in quantitativer Ausbeute erhalten werden (Schema 3-21).



Schema 3-22: *N*-Acylierung mit Säurechlorid **100** zur Bildung der benzoylierten Ornithin- und Lysin-Hydroxamsäuren.

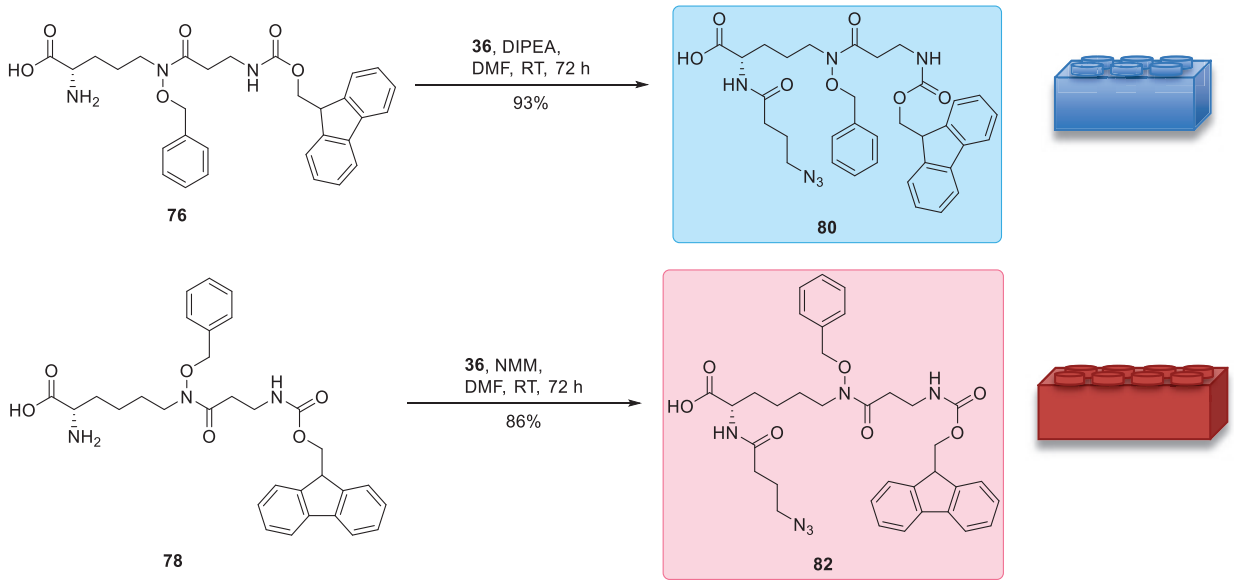
Für die anschließende Reaktion wurde Pyridin als Base gewählt, da es zum einen durch Salzbildung frei werdendes HCl abfängt, womit eine vollständige Verfügbarkeit des Nukleophils garantiert wird, und es zum anderen die Acylierung von Aminen durch Carbonsäurechloride und –Anhydride durch die Bildung eines Acylpyridinium-Ions katalysiert.[154] Die Dipeptide ließen sich in einer guten Ausbeute von 84% für das Ornithin-Derivat **72** und einer sehr guten Ausbeute von 94% für das Lysin-Derivat **74** darstellen. Nach Installation einer Benzyl-Schutzgruppe im Austausch gegen die Benzoyl-Gruppe durch Hydrolyse im basischen Milieu und anschließender Alkylierung der freien Hydroxamsäure mit Benzylbromid, wurden die säurelabilen Schutzgruppen der Carbonsäure und der α-Amino-funktion entfernt. Hierbei wurden für das Ornithin-Derivat **76** nach einer Reaktionszeit von 35 min zunächst nur 62% als vollständig

entschützte Aminosäure erhalten. Als Nebenprodukt konnte nach Säulenchromatographie der Boc-entschützte *tert*-Butylester isoliert werden. Durch erneute Behandlung des Selbigen mit TFA wurden weitere 30% des Produktes erhalten, sodass die Gesamtausbeute über zwei Stufen 74% entsprach.



Schema 3-23: Syntheseschema zur Darstellung der freien Aminosäuren. Nach Hydrolyse im basischen Milieu und anschließender Alkylierung folgt die Abspaltung der säurelabilen Schutzgruppen an Carbonsäure- und α-Aminofunktion.

Infolge dieser Ergebnisse wurde für die Abspaltung der säurelabilen Gruppen am Lysin-Derivat eine längere Reaktionszeit gewählt. Nach säulenchromatographischer Aufarbeitung konnte die freie Aminosäure des Lysin-Derivats **78** in einer guten Ausbeute von 67% über zwei Stufen erhalten werden. Hauptursächlich für die verringerte Ausbeute bei der Darstellung der beiden Dipeptide ist der im ersten Reaktionsschritt erfolgte Austausch der Benzoyl-Gruppe. Hierbei wird die Reaktion im basischen Milieu durchgeführt, wobei DIPEA als Base dient. Aufgrund der verlängerten Reaktionszeit kam es dabei zu einer Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe. [155]



Schema 3-24: Darstellung der Monomer-Bausteine **80** & **82** durch Peptidkupplung der entschützten Ornithin- **76** bzw Lysin-Derivate **78** mit dem Azidaktivester **36**.

Zur Darstellung der beiden Monomere wurde der Aktivester der 4-Azidobutansäure **36** verwendet um die Azidseitenkette einzubringen. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das Ornithin-Monomer **80** in einer sehr guten Ausbeute von 93% und das Lysin-Monomer **82** in einer guten Ausbeute von 86% erhalten werden.

Fazit

Durch die entwickelte lineare Synthese unter strategischer Verwendung entsprechender Schutzgruppen konnten die Monomerbausteine in einer guten Ausbeute von 34% im Falle des Ornithin-Monomers **80** und 31% für das Lysin-Monomer **82** erhalten werden, was einer durchschnittlichen Ausbeute von 86% (Ornithin) bzw. 85% (Lysin) in jeder Stufe entspricht. Darüber hinaus ließ sich die Syntheseroute sowohl im kleinen Maßstab (~1 g) als auch im Multigramm-Maßstab (bis zu 20 g) mit vergleichbaren Ausbeuten durchführen, sodass eine Skalierbarkeit der Methodik gegeben ist. Lediglich die *N*-Oxidation mit Benzoylperoxid führte im größeren Maßstab zu Problemen (45% Ornithin, 42% Lysin), sodass eine weitere Optimierung dieser Stufe in zukünftigen Arbeiten durchgeführt werden muss. Hierbei könnten durch Verwendung eines anderen Puffersystems (K_2CO_3, $KHCO_3$) oder durch Wechsel zu einem einphasigen Reaktionsgemisch (DMF, K_2PO_4) die Reaktionsbedingungen variiert werden und so möglicherweise eine höhere Ausbeute erzielt werden.[156] Die erhaltenen Monomere lassen sich in der Folge nach einem Baukastenprinzip für den Aufbau des Peptidrückgrats verwenden.

3.5. Synthese des Peptidrückgrats

3.5.1. Festphasenpeptidsynthese

Mit der Etablierung einer effizienten und skalierbaren Syntheseroute zur Herstellung der Monomer-Bausteine **80** und **82** wurde eine Basis zur Synthese neuer peptidische Chelatoren geschaffen. Anhand der gewählten Schutzgruppen-Strategie sollte der Aufbau der Oligopeptide nach der Fmoc-Strategie erfolgen.[157] Da zur Synthese der Tetramer-Bausteine mindestens sieben weitere Syntheseschritte erfolgen müssen, sollte aus Zeit- und Kostengründen die weitere Synthese mittels Festphasen-Peptidsynthese (SPPS) erfolgen. Während von Rüping et. al.[141] unter Verwendung eines ähnlichen Systems bereits versucht wurde mittels SPPS eine Syntheseroute zu etablieren, konnte diese nicht realisiert werden. Auch Seibold et. al.[158] versuchten ein ähnliches Derivat mittels SPPS herzustellen, konnten dies aber ebenfalls nicht realisieren. Hierbei ist anzumerken, dass in beiden genannten Arbeiten eine andere Schutzgruppenstrategie verfolgt wurde, sodass eine mögliche Interferenz der Kupplungschemie durch anspruchsvolle Schutzgruppen an der α-Aminofunktion nicht ausgeschlossen werden kann. Da für die spätere Anwendung in der zielgerichteten Diagnostik eine Verknüpfung von Targeting-Funktion zum Chelator notwendig ist, sollte in dieser Arbeit zudem ein Linker am C-Terminus des Peptids angebracht werden (Abbildung 3-2).

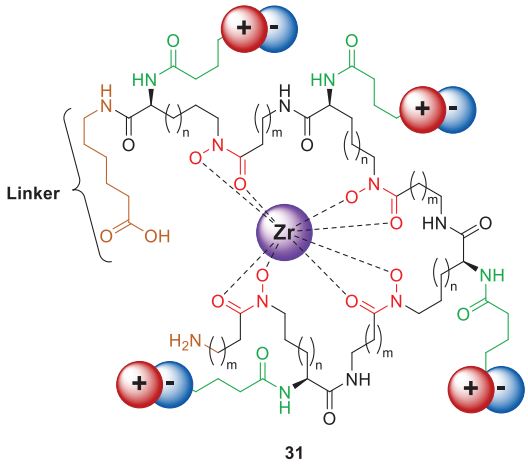
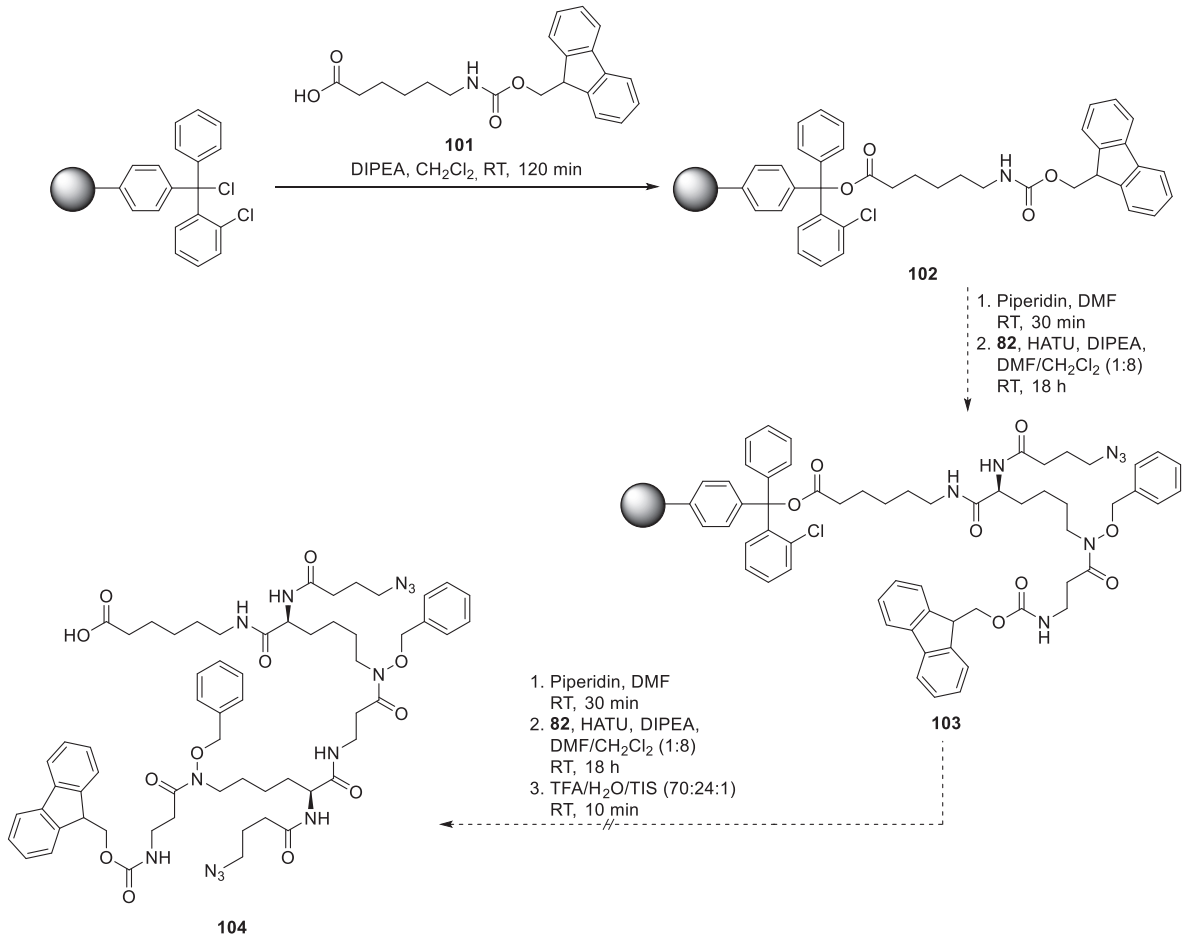


Abbildung 3-2: Schematische Darstellung der geplanten tetrameren Chelatoren mit vier Hydroxamat-Funktionen (rot), zwitterionisch modifizierten Seitenketten (grün) und Linker-Funktionen (braun).

Hierbei wurde sich für die Verwendung von 6-Aminohexansäure entschieden, da von Maison et. al. synthetisierte Targeting-Moleküle eine intrinsische AHX-Kette aufweisen, und somit bei Kombination der Arbeiten ein idealer Abstand zwischen Targeting-Vektor und Chelator erreicht würde.[159] Als Harz für die SPPS wurde das säurelabile 2-Chlortrityl-chlorid-Harz (Belegungsdichte: 1.47 mmol/g) gewählt, welches durch einen säurelabilen

Trityl-Linker eine einfache Abspaltung der fertigen Peptide unter milden Bedingungen garantieren sollte. [160-161] Die Erstbelegung des Harzes erfolgte mit kommerziell erhältlicher Fmoc-AHX-OH **101** (Schema 3-25).



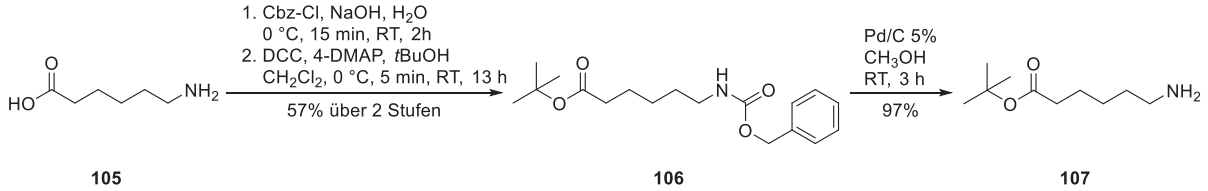
Schema 3-25: Syntheseschema der Festphasenpeptidsynthese am 2-Chlorotrityl-chlorid Harz. Erstbelegung durch Fmoc-AHX-OH **101** und anschließende Kupplung mit dem Lysin-Monomer **82**.

Durch Abspalten der Fmoc-Schutzgruppe und UV-Vis-spektrokopischer Analyse wurde eine Beladungsdichte von 27% (0.40 mmol/g) bestimmt. Die gegenüber der angestrebten Beladungsdichte von 80% angestrebte verringerte Erstbelegung des Harzes ist möglicherweise auf eine unzureichende Stabilität des Harzes gegenüber der Lagerung zurückzuführen. Da 2-Chlortrityl-chlorid Harze zur lagerungsbedingten Hydrolyse neigen, sollten diese nach längerer Lagerung durch Behandlung mit Oxalyl- oder Thionylchlorid aktiviert werden, worauf in dieser Arbeit verzichtet wurde. Nach anschließendem Abspalten der Fmoc-Schutzgruppe wurde das Lysin-Monomer **82** durch zwei Kupplungszyklen mit HATU als Kupplungsreagenz am Harz installiert. Nach anschließender Entschützung und Kupplung zum Dimer **104** wurde eine Testabspaltung des Peptids mit einem Gemisch aus TFA, Wasser und TIS (70:24:1) vorgenommen. Hierbei konnten mittels Massenspektrometrie an Stelle des gewünschten Produktes (m/z = 1185.60

$[M+H]^+$) lediglich zwei nicht identifizierbare Signale (m/z = 515.30 $[M+H]^+$, m/z = 629.64 $[M+H]^+$) gefunden werden.

3.5.2. Synthese der Ornithin-Chelatoren

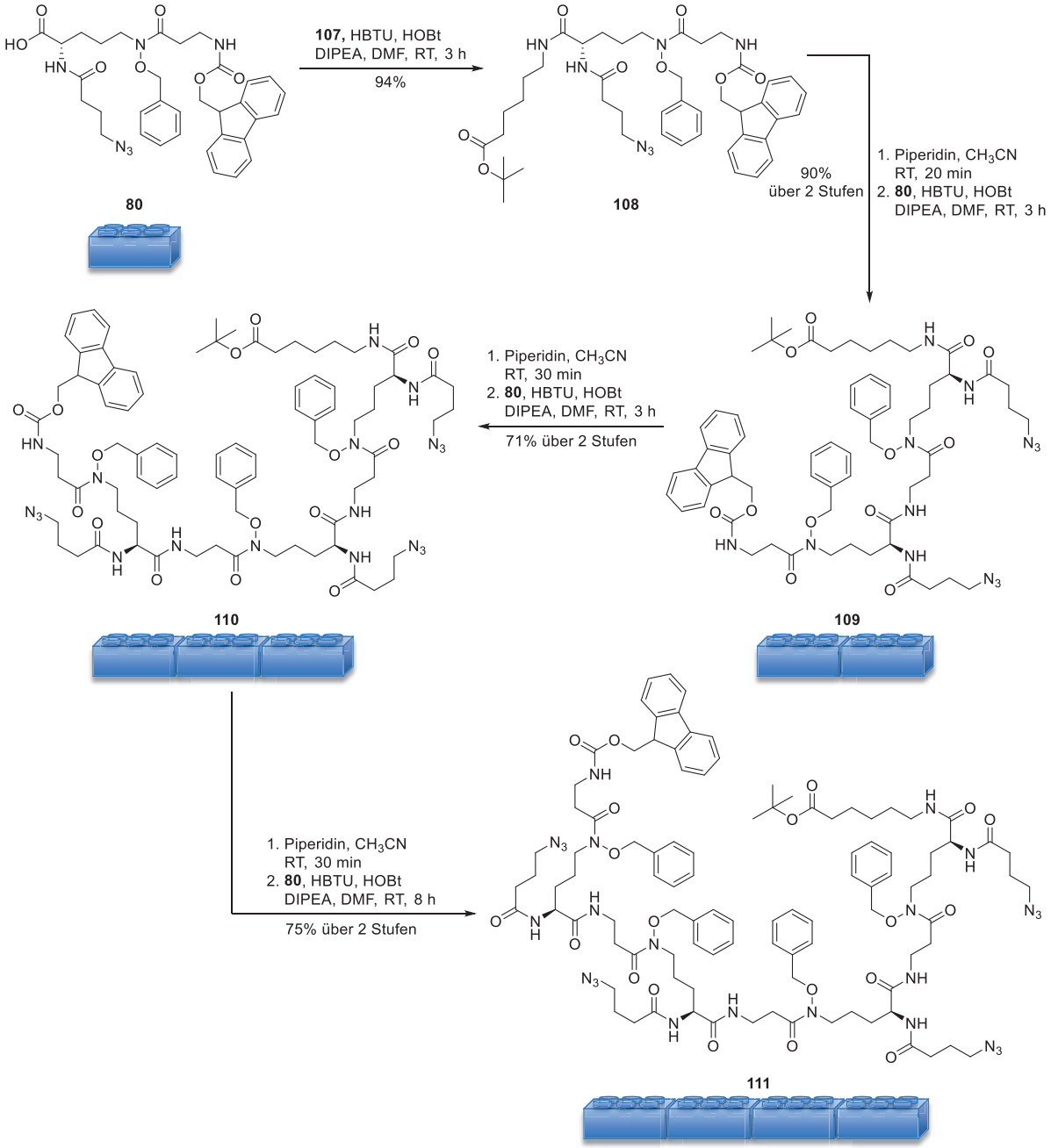
Da eine Synthese der gewünschten Multimere mittels SPPS nicht realisiert werden konnte und für die Synthese von Peptiden aufgrund der verringerten Ausbeuten in den Kupplungsschritten häufig mit mehreren Zyklen und hohen Überschüssen der Startmaterialien gearbeitet werden muss wurde für den weiteren Verlauf dieser Arbeit eine Syntheseroute der Oligopeptide in Lösung entwickelt.



Schema 3-26: Synthese von 6-Aminohexansäure-*tert* Butylester **107** ausgehend von Aminohexansäure.

Um analog zur SPPS am C-Terminus des Monomers einen Linker installieren zu können, wurde ausgehend von kommerziell erhältlicher Aminohexansäure **105** der korrespondierende AHX-*tert*-Butylester **107** nach literaturbekannten Methoden dargestellt (Schema 3-26). Nach Einführen der Cbz-Gruppe, konnte mittels Steglich-Veresterung der Cbz-geschützte *t*Bu-Ester **106** in einer Ausbeute von 57% dargestellt werden. [162-163] Nach hydrogenolytischer Spaltung wurde AHX-*tert*-Butylester **107** mit einer Ausbeute von 97% erhalten. [164]

Im Anschluss sollte die Synthese der Chelatoren mittels Peptidsynthese in Lösung ausgehend von den einzelnen Monomer-Bausteinen erfolgen (Schema 3-27). Nach Aktivierung der Carbonsäure des Ornithin-Monomers **80** durch HBTU/HOBt wurde der AHX-Linker **107** in einer sehr guten Ausbeute von 94% angebracht.



Schema 3-27: Synthese des Ornithin-Trimers **110** und Ornithin-Tetramer **111** ausgehend vom Ornithin-Monomer **80**.

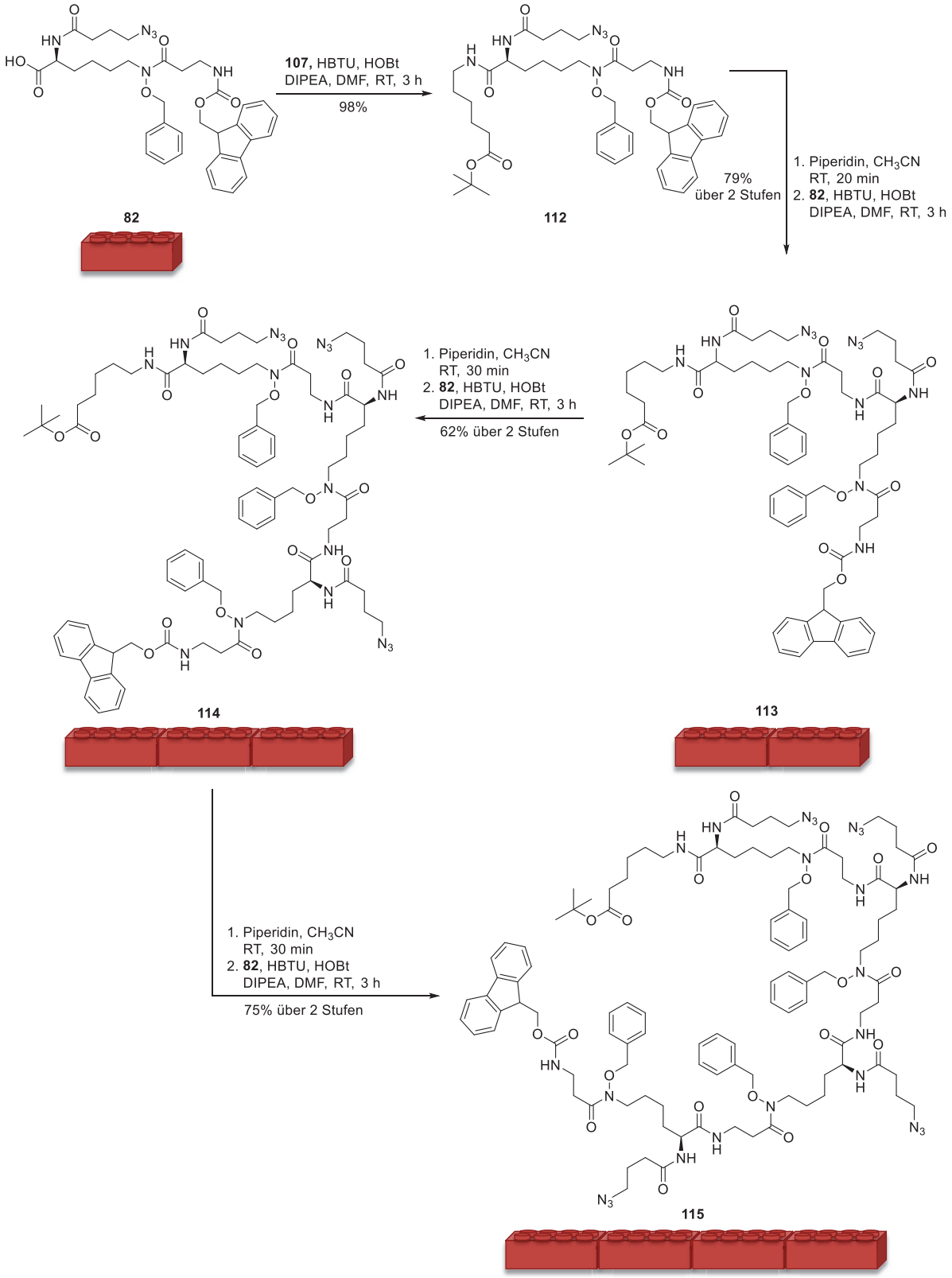
Nachdem die terminale basenlabile Fmoc-Schutzgruppe durch 20% Piperidin in Acetonitril entfernt wurde, ließ sich das Ornithin-Dimer **109** durch Kupplung mit einem weiteren Monomer-Baustein **80** in einer guten Ausbeute von 90% über zwei Stufen darstellen. Als besonders problematisch erwies sich die säulenchromatographische Reinigung der freien Amine nach Abspalten der Fmoc-Schutzgruppe, da Produkt und Fmoc-Piperidin-Addukt infolge ihres Säure-/Base-Verhaltens, trotz Zugabe von NEt_3, eine verbreiterte Retention aufwiesen und es zu Kontamination der Produktfraktion kam. Nach einem weiteren Kupplungszyklus wurde **109** in einer Ausbeute von 71% über zwei Stufen zu Ornithin-Trimer **110** umgesetzt. Neben der zuvor genannten Reinigungsproblematik, trat

bei Darstellung des Trimers eine unbekannte Verunreinigung auf, welche nur durch eine zusätzliche Reinigung mittels Umkehrphasen-Chromatographie abgetrennt werden konnte.

In einer Studie von GUÉRARD et. al. wurden mittels DFT-Rechnungen die Komplexgeometrien verschiedener Zr-Hydroxamatkomplexe untersucht. Nach anschließender Synthese der berechneten Liganden, konnte mittels Röntgenkristallographie eine octadentate Chelatisierung von Zr^{4+}-Ionen durch Hydroxamate belegt werden. [134] Infolgedessen wurden, wie in Abschnitt 1.5 erwähnt, eine ganze Bandbreite octadentater Chelatoren entwickelt, wobei eine erhöhte Serumstabilität der Zr-Komplexe im Vergleich zum „Goldstandard“ DFO gefunden werden konnte. [114, 165] In Analogie sollten in dieser Arbeit ebenfalls die tetrameren Oligopeptide dargestellt werden, um mit den Trimeren einen direkten Vergleich zu DFO ziehen zu können. Darüber hinaus sollten auch die octadentaten Tetramere als potentiell stabilere Liganden dargestellt und evaluiert werden. Ausgehend von Ornithin-Trimer **110** wurde durch einen weiteren Entschützungs-/Kupplungszyklus das Oligopeptid Ornithin-Tetramer **111** in einer Ausbeute von 75% über zwei Stufen dargestellt. In diesem Fall war eine deutlich längere Reaktionszeit für die Peptidkupplung mit dem Monomer-Baustein **80** nötig. Dies lässt sich möglicherweise auf die Kettenlänge des Peptids zurückzuführen. Durch repulsive Wechselwirkungen ist es möglich, dass die polare terminale Aminofunktion durch „coiling“ vom umgebenden unpolaren Peptid-Backbone abgeschirmt wird. Die geschützten Chelatoren Ornithin-Trimer **110** und Ornithin-Tetramer **111** konnten in einer Gesamtausbeute von 21% über 12 Stufen bzw. 16% über 14 Stufen dargestellt werden, was einer durchschnittlichen Ausbeute von 81% bzw. 82% pro Stufe entspricht.

3.5.3. Synthese der Lysin-Chelatoren

Analog zu der Synthese der Ornithin-Oligopeptide wurde an die freie Carbonsäure des Lysin-Monomers **82** der *tert* Butyl geschützte Aminohexansäure-Linker konjugiert (Schema 3-29). Die Aktivierung erfolgte wie zuvor mit HBTU/HOBt, wobei eine sehr gute Ausbeute von 98% erzielt wurde. In der anschließenden Sequenz aus Entschützungs- und Peptidkupplungsschritten konnten für die dargestellten Lysin-Oligomere, Lysin-Dimer **113** und Lysin-Trimer **114**, im Vergleich zu den Ornithin-Derivaten nur in deutlich geringeren Ausbeuten von 79% für **113** bzw. 62% für **114** erhalten werden (Schema 3-28).



Schema 3-28: Synthese des Lysin-Trimers **114** und Lysin-Tetramers **115** ausgehend vom Lysin-Monomer **82**.

Während bei der säulenchromatographischen Reinigung der Fmoc-entschützten Bausteine die in Abschnitt 3.5.2 beschriebenen Probleme auftraten, zeigte sich bei der Synthese des Lysin-Dimer **113** eine partielle Abspaltung der Fmoc-Gruppe in Anwesenheit von DIPEA im

Reaktionsgemisch. Nach chromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt **113** in einer Ausbeute von lediglich 67% erhalten werden, während weitere 14% in Form des freien Amins erhalten wurden. Auch zeigte sich bei der Kupplung zum Lysin-Trimer **114** eine verringerte Ausbeute, jedoch konnte in diesem Fall kein Nebenprodukt, welches Rückschlüsse auf eine vorzeitige Freilegung der Aminofunktion durch Abspalten der Fmoc-Schutzgruppe hindeutet, gefunden werden. Es ist möglich, dass es im Falle der Darstellung des Trimer-Lysin **114**, aufgrund der längeren Kettenlänge, zur Wicklung und somit zur Abschirmung der freien Aminofunktion kommt. Durch eine längere Reaktionszeit könnte in diesem Falle die Ausbeute bei der Darstellung des Trimers maximiert werden. Die Darstellung der Tetra-Hydroxamsäure erfolgte durch erneute Peptidkupplung mit dem Lysin-Monomer **82**, sodass Lysin-Tetramer **115** in einer guten Ausbeute von 79% synthetisiert werden konnte. Die Darstellung der geschützten Chelatoren des Lysins erfolgten in einer Ausbeute von 15% über 12 Stufen für das Lysin-Trimer **114** bzw. 11% über 14 Stufen für das Lysin-Tetramer **115**, was in beiden Fällen einer durchschnittlichen Ausbeute von 86% pro Syntheseschritt entspricht.

3.5.4. Synthese der alternierenden Chelatoren

Bei der Entwicklung neuer, mehrzähniger Liganden ist die Einstellung des idealen Abstands der Donorgruppen zueinander eine besondere Herausforderung. Nicht nur die Bildung der entsprechenden Metall-Komplexe, also kinetische Eigenschaften, sondern auch die Stabilität der erhaltenen Komplexe, die thermischen Eigenschaften, hängen entscheidend vom Abstand der an der Komplexbildung beteiligten Gruppen ab. Während bei zyklischen Chelatoren den Metallionen eine Komplexgeometrie durch die vorgegebene Käfigstruktur vorgegeben wird, können offenkettige Liganden durch ihre Flexibilität einen Kompromiss zwischen thermisch stabilstem Konfomer und der vom Metall favorisierten Komplexgeometrie eingehen. Dies ist insbesondere bei der Komplexbildung entscheidend, da kein oder nur ein minimaler Energieeintrag zur Bildung des Komplexes notwendig ist, während im Falle von zyklischen Chelatoren mitunter harsche Bedingungen für die Komplexbildung notwendig sind, dies aber dafür mit einer höheren Komplexstabilität einhergeht. Bei der Verwendung von Biomolekülen als Targeting-Funktion können daher Kompatibilitätsprobleme, infolge von Denaturierung oder Zersetzung, auftreten. Um mit offenkettigen Liganden eine vergleichbare Stabilität zu erreichen muss der Abstand der Donorgruppen also auf das zu komplexierende Metall eingestellt werden. Während in Abschnitt 1.5 bereits eine Reihe Hydroxamsäure-basierter Liganden vorgestellt wurde,

konnte keine eindeutige Korrelation zwischen Komplexstabilität und Kettenlänge zwischen den Donorgruppen identifiziert werden. SEIBOLD et. al. untersuchten mittels semi-empirischer PM6-Rechnung den Einfluss des Abstands auf die Komplexstabilität und sagten für Zr^{4+} einen Abstand von acht Atomen zwischen den Hydroxamsäuren als bevorzugte Struktur voraus.[158, 166] Der tatsächliche Vergleich des synthetisierten Chelatoren mit einem längerkettigen Derivat zur Validierung der kalkulierten Ergebnisse blieb allerdings aus.

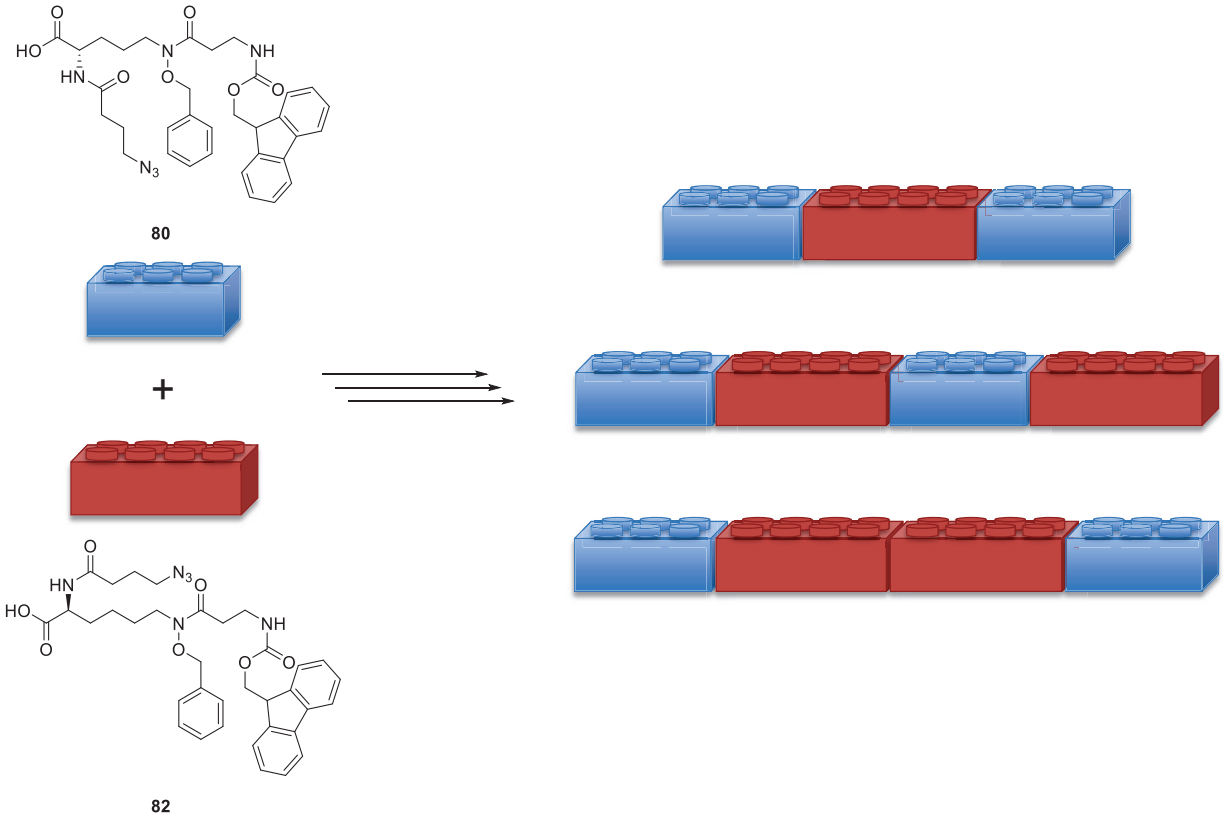
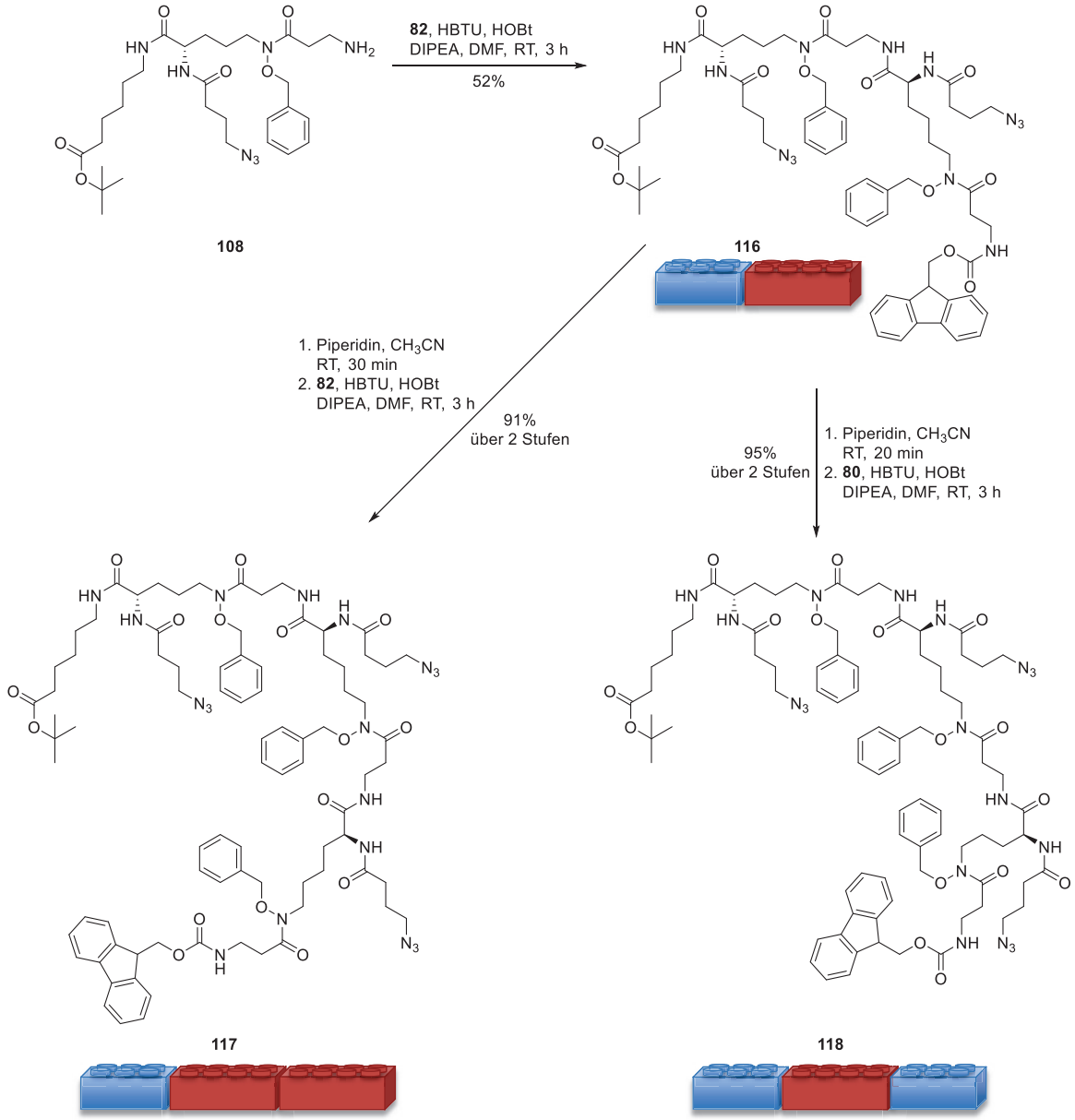


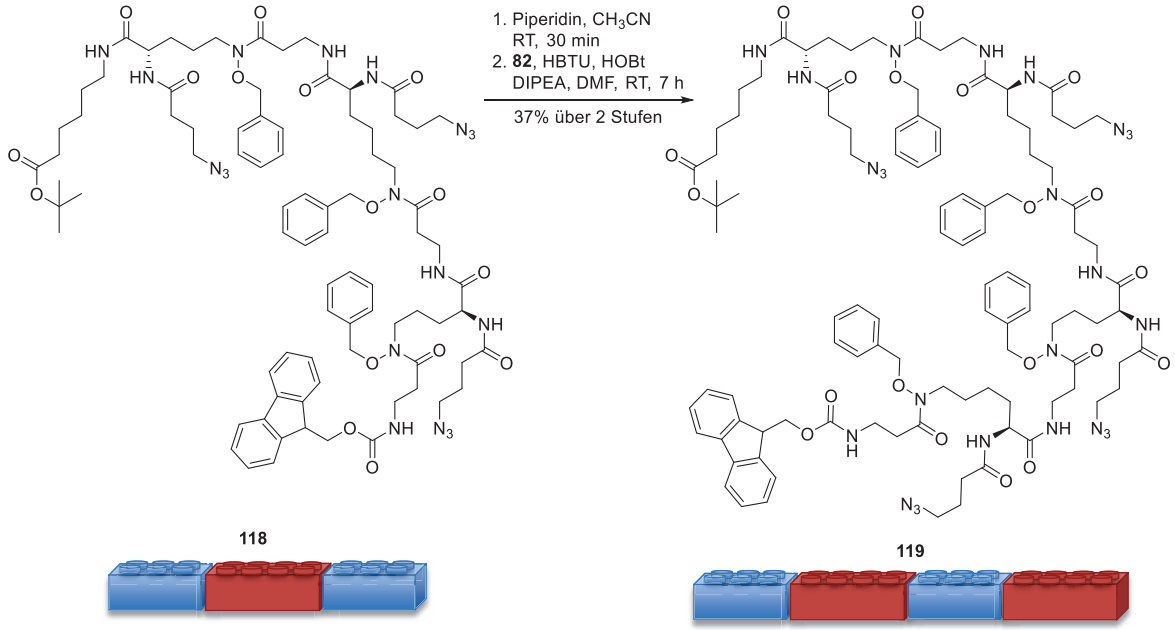
Abbildung 3-3: Schematische Darstellung der in dieser Arbeit geplanten alternierenden Chelatoren. Blaue Bausteine symbolisieren Einheiten des Monomer-Ornithin **80** und rote Baustein das Monomer-Lysin **82**.

In dieser Arbeit sollten zur Untersuchung eines möglichen Einflusses der Kettenlänge auf die Stabilität der Metallkomplexe, neben den zuvor dargestellten multimeren Oligopeptiden, zusätzlich alternierende Varianten, welche durch Kombination der Monomer-Bausteine Ornithin-Monomer **80** und Lysin-Monomer **82** erhalten werden können, dargestellt werden (Abbildung 3-2). Infolge des hohen synthetischen Aufwands, welcher zur Synthese der Chelatoren notwendig ist, wurden zunächst drei repräsentative Strukturen ausgewählt, welche mit den zuvor demonstrierten Methoden dargestellt werden sollten. Ausgehend von Amin **108** erfolgte zunächst die Peptidkupplung mit Lysin-Monomer **82** zum Orn-Lys-Dimer **116** in einer mäßigen Ausbeute (Schema 3-29).



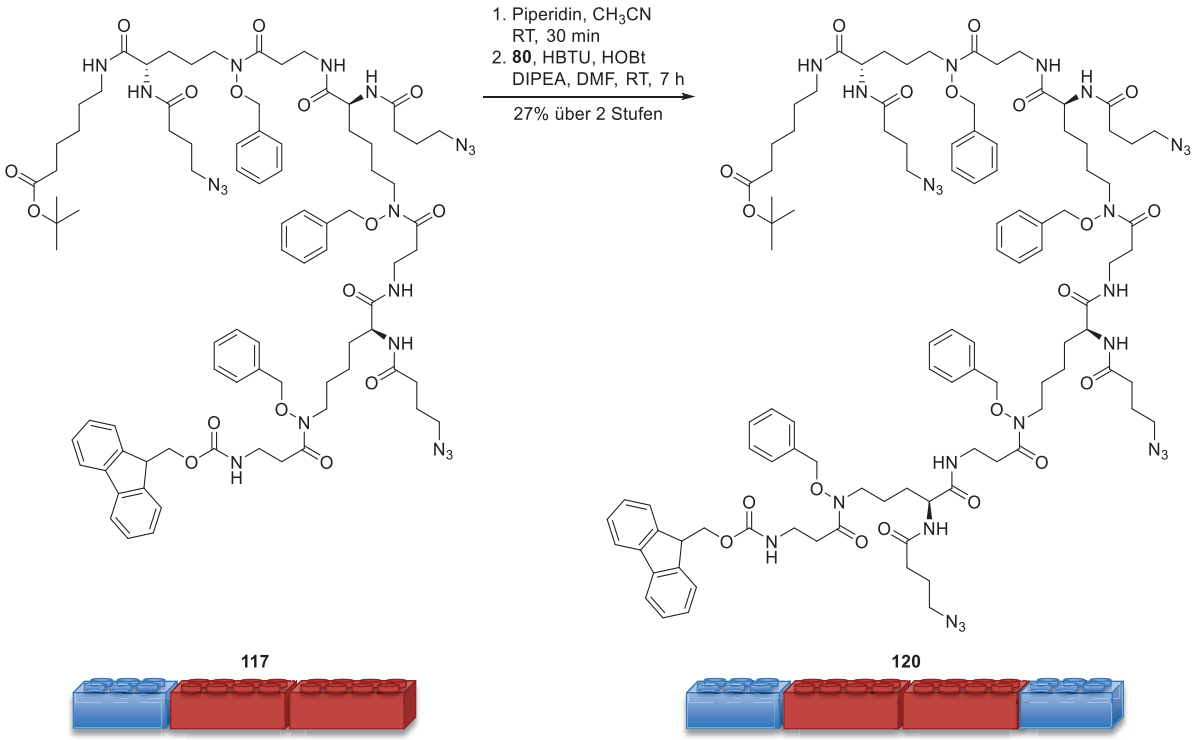
Schema 3-29: Syntheseroute zur Darstellung von Orn-Lys-Lys-Trimer **117** und Orn-Lys-Orn-Trimer **118** ausgehend von AHX-Ornithin-NH_2 **108**.

Die Ausbeuteverluste sind vermutlich auf das veränderte Chromatographie-Protokoll zurückzuführen, da im Gegensatz zu vorherigen Synthese die Reinigung des Produkts mittels Umkehrphasen-Chromatographie erfolgte. Hierbei konnte das Produkt aufgrund von überlappender Retention nur in Teilen als Reinprodukt erhalten werden. Anschließende Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe lieferte das freie terminale Amin in quantitativer Ausbeute und nach Peptidkupplung mit dem Lysin-Monomer **82** konnte das Orn-Lys-Lys-Trimer **117** in einer sehr guten Ausbeute von 91% über zwei Stufen erhalten werden. Durch Peptidkupplung von **116** mit dem Ornithin-Monomer **80** wurde die Zielstruktur Orn-Lys-Orn-Trimer **118** in einer exzellenten Ausbeute von 95% über zwei Stufen erhalten.



Schema 3-30: Syntheseschema zur Darstellung des alternierenden Chelatoren Orn-Lys-Orn-Lys-Tetramer **119**.

Ausgehend von Orn-Lys-Orn-Trimer **118** erfolgte die Synthese von Orn-Lys-Orn-Lys-Tetramer **119** (ABAB) durch einen weiteren Entschützungs-/Peptidkupplungszyklus in einer Ausbeute von 37% über zwei Stufen (Schema 3-30). Die Darstellung von Orn-Lys-Lys-Orn-Tetramer **120** (ABBA) erfolgte analog ausgehend von Orn-Lys-Lys-Trimer **117** in einer Ausbeute von 27% über zwei Stufen (Schema 3-33). Die für die Tetramere **119** und **120** erzielten Ausbeuten liegen deutlich unter den für die anderen Tetramere erzielten Ausbeuten. Eine mögliche Erklärung ist, dass die erhaltenen Trimere **118** und **117** im Gegensatz zu Trimer-Ornithin **110** und Trimer-Lysin **114** keiner zweifachen säulenchromatischen Reinigung an Normal- und Umkehrphase unterzogen wurden. Eventuelle Verunreinigungen könnten die Ausbeute durch unerwünschte Nebenreaktionen, z.B. durch Reaktion mit den intermediär gebildeten Aktivestern, verringern. Des Weiteren kann eine, wie in vorherigen Synthesen beobachtete, Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe unter den Reaktionsbedingungen der Peptidkupplung an den Monomer-Bausteinen nicht ausgeschlossen werden.

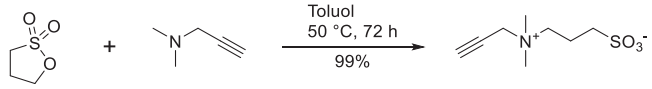


Schema 3-31: Syntheseschema zur Darstellung des alternierenden Chelatoren Orn-Lys-Lys-Orn-Tetramer **120**.

3.6. Seitenkettenmodifikation und Abspaltung der Schutzgruppen

Obwohl Peptide, spätestens seit der ersten erfolgreichen Behandlung von *Diabetes mellitus* im frühen 20. Jahrhundert durch in Pankreas-Extrakten enthaltenem Insulin, eine wichtige Wirkstoffklasse der modernen Pharmazie darstellen, dauerte es bis zu den 1970er Jahren um diese durch die Entwicklung rekombinanter Synthesen salonfähig zu machen. [167] Trotz ihres enormen Erfolgs, im Jahre 2011 lag der Marktanteil bei 2% des globalen Verkaufs rezeptpflichtiger Arzneistoffe verteilt auf 57 zugelassene peptidische Wirkstoffe, stellt die Entwicklung von Peptiden als Arzneimittel eine große Herausforderung dar. [168-170] Eine geringe Stabilität während der Lagerung, infolge von Empfindlichkeit gegenüber Hydrolyse, und damit einhergehende kurze Halbwertszeiten im Blutplasma, infolge metabolischer Prozesse, erfordern eine geeignete Modifikation der pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften der Peptidwirkstoffe. Um diesen Nachteilen entgegen zu steuern wird neben der häufig eingesetzten PEGylierung, also dem Anbringen hydrophiler Polymerketten aus Poly(ethylenglykol), oder dem Einbetten von peptidischen Wirkstoffen in biologisch abbaubaren Polymermatrizen, bestehend aus Milchsäure-Glycolsäure Copolymeren (PLGA), als weitere Maßnahme die post-translationale Modifikation mit Betainen verwendet. [171-173] In früheren Arbeiten von KRIEMEN et. al. und

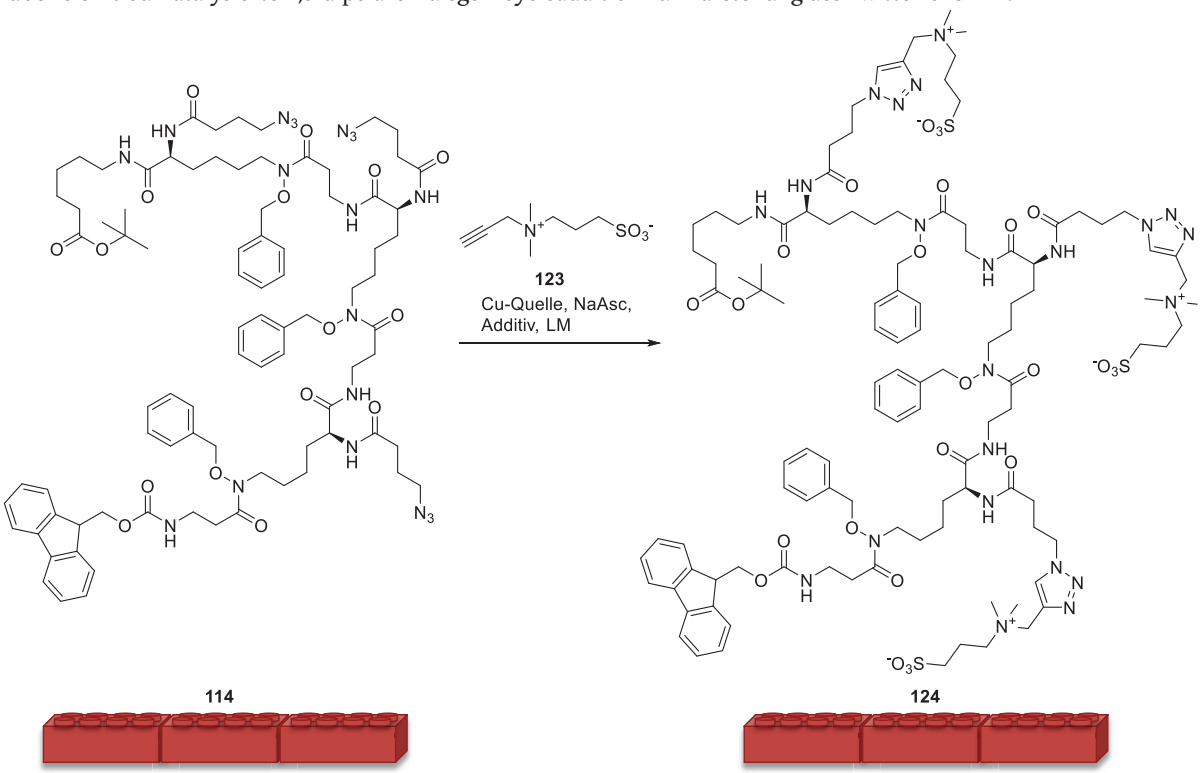
FRANGIONI et. al. konnte durch Konjugation zwitterionischer Gruppen oder durch symmetrische Verteilung von positiv und negativ geladenen funktionellen Gruppen eine signifikante Verringerung der unspezifischen Bindung an Blutplasmaproteine festgestellt werden. [127, 132] Wie in Abschnitt 2 und Abschnitt 3.2 mehrfach beschrieben, soll der in dieser Arbeit entwickelte Chelator als modulare Plattform für die Entwicklung zielgerichteter PET-Radiopharmaka dienen. Zur Demonstration der Modifizierbarkeit sollten die in Abschnitt 3.5 hergestellten Peptide mit zwitterionischen Gruppen konjugiert werden. Als Methode wurde die bioorthogonale 1,3-dipolare Huisgen-Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) von SHARPLESS et. al. gewählt. [174-175] Das entsprechende zwitterionische Sulfobetain **123** wurde durch Reaktion von 1,3-Propansulton **121** mit 1-Dimethylamino-2-propin **122** mit einer Ausbeute von 99% erhalten (Schema 3-32).



Schema 3-32: Darstellung des zwitterionischen Alkins **123** zur Modifikation der Chelatoren mittels Cu-katalysierter Azid-Alkin-Cycloaddition. [128]

Die anschließende Cycloaddition mit 3-(Dimethyl(prop-2-ynyl)ammonio)propan-1-sulfonat **123** wurde zunächst an Lysin-Trimer **114** mit den in der Arbeitsgruppe MAISON etablierten Bedingungen getestet. [128]

Tabelle 3-1: Cu-katalysierte 1,3-dipolare Huisgen-Cycloaddition zur Darstellung des Zwitterions **124**.



	Cu-Quelle	Äq.(Cu)[a]	Äq.(**123**)[a]	Äq.(NaAsc)[a]	Additiv	LM	Umsatz/Ausbeute
1	CuI	0.043	1.30	0.16	TBTA[b]	A	100(-)
2	$CuSO_4$•5 H_2O	0.050	1.05	0.67		A	-
3	CuI	0.133	1.50	0.67	NEt_3[c]	B	100(45%)
4	CuI	0.133	1.50	0.67		C	100(92%)

Allgemeine Reaktionsbedingungen: Mikrowelle, 70 °C, 60 min; [a] Eingesetzte Äquivalente pro Azid; [b] 0.05 Äquivalente pro Azid; [c] 0.67 Äquivalente pro Azid; Verwendete LM-Systeme: **A**: *t*BuOH/H_2O/DMF (2:2:1); **B**: CH_3OH/H_2O/CH_3CN (1:1:1); **C**: CH_3CN/H_2O (98:2).

Hierbei wurde CuI als Kupferquelle, Natriumascorbat als Reduktionsmittel und TBTA als zusätzlicher Stabilisator solvatisierter Cu^+-Ionen verwendet und die Reaktion unter Mikrowellenbedingungen durchgeführt (Tabelle 3-1 Eintrag 1).[176-177] Obwohl ein vollständiger Umsatz festgestellt wurde, konnte das Produkt nicht isoliert werden. Trotz der drei polaren Seitenketten zeigte das Produkt **124** eine unerwartet hohe Retention auf der Umkehrphase (SiO_2-RP18), wodurch **124** ausschließlich in einer Fraktion zusammen mit dem Additiv TBTA eluiert werden konnte. Als weitere Option wurde die Verwendung von $CuSO_4$ • 5 H_2O als Kupferquelle und Natriumascorbat als Reduktionsmittel ohne weitere Additive getestet (Eintrag 2).[178] Hierbei konnte lediglich die Zersetzung der Startmaterialien festgestellt werden, sodass für weitere Tests CuI verwendet wurde. Durch die Verwendung einer abgewandelten literaturbekannten Methode von Sirion et. al. unter Verwendung von NEt_3 als Additiv konnte das Produkt nach vollständigem Umsatz der Startmaterialien in einer Ausbeute von 45% isoliert werden (Eintrag 3).[179] Als

Nebenprodukt wurde die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe, sowie die Hydrolyse des *t*Bu-Esters beobachtet. Durch Verzicht auf NEt_3 als Base und durch Verwendung von minimalen Mengen H_2O, welche ausschließlich zum Lösen des Zwitterions **123** zugesetzt wurden, konnte das Produkt **124** nach Reinigung mittels HPLC in einer sehr guten Ausbeute von 92% erhalten werden. Eine Hydrolyse der Schutzgruppen konnte verringert, jedoch nicht vollständig verhindert werden.

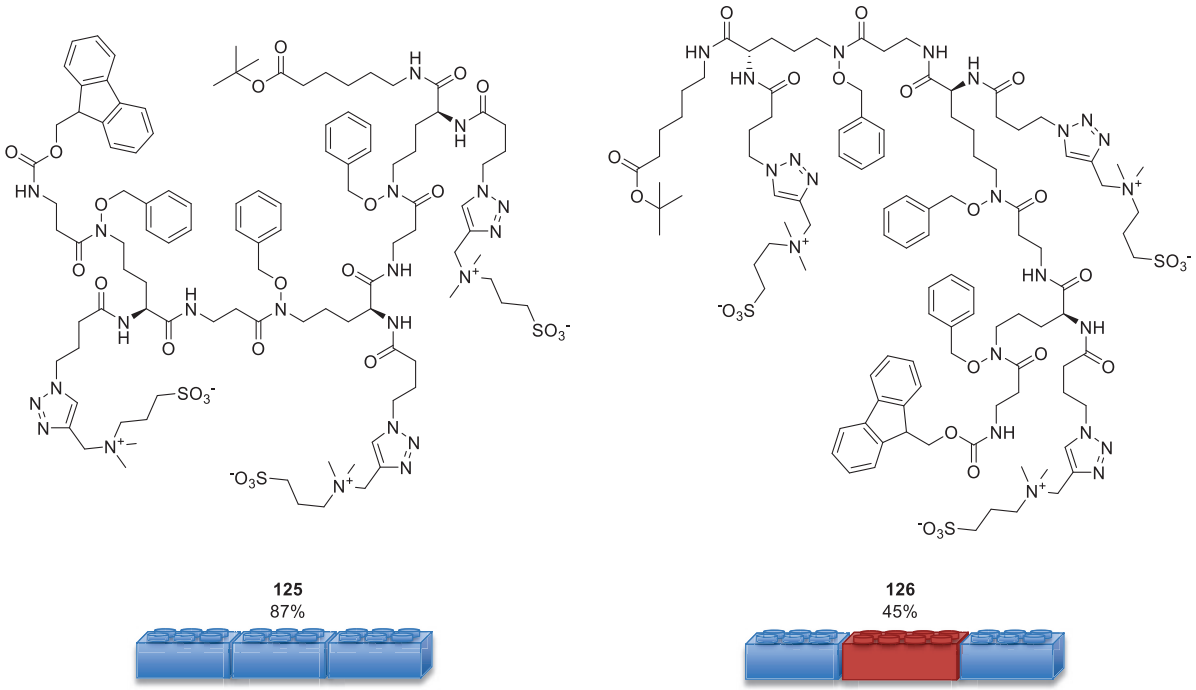


Abbildung 3-4: Synthetisierte zwitterionische Derivate der Trimere **125** und **126** ausgehend von Trimer-Orn **110** bzw. Trimer-ABA **118** mit den erhaltenen isolierten Ausbeuten. Die Reaktionsbedingungen entsprachen den in Tabelle 3-1 Eintrag 4 beschriebenen Bedingungen.

Nach Optimierung der Reaktionsbedingungen für die Modifikation mittels Click-Chemie wurden die zwitterionischen Derivate **125** und **126** in einer sehr guten Ausbeute von 87% und einer mäßigen Ausbeute von 45% dargestellt (Abbildung 3-4). Im Fall von **126** wurde das gewünschte Produkt mit einem Anteil von ca. 25% des Produktes mit abgespaltener Fmoc-Schutzgruppe erhalten, sodass die tatsächliche Ausbeute über dem hier beschriebenen Wert liegen sollte. Da eine Abspaltung der Schutzgruppe als unbedeutend für die folgenden Syntheseschritte bewertet werden kann, wurde das Produkt ohne weitere Reinigung für die folgenden Schritte verwendet. Auch bei der Darstellung der Tetramer-Derivate zeigte sich eine Inhomogenität der erhaltenen Ausbeuten (Abbildung 3-5). Während das zwitterionische Tetramer des reinen Ornithin-Peptids **127** und das gemischte Derivat ABAB **130** in einer sehr guten Ausbeute von 87% erhalten werden konnten, wurde für das zweite zwitterionische Derivat der gemischten Peptide ABBA **129** eine gute Ausbeute von 67% erreicht

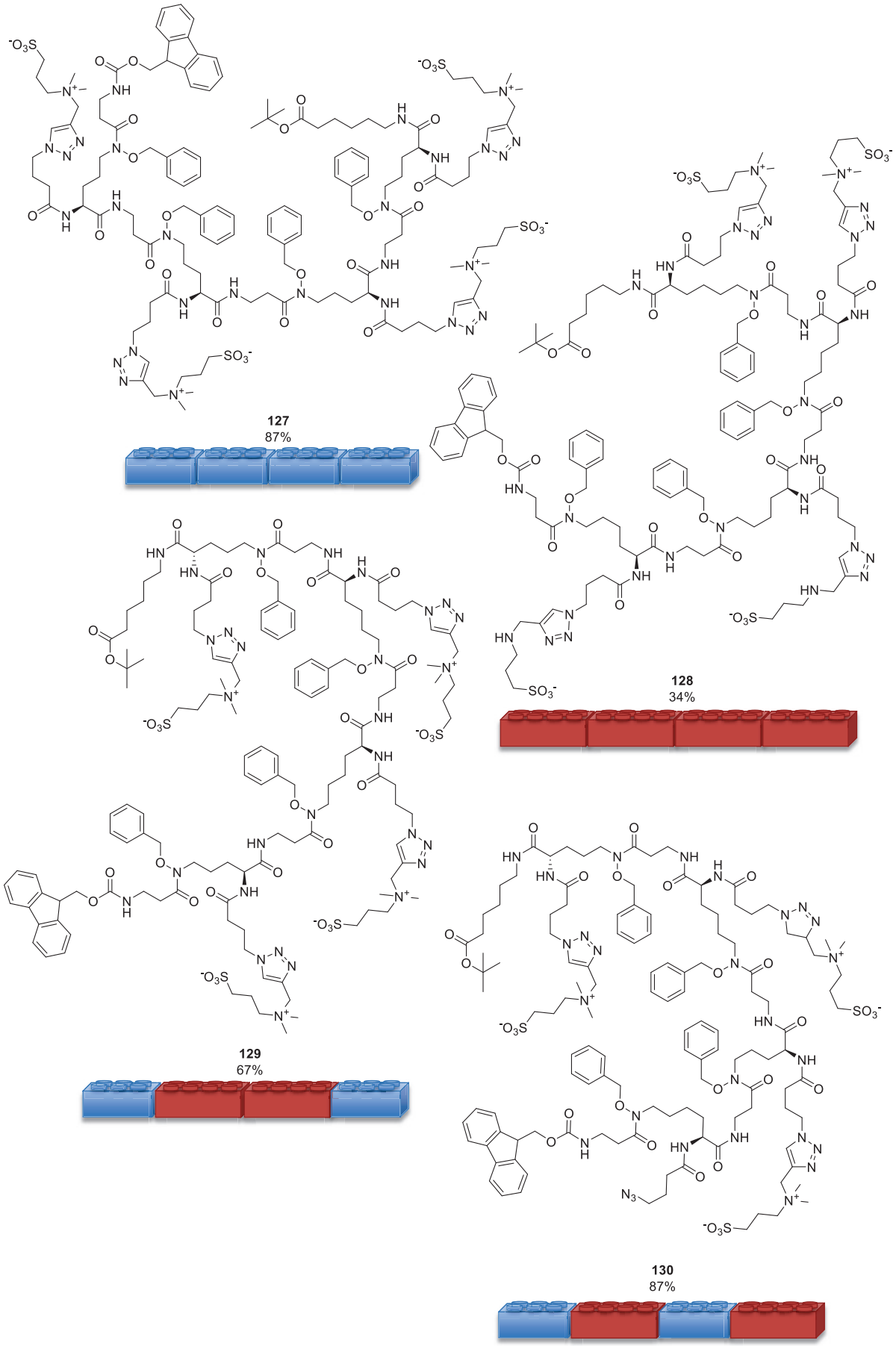


Abbildung 3-5: Synthetisierte zwitterionische Derivate der Tetramere mit den erhaltenen isolierten Ausbeuten. Die Reaktionsbedingungen entsprachen den in Tabelle 3-1 Eintrag 4 beschriebenen Bedingungen.

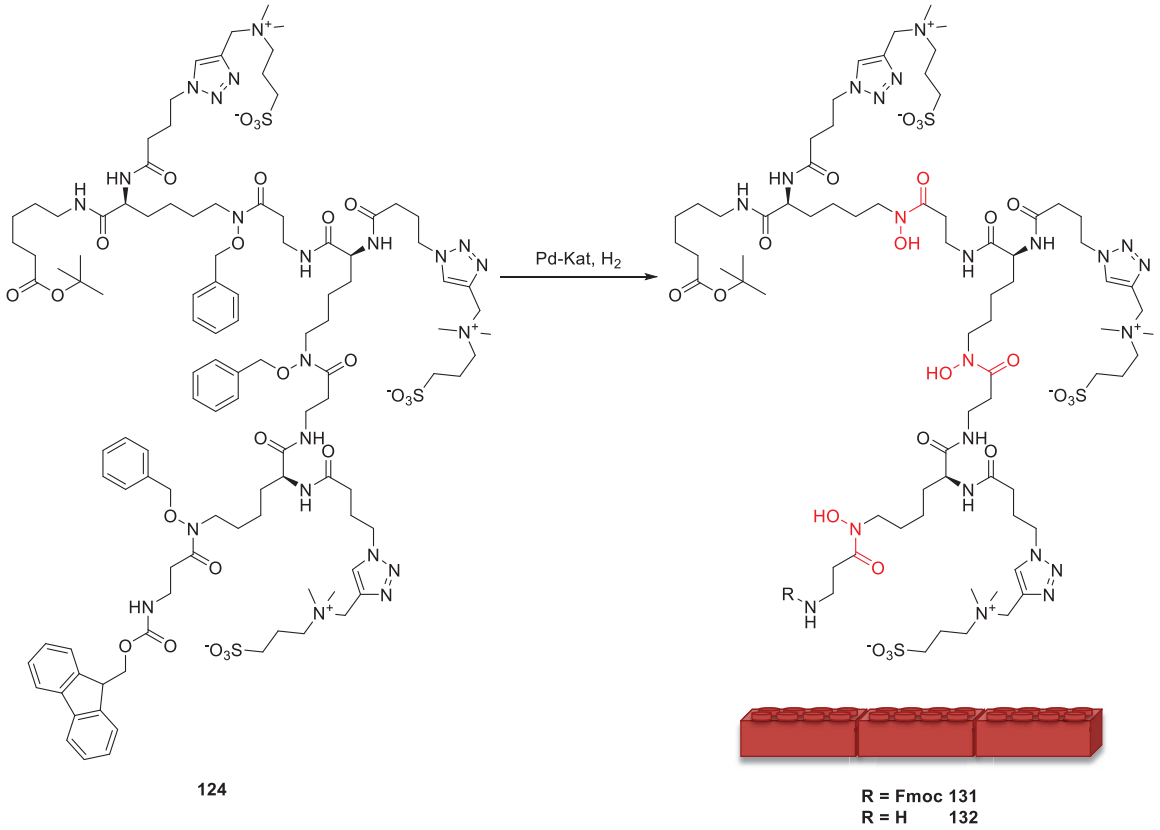
Im Gegensatz zu diesen guten Ausbeuten, wurde für die Seitenkettenmodifikation des Lysin-Tetramers **128** nur eine schlechte Ausbeute von 34% erreicht. Wie schon für das gemischte Trimer **126**, wurden die gemischten Tetramer-Bausteine **129** & **130** als Mischung mit dem aus der Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe resultierenden Produkt erhalten.
Dabei konnte in dieser Arbeit der Grund für die großen Ausbeuteverluste bei Übertragung der Reaktionsbedingungen auf das Lysin-Tetramer **128** und das gemischte Trimer **126** nicht geklärt werden.
Bei der Verwendung von Übergangsmetall-katalysierten Reaktionen in der Synthese von potentiellen Medikamenten muss stets Sorge dafür getragen werden, dass die entsprechenden Metallspezies durch geeignete Reinigungsschritte vollständig entfernt werden. Obwohl Kupfer als Spurenelement im Mensch und in Tieren essenziell für eine Vielzahl lebenswichtiger Prozesse ist, kann die Einnahme von hohen Dosen zur schweren Komplikationen im Gastro-Intestinal-Trakt, der Leber oder der Niere führen, welche mitunter auch tödlich enden können. [180] Der ICH empfiehlt hierbei in seinem Bericht „*ICH guideline Q3D (R1) on elemental impurities*“ für Kupfer eine maximale PDE von 300 µg bei parenteraler Einnahme was 17 mg/kg Körpergewicht entspricht. [181] Da in dieser Arbeit auf eine spezielle Abtrennung des Kupfer-Katalysators, z. B. durch Fällung als Sulfid, verzichtet wurde, wurde zur Bestimmung des Kupfergehalts eine elementaranalytische Untersuchung durchgeführt. Hierzu wurde das Ornithin-Trimer **125** als Referenzsubstanz mittels Graphitofen-AAS untersucht, wobei ein Kupfergehalt von 0.335‰ gefunden wurde. Da insbesondere bei der Verwendung von Radiopharmazeutika Dosierungen im nanomolaren Bereich üblich sind und somit lediglich Einnahmen von Milligramm-Mengen des Tracers erfolgen, liegt der erhaltene Wert von 335 ng Cu/mg mit ausreichender Sicherheit deutlich unter den geforderten Grenzwerten.
Um die für die Komplexierung von Zirconium, oder anderen Übergangsmetallen, notwendigen freien Hydroxamsäuren zu erhalten sollte im letzten Schritt der Synthese die Abspaltung der Benzyl-Gruppen erfolgen. Für die Debenzylierung von Benzylhydroxamsäuren gibt es in der Literatur zwei gängige Methoden die für Reaktionen dieser Art verwendet werden. Neben der Verwendung von Lewis-Säuren, wie beispielsweise $AlCl_3$ mit Anisol in Nitromethan [182], oder BCl_3 [183-185] bzw. BBr_3 [186-187] stellt die hydrogenolytische Spaltung in Anwesenheit von Palladium-Katalysatoren den größten Anteil an publizierten Methoden dar. Wie in anderen gängigen Hydrogenierungs-Verfahren wird vorwiegend in polar, protischen Lösungsmitteln bei H_2-Partialdrücken von

Atmosphärendruck bis 20 bar und Reaktionzeiten zwischen einer Stunde und mehreren Tagen gearbeitet.

Es wurde sich daher in dieser Arbeit für die katalytische Hydrogenierung zur Abspaltung der Benzyl-Schutzgruppen entschieden, da hierbei die geringsten Orthogonalitätsprobleme erwartet wurden. Wie bereits für die Konjugation der zwitterionischen Seitenkette, wurde für eine Evaluation der Reaktionsbedingungen das Trimer des Lysins **124**, in zwitterionischer Form, gewählt (Tabelle 3-2).

Aus Gründen der besseren Löslichkeit der Edukte wurde ein Lösungsmittelgemisch aus Methanol und Wasser und Palladium auf Aktivkohle als Katalysator gewählt. Bei einer Reaktionszeit von drei Stunden (Eintrag 1), konnte kein Umsatz zum Produkt oder die Abspaltung einzelner Benzylgruppen beobachtet werden. Bei Verwendung des deutlich reaktiveren Pearlman Katalysators $Pd(OH)_2$ auf Aktivkohle (Eintrag 2), konnte im Gegensatz zu Pd/C bereits eine Abspaltung von einer bzw. zwei Benzylgruppen mittels HPLC-MS detektiert werden. Zu den Reaktionsansätzen wurden jeweils 0.1% Essigsäure als protisches Additiv gegeben und für weitere drei Stunden unter 1 bar H_2-Partialdruck gerührt (Eintrag 2 & 5). Hierbei konnte für Pd/C eine Abspaltung von einer bzw. zwei Benzylgruppen, und für $Pd(OH)_2$/C eine partielle Produktbildung, sowie die Abspaltung von einer bzw. zwei Benzylgruppen beobachtet werden. In beiden Fällen wurde eine teilweise Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe beobachtet. Zur weiteren Untersuchung wurde die Reaktionslösung weitere 12 h in einem Autoklav bei einem H_2-Partialdruck von 60 bar gerührt (Eintrag 3 & 6).

Tabelle 3-2: Evaluation der Reaktionsbedingungen für die hydrogenolytische Spaltung der Schutzgruppen zur Darstellung des Liganden **132**.



	Pd-Quelle[a)]	Lösungsmittel	H_2-Druck	Reaktionszeit	Additiv	Umsatz/Ausbeute
1	Pd/C	CH_3OH/H_2O 20:1	1 bar	3 h	-	-
2	Pd/C	CH_3OH/H_2O 20:1	1 bar	6 h	0.1% HAc	b)
3	Pd/C	CH_3OH/H_2O 20:1	60 bar	18 h	0.1% HAc	c)
4	$Pd(OH)_2/C$	CH_3OH/H_2O 20:1	1 bar	3 h	-	d)
5	$Pd(OH)_2/C$	CH_3OH/H_2O 20:1	1 bar	6 h	0.1% HAc	c)
6	$Pd(OH)_2/C$	CH_3OH/H_2O 20:1	1 bar	18 h	0.1% HAc	c)
7	Pd/C	CH_3OH/H_2O 2:1	60 bar	18 h	20% HAc	e)

Gefundene Produkte: a) Die Katalysatorbeladung betrug in allen Fällen 10%, wobei 10 Gew.-% bezogen auf das Startmaterial eingesetzt wurden; b) Abspaltung von 1 oder 2 Benzylgruppen, teilweise Spaltung von Fmoc; c) Produkt, Abspaltung von 1 oder 2 Benzylgruppen, teilweise Spaltung von Fmoc; d) Abspaltung von 1 oder 2 Benzylgruppen; e) Produkt, teilweise Spaltung von Fmoc.

In beiden Fällen wurde die gewünschte Zielstruktur **131**, sowie das Derivat mit abgespaltener Fmoc-Schutzgruppe **132** als Hauptprodukt gebildet. Allerdings lagen zu großen Teilen auch weiterhin die durch einfache oder zweifache Abspaltung der Benzylgruppe erhaltenen Verbindungen, sowie deren Analoga ohne Fmoc-Schutzgruppe, vor.

Aufgrund der hohen Dichte an funktionellen, teilweise geladenen Gruppen und dem infolge der Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe gebildeten Amin ist eine Inhibition des Katalysators naheliegend, woraus die beobachtete Reaktionsrate und unvollständige Produktbildung resultiert. Daher wurde zum Vermeiden von Produktinhibition durch nukleophile Gruppen wie beispielsweise das freie Amin, die Sulfonate und die gebildeten Hydroxamsäuren der Anteil an Essigsäure auf 20% erhöht und ein deutlich polareres Lösungsmittelsystem gewählt (Eintrag 7). [188-191] Weiterhin wurde die Reaktion im Autoklav bei 60 bar H_2-Partialdruck durchgeführt. Hierbei wurde ausschließlich das Produkt **131**, sowie das aus der teilweisen Abspaltung von Fmoc resultierende Analogon **132** erhalten. Der Anteil beider Produkte wurde mittels HPLC auf circa 50:50 determiniert.

Um ein homogenes Produkt zu erhalten, wurde das erhaltene Produktgemisch mit 20% Piperidin in H_2O behandelt und das erhaltene freie Amin **132** mittels präparativer HPLC gereinigt, wodurch der Ligand **132** in einer Ausbeute von 83% erhalten werden konnte.

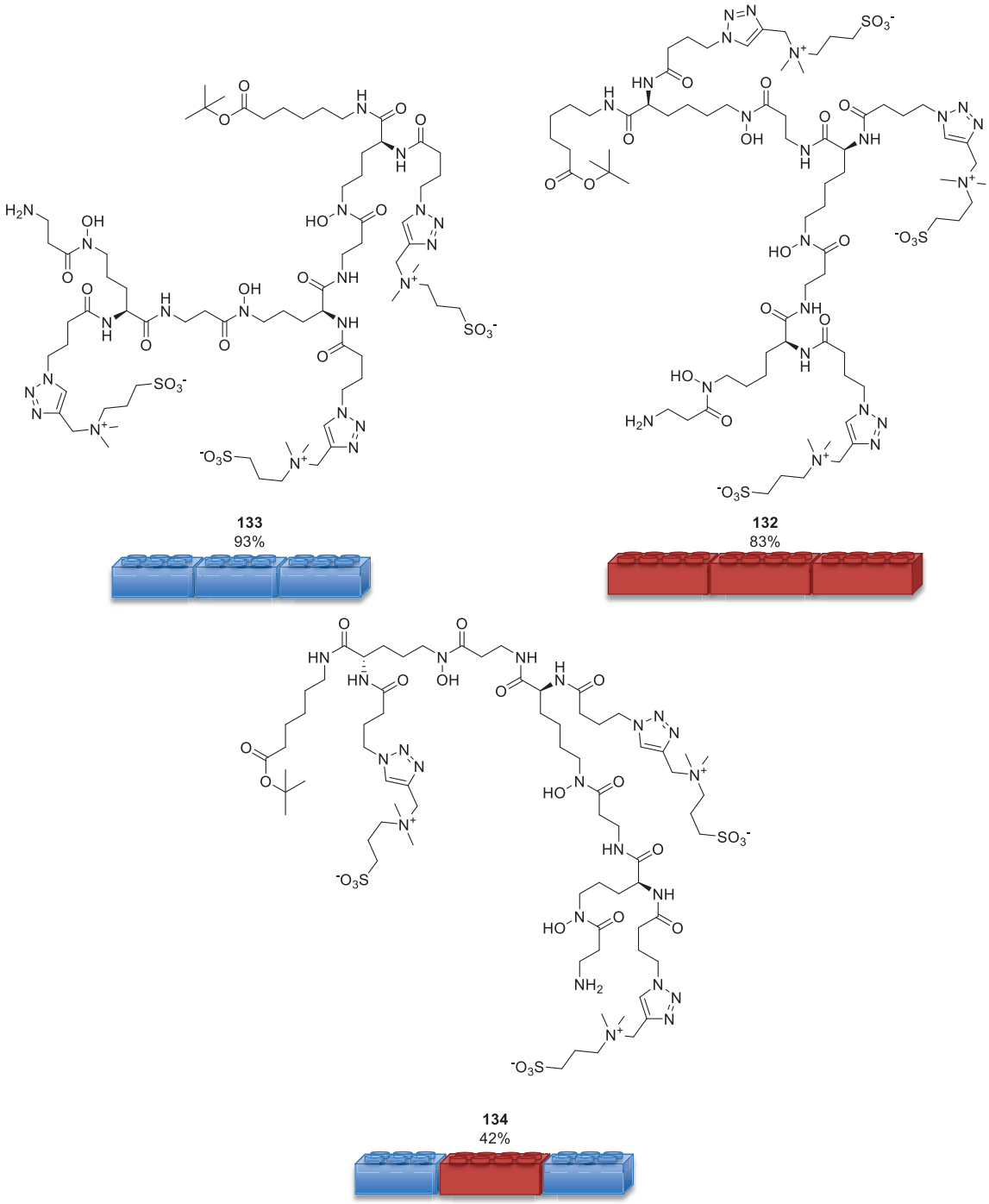


Abbildung 3-6: Trimere Liganden, welche nach der Hydrogenierung und anschließender Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe erhalten wurden.

In Analogie zu der so entwickelten Methode wurden die anderen trimeren Liganden des Ornithins **133** (93% Ausbeute) und des alternierenden Derivats **134** (42% Ausbeute) hergestellt (Abbildung 3-6). Während für **133** und **132** sehr gute Ausbeuten erhalten wurden, konnte für **134** nur eine schlechte Ausbeute erhalten werden. Da durch Reaktionskontrolle mittels HPLC eine vollständige hydrogenolytische Spaltung, sowie die Integrität der Ester-Funktionalität, nachgewiesen wurden, ist ein Ausbeuteverlust durch unvollständigen Umsatz auszuschließen. Ein möglicher Grund für eine verringerte

Ausbeute könnte eine erhöhte Adsorption des Liganden auf der porösen Oberfläche des heterogenen Katalysators sein. Trotz ausgiebigem Spülen des Katalysators mit CH_3OH und Wasser konnte keine Erhöhung der Ausbeute erreicht werden.

Durch das Peptidrückgrat bieten sich für die Konjugation der Liganden an Targeting-Vektoren sowohl der C-Terminus als auch der N-Terminus an. Als weitere Koordinationsstelle zur Absättigung der Koordinationsphäre des Zirconiums könnte neben den Hydroxamaten zusätzlich die Carbonsäure-Funktion dienen, während eine Konjugation weiterhin über die Aminofunktion möglich wäre. Zur Untersuchung eines Einflusses der freien Carbonsäuregruppe anstelle des Esters wurden neben den geschützten Trimeren zwei weitere Derivate **135** & **136** als pseudo-Tetramere ausgehend vom trimeren Ornithin-Ligand **133** und dem trimeren Lysin-Ligand **132** durch Behandlung der Liganden mit TFA dargestellt (Abbildung 3-7). Nach Reinigung mittels präparativer HPLC wurde **135** in einer Ausbeute von 88% und **136** in einer Ausbeute von 66% erhalten.

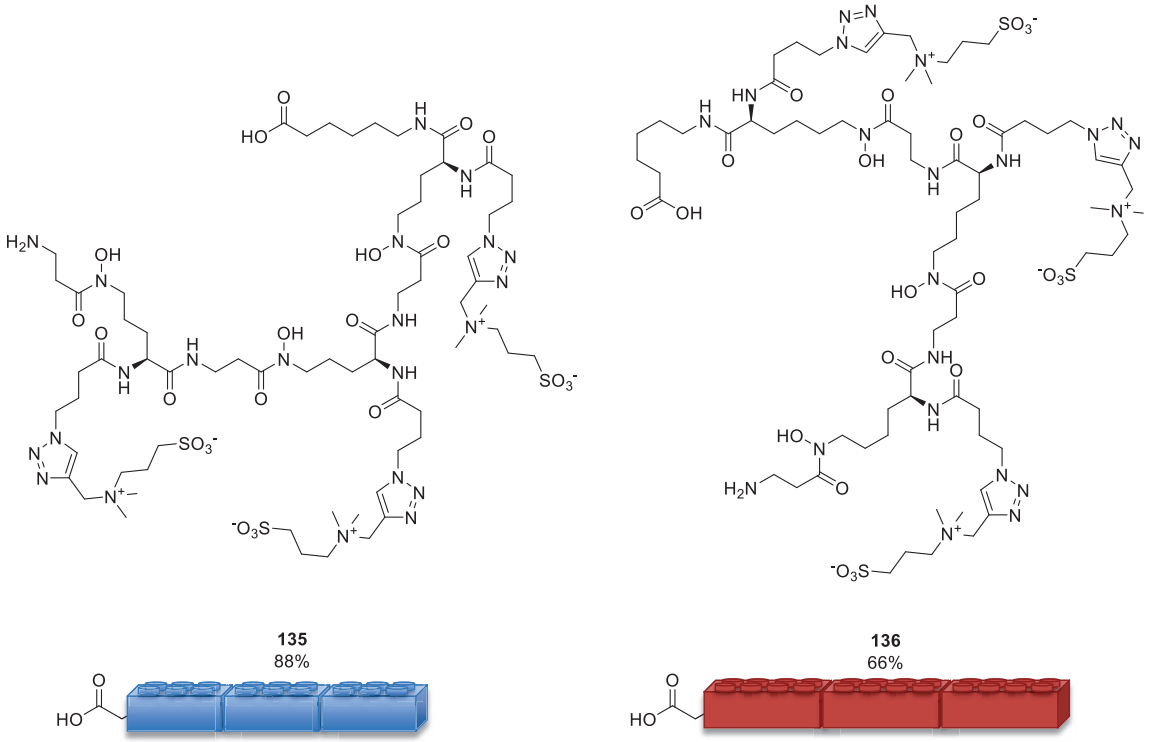


Abbildung 3-7: Trimere Ornithin- bzw. Lysin-Liganden mit freier Carbonsäure **135** & **136** zur Untersuchung des Einflusses der Carbonsäure als weitere Donorgruppe auf die Komplexbildungseigenschaften.

Ausgehend von den zwitterionischen Tetrameren konnten ebenfalls die Liganden mit vier Hydroxamat-Gruppen ausgehend von Ornithin **137** und von Lysin **138** dargestellt werden (Abbildung 3-8). Die Zielverbindungen wurde in akzeptablen Ausbeuten von 62% bzw. 52% nach chromatographischer Reinigung mittels präparativer HPLC erhalten.

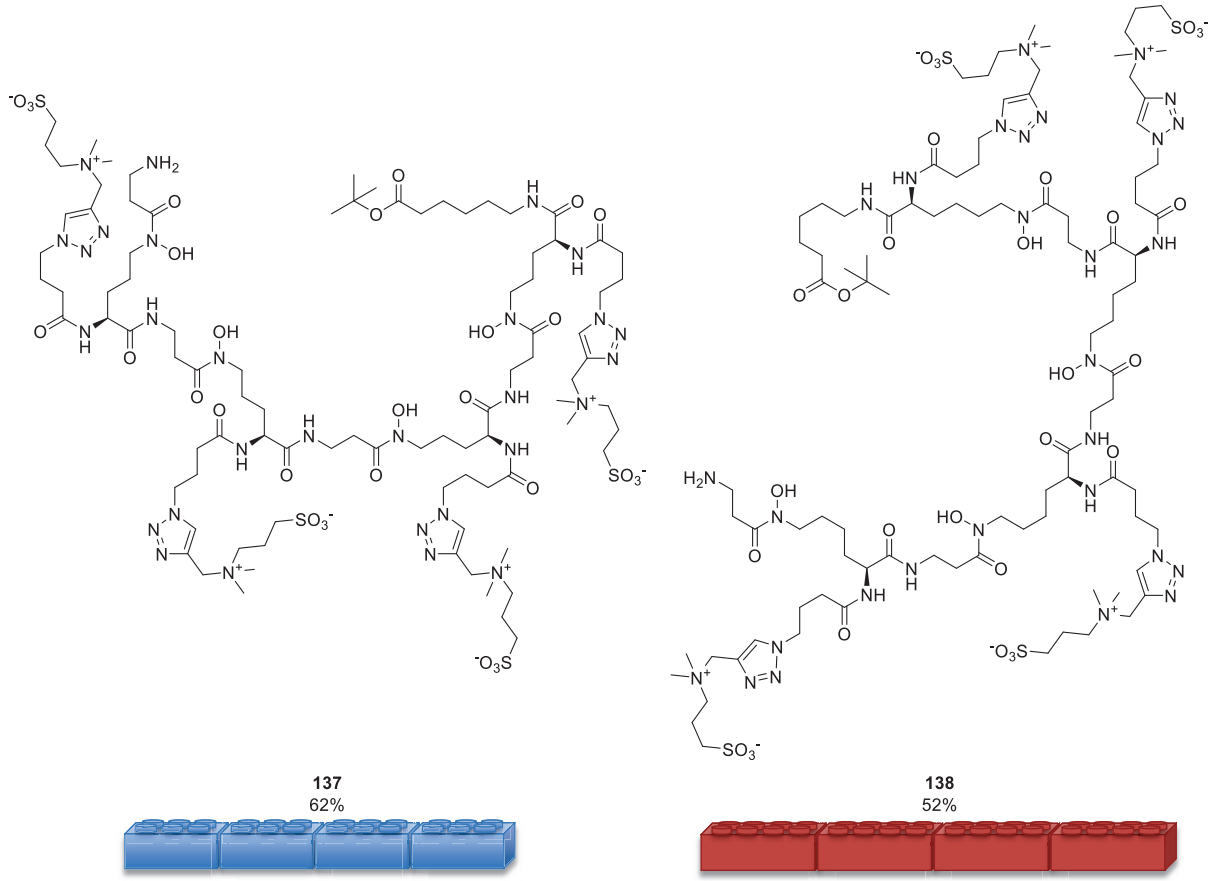


Abbildung 3-8: Tetramere Liganden **137** & **138**, welche nach Hydrogenierung des zwitterionischen Ornithin- bzw. Lysin-Tetramers erhalten wurde.

Auch die alternierenden Liganden mit unterschiedlichen Abständen zwischen den Hydroxamsäurefunktionen wurden nach Hydrogenierung und anschließender Fmoc-Abspaltung in schlechten Ausbeuten von 33% für den Orn-Lys-Orn-Lys-Liganden **139** und 42% für den Orn-Lys-Lys-Orn-Liganden **140** erhalten (Abbildung 3-9).

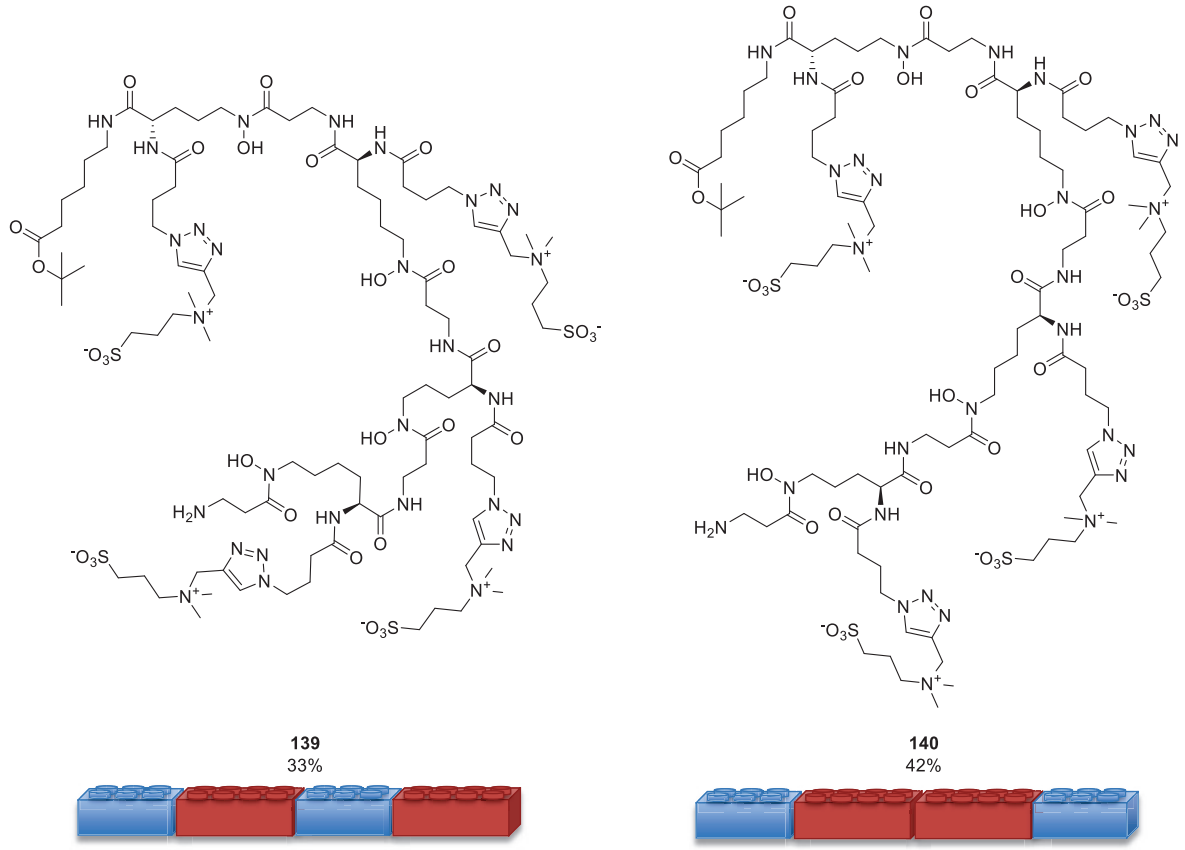


Abbildung 3-9: Tetramere Liganden **139** & **140**, welche nach Hydrogenierung der zwitterionischen alternierenden Derivate erhalten wurden.

Fazit

Nach der Synthese einer Bibliothek von Oligopeptiden ausgehend von den Grundbausteinen Ornithin-Monomer **80** und Lysin-Monomer **82** konnten im vorherigen Kapitel die erfolgreiche Modifikation der so erhaltenen modularen Plattformen mittels CuAAC, sowie die anschließende Abspaltung der verbleibenden Schutzgruppen zu Darstellung der Zielverbindungen demonstriert werden. Hierzu wurden zunächst die Reaktionsbedingungen der Click-Reaktion optimiert und konnten mit sehr guten bis mäßigen Ausbeuten auf alle Bausteine übertragen werden. Ebenso konnten nach Optimierung der Reaktionsbedingungen für die hydrogenolytische Spaltung der Benzylgruppen und anschließende Abspaltung der verbleibenden Fmoc-Schutzgruppe eine Bibliothek neuartiger modularer Siderophore dargestellt werden. Die Synthese der Trimere konnte in einer Gesamtausbeute von 17% für Ligand-Trimer-Ornithin **133**, 11% für Ligand-Trimer-Lysin **132** und 3% für den alternierenden Chelator Ligand-Trimer-ABA **134** über 14 Stufen realisiert werden. Darüber hinaus sollten pseudo-Tetramere Chelatoren, welche anstelle einer zusätzlichen Hydroxamsäuregruppe eine freie Carbonsäure als Donorgruppe aufweisen, synthetisiert werden. Die Synthese der beiden pseudo-Tetramere Ligand-Trimer-OrnithinCOOH **135** und Ligand-Trimer-LysinCOOH **136** erfolgte in

Ausbeuten von 16% bzw. 9% über 14 Stufen. Obwohl die Gesamtausbeuten in einem sehr niedrigen Bereich liegen, entsprechen diese Werte Durchschnittsausbeuten von 81-89%. Die Synthese der tetrameren Derivate erfolgte für den Chelator Ligand-Tetramer-Ornithin **137** in einer Gesamtausbeute von 8% und für den Chelator Ligand-Tetramer-Lysin **138** in einer Gesamtausbeute von 2% über 16 Stufen. Darüber hinaus konnten zusätzlich zur Untersuchung eines Einflusses des Abstandes der Hydroxamsäuren zueinander die alternierenden Derivate Ligand-Tetramer-ABAB **139** in einer Gesamtausbeute von 2% und Ligand-Tetramer-ABBA **140** in einer Gesamtausbeute von 1% über 16 Stufen dargestellt werden. Wie schon für die trimeren Derivate liegen auch hier die durchschnittlichen Ausbeuten in einem guten bis sehr guten Bereich zwischen 80-86%.
In der vorliegenden Arbeit konnte somit erfolgreich eine effiziente Synthesesequenz für die Darstellung neuartiger modularer peptidischer Siderophore etabliert werden mit welcher eine Bibliothek unterschiedlichster Liganden synthetisiert wurde. Die so erhaltenen Liganden sollten anschließend auf ihre Tauglichkeit als Liganden für Zirconium untersucht werden.

3.7. Evaluation der Liganden

Trotz seiner attraktiven Eigenschaften, existiert bis heute kein zugelassenes Radiopharmakon, in welchem das Radiometall ^{89}Zr verwendet wird. So befinden sich derzeit mehr als 25 Präparate in klinischen Studien.[192] In nahezu allen Studien wird für die Komplexierung auf das Siderophor DFO **9** zurückgegriffen, welches wie in Kapitel 1.5 beschrieben, deutliche Schwächen in Hinblick auf die Komplexstabilität *in vivo* aufweist. Infolge dessen kommt es aufgrund des osteophilen Charakters von ^{89}Zr zur Einlagerung ins Knochengewebe. Es ist daher unerlässlich neue Liganden beziehungsweise die korrespondierenden Zr-Komplexe in Hinblick auf ihre Stabilität zu evaluieren. Durch die Synthese einer ganzen Bibliothek an Liganden ergeben sich verschiedene Fragestellungen, welche mit durch die Evaluation beantwortet werden sollten (Abbildung 3-10). Obwohl DFO **9** als Vorbild für die in dieser Arbeit synthetisierten diente, wurde im Gegensatz zum Naturstoff keine Pseudo-Peptidstruktur gewählt. Trotz eines gleichen Abstands zwischen den Hydroxamaten, ergeben sich daraus erhebliche Unterschiede, da die Positionierung der Amide und Hydroxamsäuren innerhalb des Backbones einen entscheidenden Einfluss auf die Rigidität des Liganden und damit auf die Komplexgeometrie und damit die Stabilität haben kann.

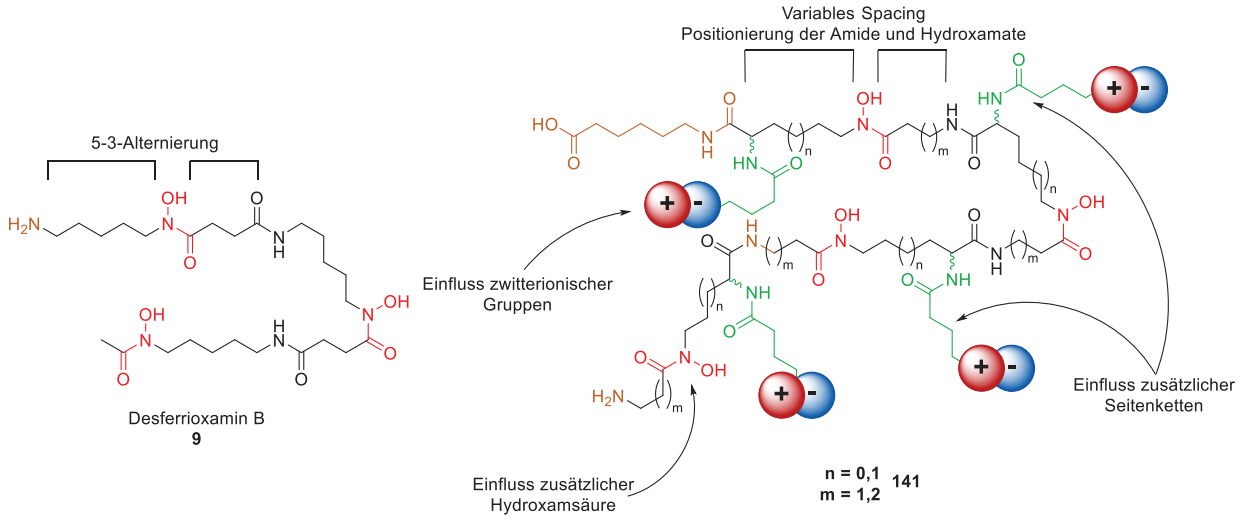


Abbildung 3-10: Vergleich des Naturstoffs DFO **9** mit den in dieser Arbeit entwickelten Liganden in Hinblick auf die für die Evaluation der Komplexstabilität zu beantwortenden Fragestellungen.

Durch die Verwendung unterschiedlicher Aminosäure-Bausteine lassen sich darüber hinaus auch die Abstände zwischen den Hydroxamaten variieren, sodass auch eine Betrachtung in Hinblick auf diesen Aspekt erfolgen muss. Darüber hinaus wurden in dieser Arbeit neben den dem DFO **9** analogen hexadentaten trimeren Chelatoren auch die octadentaten Chelatoren mit zusätzlicher Hydroxamsäure bzw. Carbonsäure darstellt. Durch diese zusätzlichen Donorgruppen, sollte die Koordinationssphäre des Zirconiums vollständig gesättigt und damit eine höhere Stabilität erreicht werden.

Als wichtigste Kennzahlen zur Abwägung der Güte eines neuen Liganden werden in der Literatur als wichtigste *in vitro* Untersuchungen Transchelatisierungsassays, Kinetikstudien und Serumstabilitäten durchgeführt. Analog zur späteren Anwendung werden dafür die Chelatoren mit radioaktivem ^{89}Zr markiert und die Assays mittels radio-DC oder radio-HPLC verfolgt und ausgewertet. Diese Methodik bietet den Vorteil, dass dank ihrer hohen Sensitivität auch geringe Mengen an radioaktivem Material verlässlich verfolgt und quantifiziert werden können. Eine weitere Möglichkeit zur Auswertung stellt HPLC-MS dar. Dabei kann auf die Verwendung von radioaktivem Material verzichtet werden, wodurch die Notwendigkeit des Vorhandenseins eines entsprechenden Strahlenlabors eliminiert wird. Darüber hinaus können durch die Detektion mittels MS auch mögliche Zerfalls- oder Nebenprodukte verfolgt und identifiziert werden. Jedoch sind im Gegensatz zu auf Radioaktivität basierenden Assays deutlich striktere Limitierung in Bezug auf die Assay-Planung zu berücksichtigen. So lassen sich die Untersuchungen nur in vergleichsweise salzarmen Lösungen durchführen, da es andernfalls zur Suppression der in deutlich geringeren Konzentrationen vorliegenden Zr-Komplex-Ionen kommt. Dies schließt eine Verwendung von Puffersystemen aus, sodass es während der Evaluation zu

pH-Wert Schwankungen kommen kann. Zwar ist die Sensitivität von massenspektrometrischen Detektoren ausreichend um Konzentrationen, welche im Bereich der Applikationskonzentration von PET-Kontrastmitteln liegen zu detektieren, jedoch zeigt sich dabei ein schlechtes Signal/Rauschen-Verhältnis, wodurch in den meisten Fällen lediglich qualitative Auswertungen erfolgen können. Zur Etablierung eines Assays, welcher schnell und sicher auch ohne Vorhandensein eines Radiolabors durchführbar sein sollte, wurde sich in dieser Arbeit daher für die Verwendung eines HPLC-MS basierten Ansatzes entschieden.

3.7.1. Transchelatisierungsassay (ETDA)

Eine der wichtigsten Kennzahlen bei der Entwicklung von Pharmazeutika, welche auf Metallkomplexen basieren, ist die Stabilität gegenüber Transchelatisierung. Im menschlichen Körper sind Übergangsmetall-Kationen ubiquitär vorhanden und werden ihrerseits in Komplexen mit niedermolekularen Chelatoren und hocheffizienten makromolekularen Chelatoren oder in den aktiven Zentren von Enzymen gebunden. Eine gängige Methode zur Abschätzung der physiologischen Stabilität neuer Chelatoren stellt der Transchelatisierungsassay dar, bei dem der zu untersuchende Metallkomplex in einem gepufferten Medium mit erhöhten Konzentrationen eines Kompetitors, in der Regel EDTA **142** oder DTPA **143**, inkubiert wird (Abbildung 3-11). Als Referenz dient in den meisten Studien DFO welches, aufgrund der Stabilität seiner Zirconium-Komplexe unter *in vivo* Bedingungen, lange Zeit als Goldstandard galt. [103]

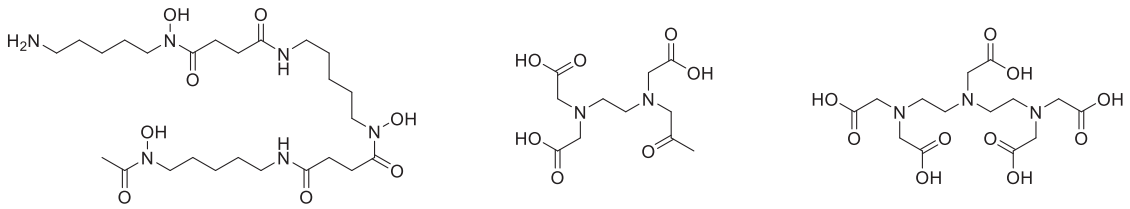


Abbildung 3-11: Gängige Chelatoren die für die Komplexierung von Übergangsmetallkationen verwendet werden.

Aufgrund der Vielzahl neuer Liganden für ^{89}Zr mit meist stark differenzierten Strukturen existieren eine Vielzahl an Protokollen für das Labelling der Chelatoren, sowie für die Evaluation der Komplexstabilität, da je nach Struktur unterschiedliche Anforderungen an die Löslichkeit der gebildeten Komplexe gestellt werden. Aufgrund dieser großen Bandbreite an Bedingungen lässt sich eine vollständige Vergleichbarkeit mit den in der Literatur veröffentlichen Studien nur schwer realisieren. Für das Labelling der Liganden mit Zirconium wurde ein an PATRA et. al. angelehntes Protokoll und für die

Transchelatisierungsstudie ein an SEIBOLD et. al. angelehntes Protokoll verwendet.[108, 158] Die erhaltenen Komplexe wurden zunächst in für die PET üblichen Konzentrationen mit $^{nat}ZrCl_4$ bei einem pH-Wert von pH = 8.5-9.0 über 90 min markiert. Nach anschließender Gefriertrocknung erfolgte die Inkubation mit einem 1000-fachen Überschuss an EDTA **142** bei einem pH-Wert von pH = 7.0 über einen Zeitraum von 24 h.

Da aus Sicherheitsgründen eine Arbeit mit radioaktivem ^{89}Zr nicht möglich war, musste eine alternative Methodik zur Auswertung der Ergebnisse des Assays entwickelt werden. Während bei Arbeiten mit radioaktivem Material in der Regel auf eine dünnschichtchromatographische Auswertung zurückgegriffen wird, kann dieses Auswertungsverfahren aus Gründen der Sensitivität nicht auf nicht-radioaktive Komplexe übertragen werden. Als alternatives Auswertungsverfahren wurde für den in dieser Arbeit verwendeten Transchelatisierungsassay eine HPLC-MS Methodik entwickelt. Nach 0 h, 2 h, 8 h und 24 h wurden 15 µL der Lösung mittels HPLC-MS analysiert und das *extracted ion chromatogram* (EIC) der entsprechenden Zirconium-Komplexe integriert (Abbildung 3-12). Anhand des gezeigten Beispiels lässt sich die Limitierung der Methodik deutlich erkennen. Durch die hohe Menge an Salzen, welche zu Beginn des HPLC-Laufs eluiert werden, werden diese nur langsam im Verlauf der weiteren Messung aus dem System eliminiert, sodass es zu einem schlechten Signal/Rauschen-Verhältnis und in einigen Fällen zu einer deutlichen Signalsuppression der gesuchten Molekülpeaks kommt (siehe auch Anhang Kapitel 8.2).

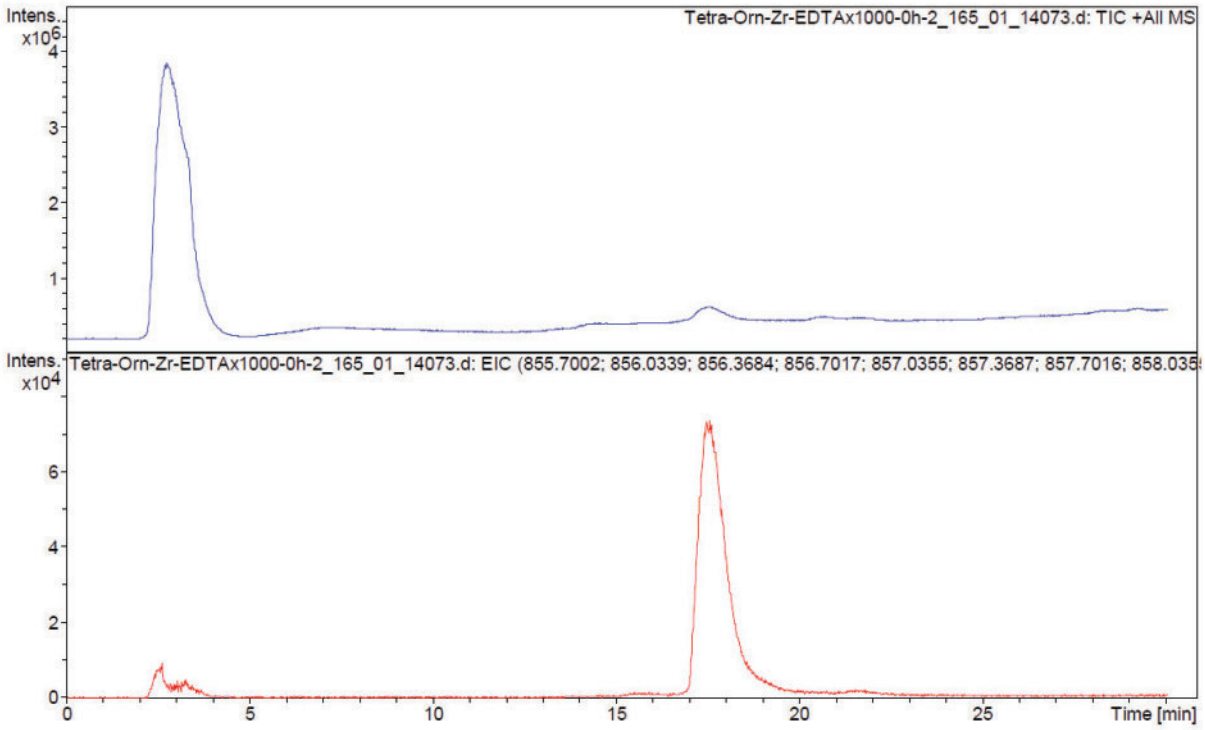


Abbildung 3-12: Vergleich des Rohchromatogramms (blau) eines Messpunktes der Transchelatisierungsstudie mit dem prozessierten EIC (rot), welches für die Auswertung verwendet wurde.

Zur Etablierung des Assays wurde zunächst die Stabilitätskurve der Referenz DFO **9** bestimmt um die Güte der verwendeten Methodik abschätzen zu können. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3-13 zusammen mit den in der Literatur beschriebenen Stabilitätskurven die bei einem 1000-fachen Überschuss an EDTA erhalten wurden dargestellt.

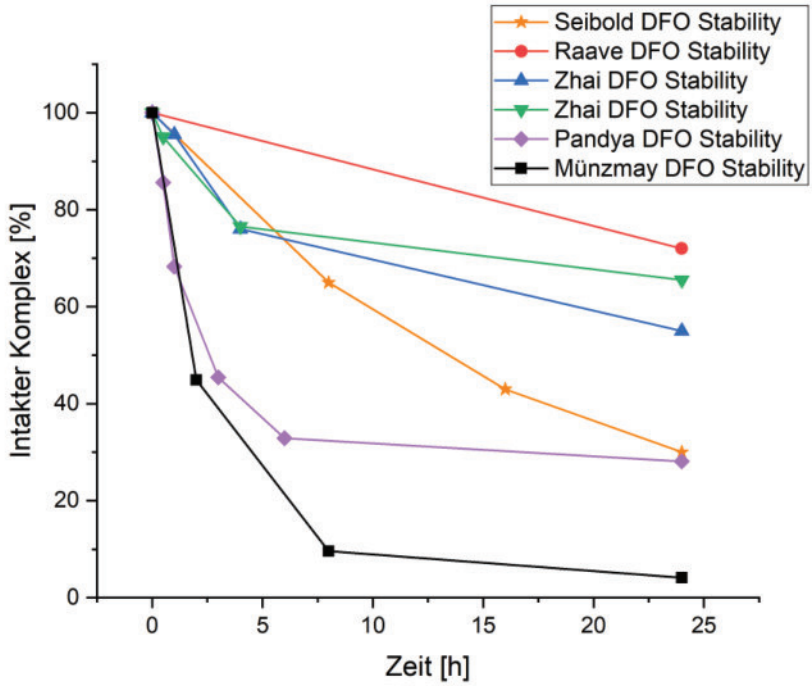


Abbildung 3-13: Stabilitätskurven von DFO-^{89}Zr und/oder DFO-Zr aus unterschiedlichen Publikationen. Alle Stabilitäten wurden gegen einen 1000-fachen Überschuss an EDTA, in unterschiedlichen Medien bestimmt. Sofern nicht in tabellarischer Form vorhanden, wurden die erhaltenen Werte durch Extrapolation anhand bereitgestellter Diagramme erhalten. [115, 117, 121, 125, 158]

Hierbei ist zu beachten, dass in den gezeigten Vergleichsstudien zwar die Konzentration des Kompetitors in allen Assays gleich waren, allerdings Bedingungen wie Temperatur, Medium und verwendete Zirconiumspezies sehr inhomogen waren. Entsprechend inkonsistent zeigen sich auch die erhaltenen Stabilitäten mit Werten zwischen 28-72% intaktem DFO-Zr-Komplex nach 24 h. Im Vergleich zu den Literaturwerten fällt auf, dass der in dieser Arbeit erhaltenen Wert nach 24 h mit einer Integrität von 4% deutlich niedriger ist, jedoch der Verlauf der Kurve mit dem in der Literatur Beschriebenen, übereinstimmt. Ein möglicher Grund für die deutlich niedrigere Stabilität könnte der Verzicht auf ein gepuffertes System sein. Zwar wurde die aus dem Labelling erhaltene Carbonat-haltige Lösung mit HCl auf pH = 7.0 eingestellt, jedoch wurde der pH-Wert über den Zeitraum des Experiments nicht erneut geprüft und eventuell korrigiert. Insbesondere für pH-Werte unter pH = 7.0 zeigt DFO eine deutlich verringerte Stabilität. [125] PANDYA et. al. konnten beispielsweise bei pH = 5.0 eine vollständige Demetallierung von DFO-Zr nach bereits drei Stunden beobachten. In einer weiteren Studie von DERI et. al. zeigte sich für

einen pH = 5.0 nach 3 h nur eine Demetallierung von 44%, jedoch auch nach 24 h eine vollständige Demetallierung. Trotz der Inhomogenität der Daten kann somit ein Rückschluss zur Hypothese eines niedrigeren pH-Wertes als dem in der Studie Angenommenen von pH = 7.0 gezogen werden. Obwohl die in dieser Arbeit entwickelte Methodik eine vergleichsweise hohe Abweichung der Stabilität von DFO gegen Transchelatisierung gegenüber den Literaturwerten liefert, wurde der verwendete Assay, aufgrund des übereinstimmenden Verlaufs der Zerfallskurve, als valide für die weitere Evaluation bewertet, wobei ein vorherrschender pH-Wert zwischen pH = 5.0-7.0 zugrunde gelegt wird.

Zunächst wurden hierbei die trimeren Liganden mit der beschriebenen Methodik in wässrigem Milieu bei pH = 8.5-9.0 mit ^{nat}Zr markiert und nach Gefriertrocknung die entsprechenden Zirconiumkomplexe erhalten (Abbildung 3-14).

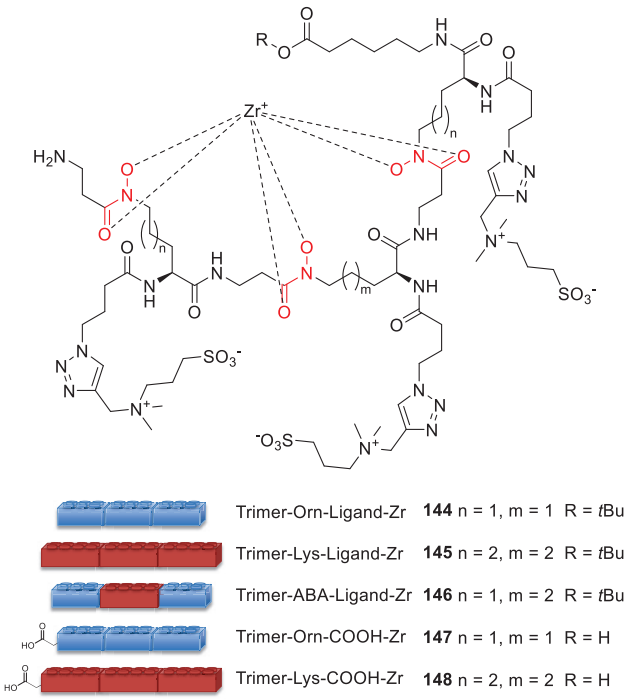


Abbildung 3-14: Strukturformel der Zirconium-Komplexe aus den hexadentaten und octadentaten Trimer-Liganden.

Nach Inkubation mit einem 1000-fachen Überschuss an EDTA **142** konnte bei allen Zr-Komplexen der Trimer-Liganden eine nahezu vollständige Demetallierung festgestellt werden (Abbildung 3-15). Während die Komplexe Trimer-Lysin-Ligand-Zr **145** (rot) und Trimer-ABA-Ligand-Zr **146** (violett) eine nahezu vollständige Demetallierung aufweisen, wurde für den Zr-Komplex Trimer-Orn-Zr **144** (blau) eine geringfügig höhere Menge des intakten Komplex nach 24 h wiedergefunden.

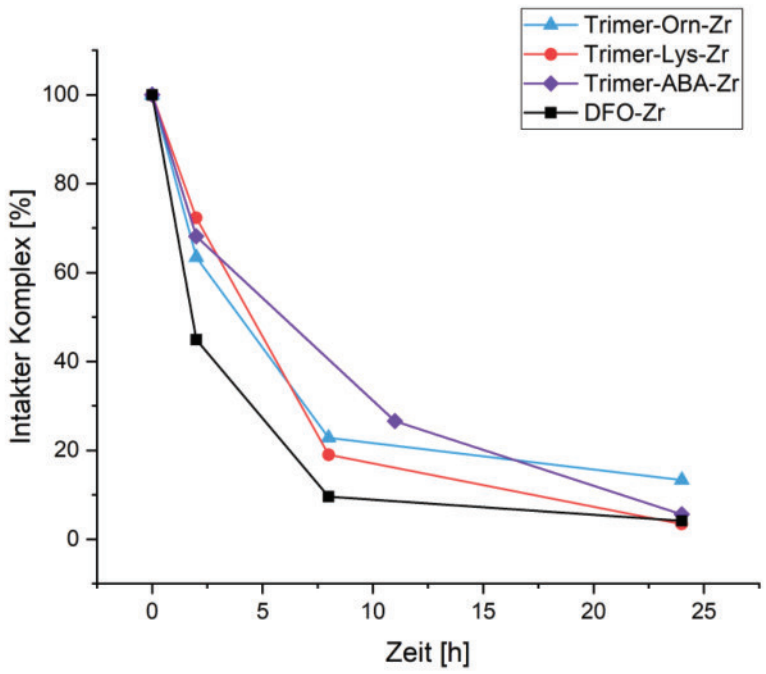


Abbildung 3-15: Darstellung der Stabilität der Trimer-Ligand-Zr-Komplexe durch Auftragung der normierten Integrale des EIC (normiert auf 0 h Wert) gegen die Zeit.

Trotz der vorgenommenen strukturellen Änderungen an den hergestellten Liganden **144-146** zeigt sich ein vergleichbares Verhalten zum Naturstoff DFO **9**. So führt die Installation zwitterionischer Gruppen zu einer verbesserten Hydratisierung und damit zur Ausbildung einer entsprechenden Hydrathülle. Trotzdem scheint dies die Komplexbildung und die Stabilität nicht zu beeinflussen. Ebenso scheint die Einbringung zusätzlicher Amide, durch die eingefügten Seitenketten an den α-Aminofunktionen die Rigidität nicht negativ zu beeinflussen. Aufgrund des vergleichbaren Verhaltens zu DFO **9** kann daher geschlossen werden, dass die geringe Stabilität auf die hexadentate Chelatisierung, und damit unzureichende Absättigung der Koordinationssphäre des Zr^{4+}, zurückgeführt werden kann.

Neben den reinen Trimeren wurden zusätzliche pseudo-Tetramere mit freier Carbonsäurefunktion dargestellt, um einen möglichen Einfluss der zusätzlichen Donorgruppe auf die Komplexstabilität zu untersuchen (Abbildung 3-14). Hierbei konnte für das Lysin-Derivat **148** eine vergleichbare Stabilität zu dem Komplex ohne zusätzliche Carbonsäure festgestellt werden (Abbildung 3-16). Betrachtet man hingegen die beiden Ornithin-Komplexe so zeigt sich eine deutliche Zunahme der Stabilität, wobei nach 24 h noch ca. 1/4 des intakten Zr-Komplexes **144** & **148** vorhanden waren. Es lässt sich daher hier als möglicher Trend ableiten, das ein geringerer Abstand zwischen den Hydroxamsäuren im Backbone des Liganden zu einer zusätzlichen Erhöhung der Stabilität führt.

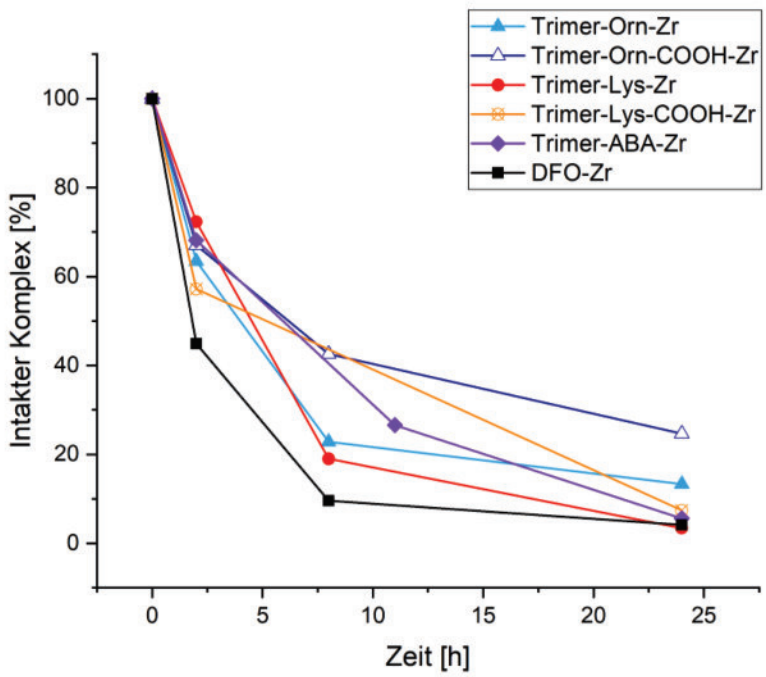


Abbildung 3-16: Darstellung der Stabilität der Trimer-Ligand-Zr-Komplexe und Trimer-COOH-Ligand-Zr-Komplexe durch Auftragung der normierten Integrale des EIC (normiert auf 0 h Wert) gegen die Zeit.

Beide Komplexe zeigen zwar eine erhöhte Stabilität gegenüber Transmetallierung, diese liegt allerdings nicht in den Größenordnungen, welche für Komplexe mit octadentaten Chelatoren zu erwarten sind. Neben den direkten Analoga des DFO **9** in Form der trimeren Chelatoren wurden die tetrameren Liganden, welche vier Hydroxamsäuregruppen tragen, auf ihre Stabilität in ihren Zr-Komplexen **149-152** untersucht (Abbildung 3-17).

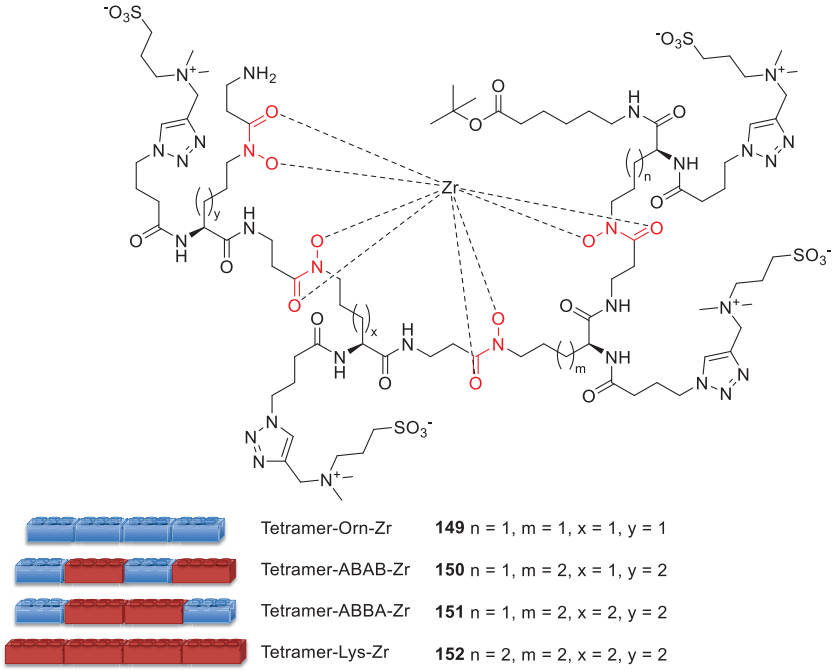


Abbildung 3-17: Strukturformel der Zirconium-Komplexe aus den octadentaten Trimer-Liganden.

Hierbei konnten erwartungsgemäß deutlich höhere Stabilitäten gegenüber Transmetallierung unter den gewählten Bedingungen erreicht werden (Abbildung 3-18). Während die Komplexe des Ligand-Tetramer-Lysin **152** (oliv), -ABAB **150** (pink) und –ABBA **151** (rosa) nur eine mäßige Stabilität von ca. 50% ermittelt werden konnte, zeigte sich für den Tetramer-Orn-Zr-Komplex **149** (türkis), dass dieser vollständig stabil blieb. Betrachtet man den Verlauf der Zerfallskurven der Tetramere, so zeigt sich deutlich nach Beginn des Experiments ein Anstieg des Integrals. Es ist davon auszugehen, dass die Komplexierung von Zr^{4+} durch die Liganden nach dem für die Komplexierung gewählten Zeitraum von 90 min noch nicht vollständig ist, sodass noch freie Zr^{4+}-Kationen nach Lösen des Lyophilisats vorhanden sind. Bemerkenswert ist, dass trotz Anwesenheit eines 1000-fachen Überschusses eines konkurrierenden Komplexbildners, die in dieser Arbeit entwickelten Liganden in der Lage sind, die in der Lösung vorhandenen Metallkationen zu binden und somit eine vollständige Komplexierung zu erreichen.

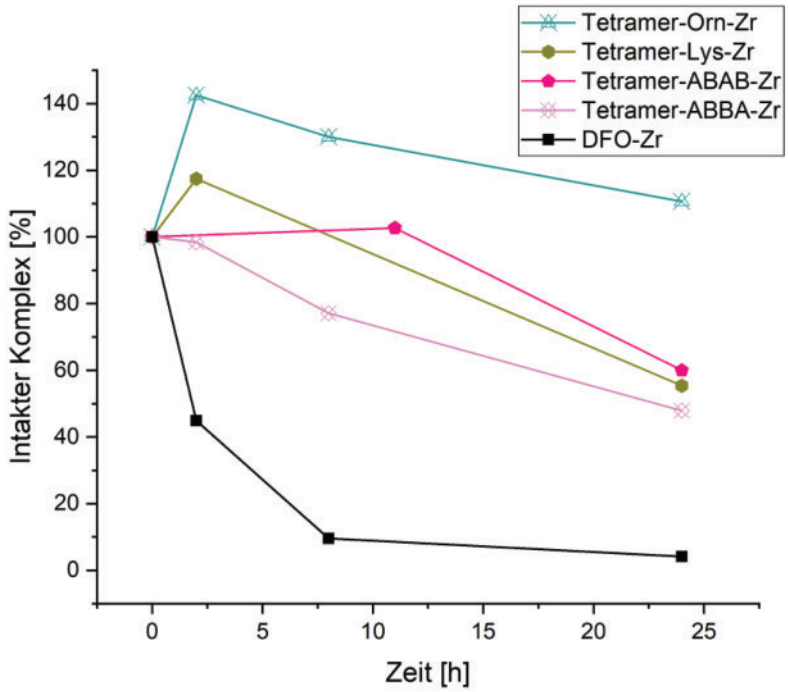


Abbildung 3-18: Darstellung der Stabilität der Tetramer-Ligand-Zr-Komplexe durch Auftragung der normierten Integrale des EIC (normiert auf 0 h Wert) gegen die Zeit.

Die Tendenz einer höheren Stabilität des gebildeten Zr-Komplexes für das kurze Ornithin-Derivat decken sich mit den von SEIBOLD et. al. durchgeführten empirischen Berechnungen.[158] Die Gruppe berechnete für ihren cyclischen Liganden einen idealen Abstand von 7 Atomen zwischen den Hydroxamsäuren. Dieser Trend lässt sich auch in den Stabilitäten der Tetramerkomplexe nachvollziehen, wobei das Ornithin-Derivat mit einem

Abstand von 9 Atomen zwischen den Hydroxamaten eine deutlich höhere Stabilität aufweist, als die Derivate in denen Lysin im Rückgrat enthalten ist (Abstand = 10 Atome).

3.7.2. Kinetik der Komplexbildung

Durch die in der Vorevaluierung erhaltenen Daten und der damit verbundenen Identifikation einer Hit-Struktur in Form des Ligand-Tetramer-Orn **149** sollte zur Validierung der These einer unvollständigen Komplexierung innerhalb von 90 min eine Kinetik-Studie durchgeführt werden. Hierzu wurden zunächst die gleichen Bedingungen des Labellings, wie in Kapitel 3.7.1 beschrieben, gewählt. Alle 90 min wurde ein Aliquot der Reaktionslösung mittels HPLC-MS vermessen und das EIC des Zr-Komplexes zur Evaluation integriert. Darüber hinaus wurde das Experiment auch bei einer Temperatur von 37 °C durchgeführt um den Temperatureinfluss auf das Labelling zu erfassen. Anhand dieser Kinetik-Studie für den neuen Liganden konnte festgestellt werden, dass die Markierung des Liganden mit Zr bei Raumtemperatur erst nach 270 min vollständig abgeschlossen ist (Abbildung 3-19).

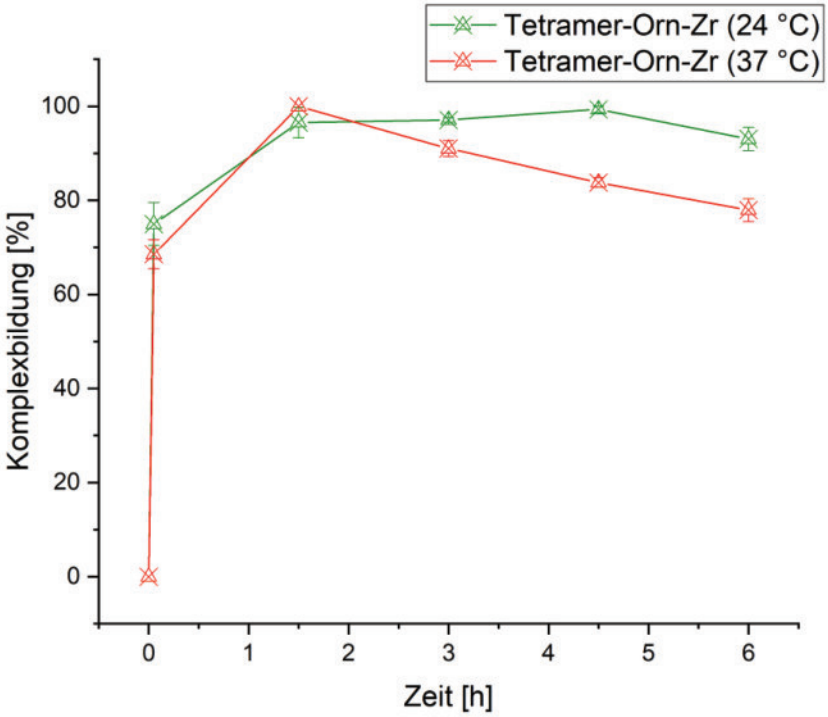


Abbildung 3-19: Ergebnisse der Evaluation der Komplexbildungskinetik anhand des Zr-Komplexes von Ligand-Tetramer-Orn **149**. Aufgetragen sind die Integrale des EIC gegen die Zeit.

Im Vergleich dazu zeigt sich bei einer Temperaturerhöhung auf eine für Biomoleküle, wie zum Beispiel Antikörper oder Peptide, unproblematische Temperatur von 37 °C, dass das Labelling bereits nach 90 min beendet ist. Auffällig ist jedoch auch, dass bei einer Erhöhung der Temperatur der gebildete Komplex nach Erreichen des Maximums anschließend

wieder zu zerfallen scheint, sodass ein Labelling bei 37 °C unter schwach basischen Bedingungen über einen längeren Zeitraum als 90 min in weiteren Studien nicht durchgeführt werden sollte. Ein möglicher Grund für diese Beobachtung ist, dass im Gleichgewicht frei vorliegende Zr^{4+}-Kationen aufgrund ihres Lewis-sauren Charakters die Hydrolyse vorhandener Amidbindungen katalysieren und es damit zu einem Abbau des Liganden kommt. Eine ähnliche These lässt sich mit Hinblick auf die zwitterionischen Seitenketten formulieren, da durch diese eine bessere Hydratisierung des Liganden vorliegt, wodurch es ebenfalls zu Hydrolysereaktionen kommen könnte. Daher sollte in späteren Arbeiten der Einfluss unterschiedlicher Puffermedien (PBS, HEPES, etc.) auf das Komplexierungsverhalten untersucht werden. Durch die so erhaltenen Daten zur Kinetik der Komplexbildung lassen sich die Ergebnisse der Vorevaluation, also der beobachtete Anstieg an intaktem Komplex für die tetrameren Bausteine nach Inkubation mit EDTA **142**, erklären. Weiterhin bestätigen die Ergebnisse der Kinetik-Studie die These, dass die in dieser Arbeit entwickelten Liganden äußerst potente Komplexbildner für Zr sind und in der Lage sind das Metall auch in Anwesenheit großer Mengen anderer Chelatoren zu binden.

3.7.3. Evaluation des Tetramer-Orn-Zr-Komplexes

Mit den in der Kinetik-Studie erhaltenen Daten sollten zur weiteren Validierung der Komplexierungseigenschaften von Ligand-Tetramer-Orn **149** der zuvor durchgeführte Transchelatisierungsassay mit dem neuen Labelling-Protokoll wiederholt und neben EDTA, auch DFO **9** als Kompetitor untersucht werden. Der Ligand wurde bei Raumtemperatur über 270 min bei pH = 8.5-9.0 mit Zr markiert und im Anschluss gefriertrocknet. Das erhaltene Lyophilisat wurde gelöst, mit einem Überschuss des Kompetitors (EDTA 1000-facher Überschuss, DFO 300-facher Überschuss) versetzt, die Lösung auf pH = 7 eingestellt und die Integrität des gebildeten Zr-Komplexes über einen Zeitraum von 24 h beobachtet (Abbildung 3-20).

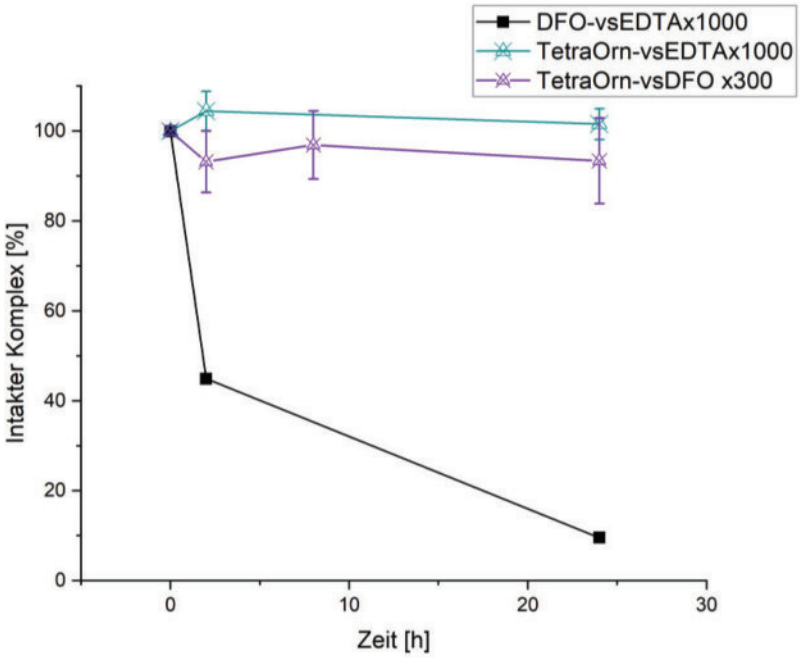


Abbildung 3-20: Darstellung der Stabilität des Tetramer-Orn-Zr-Komplexes gegenüber Transchelatisierung. Als Kompetitoren wurden EDTA und DFO in 1000-fachem bzw. 300-fachem Überschuss verwendet. Aufgetragen sind die normierten Integrale des EIC für den Tetramer-Orn-Zr-Komplex (normiert auf 0 h Wert) gegen die Zeit.

Analog zu den Experimenten der Vorevaluation konnte für die Wiederholung des Kompetitivexperiments mit einem 1000-fachen Überschuss an EDTA **142** zunächst ein leichter Anstieg der Kurve (Abbildung 3-20 türkis) beobachtet werden, was in diesem Fall auf die verwendete HPLC-MS-Methodik zurückgeführt werden kann (vgl. Fehlerbalken). Wie in der Vorevaluation konnte in der Validierung festgestellt werden, dass der Tetramer-Ornithin Komplex **149** nach 24 h in Gegenwart eines 1000-fachen Überschusses an EDTA **142** vollständig stabil war. Die beobachteten, mitunter großen, Abweichungen der Werte innerhalb einer Messreihe lassen sich durch die verwendete HPLC-MS Methodik erklären. Aufgrund der verwendeten Konzentrationen des Zr-Komplexes im nanomolaren Bereich, welche für spätere Anwendungen üblich sind zeigt sich ein schlechtes Signal-zu-Rauschen Verhältnis. Zusätzlich wurden die Proben vor der Messung nicht gereinigt, sondern eine Probe direkt aus der Reaktionslösung entnommen. Die HPLC-MS Methode wurde in Folge dessen so eingestellt, dass die ersten fünf Minuten, in denen Salze und das in der Lösung enthaltene EDTA eluiert werden (siehe Abbildung 3-12), direkt in den Abfall geleitet wurden. Durch die große Menge an EDTA, welche auf die HPLC-Säule injiziert wurde, konnte dennoch eine Suppression der restlichen Signale über den Verlauf des HPLC-Laufes beobachtet werden.

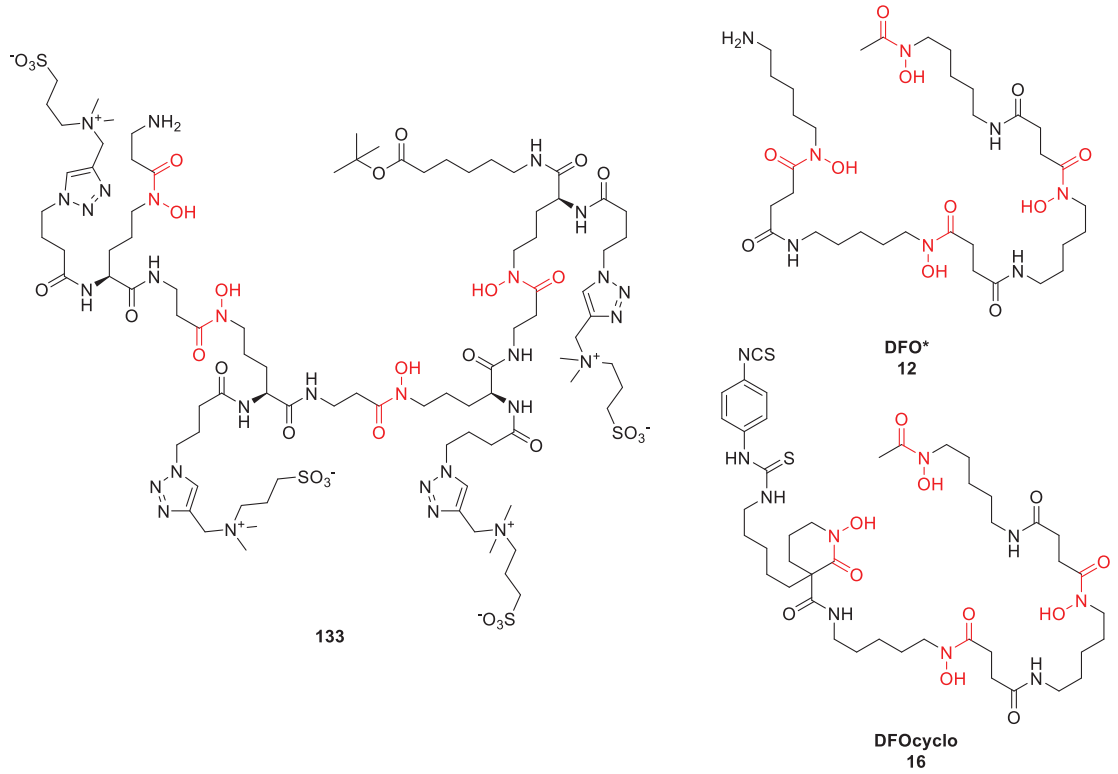


Abbildung 3-21: Strukturformeln von Ligand-Tetramer-Ornithin **133** und den als Referenz zur Bewertung der Ergebnisse der Stabilitätsstudie herangezogenen literaturbekannten Verbindungen DFO* **12** und DFOcyclo **16**.

Als Referenz zur Beurteilung des Tetramer-Orn-Zr-Komplexes **149** wurde die von RAAVÉ et. al. durchgeführte Studie verwendet.[115] Die Gruppe konnte für die Zr-Komplexe von DFO* **12** und DFO-cyclo **16** eine Komplexstabilität von >99% gegenüber Transchelatisierung mit einem 1000-fachen Überschuss an EDTA feststellen. Trotz einer methodischen Unsicherheit zeigt sich, dass die Stabilität von Tetramer-Orn-Zr 149 in einer Größenordnung mit den literaturbekannten Verbindungen liegt und es in Gegenwart eines 1000-fachen Überschusses an EDTA **142** zu keiner oder nur minimalen Transchelatisierung kommt. Neben EDTA wurde auch DFO **9** in einem 300-fachen Überschuss verwendet. Dies entspricht den von PATRA et. al. verwendeten Bedingungen, welche in der Erstpublikation von DFO* **12** verwendet wurden. Während die literaturbekannte Verbindung DFO* **12** in der Literaturstudie in Anwesenheit des Kompetitors keiner Transchelatisierung unterging, konnte für die in dieser Arbeit dargestellte Verbindung eine Stabilität von >90% nach 24 h ermittelt werden. Wie zuvor zeigte sich innerhalb der Messreihe eine vergleichsweise breite Streuung der Werte, was sich auf die verwendete HPLC-MS Methodik und das damit verbundene schlechte Signal-zu-Rauschen-Verhältnis zurückführen lässt. Um eine eindeutige Vergleichbarkeit mit der Literatur zu gewährleisten, sollte die Evaluation der Komplexstabilität in zukünftigen Arbeiten als weitere Validierungsmethode unter Verwendung des radioaktiven ^{89}Zr durchgeführt werden um eine zusätzliche sensitivere

Methodik zur Quantifizierung. Mit den in dieser Arbeit gesammelten Ergebnissen, lässt sich jedoch zeigen, dass es sich bei der neuen Verbindung Ligand-Tetramer-Ornithin **133** um einen hochpotenten Liganden für das Übergangsmetall Zirconium handelt, dessen Zr-Komplex eine Stabilität aufweist, welche in einer Größenordnung mit dem aktuell leistungsfähigsten Liganden DFO* **12** liegt.

4. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und Synthese modularer, peptidischer Hydroxamate als Chelatoren für die Entwicklung neuer und individuell anpassbarer ^{89}Zr-basierter Kontrastmittel für die PET-Diagnostik.

Das Radiometall ^{89}Zr hat sich im Laufe der letzten Dekade, im Kontext der Antikörper-gestützten immunoPET, aufgrund seiner vorteilhaften Halbwertszeit und Zerfallseigenschaften als Radionuklid der Wahl etabliert. Als Vorbild für die Entwicklung eines neuen Liganden für ^{89}Zr diente in dieser Arbeit der Naturstoff DFO **9**, ein acyclisches Pseudopeptid aus der Gruppe der Siderophore. DFO **9** ist in der Lage über seine drei Hydroxamsäuregruppen Übergangsmetallkationen zu chelatisieren, während das freie Amin eine Konjugation an Targeting-Funktionen zulässt. In Anlehnung an den Naturstoff wurde ein modulares Peptid-Grundgerüst (Abbildung 4-1) entwickelt, welches neben den Möglichkeiten zur Komplexierung von Metallkationen und der Konjugation weiterer Biomoleküle durch die Verwendung von α-Diaminosäuren eine zusätzliche Funktionalisierung zulässt, um beispielsweise die pharmakokinetischen Eigenschaften der Verbindung zu beeinflussen.

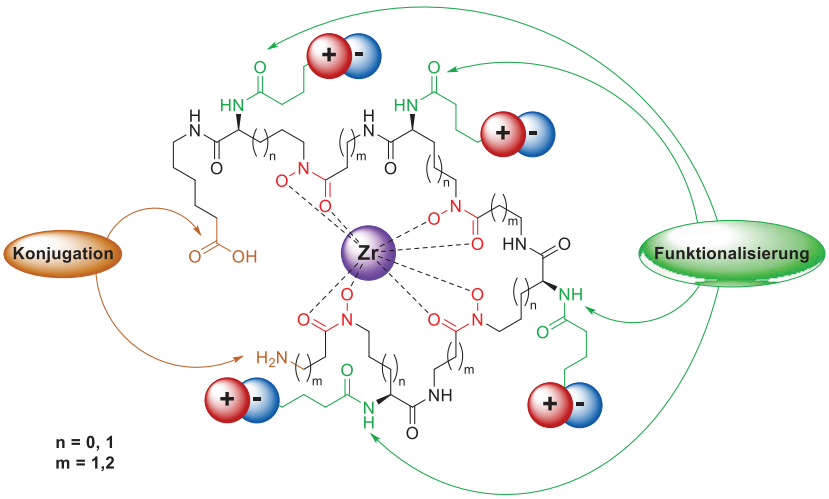
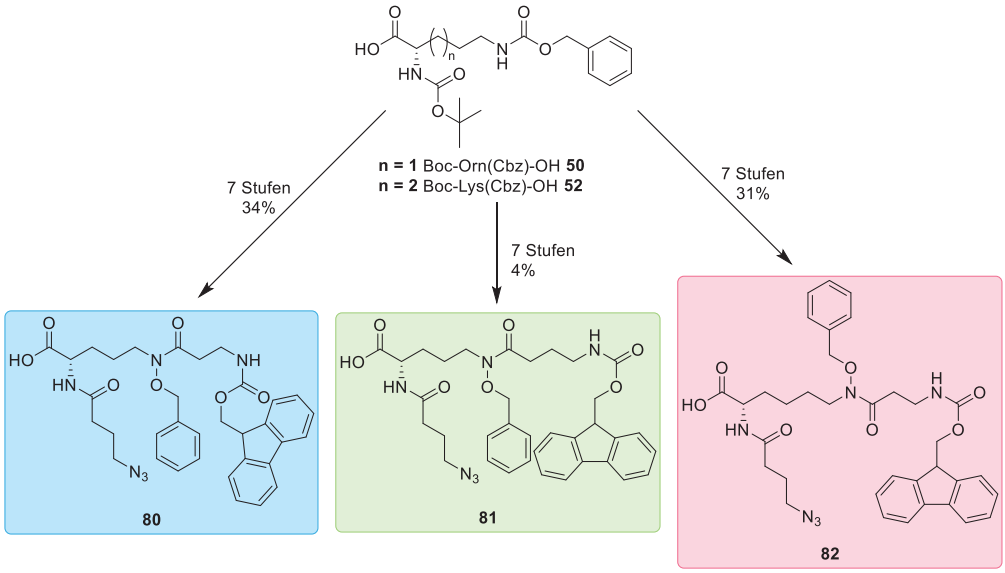


Abbildung 4-1: Schematische Darstellung des geplanten peptidischen, modularen Liganden zur Komplexierung von ^{89}Zr. Durch die Verwendung unterschiedlicher Aminosäuren können Targeting-Vektoren an C- und N-Terminus konjugiert werden (orange), der Abstand zwischen den komplexbildenden Hydroxamatgruppen (rot) moduliert und durch zusätzliche Seitenketten (grün) die pharmakokinetischen Eigenschaften angepasst werden.

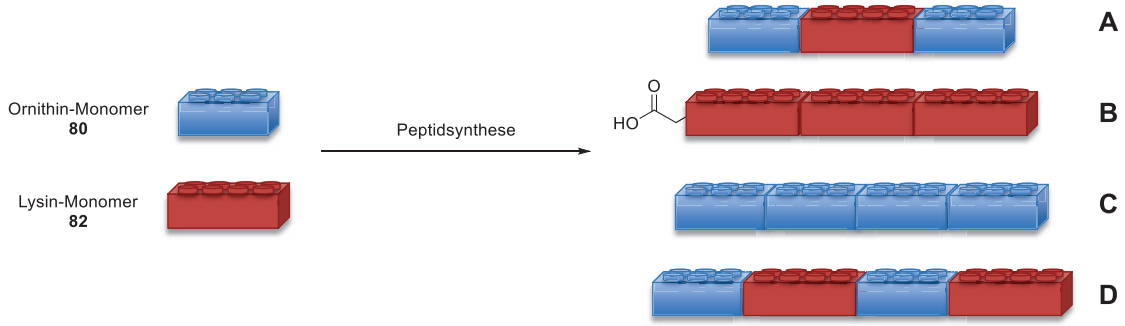
Für die Synthese der Dipeptid-Bausteine für das Peptidrückgrat des späteren Liganden, konnte eine robuste und effiziente Synthesesequenz ausgehend von den kommerziell erhältlichen Boc-, Cbz-geschützten Diaminosäuren L-Ornithin bzw. L-Lysin etabliert werden. Die Synthese des Ornithin-β-Alanin-Bausteins **80** erfolgte in einer Ausbeute von 34% über 7 Stufen, während sich der Lysin-β-Alanin-Baustein **82** in einer Ausbeute von 31%

über 7 Stufen darstellen lies (Schema 4-1). Als weitere Variation zum Vergleich eines Einflusses der Positionierung der Hydroxamsäurefunktion innerhalb des Moleküls sollte des Weiteren ein Ornithin-γ-GABA-Baustein **81** dargestellt werden. Obwohl die Synthese erfolgreich mit einer Ausbeute von 4% über 7 Stufen durchgeführt werden konnte stellte sich die intramolekulare Cyclisierung der γ-Aminobuttersäure als nicht überwindbares Hindernis zur Etablierung einer effizienten Synthese in größerem Maßstab dar.



Schema 4-1: Synthese der modularen Dipeptid-Bausteine (Monomere) als Grundbausteine für die Synthese des Peptidrückgrats der Chelatoren.

Ausgehend von den Monomer-Bausteinen wurde anschließend mittels Peptidsynthese nach der Fmoc-Strategie nach einem Baukastenprinzip eine Bibliothek von insgesamt 9 Chelatoren mit unterschiedlichen Eigenschaften synthetisiert. Neben den dem DFO analogen hexadentaten Verbindungen, welche drei Hydroxamatgruppen tragen, wurde auch eine Reihe von vier octadentaten Chelatoren mit vier Hydroxamatgruppen dargestellt. Als weitere octadentate Variante wurden zusätzlich die hexadentaten Liganden mit einer freien Carbonsäurefunktion dargestellt (Schema 4-2).



Schema 4-2: Schematische Darstellung der Synthese der peptidischen Liganden in vier Varianten. Trimere dem DFO analoge hexadentate Peptide bestehend aus einem Monomer oder alternierend (**A**); octadentate Liganden mit 3 Hydroxamsäuren und freier Carbonsäure (**B**); octadentate tetramere Chelatoren bestehend aus einem Monomer (**C**) oder alternierend (**D**).

Die so erhaltenen Peptidgrundgerüste wurden im Anschluss zur Demonstration der Funktionalisierbarkeit *via* bioorthogonaler Click-Chemie mit zwitterionischen Gruppen modifiziert. Nach anschließender Abspaltung aller Schutzgruppen wurden die Chelatoren in Ausbeuten zwischen 1% bis 17% über 14 Stufen für die Trimere bzw. über 16 Stufen für die Tetramere erhalten. Zur Evaluation der Stabilität der korrespondierenden Zr-Komplexe wurde ein HPLC-MS basierter Transchelatisierungsassay entwickelt. In einer Vorevaluation wurden die Komplexe mit einem 1000-fachen Überschuss an EDTA bei pH = 7 inkubiert und die Integrität der Komplexe über 24 h verfolgt. Während die trimeren Liganden (Varianten **A** und **B**) in ihren Zr-Komplexen eine ähnliche Performance wie ihr Pendant DFO aufwiesen und bereits nach wenigen Stunden zerfielen, wiesen die Tetramere (Varianten **C** und **D**) deutlich bessere Stabilitäten auf. Hierbei blieb der Tetramer-Orn-Zr **149** auch nach 24 h vollständig stabil und wurde daher als potentielle Hit-Struktur in einer weiteren Studie validiert. Neben EDTA als Kompetitor wurde auch die Transchelatisierung gegen einen 300-fachen Überschuss an DFO untersucht, wobei eine Stabilität von mehr als 90% nach 24 h festgestellt werden konnte (Abbildung 4-2).

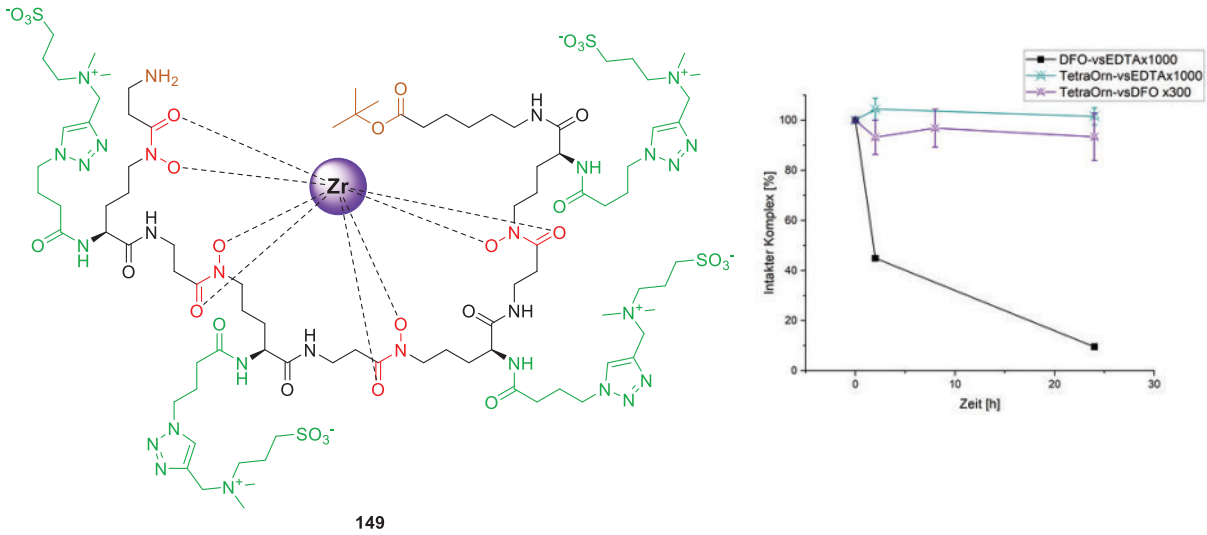


Abbildung 4-2: Zirkonium-Komplex des modularen, peptidischen Chelator auf Basis des Ornithin-Monomerbausteins **80**, welcher *via* Click-Chemie mit Zwitterionen modifiziert wurde (links). Ergebnisse der Transchelatisierungsstudie zur Untersuchung der Stabilität des gebildeten Zr-Komplexes **149** gegen 1000-fachen Überschuss an EDTA und 300-fachen Überschuss an DFO (rechts).

5. Summary

The aim of this thesis was the design and synthesis of novel, peptidic hydroxamate-ligands for the radiometal ^{89}Zr as a modular platform for the development of specifically tuneable contrast agents for PET applications.

Over the past decade, ^{89}Zr emerged as the "metal of choice" for targeted immunoPET applications, due to its relatively long half-life time and favorable decay characteristics. The natural compound DFO **9**, an acyclic, pseudo peptidic siderophore, is the most popular chelator for ^{89}Zr and has been employed in numerous, yet unsuccessful, clinical trials. DFO binds transition-metal ions via three hydroxamate groups and was used as archetype structure for the ligands developed in this thesis. In order to achieve complete modularity the ligands were designed as oligopeptides, allowing for a facile synthesis via standard peptide synthesis from readily available starting materials. The proposed final ligand structure offers four hydroxamate groups to fully saturate the coordination sphere of the Zr^{4+}-ion, thus guaranteeing enhanced stability. It also offers additional side chains as modification sites to tune the pharmacokinetic properties of the ligand, for example by introducing zwitterionic groups, while allowing N- or C-terminal conjugation of targeting moieties (Figure 5-1).

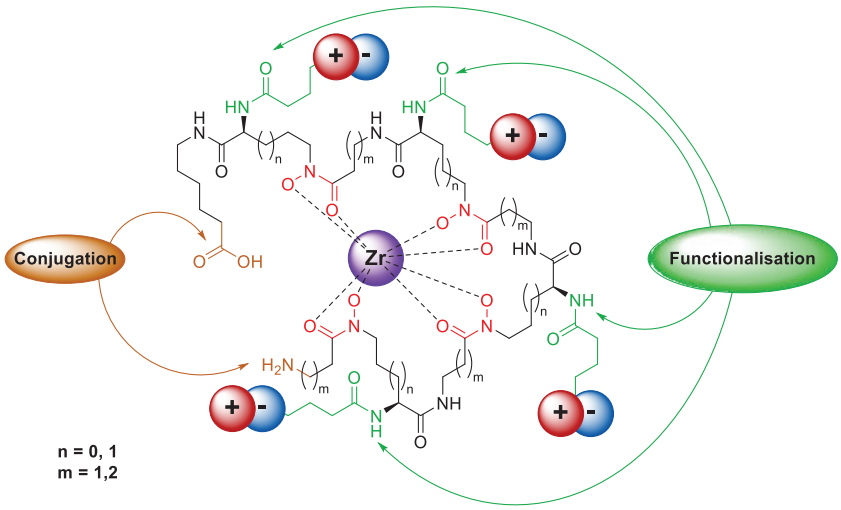
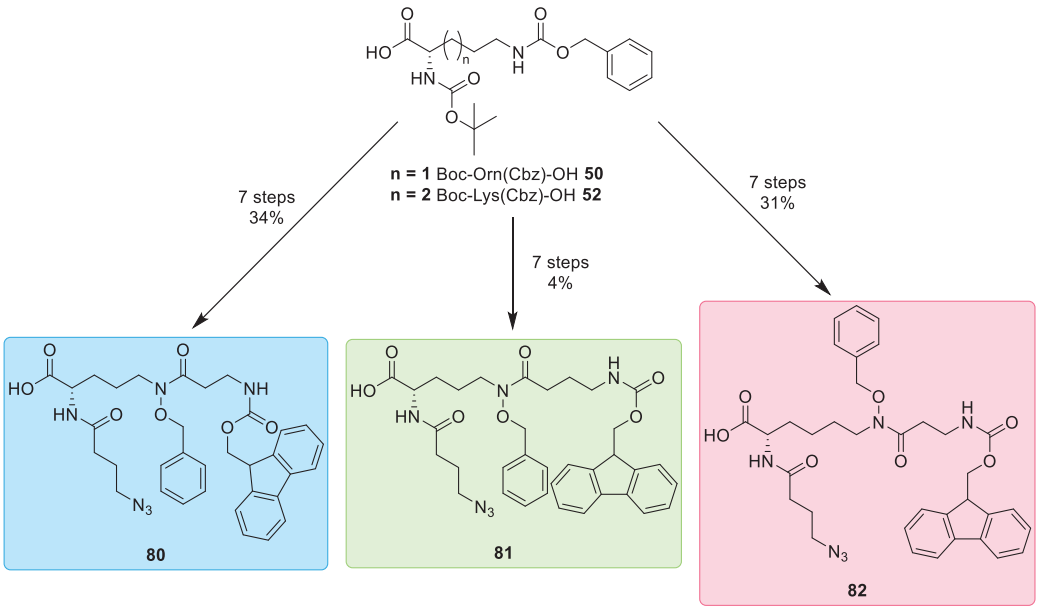


Figure 5-1: Schematic depiction of the proposed modular, peptidic ligands for the complexation of ^{89}Zr. The peptide structure allows for N- or C-terminal conjugation of targeting moieties (orange), the modulation of the chain length between the chelating moieties (red) by the use of different amino acids and sidechains for the addition of pharmacokinetic relevant groups such as zwitterions to tune the *in vivo* properties of the ligand (green).

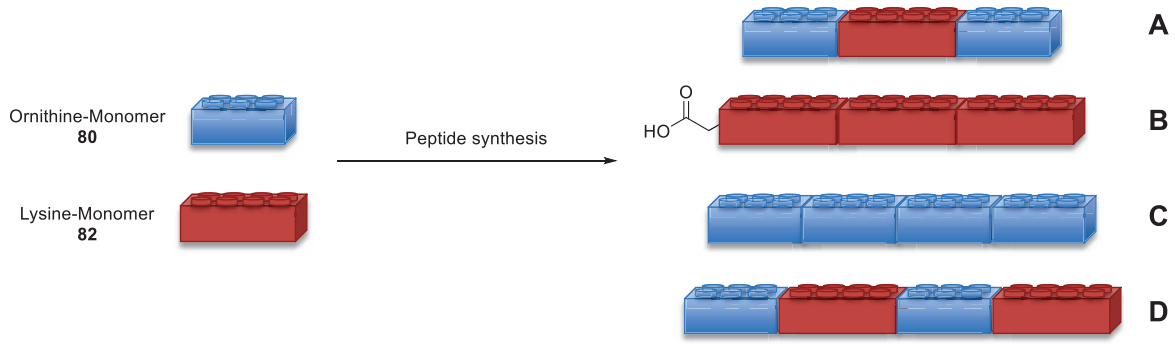
To ensure quick assembly of the ligands an efficient and robust synthetic route was established yielding dipeptidic monomer building blocks. Starting from commercially available Boc-, Cbz-protected diamino acids L-ornithine or L-lysine the ornithine-β-alanine monomer **80** and lysine-β-alanine monomer **82** were synthesized in a yield of 34% and 31%

over seven steps (Scheme 5-1). In order to investigate a possible influence of the intramolecular positioning of the hydroxamic acid moiety on the Zr-complex stability, the ornithine-γ-GABA **81** was synthesized with a yield of 4% over seven steps. For this compound, the intramolecular cyclisation of the γ-aminobutanoic acid proved insurmountable, preventing the synthesis of the monomer **81** in sufficient quantities.



Scheme 5-1: Synthesis of the modular dipeptide monomers as building blocks for the synthesis of the peptide backbone.

With the monomer building blocks at hand a library of nine chelators with varying properties were synthesized following peptide synthesis via the Fmoc-protocol in solution. As a comparison to the model compound DFO, hexadentate chelators, bearing three hydroxamic acids were synthesized (**A**). Additionally ocatadentate derivatives with four Hydroxamates (**C** and **D**) or three hydroxamates as well as an additional carboxylic acid (**B**) were synthesized (Scheme 5-2).



Scheme 5-2: Schematic depiction of the ligand library synthesis. Four variants of chelators were synthesised: **A** hexadentate trimeric compounds analogous to DFO employing one monomer or alternating versions; **B** octadentate trimeric compounds employing an additional carboxylic acid for metal complexation; **C** octadentate tetramer chelators with four Hydroxamates built from one monomer or in alternating fashion using both monomer variants (**D**).

To demonstrate the modularity of the system, the azide side-chains were used to introduce zwitterionic groups via bioorthogonal click-chemistry. After cleavage of the remaining protecting groups the chelators were obtained in yields ranging from 1% to 17% over 14 steps for the trimeric and 16 steps for the tetrameric chelators. In order to evaluate the performance of the ligands in forming stable Zr-complexes a HPLC-MS transmetallation assay was developed. Quick assessment of the library compounds was done by labelling the ligands with non-radioactive Zr and subsequent incubation of the formed complexes in presence of a 1000-fold excess of EDTA at pH = 7 over 24 h. While the trimers (variants **A** and **B**) employed insignificantly higher stabilities than their model compound DFO, the tetramers (variants **C** and **D**) showed excellent stability in presence of the competitor. With nearly quantitative stability, the complex Tetramer-Orn-Zr **149** remained intact after 24 h and was therefore identified as hit structure and validated in further transmetallation and kinetic studies. Besides its excellent stability in the presence of 1000-fold excess EDTA, the complex showed a very high stability of >90% after 24 h, when being opposed with a 300-fold excess of the current "Gold-standard" DFO, thus making it a potent candidate for further development of novel targeted ^{89}Zr-contrast agents.

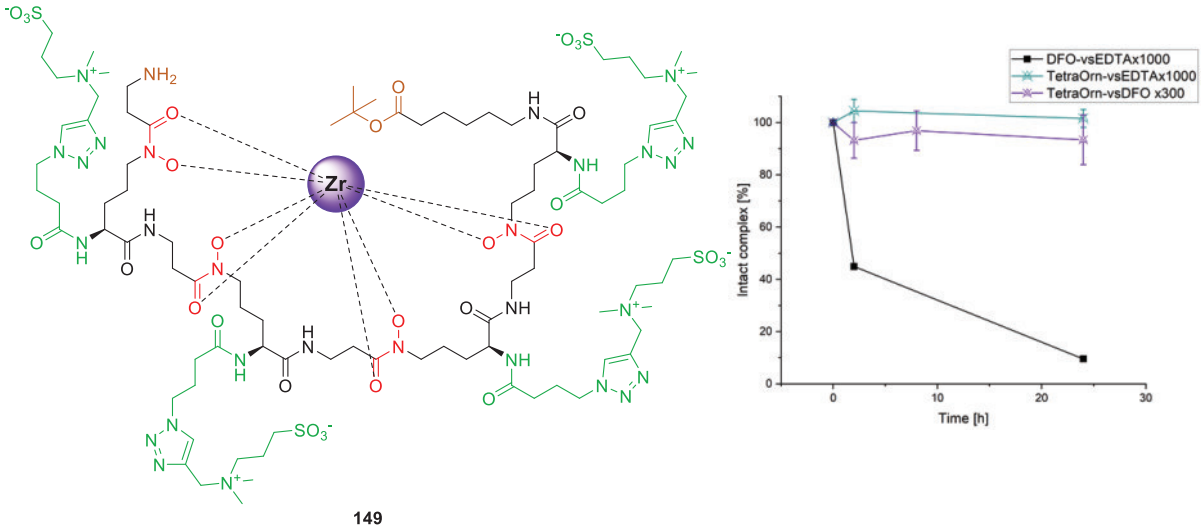


Figure 5-2: Zirconium-complex of the ornithine-based modular ligand (left). Zwitterionic groups were introduced via click chemistry demonstrating the modularity of the chelator. To determine the stability of the formed complex a transmetallation assay was used opposing the Zr-complex with 1000-fold excess of EDTA or 300-fold excess of DFO at pH = 7 over 24 h (right).

6. Ausblick

Die in dieser Arbeit entwickelte Syntheseroute konnte zwar erfolgreich und reproduzierbar zur Darstellung einer Ligandenbibliothek verwendete werden, jedoch stellt eine Peptidsynthese in Lösung keine finale Lösung dar. Sowohl aus Zeit- und Kostengründen bietet sich daher die Festphasenpeptidsynthese an und sollte trotz erster negativer Ergebnisse während dieser Arbeit eingehender untersucht werden, da nur so eine effiziente Synthese der Liganden im technischen Maßstab realisiert werden könnte. Den Ergebnissen der Transchelatisierungsstudie folgend, sollte dabei neben dem in dieser Arbeit etablierten Ornithin-basierten Liganden auch eine noch kürzere Variante, beispielsweise unter Verwendung von 2,4-Diaminobuttersäure oder 2,3-Diaminopropansäure dargestellt werden, um den von Seibold et. al. berechneten idealen Abstand zwischen den Hydroxamsäuren realisieren zu können und damit die Stabilität weiter steigern zu können.

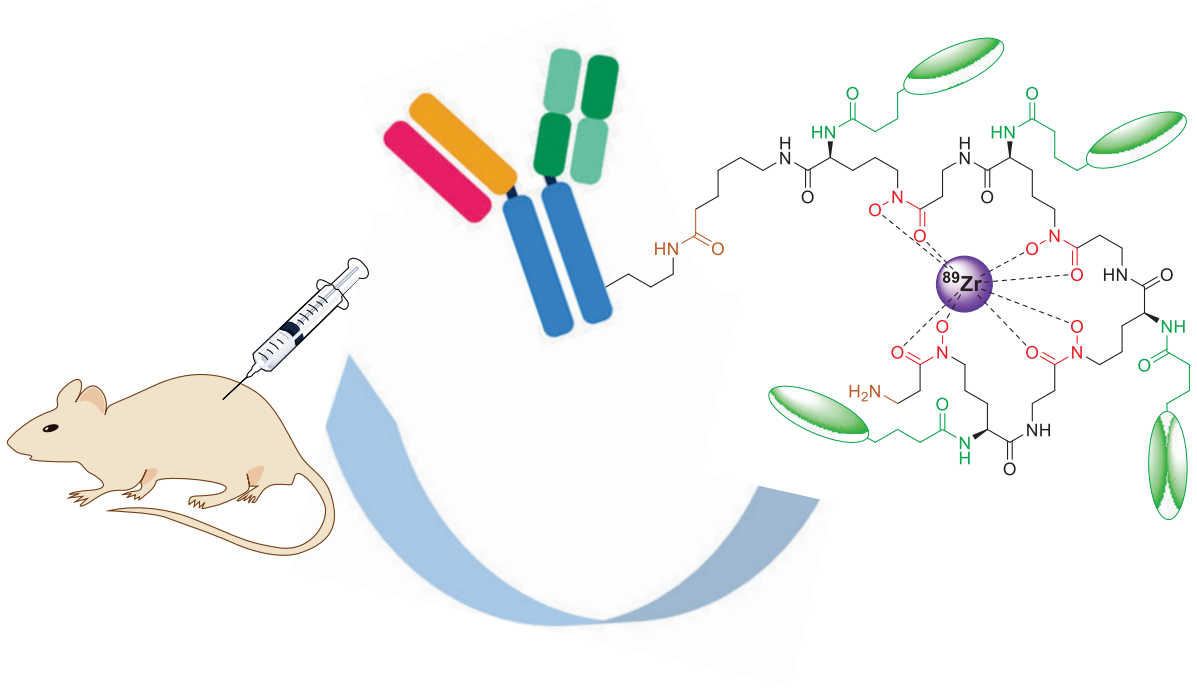


Abbildung 6-1: Mögliches immunoPET-Diagnostikum, basierend auf dem entwickelten Liganden, nach Kupplung an einen Antikörper und funktionalisierten Seitenketten (grün) zur Anwendung in ersten präklinischen Studien.

Aufgrund der viel versprechenden Ergebnisse der Stabilitätsstudien für den neu entwickelten Liganden lassen sich eine Reihe weiterer Herausforderungen formulieren. Neben den in dieser Arbeit durchgeführten Transchelatisierungsstudien, stellt die Untersuchung der Komplexstabilität unter physiologischen Bedingungen, sprich im Serum, eine wichtige Kennzahl zur Beurteilung des Liganden dar. Dabei sollte zur

Gewährleistung der Wiederfindung und als Generalprobe für die Anwendung unter Realbedingungen auf die Verwendung von radioaktivem ^{89}Zr zurückgegriffen werden. Im Idealfall einer solchen Studie sollte diese zudem unter Verwendung einer Targeting-Funktion, zum Beispiel in Form eines Antikörpers, Aptamers oder Peptids, erfolgen um den Erfolg späterer *in vivo* Studien abschätzen zu können.

Neben der Einführung von zwitterionischen Seitenketten mittels bioorthogonaler Click-Chemie, könnten an dieser Stelle eine Vielzahl anderer Modifikationen durchgeführt werden. Als mögliche Alternative zu der Verwendung von Zwitterionen zur Darstellung sog. Stealth-Liganden, könnte stattdessen niedermolekulare dendritische Polyethylenglykole verwendet werden, welche ebenfalls eine gute Wasserlöslichkeit und entsprechende Hydrophilie erzeugen können um die unspezifische Bindung an Serumproteine zu verringern. Darüber hinaus könnte auch eine Kombination mit clickbaren Fluorezenz- oder NIR-Chromophoren erfolgen, um sogenannte bimodale Kontrastmittel zu erhalten. Diese könnten in der chirurgischen Entfernung von Tumoren Anwendung finden, wobei die Operation unter „*fluorescence-guidance*“ oder „*NIR-guidance*“ durchgeführt werden könnte und eine abschließende Evaluation auf eine vollständige Entfernung des kranken Gewebes mittels PET erfolgen würde.

7. Experimenteller Teil

7.1. Vorbemerkungen

7.1.1. Allgemeine Methoden

Luftsauerstoff- oder Feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen wurden in ausgeheizten Glasapparaturen unter Schutzgasatmosphäre (N_2 oder Ar) durchgeführt. Alle verwendeten Lösungsmittel wurden von den Firmen *Sigma-Aldrich*, *VWR* und *Acros* in den entsprechenden Reinheitsgraden erworben oder nach Standardlabormethoden getrocknet und destilliert. Die in den Synthesen eingesetzten Chemikalien stammen von den Firmen *Merck Millipore*, *Sigma-Aldrich*, *Alfa-Aesar*, *Acros*, *Fluka*, *Bachem*, *Iris Biotech*, *Fluorochem* und *TCI Chemicals* und wurden, sofern nicht anders angegeben, ohne weitere Reinigung in den Synthesen verwendet. Reaktionen deren Bedingungen eine Kühlung erforderten, wurden mit einer entsprechenden Kältemischung (Wasser/Eis/NaCl für 0 °C; Ethanol/CO_2 (fest) für -50 °C; Aceton/N_2 oder CO_2 (fest) für -78 °C) gekühlt.

Die Nummerierung und Nomenklatur der Moleküle erfolgte nicht nach den empfohlenen Richtlinien der IUPAC.

7.1.2. Chromatographische Methoden

Dünnschichtchromatographie: Die dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle wurde mit fluorophorbeschichteten Kieselgel-Aluminiumfolien durchgeführt. Als Phase für Trennungen der Normalphasen-DC wurden *ALUGRAM® Xtra SIL G* Folien der Firma *Macherey-Nagel* verwendet. Für Trennungen der Umkehrphasen-DC wurden *Nano-SIL C18 TLC plates* der Firma *Macherey-Nagel* verwendet.

Die Detektion erfolgte mittels UV-Detektion ($\lambda = 254$ nm), Cersulfat-Lösung (5 g $(NH_4)_4Ce(SO_4)_4$, 30 g $Mo_7O_{24}(NH_4)_6 \cdot 4\,H_2O$, 30 mL konz. H_2SO_4 und 600 mL demin. H_2O), Ninhydrin-Lösung (1.5% Ninhydrin und 3% Essigsäure in EtOH), Vanillin (6 g Vanillin, 100 mL Ethanol, 2.5 mL H_2SO_4) und Molybdatophosphorsäure-Lösung (5 g Molybdatophosphorsäure, 100 mL EtOH) als Anfärbereagenzien.

Säulenchromatographie: Für säulenchromatographische Trennungen der Normalphase wurde *POLYGOPREP 60-80* Kieselgel der Firma *Macherey-Nagel* mit einer Korngröße von 60-200 µm verwendet. Für die säulenchromatographische Reinigung der Umkehrphase wurde *POLYGOPREP 100-50* C_{18} Kieselgel der Firma *Macherey-Nagel* mit einer Korngröße von

40-63 µm verwendet. Alle für die Säulenchromatographie verwendeten Lösungsmittel wurden vor Benutzung frisch destilliert oder in den entsprechenden Reinheitsgraden gekauft. Für Trennungen der Umkehrphase wurde Acetonitril des Reinheitsgrads HPLC (99.8%) der Firma *VWR Chemicals* verwendet. Desweiteren wurde Wasser des Reinheitsgrads Milli-Q durch Reinigung von demineralisiertem Wasser durch eine Millipore Milli-Q Filteranlage erhalten und für die Chromatographie verwendet.

Automatisierte Säulenchromatographie: Trennungen mittels automatisierter Säulenchromatographie erfolgten an einer puriFlash®450 der Firma *Interchim*. Für Trennungen der Normalphase wurden eigens mit *POLYGOPREP 60-80* Kieselgel der Firma *Macherey-Nagel* gepackte Säulen verwendet. Für Trennungen der Umkehrphase wurden *CHROMABOND Flash RS 15, CHROMABOND Flash RS 25* oder *CHROMABOND Flash RS 80* Kartuschen der Firma *Macherey-Nagel* verwendet. Die Sammlung der Fraktionen erfolgte durch UV-Detektion in einem Wellenlängenbereich von 200-500 nm.

High Performance Liquid Chromatography: Die Reinigung der Zielverbindungen erfolgte mittels präparativer HPLC an einer VWR Hitachi LaChrom Elite der Firma *VWR* mit einer L-2130 Pumpe und einem UV-2400 UV-Detektor oder einer VWR Hitachi LaChrom Elite der Firma *VWR* mit einer L-7150 Pumpe, L-7000 Interface und einem UV-2400 UV-Detektor. Als Phasen für die Trennungen wurden die folgenden Säule der Firma *Macherey-Nagel* verwendet:

NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel

NUCLEODUR® C_8 HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel

7.1.3. Instrumentelle Analytik

Elementaranalyse: Die Elementaranalysen für CHN-Messungen wurden an einem C/H/N-Elementaranalysator vario EL III der Firma *Elementar Analysensysteme GmbH* durchgeführt. Die Elementaranalysen für CHNS(O)-Messungen wurden an einem C/H/N/S-O-Elementaranalysator EuroEA Elemental Analyzer der Firma *EuroVector* mit HEKAtech HT Sauerstoff-Analysator der Firme *HEKAtech* durchgeführt.

Graphitofen-Atomabsorptionsspektrometrie: Für die Bestimmung von Cu^{2+} in den Proben wurden 6-13 mg der Probe mit konz. HNO_3 in H_2O (2:3) aufgeschlossen. Die Messung erfolgte an einem ContrAA 700 der Firma *Analytik Jena*. Die Kalibrierung erfolgte gegen einen Cu^{2+}-Standard der Konzentrationen (0 µg/L, 10 µg/L, 20 µg/L, 40 µg/L und 60 µg/L).

Infrarotspektroskopie: IR-Spektren wurden an einem FT/IR-4100-Spektrometer der Firma *Jasco* mit einer ATR-Einheit aufgenommen.

Kernresonanzspektroskopie: Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte an einem Avance III 600 MHz, einem Avance I 500 MHz, einem DRX 500 MHz, einem Avance III HD 400 MHz, einem Avance II 400 MHz, einem Avance I 400 MHz oder einem FourierHD 300 MHz der Firma *Bruker Daltonics*. Die angegebenen Lösungsmittel dienten als interner Standard für die Kalibrierung. Die chemischen Verschiebungen sind in Einheiten der δ-Skala in ppm angegeben. Die Kopplungskonstanten (J) werden in der Einheit Hertz (Hz) angegeben. Zur Kennzeichnung der Multiplizitäten der Signale werden folgende Abkürzungen verwendet:
s = Singulett; s_{br} = verbreitertes Singulett; d = Dublett; t = Triplett; q = Quartett; quin = Quintett; m = Multiplett; dd = Dublett vom Dublett; dt = Dublett vom Triplett; td = Triplett vom Dublett; tt = Triplett vom Triplett; ddd = Dublett vom Dublett vom Dublett.

Die Zuordnung der Signale komplexer Moleküle erfolgte auf Basis von 2D-NMR-Experimenten (H,H-COSY, HMBC, HSQC, NOESY und TOCSY). Alle Spektren wurden, falls nicht abweichend angegeben, bei 298 K aufgenommen.

Massenspektrometrie: Die ESI-Massenspektren wurden an einem MicrOTOF-Q oder einem amaZon SL der Firma *Bruker Daltonics*, sowie an einem 6224-ESI-TOF der Firma *Agilent Technologies* aufgenommen. Die Kalibrierung der hochaufgelösten Massenspektren erfolgte mit einem Natriumformiat-Standard.

Für die Aufnahme von LC/MS-Spektren wurde das MicrOTOF-Q-Massenspektrometer mit einer VWR Hitachi LaChrom Elite HPLC-Anlage der Firma *VWR* verbunden. Diese umfasste eine L-2130 Pumpe, einen L-2400 Diode Array Detector und einen L-2200 Autosampler. Für die Trennungen wurden folgende Säulen der Firma *Macherey-Nagel* verwendet:

NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel

NUCLEODUR® C_8 HTec EC, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel

Polarimetrie: Drehwerte wurden mit einem Polarimeter M550 der Firma *A. Krüss Optotronic* unter Verwendung einer 1 mL Kapillare (0.5 dm Länge) bestimmt.

UV-Vis Spektroskopie: Messungen der Absorption bzw. der optischen Dichte wurden an einem Genesys 10uv Spektrometer der Firma *Thermo Scientific* durchgeführt.

7.1.4. Festphasenpeptidsynthese

Verwendetes Harz: Als Trägermaterial für die SPPS wurde ein 2-Chlorotrityl-chlorid auf Polystyrol-Basis (quervernetzt mit 1% Divinylbenzol, 100-200 mesh), mit einer Belegungsdichte von 1.52 mmol/g, der Firma *Novabiochem* verwendet.

Erstbelegung: Vor der Erstbelegung wurde das Harz für 2 h in abs. CH_2Cl_2 quellen gelassen und anschließend mit abs. CH_2Cl_2 gewaschen. 50 mg des Harzes wurden zusammen mit einer Mischung aus 1.2 Äquivalenten der Fmoc-Aminosäure (Fmoc-AHX-OH) und 5 Äquivalenten DIPEA in CH_2Cl_2 versetzt und für 120 min geschüttelt. Nach Waschen mit CH_2Cl_2 (3x), DMF (2x) und erneut CH_2Cl_2 (2x) wurde das belegte Harz im Exsikkator über KOH über Nacht getrocknet.
Die Bestimmung der Erstbelegungsdichte erfolgte nach GUDE et. al. mittels UV-Vis Spektroskopie.[193] 5 mg des Harzes wurden eingewogen und mit DBU 2% in DMF versetzt. Nach Schütteln für 30 min wurde die Lösung mit CH_3CN zu 10 mL verdünnt und 2 mL dieser Lösung ein weiteres Mal zu 25 mL in einem Messkolben verdünnt. Eine Referenzprobe wurde analog, aber ohne Zugabe des Harzes angefertigt. Nach Messung der Absorption bei λ = 304 nm (Fmoc-DBU-Addukt) wurde die Belegungsdichte nach Formel 7-1 bestimmt.[194]

$$\rho = \frac{\left(Abs_{Probe} - Abs_{Ref}\right) \cdot 16.4}{m} \tag{7-1}$$

ρ = Belegungsdichte [mmol/g]

Abs = Absorption bei λ = 304 nm

m = Masse des eingesetzten Harzes [mg]

Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe: Eine Lösung aus 20% Piperidin in DMF wurde zum Harz gegeben und für 30 min geschüttelt. Nach Waschen mit DMF (2x) und CH_2Cl_2 (3x) wurde der Abspaltungsvorgang wiederholt und die quantitative Abspaltung mittels Kaiser-Test bestätigt.[155, 195]

Kettenverlängerung durch Peptidkupplung: Die Fmoc-Aminosäure (2.2 Äquivalente) wurden mit HATU (2.2 Äquivalente) und DIPEA (5.0 Äquivalente) in DMF/CH_2Cl_2 (1:8) gelöst. Nach Schütteln für 5 min wurde die Lösung zum Harz gegeben und über Nacht für 18 h geschüttelt. Nach Waschen mit DMF (3x) und CH_2Cl_2 (5x) wurde die Vollständigkeit der Kupplung mittels Kaiser-Test überprüft. Bei Nachweis verbliebener Aminogruppen wurde die Kupplung nach oben beschriebener Vorgehensweise wiederholt.[196]

Abspaltung vom Harz: Für die Abspaltung des Peptids vom Harz wurde das Harz in einen Glaskolben überführt und mit einer Mischung aus TFA/CH_2Cl_2/TIS (70:24:1) versetzt und für 10 min geschüttelt. [197]

Kaiser-Test: Der Nachweis freier Aminogruppen auf dem Harz erfolgte nach KAISER et. al. [198] Einige Beads des Harzes wurden mit Ethanol gewaschen und anschließend in einem Glasgefäß mit zwei Tropfen der folgenden Lösungen versetzt: 5 g Ninhydrin in 100 mL Ethanol, 80 g Phenol in 20 mL Ethanol, 2 mL einer 0.001 M KCN-Lösung in 98 mL Pyridin. Nach kurzem Schütteln wurde die Lösung für 5 min oder bis zum Auftreten einer Blaufärbung auf 120 °C erhitzt.

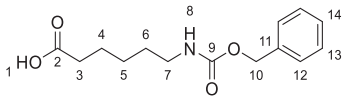
7.1.5. Weitere Methoden

Synthese unter Mikrowellenbedingungen: Die Seitenkettenfunktionalisierung mittels Click-Chemie erfolgte an einem Mikrowellensystem Initiator+ der Firma *Biotage®* mit einem angeschlossenen Robot Sixty Autosamplersystem der Firma *Biotage®*. Desweiteren wurde das Mikrowellensystem Initiator Classic der Firma *Biotage®* verwendet.

7.2. Arbeitsvorschriften

7.2.1. Synthese der Seitenketten

N-(Benzyloxycarbonyl)-6-aminohexansäure 153 [162]



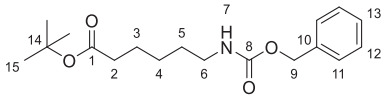
Aminohexansäure **105** (5.00 g, 38.1 mmol, 1.00 Äq.) wurde in demin. H_2O (80 mL) gelöst und mit NaOH (4.57 g, 114 mmol, 3.00 Äq.) versetzt und die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt. Benzylchloroformiat (9.75 g, 7.99 mL, 57.2 mmol, 1.50 Äq.) wurde über einen Zeitraum von 15 Minuten zugetropft, wobei sich die Reaktionslösung trübte. Das Eisbad wurde entfernt und die Reaktion für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde mit Et_2O (2 x 50 mL) gewaschen um überschüssiges Cbz-Cl zu entfernen und die wässrige Phase mit konz. HCl auf pH = 2 eingestellt, wobei die Lösung sich trübte. Die Reaktionslösung wurde für 60 min bei 7 °C gelagert, wobei sich das Produkt als farbloses Öl und nach Anreiben mit einem Glasstab ausfiel. Der farblose Feststoff wurde abfiltriert, mit demin. H_2O (2 x 10 mL) gewaschen. Nach Mörsern und Trocknen im Ölpumpenvakuum wurde das Produkt als farbloser Feststoff (9.72 g, 36.6 mmol, 96% [Lit. 88%]) erhalten.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.36-7.29 (m, 5H, H-12, H-13, H-14), 5.09 (s, 2H, H-10), 4.81 (s_{br}, 1H, H-8), 3.21-3.18 (m, 2H, H-7), 2.34 (t, ^3J = 7.34 Hz, H-3), 1.70-1.60 (m, 2H, H-4), 1.55-1.48 (m, 2H, H-6), 1.41-1.32 (m, 2H, H-5).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 179.2 (C-2), 156.6 (C-9), 136.7 (C-11), 128.6 (C-14), 128.2 (C-12, C-13), 66.8 (C-10), 41.0 (C-7), 33.9 (C-7), 29.7 (C-3), 26.2 (C-4), 24.4 (C-5).

HRMS (ESI pos) *m/z* $[M+Na]^+$ = ber. für $C_{14}H_{19}NNaO_4^+$: 288.1206, gef. 288.1204.

N-(Benzyloxycarbonyl)-6-aminohexansäure-*tert*-butylester 106 [163]



N-(Benzyloxycarbonyl)-6-aminohexansäure **153** (5.00 g, 18.9 mmol, 1.00 Äq.) wurde mit *t*BuOH (2.10 g, 2.68 mL, 28.3 mmol, 1.50 Äq.) in CH_2Cl_2 (80 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. DCC (4.86 g, 23.6 mmol, 1.25 Äq.) und 4-DMAP (345 mg, 2.83 mmol, 0.15 Äq.) wurden zugegeben, das Eisbad entfernt und die Reaktionslösung für 13 h bei Raumtemperatur

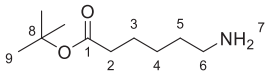
gerührt. Dicyclohexylharnstoff, welches als farbloser Feststoff aus der Reaktionslösung ausfiel wurde mittels Filtration über eine Glasfritte entfernt und der Filterkuchen mit CH_2Cl_2 (10 mL) gewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum auf ein Drittel des Volumens eingeengt, auf 0 °C gekühlt und erneut ausgefallener Harnstoff durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde im Vakuum bis zur Trockene eingeengt und das erhaltene farblose, ölige Rohprodukt mittels Flash-Säulenchromatographie an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 9:1→1:3) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Öl (3.57 g, 11.1 mmol, 59% [Lit. 63%]) eluiert.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.36-7.30 (m, 5H, H-11, H-12, H-13), 5.08 (s, 2H, H-9), 4.81 (s_{br}, 1H, H-7), 3.18 (q, ^3J = 6.63 Hz, 2H, H-6), 2.20 (t, ^3J = 7.37 Hz, 2H, H-2), 1.64-1.56 (m, 2H, H-3), 1.53-1.51 (m, 2H, H-5), 1.43 (s, 9H, H-15), 1.37-1.30 (m, 2H, H-4).**^{13}C-NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.1 (C-1), 156.5 (C-8), 136.8 (C-10), 128.6 (C-13), 128.2 (C-11, C-12), 80.2 (C-14), 66.7 (C-9), 41.0 (C-6), 35.5 (C-2), 29.8 (C-5), 28.2 (C-15), 26.3 (C-4), 24.8 (C-3).

HRMS (ESI pos) *m/z* $[M+Na]^+$ = ber. für $C_{18}H_{27}NNaO_4^+$: 344.1832, gef. 344.1833.

Retentionsfaktor R_f = 0.44 (CH_2Cl_2/CH_3OH 100:1, UV_{254}, Cerammoniumsulfat)

6-Aminohexansäure-*tert*-butylester 107 [164]



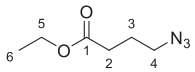
N-(Benzyloxycarbonyl)-6-aminohexansäure-*tert*-butylester **106** (2.50 g, 7.78 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_3OH (30 mL) gelöst, Pd/C (5% auf Aktivkohle, 250 mg) zugegeben und die Reaktionslösung für 3 h bei Raumtemperatur und H_2-Atmosphäre gerührt. Die Reaktionslösung wurde über ein Celite-Pad filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde über Nacht im Ölpumpenvakuum getrocknet und als farbloses Öl (1.41 g, 7.53 mmol, 97% [Lit. quant.]) erhalten.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 2.62 (t, 2H, ^3J = 7.0 Hz, H-2), 2.21 (s_{br}, 2H, H-7), 2.14 (t, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-6), 1.57-1.49 (m, 2H, H-3), 1.47-1.38 (m, 2H, H-5), 1.36 (s, 9H, H-9), 1.31-1.22 (m, 2H, H-4).

^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.1 (C-1), 79.9 (C-9),41.7 (C-6), 35.5 (C-2), 33.0 (C-5), 28.1 (C-9), 26.3 (C-4), 24.9 (C-3).

HRMS (ESI pos) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{10}H_{22}NO_2^+$: 188.1645, gef. 188.1640.

4-Azidobutan-1-säureethylester 154 [153]

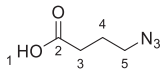


4-Brombutan-1-säureethylester **97** (2.00 mL, 2.72 g, 13.6 mmol, 1.00 Äq.) wurden in 10 mL DMF gelöst und mit Natriumazid (4.42 g, 68.0 mmol, 5.00 Äq.) versetzt. Anschließend wurde die farblose Suspension bei 77 °C für 32 h gerührt. Danach wurde die Suspension in 25 mL eines Lösungsmittelgemisches (EtOAc/n-Pentan 4:1 v/v) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. $NaHCO_3$ (3 x 25 mL) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde als farblose Flüssigkeit (2.00 g 12.7 mmol, 93% [Lit: 96%]) erhalten.

^{1}**H-NMR** (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 4.15 (q, 2H, ^3J = 7.1 Hz, H-5), 3.35 (t, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-4), 2.40 (t, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-2), 1.91 (quin, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-3), 1.26 (t, 3H, ^3J = 7.1 Hz, H-6).^{13}**C-NMR** (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 172.8 (C-1), 69.7 (C-5), 50.8 (C-4), 31.4 (C-2), 24.4 (C-3), 14.4 (C-6).

EI-MS *m/z* (%): 44.1 (100) [C_2H_4O], 55.1 (69) [M-$C_3H_5O_2N_2$]; 73.8 (65) [$C_3H_5O_2$], 129.2 (14) [M-N_2].

4-Azidobutan-1-säure 40 [153]

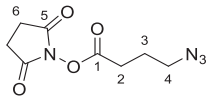


4-Brombutan-1-säureethylester **154** (4.58 g, 29.1 mmol, 1.00 Äq.) wurden in 150 mL CH_3OH/H_2O (12:10) gelöst und mit einem Wasser/Eis-Bad auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde Kaliumhydroxid (8.17 g, 146 mmol, 5.00 Äq.) zugegeben und für 5 min bei 0 °C gerührt. Das Eisbad wurde entfernt und die Reaktionslösung für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. CH_3OH wurde unter vermindertem entfernt und die verbleibende wässrige Lösung mit CH_2Cl_2 (2 x 125 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit konz. HCl auf einen pH = 1 eingestellt und mit EtOAc (3 x 100 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde als farblose Flüssigkeit (3.75 g, 29.1 mmol, 99% [Lit.: quant.]) erhalten.

^{1}**H-NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 11.19 (s_{br}, 1H, H-1), 3.36 (t, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-5), 2.46 (t, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-3), 1.90 (quin, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-4).^{13}**C-NMR** (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 179.2 (C-2), 50.5 (C-5), 31.0 (C-3), 24.0 (C-4).

EI-MS *m/z* [%]: 57.1 (100) [M-CHO_2N_2), 85.1 (55) [M-CO_2], 100.1 (28) [M-HN_2].

4-Azidobutan-1-säure(2,5-dioxopyrrolydin)anhydrid 36 [199]



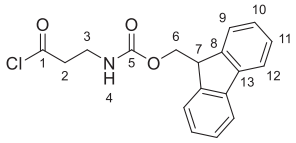
4-Azidobutan-1-säure **40** (4.00 g, 31.0 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (45 mL) gelöst. EDC · HCl (8.62 g, 45.0 mmol, 1.50 Äq.) und die Reaktionslösung bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von *N*-Hydroxysuccinimid (5.18 g, 45.0 mmol, 1.50 Äq.) wurde die Lösung für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in einem Gemisch aus EtOAc/CH_2Cl_2 (1:1, 70 mL) aufgenommen. Es wurde mit ges. K_2CO_3-Lsg. (3 x 50 mL), 1 M HCl_{aq} (3 x 50 mL) und ges. NaCl-Lsg. (50 mL) gewaschen. Nach Filtrieren und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an SiO_2 (EtOAc/*n*-Pentan 1:1 v/v) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff (5.51 g, 24.4 mmol, 79% [Lit. 87%]) erhalten.

^{1}**H-NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 3.44 (t, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-4), 2.83 (s, 4H, H-6), 2.72 (t, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-2), 2.01 (quin, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-3).^{13}**C-NMR** (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 169.1 (C-5), 168.0 (C-1), 50.1 (C-4), 28.2 (C-2), 25.7 (C-3), 24.5 (C-8).

ESI-MS (pos.) *m/z* $[M+NaH_2-N_2]^+$ = ber. für $C_8H_{12}N_2O_4Na^+$: 223.0658, gef. 223.0701

Retentionsfaktor: R_f = 0.30 (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc 3:1 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

Fmoc-*beta*-Alanin-Cl 100 [200]

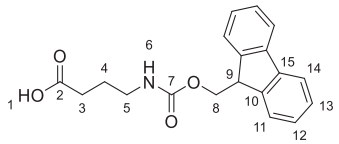


Fmoc-*beta*-Alanin-OH **70** (4.00 g, 12.9 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (40 mL) gelöst und im Eis/Wasser-Bad auf 0 °C gekühlt. DMF (2 Tropfen) wurde zugegeben und anschließend $SOCl_2$ (4.66 mL, 64.2 mmol, 5.00 Äq.) über einen Zeitraum von 10 min zur Reaktionslösung getropft. Das Eisbad wurde entfernt und die gelbe Reaktionslösung für3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde mittels Kältedestillation unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene gelbe Schleim in abs. CH_2Cl_2 gelöst. Das Lösungsmittel wurde erneut unter vermindertem Druck entfernt und dieser Vorgang drei weitere Male wiederholt. Das Produkt wurde als blassgelber Feststoff (4.15 g, 12.6 mmol, 98%) erhalten.

Zur Charakterisierung des Produkts wurden 2 mg des erhaltenen Feststoffs in CH_3OH (1 mL) gelöst und die erhaltene Lösung mittels Dünnschichtchromatographie untersucht. Es konnte nur der Methylester (R_f = 0.36), nicht aber die freie Säure (R_f = 0.00) nachgewiesen werden.

Retentionsfaktor: R_f = 0.36 Methylester (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc 3:1 v/v, UV_{254}, Molybdato-phosphorsäure)

4-(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxycarbonylaminobutan-1-säure 71 [201]



4-Aminobutan-1-säure **31** (2.50 g, 24.2 mmol, 1.00 Äq.) und Natriumhydrogencarbonat (4.07 g, 48.5 mmol, 2.00 Äq.) wurden in demin. H_2O (70 mL) gelöst und die Reaktionslösung im Wasser/Eis-Bad auf 0 °C gekühlt. Fmoc-OSu (12.3 g, 36.4 mmol, 1.50 Äq.) gelöst in 1,4-Dioxan (70 mL) wurde über einen Zeitraum von 30 min zur Reaktionslösung getropft. Das Wasser/Eis-Bad wurde entfernt und die Reaktionslösung für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die erhaltene Suspension wurde filtriert und das Filtrat mit EtOAc (3 x 100 mL) extrahiert. Die erhaltene organische Phase wurde mit ges. $NaHCO_3$-Lsg. (3 x 100 mL) extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden auf einen pH-Wert von 1 eingestellt und

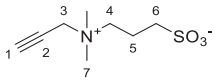
anschließend mit EtOAc (400 mL) extrahiert. Die erhaltene organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff (1.84 g, 7.82 mmol, 32% [Lit. 36%]) erhalten.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 12.03 (s_{br}, 1H, H-1), 7.88 (d, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-14), 7.69 (d, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-11), 7.41 (t, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-12), 7.33 (t, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-13), 4.30 (d, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-8), 4.21 (t, 1H, ^3J = 7.0 Hz, H-9), 3.01 (q, 2H, ^3J = 7.0 Hz, H-5), 2.22 (t, 2H, ^3J = 7.0 Hz, H-3), 1.64 (p, 2H, ^3J = 7.0 Hz, H-4).**^{13}C-NMR** (101 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 174.2 (C-2), 156.1 (C-7), 143.9 (C-10), 140.7 (C-15), 127.6 (C-13), 127.0 (C-14), 125.1 (C-12), 120.1 (C-11), 65.2 (C-8), 46.8 (C-9), 39.6 (C-4), 30.9 (C-2), 24.8 (C-3).

ESI-MS (pos.) *m/z* $[M+Na]^+$ = ber. für $C_{19}H_{19}NO_4Na^+$: 348.1206, gef. 348.1213.

Retentionsfaktor: R_f = 0.26 (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc+0.01% HAc 2:1 v/v, UV_{254})

3-(Dimethyl(prop-2-ynyl)ammonio)propan-1-sulfonat 123 [128]



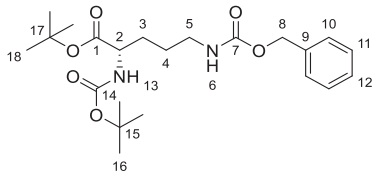
3-Dimethylaminoprop-1-in **122** (1.54 g, 18.5 mmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit 1,3-Propansulton **121** (2.93 g, 24.4 mmol, 1.38 Äq.) in Toluol (22 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde 72 h bei 50 °C gerührt, wobei ein farbloser Feststoff ausfiel. Die Suspension wurde filtriert und der blassgelbe Filterkuchen mit Toluol (50 mL), Et_2O (80 mL) und Aceton (50 mL) gewaschen. Der erhaltene pastöse farblose Feststoff wurde in Et_2O (100 mL) gegeben, erneut filtriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff (3.60 g, 17.5 mmol, 99% [Lit. 95%]) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, D_2O) δ [ppm] = 4.31 (s, 2H, H-3), 3.66-3.62 (m, 2H, H-4), 3.24 (s, 6H, H-7), 3.03 (t, 2H, H-6), 2.31-2.**^{13}C-NMR** (151 MHz, D_2O) δ [ppm] = 81.5 (C-2), 70.2 (C-1), 62.3 (C-4), 54.4 (C-3), 50.4 (C-7), 47.2 (C-6), 18.3 (C-5).

ESI-MS (pos.) *m/z* $[M+H]^+$ ber. für $C_8H_{16}NO_3S^+$: 206.09, gef. 206.09.

7.2.2. Synthese des Ornithin-β-Alanin-Monomers

N_α-Boc-Ornithin(N_δ-Cbz)-*tert*-butylester 84 [145]



N,N'-Diisopropylcarbodiimid (42.9 mL, 277.3 mmol, 5.00 Äq.), *t*BuOH (29.9 g, 319 mmol, 5.84 Äq.) und CuI (0.53 g, 2.78 mmol, 0.05 Äq.) wurden über 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Nachweis des Umsatzes mittels NMR-Spektroskopie, wurde die erhaltene grüne Suspension ohne weitere Reinigung für die weitere Synthese verwendet.

N_α-Boc-Ornithin(N_ε-Cbz)-OH **50** (20.0 g, 54.6 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (500 mL) gelöst und *t*BuOH (25 mL, 266 mmol, 4.88 Äq.) zugegeben und die Reaktionslösung auf 0 °C im Wasser-/Eis-Bad gekühlt. *N,N'*-Diisopropyl-*O*-*tert*-butylisoharnstoff **88** (55.6 g, 277.3 mmol, 5.00 Äq.) wurde zur Reaktionslösung getropft, wobei sich nach kurzer Zeit ein farbloser Niederschlag bildete. Die Lösung wurde für 72 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend zum Entfernen des Niederschlags über Celite filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 3:1 v/v) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Harz (19.9 g, 47.1 mmol, 86% [Lit. 99%]) erhalten.

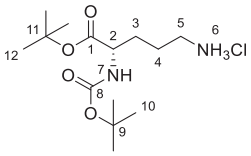
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.35-7.29 (m, 5H, H-10, H-11, H-12), 5.13-5.05 (m, 3H, H-8, H-13), 4.99-4.89 (m, 1H, H-6), 4.21-4.10 (m, 1H, H-2), 3.26-3.14 (m, 2H, H-5), 1.85-1.73 (m, 1H, H-3), 1.66-1.51 (m, 3H, H-3, H-4), 1.44 (s, 9H, H-18), 1.43 (s, 9H, H-16).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 171.8 (C-1), 156.5 (C-7), 155.5 (C-14), 136.7 (C-9), 128.6 (C-11), 128.2 (C-10, C-12), 82.1 (C-17), 79.8 (C-15), 66.7 (C-8), 53.6 (C-2), 40.7 (C-5), 30.4 (C-3), 28.4 (C-18), 28.1 (C-17), 25.9 (C-4).

ESI-MS (pos.) *m/z* $[M+Na]^+$ = ber. für $C_{22}H_{34}N_2O_6Na^+$: 445.2309, gef. 445.2332.

Retentionsfaktor: R_f = 0.57 (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc 3:1 v/v, UV_{254}, Molybdatophosphorsäure)

N_α-Boc-Ornithin-*tert*-butylester Hydrochlorid 89 [145]



N_α-Boc-Ornithin(N_ε-Cbz)-*tert*-butylester **84** (18.6 g,44.0 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_3OH (100 mL) gelöst und mit 1 M HCl in CH_3OH (44.0 mL, 44.0 mmol, 1.00 Äq.) versetzt. Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.80 g) wurde zugegeben und die Reaktionslösung für 2 h bei Raumtemperatur unter H_2-Atmosphäre gerührt. Nach Filtration über ein Celite-Pad wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Trocknen über Nacht im Ölpumpenvakuum wurde das Produkt als farbloses Öl (12.4 g, 38.3 mmol, 87% [Lit. 98%]) erhalten.

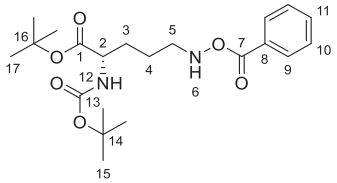
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 5.32 (s_{br}, 1H, H-7), 5.01 (s_{br}, 3H, H-6), 4.15-4.07 (m, 1H, H-2), 2.96-2.84 (m, 2H, H-5), 1.83-1.79 (m, 1H, H-3), 1.67-1.59 (m, 3H, H-3, H-4), 1.44 (s, 9H, H-12), 1.41 (s, 9H, H-10).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 171.9 (C-1), 155.7 (C-8), 82.1 (C-11), 79.8 (C-9), 53.8 (C-2), 40.7 (C-5), 30.2 (C-4), 28.8 (C-12), 28.5 (C-10), 26.5 (C-3).

ESI-MS (pos.) *m/z* $[M+Na-HCl]^+$ = ber. für $C_{14}H_{28}N_2O_4Na^+$: 311.1941, gef. 311.19.

Retentionsfaktor: R_f = 0.63 (SiO_2-RP18, H_2O/CH_3CN+0.1% FA 1:1 v/v, Ninhydrin)

N_α-Boc-Ornithin(N_δ-OBz)-*tert*-butylester 68 [152]



N_α-Boc-Ornithin-*tert*-butylester · HCl **89** (12.7 g, 38.6 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (300 mL) gelöst und mit einer $NaHCO_3$/NaOH-Pufferlösung pH = 10.5 (300 mL) versetzt. Unter starkem Rühren wurde Benzoylperoxid 25% H_2O (10.8 g, 44.4 mmol, 1.15 Äq.) portionsweise zugegeben und die Reaktion für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Phasen wurden separiert und die organische Phase bis zur Trockene eingeengt. Der farblose Rückstand wurde in EtOAc (350 mL) aufgenommen, anschließend mit 2 M $Na_2S_2O_3$-Lsg. (2 x 250 mL) und ges. NaCl-Lsg. (300 mL) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und

filtriert. Das erhaltene gelbe Rohöl wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 7:1→3:1 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt als farbloser Feststoff (12.7 g, 31.0 mmol, 80% [Lit. 80%]) erhalten.

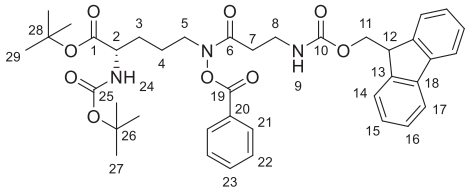
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 8.03-7.98 (m, 2H, H-9), 7.58 (tt, 1H, ^3J = 7.4 Hz, ^4J = 1.4 Hz, H-11), 7.47-7.42 (m, 2H, H-10), 5.15-5.06 (m, 1H, H-12), 4.25-4.17 (m, 1H, H-2), 3.20-3.12 (m, 2H, H-5), 1.84-1.81 (m, 1H, H-3), 1.80-1.63 (m, 3H, H-3, H-4), 1.45 (s, 9H, H-17), 1.43 (s, 9H, H-15).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 171.7 (C-1), 166.8 (C-7), 155.4 (C-13), 133.4 (C-11), 129.3 (C-9), 128.5 (C-10), 128.3 (C-8), 82.0 (C-16), 79.7 (C-14), 53.7 (C-2), 52.0 (C-5), 30.5 (C-3), 28.3 (C-17), 28.0 (C-15), 23.2 (C-4).

ESI-MS (pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{21}H_{33}N_2O_6^+$: 409.2333, gef. 409.25.

Retentionsfaktor: R_f = 0.56 (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc 3:1 v/v, UV_{254}, Cerammoniumsulfat)

tBu-Orn(N_α-Boc)-(N_δ-OBz)-N_δ-β-Ala-Fmoc 72



N_α-Boc-Ornithin(N_δ-OBz)-tert-butylester **68** (2.99 g, 7.32 mmol, 1.00 Äq.) wurde in abs. THF (20 mL) gelöst, mit abs. Pyridin (1.77 mL, 22.0 mmol, 3.00 Äq.) versetzt und anschließend Fmoc-*beta*-Alanin-Cl **100** (2.41 g, 7.32 mmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. THF (10 mL) zugetropft. Dabei verfärbte sich die Reaktionslösung braun-orange und Pydrinium-Hydrochlorid fiel als farbloser Feststoff aus. Es wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel im Anschluss unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene braune Öl wurde in EtOAc (200 mL) aufgenommen und mit 1 M HCl (2 x 150 mL), ges. $NaHCO_3$ (2 x 150 mL) und ges. NaCl (100 mL) gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4, Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das erhaltene braune Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 10:1→1:4 v/v) gereinigt. Nach Trocknen im Ölpumpenvakuum und anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (4.29 g, 6.11 mmol, 84%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 8.07 (d, ^3J = 8.24 Hz, 2H, H-21), 7.75 (d, ^3J = 7.42 Hz, 2H, H-14), 7.68 (t, ^3J = 7.42 Hz, 1H, H-23), 7.60 (d, ^3J = 7.38 Hz, 2H, H-17), 7.51 (t, ^3J = 7.80 Hz, 2H, H-22), 7.39 (t, ^3J = 7.40 Hz, 2H, H-15), 7.31 (t, ^3J = 7.38 Hz, 2H, H-16), 5.54 (s_{br}, 1H, H-9), 5.08 (d, ^3J = 7.67 Hz, 1H, H-24), 4.34 (d, ^3J = 7.08 Hz, 2H, H-11), 4.21 (t, ^3J = 7.08 Hz, 1H, H-12), 4.20 (s_{br}, 1H, H-2), 3.87 (s_{br}, 2H, H-5), 3.51 (s_{br}, 2H, H-8), 2.54 (s_{br}, 2H, H-7), 1.92-1.84 (m, 1H, H-3), 1.77-1.66 (m, 3H, H-3, H-4), 1.43 (s, 9H, H-29), 1.41 (s, 9H, H-27).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 164.6 (C-20), 156.5 (C-10), 155.5 (C-25), 144.1 (C-13), 141.4 (C-18), 134.9 (C-23), 130.2 (C-21), 129.1 (C-22), 127.8 (C-15), 127.2 (C-16), 125.3 (C-17), 120.1 (C-14), 82.2 (C-28), 79.8 (C-26), 67.0 (C-11), 53.7 (C-2), 47.8 (C-5), 47.4 (C-12), 36.2 (C-8), 32.7 (C-7), 30.4 (C-3), 28.4 (C-29), 28.1 (C-27), 23.1 (C-4).
Zuordnung von C-10 aufgrund unzureichender Intensität nicht möglich.

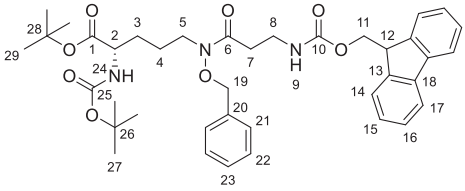
HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+Na]^+$ = ber. für $C_{39}H_{47}N_3NaO_9^+$: 724.3205, gef. 724.3209.

CHNO-Analyse ber. für $C_{39}H_{47}N_3O_9$: C, 66.75%; H, 6.75%; N, 5.99%; O, 20.52%; gef.: C, 66.66%; H, 6.75%; N, 5.85%; O, 20.43%.

Schmelzpunkt T_{Smp} = 68.2-69.7 °C

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3351.7, 2971.8, 2935.1, 2022.0, 1763.6, 1707.7, 1514.8, 1452.1, 1367.3, 1242.9, 1155.2, 1040.4, 1007.6, 850.5, 761.7, 742.5, 705.8, 621.0, 562.2.

tBu-Orn(N_α-Boc)-(N_δ-OBn)-N_δ-β-Ala-Fmoc 155



tBu-Orn(N_α-Boc)-(N_δ-OBz)-N_δ-β-Ala-Fmoc **72** (390 mg, 0.56 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_3OH (10 mL) gelöst und mit DIPEA (0.26 mL, 2.22 mmol, 4.00 Äq.) versetzt. Die gelbe Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur für 20 min gerührt und im Anschluss BnBr (0.19 mL, 1.12 mmol, 2.00 Äq.) über einen Zeitraum von 3 min zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Umsatzkontrolle mittels Dünnschichtchromatographie wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in EtOAc (20 mL) aufgenommen. Es wurde mit 1 M HCl (2 x 15 mL), ges. $NaHCO_3$ (2 x 15 mL), H_2O (2x15 mL) und ges. NaCl (3x15 mL) gewaschen und

die org. Phase über Na_2SO_4 getrocknet. Nach filtrieren wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene gelbe Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 3:2 v/v) gereinigt. Nach Trocknen im Ölpumpenvakuum anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als blassgelber Feststoff (314 mg, 0.46 mmol, 80%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.75 (d, ^3J = 7.30 Hz, 2H, H-17), 7.60 (d, ^3J = 7.30 Hz, 2H, H-14), 7.39 (t, ^3J = 7.51 Hz, 2H, H-15), 7.37-7.34 (m, 5H, H-21, H-22, H-23), 7.30 (t, ^3J = 7.51 Hz, 2H, H-16), 5.56-5.53 (m, 1H, H-9), 5.07 (d, ^3J = 7.19 Hz, 1H, H-24), 4.78 (s, 2H, H-19), 4.35 (d, ^3J = 7.19 Hz, 2H, H-11), 4.22-4.19 (m, 2H, H-2, H-12), 3.70 (s_{br}, 2H, H-5), 3.49-3.46 (m, 2H, H-8), 2.65-2.62 (m, 2H, H-7), 1.82-1.77 (m, 1H, H-3), 1.73-1.66 (m, 2H, H-4), 1.64-1.60 (m, 1H, H-3), 1.43 (s, 9H, H-29), 1.43 (s, 9H, H-27).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 171.8 (C-1), 156.5 (C-6), 155.5 (C-25), 144.2 (C-13), 141.4 (C-18), 134.2 (C-20), 129.4 (C-23), 129.2 (C-21), 128.9 (C-22), 127.8 (C-15), 127.2 (C-16), 125.3 (C-14), 120.1 (C-17), 82.2 (C-28), 79.8 (C-26), 76.5 (C-19), 66.9 (C-11), 53.6 (C-2), 47.4 (C-12), 45.0 (C-5), 36.5 (C-8), 32.8 (C-7), 30.3 (C-3), 28.5 (C-29), 28.1 (C-27), 22.9 (C-4).

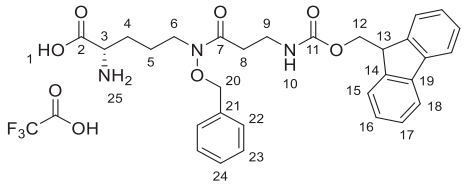
HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+Na]^+$ = ber. für $C_{39}H_{49}N_3NaO_8^+$ 710.3412, gef. 710.3417.

CHNO-Analyse ber. für $C_{39}H_{49}N_3O_8$: C, 68.10%; H, 7.18%; N, 6.11%; O, 18.61%; gef.: C, 67.88%; H, 7.23%; N, 6.04%; O, 18.67%.

Schmelzpunkt T_{Smp} = 60.2-61.2 °C

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 2981.4, 2889.8, 1704.8, 1655.6, 1505.2, 1449.2, 1390.4, 1364.4, 1246.8, 1148.4, 1069.3, 1003.8, 965.2, 850.5, 758.9, 735.7, 696.2.

Orn(N_α-NH_3CF_3COOH)-(N_δ-*O*Bn)-N_δ-β-Ala-Fmoc 76



*t*Bu-Orn(N_α-Boc)-(N_δ-*O*Bn)-N_δ-β-Ala-Fmoc **76** (3.07 g, 4.46 mmol, 1.00 Äq.) wurde mit Triethylsilan (3.56 mL, 22.3 mmol, 5.00 Äq.) in 66% TFA in CH_2Cl_2 (24 mL) gelöst und für 35 min bei Raumtemperatur gerührt. Alle flüchtigen Bestandteile wurden unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene farblose Rückstand

säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:05+0.1% FA→5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das TFA-Salz des Produkts als farbloser Feststoff (1.78 g, 2.76 mmol, 62%) erhalten. Eine weitere Fraktion enthielt den korrespondierenden *t*Bu-Ester, welcher erneut unter den gleichen Bedingungen gespalten wurde. Nach säulenchromatographischer Reinigung dieser Fraktion wurde das Produkt (871 mg, 1.35 mmol, 30%) erhalten.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 8.31 (s_{br}, 2H, H-25), 7.69-7.57 (m, 2H, H-18), 7.52-7.39 (m, 2H, H-15), 7.32-7.24 (m, 2H, H-16), 7.22-7.06 (m, 7H, H-17, H-22, H-23, H-24), 6.06 (s_{br}. 1H, H-10), 4.57 (s, 2H, H-20), 4.24-4.11 (m, 2H, H-12), 4.10-3.99 (m, 1H, H-13), 3.90-3.75 (m, 1H, H-3), 3.74-3.61 (m, 1H, H-6), 3.57-3.43 (m, 1H, H-6), 3.38-3.22 (m, 2H, H-9), 2.64-2.31 (m, 2H, H-8), 1.95-1.68 (m, 4H, C-4, C-5).

^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 171.9 (C-2), 144.2 (C-14), 141.3 (C-19), 134.0 (C-21), 129.4 (C-24), 129.0 (C-22), 128.7 (C-23), 127.7 (C-16), 127.1 (C-17), 125.4 (C-15), 120.0 (C-18), 76.3 (C-20), 66.8 (C-12), 47.3 (C-13), 32.7 (C-8).
Weitere Zuordnungen mittels HSQC aufgrund unzureichender Intensität im ^{13}C-NMR: δ [ppm] = 54.2 (C-3), 44.6 (C-6), 36.7 (C-9), 28.0 (C-4), 23.0 (C-5).
Die quartären Kohlenstoffe C-7 und C-10 ließen sich aufgrund unzureichender Intensität nicht eindeutig zuweisen.

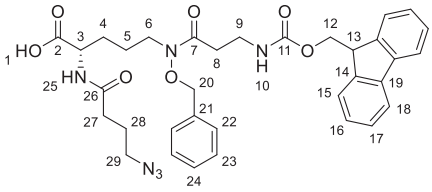
HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H-TFA]^+$ = ber. für $C_{30}H_{34}N_3O_6^+$: 532.2442, gef. 532.2441.

Schmelzpunkt T_{Smp} = 136.1-136.8 °C

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3318.9, 2980.5, 2883.1, 1709.6, 1651.7, 1510.0, 1450.2, 1392.4, 1384.7, 1366.3, 1247.7, 1150.3, 1076.1, 1007.6, 843.7, 758.9, 751.1, 740.5, 699.1.

Retentionsfaktor R_f = 0.69 (CH_2Cl_2/CH_3OH 9:1 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

Ornithin-Monomer 80



Die freie Aminosäure **76** (1.23 g, 2.32 mmol, 1.00 Äq.) wurde in abs. DMF (20 mL) gelöst und mit DIPEA (1.21 mL, 6.97 mmol, 3.00 Äq.) versetzt. 4-Azidobutan-1-säure-

(2,5-dioxopyrrolydin)anhydrid **36** (523 mg, 2.32 mmol, 1.00 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktionslösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in CH_2Cl_2 (10 mL) aufgenommen um Reste von DMF und DIPEA zu coevaporieren. Dieser Vorgang wurde zwei Mal wiederholt. Das erhaltene braune Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH 15:1+1% HAc→10:1+1%HAc v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das erhaltene Öl lyophyllisiert. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff (1.39 g, 2.17 mmol, 93%) erhalten.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.74 (d, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-18), 7.57 (d, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-15), 7.38 (t, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-17), 7.35-7.33 (m, 5H, H-22, H-23, H-24), 7.29 (t, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-16), 6.87-6.70 (m, 1H, H-10), 5.65 (s_{br}, 1H, H-25), 4.76 (s, 2H, H-20), 4.59-4.56 (m, 1H, H-3), 4.34 (d, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-12), 4.18 (t, 1H, ^3J = 6.9 Hz, H-13), 3.76-3.64 (m, 2H, H-6), 3.45-3.37 (m, 2H, H-9), 3.27 (t, 2H, ^3J = 6.4 Hz, H-29), 2.63-2.50 (m, 2H, H-8), 2.27 (t, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-27), 1.90-1.83 (m, 3H, H-4, H-28), 1.75-1.65 (m, 3H, H-4, H-5).

^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 174.1 (C-2), 172.8 (C-26), 156.7 (C-11), 144.1 (C-14), 141.4 (C-19), 133.9 (C-21), 129.4 (C-24), 129.3 (C-22), 128.9 (C-23), 127.8 (C-17), 127.2 (C-16), 125.2 (C-15), 120.1 (C-18), 76.6 (C-20), 66.9 (C-12), 52.1 (C-3), 50.7 (C-29), 47.3 (C-13), 44.8 (C-6), 36.5 (C-9), 33.0 (C-27), 32.8 (C-8), 28.9 (C-4), 24.8 (C-28), 23.2 (C-5).
CHNO-Analyse ber. für $C_{34}H_{38}N_6O_7$: C, 63.54%; H, 5.96%; N, 13.08%; O, 17.43%; gef.: C, 62.59%; H, 6.17%; N, 12.75%; O, 18.37%.

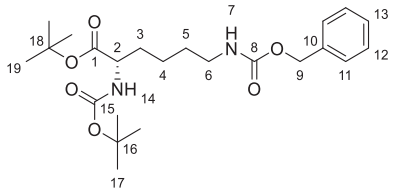
HRMS (ESI pos.) m/z $[M+H]^+$ = ber. für $C_{34}H_{39}N_6O_7^+$: 643.2875, gef. 643.2877.

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 2980.5, 2892.7, 2093.4, 1716.3, 1648.9, 1539.9, 1449.2, 1246.8, 1148.4, 1072.2, 1007.6, 968.1, 758.9, 699.1.

Retentionsfaktor R_f = 0.39 (CH_2Cl_2/CH_3OH 15:1+1% HAc v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

7.2.3. Synthese des Lysin-β-Alanin-Monomers

N_α-Boc-Lysin(N_ε-Cbz)-*tert*-butylester 156 [149]



N,N'-Diisopropylcarbodiimid (40.6 mL, 262.9 mmol, 5.00 Äq.), *t*BuOH (28.8 g, 307 mmol, 5.84 Äq.) und CuI (0.50 g, 2.63 mmol, 0.05 Äq.) wurden über 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Nachweis des Umsatzes mittels NMR-Spektroskopie, wurde die erhaltene grüne Suspension ohne weitere Reinigung für die weitere Synthese verwendet.

N_α-Boc-Lysin(N_ε-Cbz)-OH **52** (20.0 g, 52.6 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (250 mL) gelöst und die Reaktionslösung auf 0 °C im Wasser-/Eis-Bad gekühlt. *N,N'*-Diisopropyl-*O-tert*-butylisoharnstoff **88** (52.4 g, 262.9 mmol, 5.00 Äq.) wurde zur Reaktionslösung getropft, wobei sich nach kurzer Zeit ein farbloser Niederschlag bildete. Die Lösung wurde für 72 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend zum Entfernen des Niederschlags über Celite filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 3:1 v/v) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Harz (22.3 g, 51.0 mmol, 97% [Lit. 98%]) erhalten.

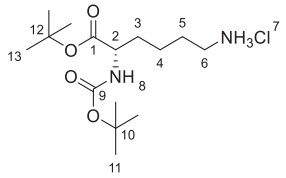
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.35-7.29 (m, 5H, H-11, H-12, H-13), 5.15-5.08 (m, 3H, H-9, H-14), 4.93-4.80 (m, 1H, H-7), 4.18-4.11 (m, 1H, H-2), 3.21-3.15 (m, 2H, H-6), 1.82-1.71 (m, 1H, H-3), 1.66-1.56 (m, 3H, H-3, H-4), 1.56-1.50 (m, 1H, H-5), 1.45 (s, 9H, H-19), 1.42 (s, 9H, H-17), 1.38-1.52 (m, 1H, H-5).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 172.0 (C 1), 156.5 (C-8), 155.6 (C-15), 136.7 (C-10), 128.6, 128.2 (C-, 81.9 (C-18), 79.8 (C-16), 66.7 (C-9), 53.8 (C-2), 40.8 (C-6), 32.7 (C-3), 29.5 (C-4), 28.4 (C-19), 28.1 (C-17), 22.4 (C-5).

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{23}H_{37}N_2O_6^+$: 437.2646, gef. 437.2671.

Retentionsfaktor: R_f = 0.57 (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc 3:1 v/v, UV_{254}, Molybdatophosphorsäure)

N_α-Boc-Lysin-*tert*-butylester Hydrochlorid 98 [149]



N_α-Boc-Lysin(N_ε-Cbz)-*tert*-butylester **156** (22.3 g, 51.0 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_3OH (150 mL) gelöst und mit 1 M HCl in CH_3OH (51.0 mL, 51.0 mmol, 1.00 Äq.) versetzt. Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.00 g) wurde zugegeben und die Reaktionslösung für 48 h bei Raumtemperatur unter H_2-Atmosphäre gerührt. Nach Filtration über ein Celite-Pad wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Trocknen über Nacht im Ölpumpenvakuum wurde das Produkt als farbloses Öl (16.0 g, 47.3 mmol, 93% [Lit. 96%]) erhalten.

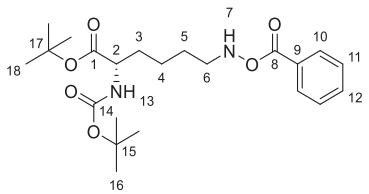
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 5.80-5.68 (s_{br}, 3H, H-7), 5.22-5.09 (m, 1H, H-8), 4.16-4.06 (m, 1H, H-2), 2.94-2.80 (m, 2H, H-6), 1.82-1.70 (m, 1H, H-3), 1.64-1.62 (m, 3H, H-3, H-5), 1.43-1.41 (m, 20H, H-4, H-11, H-13).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 171.9 (C-1), 155.4 (C-9), 81.7 (C-12), 79.6 (C-10), 53.9 (C-2), 40.7 (C-6), 32.5 (C-5), 28.3 (C-13), 28.1 (C-3), 28.0 (C-11), 22.5 (C-4).

ESI-MS (pos.) *m/z* $[M+Na-HCl]^+$ = ber. für $C_{15}H_{30}N_2O_4Na^+$: 325.2098, gef. 325.21.

Retentionsfaktor: R_f = 0.63 (SiO_2-RP18, H_2O/CH_3CN 1:1 v/v, Ninhydrin)

N_α-Boc-Lysin(N_ε-OBz)-*tert*-butylester 69



N_α-Boc-Lysin-*tert*-butylester · HCl **98** (15.9 g, 46.9 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (300 mL) gelöst und mit einer $NaHCO_3$/NaOH-Pufferlösung pH = 10.5 (300 mL) versetzt. Unter starkem Rühren wurde Benzoylperoxid 25% H_2O (16.7 g, 51.7 mmol, 1.10 Äq.) portionsweise zugegeben und die Reaktion für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Phasen wurden separiert und die organische Phase bis zur Trockene eingeengt. Der farblose Rückstand wurde in EtOAc (350 mL) aufgenommen, anschließend mit 2 M $Na_2S_2O_3$-Lsg. (2 x 250 mL)

und ges. NaCl-Lsg. (300 mL) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und filtriert. Das erhaltene gelbe Rohöl wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 7:1→3:1 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt als farbloser Feststoff (12.4 g, 29.4 mmol, 63%) erhalten.

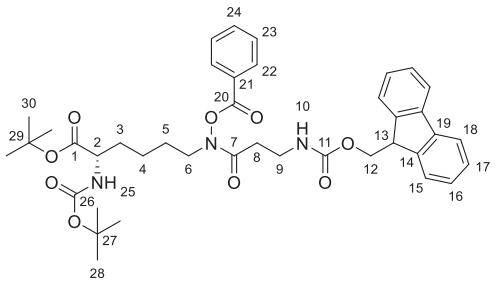
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 8.02-7.98 (m, 2H, H-10), 7.89 (s_{br}, 1H, H-7), 7.58-7.55 (m, 1H, H-12), 7.46-7.42 (m, 2H, H-11), 5.07-5.03 (m, 1H, H-13), 4.20-4.15 (m, 1H, H-2), 3.12 (t, 2H, ^3J = 7.1 Hz, H-6), 1.83-1.76 (m, 1H, H-3), 1.68-1.59 (m, 3H, H-3, H-4), 1.51-1.48 (m, 2H, H-5), 1.46 (s, 9H, H-18), 1.42 (s, 9H, H-16).

^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 172.0 (C-1), 167.0 (C-8), 155.5 (C-14), 133.4 (C-12), 129.4 (C-10), 128.6 (C-11), 128.5 (C-9), 81.9 (C-17), 79.7 (C-15), 53.9 (C-2), 52.4 (C-6), 32.9 (C-3), 28.4 (C-18), 28.1 (C-16), 27.1 (C-4), 22.8 (C-5).

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+Na]^+$ = ber. für $C_{22}H_{34}N_2O_6Na^+$: 445.2309, gef. 445.2301.

Retentionsfaktor: R_f = 0.60 (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc 3:1 v/v, UV_{254}, Cerammoniumsulfat)

tBu-Lys(N_α-Boc)-(N_ε-OBz)-N_ε-β-Ala-Fmoc 74



N_α-Boc-Lysin(N_ε OBz)-tert-butylester **69** (12.1 g, 28.5 mmol, 1.00 Äq.) wurde in abs. THF (40 mL) gelöst, mit abs. Pyridin (4.60 mL, 57.0 mmol, 2.00 Äq.) versetzt und anschließend Fmoc-*beta*-Alanin-Cl **100** (10.1 g, 30.5 mmol, 1.05 Äq.) gelöst in abs. THF (20 mL) zugetropft. Dabei verfärbte sich die Reaktionslösung braun-orange und Pydrinium-Hydrochlorid fiel als farbloser Feststoff aus. Es wurde für 19 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel im Anschluss unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene braune Öl wurde in EtOAc (400 mL) aufgenommen und mit 1 M HCl (2 x 250 mL) und ges. NaCl (150 mL) gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4, Filtration und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das erhaltene braune Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 10:1→1:4 v/v) gereinigt. Nach Trocknen im Ölpumpenvakuum und

anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (19.2 g, 26.9 mmol, 94%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 8.08 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-22), 7.75 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-18), 7.68 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-24), 7.60 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-15), 7.51 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-23), 7.39 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-16), 7.31 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-17), 5.59 (s_{br}, 1H, H-10), 5.10-5.07 (m, 1H, H-25), 4.34 (d, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-12), 4.21 (t, 1H, ^3J = 7.4 Hz, H-13), 4.18-4.15 (m, 1H, H-2), 3.83-3.74 (m, 2H, H-6), 3.51-3.45 (m, 2H, H-9), 2.58-2.47 (m, 2H, H-8), 1.83-1.70 (m, 2H, H-3), 1.68-1.61 (m, 2H, H-5), 1.46-1.40 (m, 20H, H-4, H-28, H-30).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 171.9 (C-1), 156.6 (C-11), 155.5 (C-26), 144.2 (C-14), 141.4 (C-19), 134.8 (C-24),133.7 (C-21), 130.2 (C-22), 129.1 (C-23), 127.8 (C-17), 127.2 (C-16), 125.3 (C-15), 120.1 (C-18), 82.0 (C-29), 79.8 (C-27), 67.0 (C-12), 53.9 (C-2), 47.9 (C-6), 47.3 (C-13), 36.2 (C-9), 32.7 (C-8), 28.5 (C-30), 28.1 (C-28), 26.7 (C-3), 22.5 (C-4).

CHNO-Analyse ber. für $C_{40}H_{49}N_3O_9$: C, 67.12%; H, 6.90%; N, 5.87%; O, 20.11%; gef.: C, 66.84%; H, 6.84%; N, 5.85%; O, 20.17%.

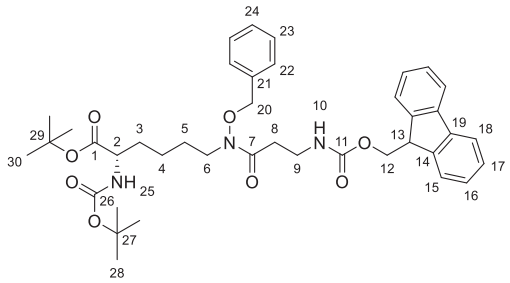
HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+Na]^+$ = ber. für $C_{40}H_{49}N_3NaO_9^+$: 738.3361, gef. 738.3369.

Schmelzpunkt T_{Smp} = 67.4-68.6 °C

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3341.1, 2978.5, 1763.6, 1711.5, 1508.1, 1452.1, 1390.4, 1364.4, 1240.0, 1151.3, 1036.6, 1010.5, 843.7, 758.9, 742.5, 709.7, 571.8.

Retentionsfaktor: R_f =0.42 (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc 2:1 v/v, UV_{254}, Molybdatophosphorsäure)

tBu-Lys(N_α-Boc)-(N_ε-*O*Bn)-N_ε-β-Ala-Fmoc 156



tBu-Lys(N_α-Boc)-(N_ε-*O*Bz)-N_ε-β-Ala-Fmoc **74** (19.1 g, 26.7 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_3OH (100 mL) gelöst und mit DIPEA (13.9 mL, 80.1 mmol, 3.00 Äq.) versetzt. Die gelbe Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur für 20 min gerührt und im Anschluss BnBr (6.34 mL, 53.4 mmol, 2.00 Äq.) über einen Zeitraum von 10 min zugetropft. Die

Reaktionslösung wurde für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Umsatzkontrolle mittels Dünnschichtchromatographie wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in EtOAc (400 mL) aufgenommen. Es wurde mit 1 M HCl (2 x 150 mL), ges. $NaHCO_3$ (2 x 150 mL), H_2O (150 mL) und ges. NaCl (150 mL) gewaschen und die org. Phase über Na_2SO_4 getrocknet. Nach filtrieren wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene gelbe Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 10:1→1:4 v/v) gereinigt. Nach Trocknen im Ölpumpenvakuum anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als blassgelber Feststoff (14.4 g, 20.5 mmol, 77%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.75 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-18), 7.60 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-15), 7.39 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-17), 7.37-7.34 (m, 5H, H-22, H-23, H-24), 7.30 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-16), 5.58 (s_{br}, 1H, H-10), 5.09-5.07 (m, 1H, H-25), 4.78 (s, 2H, H-20), 4.35 (d, 2H, ^3J = 7.2 Hz, H-12), 4.20 (t, 1H, ^3J = 7.2 Hz, H-13), 4.17-4.14 (m, 1H, H-2), 3.70-3.60 (m, 2H, H-6), 3.52-3.44 (m, 2H, H-9), 2.71-2.58 (m, 2H, H-8), 1.81-1.75 (m, 1H, H-3), 1.72-1.67 (m, 1H, H-5), 1.66-1.58 (m, 2H, H-3, H-5), 1.44 (s, 18H, H-28, H-30), 1.40-1.29 (m, 2H, H-4).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 172.0 (C-1), 156.6 (C-11), 155.5 (C-7), 144.2 (C-14), 141.4 (C-19), 134.3 (C-21), 129.4 (C-24), 129.2 (C-22), 128.9 (C-23), 127.8 (C-16), 127.2 (C-17), 125.3 (C-15), 120.1 (C-18), 81.9 (C-29), 79.8 (C-27), 76.5 (C-20), 66.9 (C-12), 54.0 (C-2), 47.4 (C-13), 45.2 (C-6), 36.5 (C-9), 32.8 (C-8), 32.6 (C-3), 28.5 (C-30), 28.1 (C-28), 26.6 (C-5), 22.6 (C-4).

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{40}H_{51}N_3O_8^+$: 702.3749, gef. 702.3746.

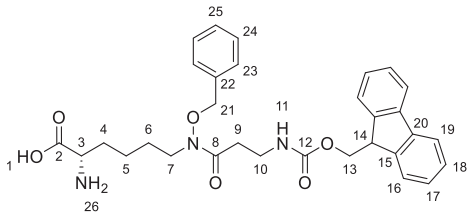
CHNO-Analyse ber. für $C_{40}H_{51}N_3O_8$: C, 68.45%; H, 7.32%; N, 5.99%; O, 18.24%; gef.: C, 68.28%; H, 7.35%; N, 5.92%; O, 18.31%.

Schmelzpunkt T_{Smp} = 52.6-53.9 °C

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 2980.5, 2886.0, 1709.6, 1650.8, 1508.1, 1450.2, 1390.4, 1366.3, 1247.7, 1197.6, 1150.3, 1094.4, 1071.3, 1010.5, 953.6, 843.7, 758.9, 751.1, 739.6, 699.1.

Retentionsfaktor: R_f = 0.37 (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc 2:1 v/v, UV_{254}, Molybdatophosphorsäure)

Lys(N_α-NH_2)-(N_ε-*O*Bn)-N_δ-β-Ala-Fmoc 78



*t*Bu-Lys(N_α-Boc)-(N_ε-*O*Bn)-N_ε-β-Ala-Fmoc **156** (10.0 g, 14.3 mmol, 1.00 Äq.) wurde mit Triethylsilan (11.4 mL, 71.2 mmol, 5.00 Äq.) in 50% TFA in CH_2Cl_2 (50 mL) gelöst und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Alle flüchtigen Bestandteile wurden unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene farblose Rückstand säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:05+0.1% FA→5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkts als farbloser Feststoff (6.84 g, 12.5 mmol, 88%) erhalten.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 8.33 (s_{br}, 2H, H-26), 7.69-7.63 (m, 2H, H-16), 7.31-7.28 (m, 2H, H-18), 7.25-7.12 (m, 7H, H-17, H-23, H-24, H-25), 5.93 (s_{br}, 1H, H-11), 4.59 (s, 2H, H-21), 4.29-4.18 (m, 2H, H-13), 4.10-4.04 (m, 1H, H-14), 3.75-3.64 (m, 1H, H-3), 3.61-3.49 (m, 2H, H-7), 3.37-3.23 (m, 2H, H-10), 2.55-2.38 (m, 2H, H-9), 1.96-1.74 (m, 2H, H-4), 1.64-1.53 (m, 2H, H-6), 1.47-1.36 (m, 2H, H-5).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 156.6 (C-12), 144.1 (C-15), 141.3 (C-20), 134.1 (C-22), 129.4 (C-24), 129.1 (C-25), 128.8 (C-23), 127.7 (C-18), 127.1 (C-17), 125.3 (C-16), 120.0 (C-19),76.3 (C-21), 66.8 (C-13), 54.9 (C-3), 47.3 (C-14), 45.1 (C-7), 36.7 (C-10), 32.7 (C-9), 30.7 (C-4), 27.3 (C-6), 22.8 (C-5).

Aufgrund unzureichender Intensität konnten die Kohlenstoffe C-2 und C-8 nicht zugeordnet werden.

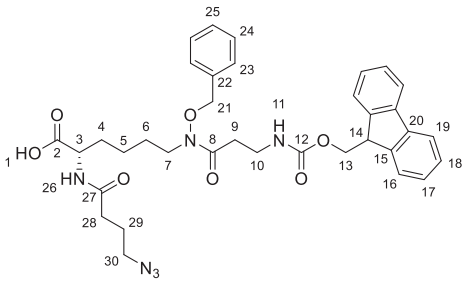
HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{31}H_{36}N_3O_6^+$: 546.2599, gef. 546.2581.

Schmelzpunkt T_{Smp} = 139.3-139.7 °C

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 2980.5, 2974.7, 2971.8, 2920.7, 2886.9, 1692.2, 1641.1, 1544.7, 1537.0, 1461.8, 1457.9, 1451.2, 1390.4, 1387.5, 1381.8, 1251.6, 1150.3, 1073.2, 965.2, 962.3, 953.6, 757.9, 740.5, 700.0.

Retentionsfaktor R_f = 0.72 (CH_2Cl_2/CH_3OH 9:1 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

Lysin-Monomer 82



Die freie Aminosäure **78** (391 mg, 717 µmol, 1.00 Äq.) wurde in abs. CH_2Cl_2 (15 mL) gelöst und mit *N*-Methylmorpholin (158 µL, 1.43 mmol, 2.00 Äq.) versetzt. 4-Azidobutan-1-säure(2,5-dioxopyrrolydin)anhydrid **36** (195 mg, 860 µmol, 1.20 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktionslösung über 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene braune Rohprodukt säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH 15:1+1% HAc→10:1+1%HAc v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das erhaltene Öl lyophyllisiert. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff (405 mg, 617 µmol, 86%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.76-7.71 (m, 2H, H-19), 7.60-7.52 (m, 2H, H-16), 7.40-7.27 (m, 9H, H-17, H-18, H-23, H-24, H-25), 6.62-6.52 (m, 1H, H-26), 5.62 (s_{br}, 1H, H-11), 4.79-4.69 (m, 2H, H-21), 4.61-4.53 (m, 1H, H-3), 4.47-4.33 (m, 2H, H-13), 4.23-4.16 (m, 1H, H-14), 3.85-3.59 (m, 2H, H-7), 3.49-3.38 (m, 2H, H-10), 3.34-3.28 (m, 2H, H-30), 2.69-2.54 (m, 2H, H-9), 2.29 (t, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-28), 1.92-1.86 (m, 2H, H-29), 1.85-1.72 (m, 2H, H-4), 1.71-1.58 (m, 2H, H-6), 1.38-1.16 (m, 2H, H-5).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 174.7 (C-2), 174.3 (C-27), 172.6 (C-8), 156.7 (C-12), 144.0 (C-15), 141.4 (C-20), 134.0 (C-22), 129.4 (C-25), 128.9 (C-23), 127.9 (C-24), 127.8 (C-17), 127.2 (C-18), 125.2 (C-16), 120.1 (C-19), 76.5 (C-21), 67.0 (C-13), 52.3 (C-3), 50.8 (C-30), 47.3 (C-14), 44.6 (C-7), 36.6 (C-10), 33.0 (C-28), 32.8 (C-8), 31.2 (C-4), 26.3 (C-6), 24.8 (C-29), 22.1 (C-5).

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{35}H_{41}N_6O_7^+$: 657.3031, gef. 657.3028.

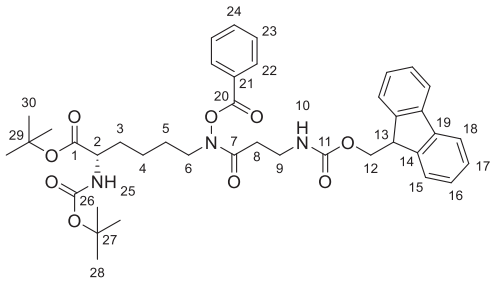
CHNO-Analyse ber. für $C_{35}H_{40}N_6O_7$: C, 64.01%; H, 6.14%; N, 12.80%; O, 17.05%; gef.: C, 63.13%; H, 6.14%; N, 12.56%; O, 18.01%.

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3315.0, 2951.5, 2101.1, 2031.6, 1714.4, 1647.9, 1522.5, 1449.2, 1244.8, 1144.6, 1003.8, 700.0, 650.9.

Retentionsfaktor: R_f = 0.43 (SiO_2 CH_2Cl_2/CH_3OH 10:1+1% HAc v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

7.2.4. Synthese des Ornithin-γ-Aminobuttersäure-Monomers

tBu-Orn(N_α-Boc)-(N_δ-OBz)-N_δ-GABA-Fmoc 73



Die Synthese wurde unter Ar-Schutzgasatmosphäre und unter Wasserausschluss durchgeführt.

4-(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxycarbonylaminobutan-1-säure **71** (2.29 g, 7.03 mmol, 1.00 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (20 mL) suspendiert und kat. DMF (2 Tropfen) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf -55 °C gekühlt und $SOCl_2$ (5.10 mL, 70.3 mmol, 10.0 Äq.) über einen Zeitraum von 15 min zugetropft. Die Suspension wurde über 4.5 h bei -55 °C gerührt und der Umsatz mittels DC (Veresterung in MeOH) verfolgt. Das Lösungsmittel wurde mittels Gefriertrocknung und nachfolgender Kältedestillation entfernt.

Der farblose Rückstand wurde unter Kühlung auf -10 °C mit einer Lösung aus N_α-Boc-Orn(N_δ-OBz)-*tert*-butylester **68** (1.57 g, 3.83 mmol, 0.55 Äq.) und abs. Pyridin (9.00 mL, 112 mmol, 17.4 Äq.) gelöst in abs. THF (50 mL) versetzt und für 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der braune Rückstand in CH_2Cl_2 (100 mL) aufgenommen. Es wurde mit 1 M HCl_{aq} (3 x 100 mL), ges. $NaHCO_3$-Lsg. (3 x 100 mL), ges. NaCl-Lsg. (3 x 100 mL) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittels unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene orangebraune Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 1:1 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als hellbrauner Feststoff (983 mg, 1.37 mmol, 36%) erhalten.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 8.06 (d, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-22), 7.75 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-18), 7.64 (t, 1H, ^3J = 7.4 Hz, H-24), 7.57 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-15), 7.47 (t, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-23), 7.38 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-17), 7.29 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-16), 5.20-4.79 (m, 2H, H-10, H-25), 4.42-4.30 (m, 2H, H-12), 4.21-4.14 (m, 2H, H-2, H-13), 3.91-3.80 (m, 2H, H-5), 3.28-3.10 (m, 2H, H-9), 2.43-2.22 (m, 2H, H-7), 1.93-1.82 (m, 2H, H-3, H-8), 1.81-1.64 (m, 4H, H-3, H-4, H-8), 1.43 (s, 9H, H-30), 1.40 (s, 9H, H-28).

^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 171.7 (C-1), 164.7 (C-20), 156.6 (C-11), 155.5 (C-26), 144.1 (C-14), 141.4 (C-19), 134.7 (C-24), 130.1 (C-22), 129.0 (C-23), 127.7, 127.1, 126.6, 125.2, 120.0, 82.1, 79.7, 66.8, 53.7, 47.4, 40.5, 30.3, 29.5, 28.4, 28.1, 24.5, 23.2.
Aufgrund von Rotation um die C-N-Bindung konnte C-6 nicht detektiert werden.

CHNO-Analyse ber. für $C_{40}H_{49}N_3O_9$: C, 67.12%; H, 6.90%; N, 5.87%; O, 20.12%; gef.: C, 66.83%; H, 6.94%; N, 5.68%; O, 19.51%.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+Na]^+$ = ber. für $C_{40}H_{49}N_3O_9Na^+$: 738.3361, gef. 738.3366.

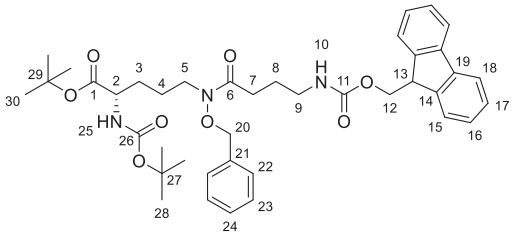
Schmelzpunkt T_{Smp} = 58.5-58.7 °C

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3343.0, 2977.6, 2933.2, 2184.0, 2167.6, 2023.0, 2014.3, 1763.6, 1705.7, 1604.5, 1513.9, 1450.2, 1392.4, 1366.3, 1241.9, 1150.3, 1076.1, 1037.5, 1011.5, 846.6, 759.8, 741.5, 708.7, 666.3.

Retentionsfaktor: R_f = 0.58 (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc 1:1 v/v, UV_{254}/Ninhydrin)

Spezifischer Drehwert: α_D^{25} = -4.9 ° (c = 4.6 mg/mL, $CHCl_3$)

tBu-Orn(N_α-Boc)-(N_δ-OBn)-N_δ-GABA-Fmoc 77



tBu-Orn(N_α-Boc)-(N_δ-OBz)-N_δ-β-Ala-Fmoc **73** (983 mg, 1.37 mmol, 1.00 Äq.) wurde in abs. CH_3OH (20 mL) gelöst und mit DIPEA (720 µL, 4.13 mmol, 3.01 Äq.) versetzt. Benzylbromid (0.33 mL, 2.78 mmol, 2.03 Äq.) wurde langsam zur Reaktionslösung getropft und die erhaltene klare Lösung für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das braune Öl in EtOAc (100 mL) aufgenommen. Es wurde mit 1 M HCl_{aq} (2 x 50 mL) und ges. NaCl-Lsg. (3 x 100 mL) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene farblose Rohöl wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (*n*-Pentan/EtOAc 1:0→0:1 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Produkt als farbloser Feststoff (515 mg, 734 µmol, 53%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.75 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-18), 7.58 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-15), 7.39 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-17), 7.37-7.33 (m, 5H, H-22, H-23, H-24), 7.30 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-16), 5.12-5.04 (m, 2H, H-10, H-25), 4.78 (s, 2H, H-20), 4.38 (d, 2H, ^3J = 7.0 Hz, H-12), 4.24-4.16 (m, 2H, H-2, H-13), 3.73-3.64 (m, 2H, H-5), 3.23-3.12 (m, 2H, H-9), 2.46-2.36 (m, 2H, H-7), 1.83-1.74 (m, 3H, H-3, H-8), 1.73-1.66 (m, 2H, H-4), 1.64-1.56 (m, 1H, H-8), 1.43 (s, 9H, H-30), 1.42 (s, 9H, H-28).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 171.8 (C-1), 156.6 (C-11), 155.5 (C-26), 144.2 (C-14), 141.4 (C-19), 134.4 (C-21), 129.4 (C-22), 129.2 (C-24), 128.9 (C-23), 127.8 (C-17), 127.2 (C-16), 125.2 (C-15), 120.1 (C-18), 82.1 (C-29), 79.8 (C-27), 76.4 (C-20), 66.7 (C-12), 53.7 (C-2), 47.4 (C-13), 45.0 (C-5), 40.8 (C-9), 30.3 (C-8), 29.8 (C-7), 28.5 (C-30), 28.1 (C-28), 24.7 (C-3), 22.9 (C-4).
Aufgrund von Rotation um die C-N-Bindung konnte C-6 nicht detektiert werden.

CHNO-Analyse ber. für $C_{40}H_{49}N_3O_8$: C, 68.45%; H, 7.32%; N, 5.99%; O, 18.24%; gef.: C, 66.22%; H, 7.28%; N, 5.42%; O, 17.18%.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+Na]^+$ = ber. für $C_{40}H_{51}N_3O_8Na^+$: 724.3568, gef. 724.3584.

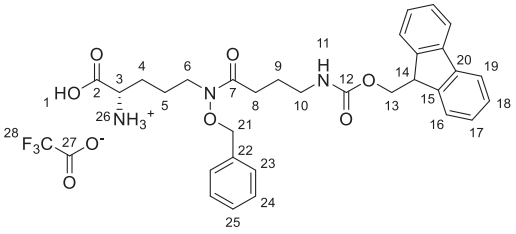
Schmelzpunkt T_{Smp} = 48.9-49.2 °C

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3343.0, 2977.6, 2933.2, 2184.0, 2167.6, 2023.0, 2014.3, 1763.6, 1705.7, 1604.5, 1513.9, 1450.2, 1392.4, 1366.3, 1241.9, 1150.3, 1076.1, 1037.5, 1011.5, 846.6, 759.8, 741.5, 708.7, 666.3.

Retentionsfaktor: R_f = 0.63 (SiO_2, *n*-Pentan/EtOAc 3:2 v/v, UV_{254}/Ninhydrin)

Spezifischer Drehwert: α_D^{25} = -11.0 ° (c = 4.5 mg/mL, $CHCl_3$)

Orn(N_α-NH_3CF_3COOH)-(N_δ-*O*Bn)-N_δ-GABA-Fmoc 96



*t*Bu-Orn(N_α-Boc)-(N_δ-*O*Bn)-N_δ-β-Ala-Fmoc **77** (419 mg, 596 µmol, 1.00 Äq.) wurde mit Triethylsilan (550 µL, 3.44 mmol, 5.77 Äq.) in 50% TFA in CH_2Cl_2 (22 mL) gelöst und für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Alle flüchtigen Bestandteile wurden unter vermindertem

Druck entfernt und der erhaltene farblose Rückstand in Milli-Q-Wasser (5 mL) gelöst. Das Lösungsmittel wurde erneut unter vermindertem Druck entfernt und dieser Vorgang weitere zwei Mal wiederholt. Nach Gefriertrocknung wurde das TFA-Salz des Produkts als farbloser Feststoff (322 mg, 488 µmol, 88%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 8.27 (s_{br}, 3H, H-26), 7.87 (d, 2H, ^{3}J = 7.5 Hz, H-19), 7.68 (d, 2H, ^{3}J = 7.5 Hz, H-16), 7.44-7.30 (m, 9H, H-17, H-18, H-23, H-24, H-25), 4.86 (s, 2H, H-21), 4.29 (d, 2H, ^{3}J = 6.9 Hz, H-13), 4.20 (t, 1H, ^{3}J = 6.9 Hz, H-14), 3.88 (t, 2H, ^{3}J = 5.7 Hz, H-3), 3.69-3.61 (m, 2H, H-6), 3.04-2.99 (m, 2H, H-10), 2.43-2.40 (m, 2H, H-8), 1.82-1.69 (m, 3H, H-4, H-5), 1.68-1.58 (m, 2H, H-4, H-9).
Aufgrund von im Lösungsmittel enthaltenem H_2O konnten in Folge von dynamischen Austauschreaktionen die Protonen H-1, sowie H-11 nicht detektiert werden.

^{13}C-NMR (151 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 170.9 (C-2), 158.0 (C-27), 156.2 (C-12), 143.9 (C-15), 140.7 (C-20), 134.7 (C-22), 129.4 (C-23), 128.7 (C-25), 128.5 (C-24), 127.6 (C-18), 127.1 (C-17), 125.1 (C-17), 120.1 (C-19), 75.4 (C-21), 65.3 (C-13), 51.9 (C-3, C-6), 46.8 (C-14), 39.9 (C-10), 28.9 (C-4), 27.5 (C-8), 24.5 (C-9), 22.4 (C-5).
Aufgrund von Rotation um die C-N- bzw. C-C-Bindung konnten die Kohlenstoffe C-7 und C-28 nicht detektiert werden.

^{17}F-NMR (565 Mhz, DMSO-d_6) δ [ppm] = -73.5 (F-28)

CHNO-Analyse ber. für $C_{33}H_{36}F_3N_3O_8$: C, 68.45%; H, 7.32%; N, 5.99%; O, 18.24%; gef.: C, 66.22%; H, 7.28%; N, 5.42%; O, 17.18%.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M\text{-}TFAH+H]^+$ = ber. für $C_{33}H_{36}N_3O_6^+$: 546.2599, gef. 546.2600.

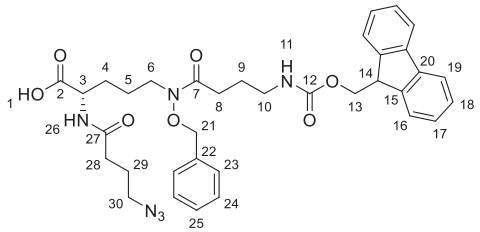
Schmelzpunkt T_{Smp} = 79.4-79.5 °C

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3327.6, 3035.4, 2943.8, 2885.0, 1685.5, 1643.1, 1535.1, 1477.2, 1449.2, 1416.5, 1257.4, 1182.2, 1132.0, 1023.1, 998.0, 828.3, 798.4, 757.9, 739.6, 720.3, 699.1, 673.0.

Retentionsfaktor: R_f = 0.63 (SiO_2-RP18, H_2O/CH_3CN+0.05% FA 3:7 v/v, UV_{254}/Ninhydrin)

Spezifischer Drehwert: α_D^{25} = -5.8 ° (c = 5.3 mg/mL, $CHCl_3$)

Ornithin-GABA-Monomer 81



Die freie Aminosäure **96** (235 mg, 356 µmol, 1.00 Äq.), 4-Azidobutan-1-säure-(2,5-dioxopyrrolydin)anhydrid **36** (237 mg, 1.05 mmol, 2.95 Äq.) und *N*-Methylmorpholin (540 µL, 4.91 mmol, 13.8 Äq.) wurden in abs. DMF (5 mL) gelöst. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur für 72 h gerührt, wobei sich die Reaktionslösung orange färbte. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das orange Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 85:15+0.05% FA→5:95+0.05% FA v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produt als farbloser Feststoff (114 mg, 175 µmol, 49%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.75 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-19), 7.56 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-16), 7.38 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-18), 7.35-7.31 (m, 5H, H-23, H-24, H-25), 7.29 (t, 2H, ^3J = 7.5 Hz, H-17), 6.88-6.74 (m, 1H, H-26), 5.13 (s_{br}, 1H, H-11), 4.77 (s, 2H, H-21), 4.60-4.56 (m, 1H, H-3), 4.40-4.33 (m, 2H, H-13), 4.21-4.16 (m, 1H, H-14), 3.76-3.65 (m, 2H, H-6), 3.28 (t, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-30), 3.20-3.11 (m, 2H, H-10), 2.48-2.36 (m, 2H, H-8), 2.29 (t, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-28), 1.92-1.84 (m, 3H, H-4, H-29), 1.82-1.65 (m, 5H, H-4, H-5, H-9).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.8 (C-2), 172.9 (C-27), 156.9 (C-12), 144.1 (C-15), 141.4 (C-20), 134.1 (C-22), 129.4 (C-23), 129.3 (C-25), 129.0 (C-24), 127.8 (C-18), 127.2 (C-17), 125.2 (C-16), 120.1 (C-19), 76.5 (C-21), 66.9 (C-13), 52.3 (C-3), 50.8 (C-30), 47.3 (C-14), 44.8 (C-6), 40.6 (C-10), 33.0 (C-28), 29.5 (C-8), 28.9 (C-4), 24.8 (C-29), 24.6 (C-9), 23.4 (C-5).

Aufgrund von Rotation um die C-N- bzw. C-C-Bindung konnte der Kohlenstoff C-7 nicht detektiert werden.

CHNO-Analyse ber. für $C_{35}H_{40}N_6O_7$: C, 64.01%; H, 6.14%; N, 12.80%; O, 17.05%; gef.: C, 63.77%; H, 6.41%; N, 12.36%; O, 17.15%.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{35}H_{41}N_6O_7^+$: 657.3031, gef. 657.3027.

Schmelzpunkt T_{Smp} = 92.9-93.5 °C

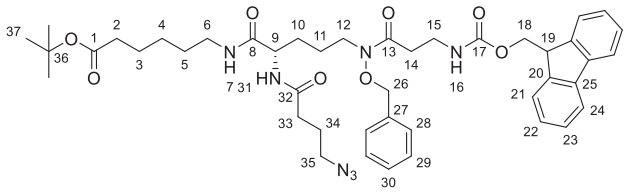
IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3310.2, 3062.4, 2935.1, 2875.3, 2097.2, 1690.3, 1644.0, 1538.0, 1446.4, 1410.7, 1251.6, 1194.7, 1141.7, 1014.4, 993.2, 742.5, 699.1.

Retentionsfaktor: R_f = 0.60 (SiO_2-RP18, H_2O/CH_3CN+0.05% FA 3:7 v/v, UV_{254}/Ninhydrin)

Spezifischer Drehwert: α_D^{25} = -9.5 ° (c = 4.4 mg/mL, $CHCl_3$)

7.2.5. Synthese der Ornithin-basierten Liganden

Monomer-AHX-Ornithin-Fmoc 108



Ornithin-Monomer **80** (1.00 g, 1.56 mmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (620 mg, 1.63 mmol, 1.05 Äq.) und HOBt · X H_2O (421 mg, 3.11 mmol, 2.00 Äq.) in abs. DMF (12 mL) gelöst und mit DIPEA (603 mg, 813 µL, 4.67 mmol, 3.00 Äq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 15 min bei Raumtemperatur gerührt, wobei sie sich gelb verfärbte. 6-Aminohexansäure-*tert*-butylester **107** (306 mg, 1.63 mmol, 1.05 Äq.) gelöst in abs. DMF (3 mL) wurde zugegeben und die Reaktionslösung für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand lyophyllisiert. Der erhaltene Feststoff wurde durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (CH_2Cl_2/CH_3OH, 40:1→25:1+0.1% NEt_3) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Öl eluiert und wurde nach Gefriertrocknung als farbloser Feststoff (1.19 g, 1.47 mmol, 94%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.76 (d, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-24), 7.59 (d, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-21), 7.39 (t, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-23), 7.38-7.32 (m, 5H, H-28, H-29, H-30), 7.30 (t, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-22), 6.50 (s_{br}, 1H, H-31), 6.42 (s_{br}, 1H, H-7), 5.56 (s_{br}, 1H, H-16), 4.80 (s, 2H, H-26), 4.57-4.51 (m, 1H, H-9), 4.36 (d, 2H, ^3J = 6.9 Hz, H-18), 4.20 (t, 1H, ^3J = 6.9 Hz, H-19), 4.04-3.99 (m, 1H, H-12), 3.63-3.60 (m, 1H, H-12), 3.53-3.43 (m, 2H, H-15), 3.31 (t, 2H, ^3J = 7.3 Hz, H-35), 3.18-3.13 (m, 2H, H-6), 2.72-2.64 (m, 2H, H-14), 2.29 (t, 2H, ^3J = 7.3 Hz, H-33), 2.18 (t, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-2), 1.90 (quin, 2H, ^3J = 7.3 Hz, H-34), 1.73-1.65 (m, 3H, H-10, H-11), 1.61-1.58 (m, 1H, H-10), 1.57-1.53 (m, 2H, H-3), 1.40 (s, 9H, H-37), 1.39 (t, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-4), 1.31-1.26 (m, 2H, H-5).

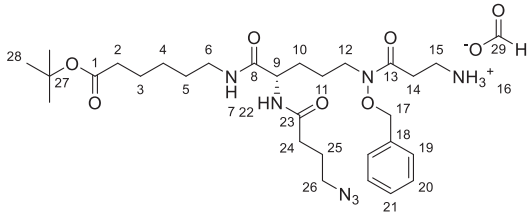
^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.1 (C-1), 172.3 (C-32), 171.8 (C-8), 156.6 (C-17), 144.1 (C-20), 141.4 (C-25), 134.0 (C-27) 129.5 (C-30), 129.4 (C-28), 129.0 (C-29), 127.8 (C-23), 127.2 (C-22), 125.2 (C-21), 120.1 (C-24), 80.3 (C-36), 76.6 (C-26), 66.9 (C-18), 51.7 (C-9), 50.9 (C-35), 47.4 (C-19), 44.1 (C-12), 39.6 (C-6), 36.7 (C-15), 35.5 (C-2), 33.2 (C-33), 32.8 (C-14), 30.2 (C-10), 29.2 (C-4), 28.3 (C-37), 26.4 (C-5), 24.8 (C-34), 24.7 (C-3), 23.2 (C-11).

Weitere Signale: δ [ppm] = 46.6, 8.8.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{44}H_{58}N_7O_8^+$: 812.4341, gef. 812.4344.

Retentionsfaktor: R_f = 0.18 (CH_2Cl_2/CH_3OH 24:1 v/v, UV_{254}, Cerammoniumsulfat)

Monomer-AHX-Ornithin-NH_2 157



Monomer-AHX-Ornithin-Fmoc **108** (1.10 g, 1.35 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 20% Piperidin in Acetonitril (10 mL) gelöst und für 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Feststoff erneut in 20% Piperidin in Acetonitril (10 mL) gelöst und für 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und Coevaporieren mit CH_2Cl_2 (5 x 10 mL) wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (CH_2Cl_2/CH_3OH, 15:1+0.1% NEt_3→9:1+1% NEt_3) gereinigt. Das Produkt wurde als gelbes Harz (797 mg, 1.35 mmol, 99%) erhalten.

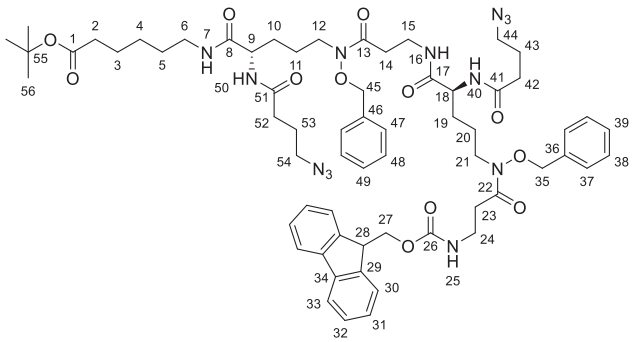
Für die Charakterisierung wurden 100 mg des Produkts ein weiteres Mal säulenchromatographisch an SiO_2-C_{18} (H_2O/CH_3CN+0.1% FA 95:5→5:95) gereinigt und das Formiatsalz als farbloses Harz erhalten.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 8.49 (s_{br}, 1H, H-29), 7.68 (s_{br}, 3H, H-16), 7.57 (t, 2H, ^3J = 5.7 Hz, H-7), 7.46 (d, 1H, ^3J = 7.6 Hz, H-22), 7.39-7.32 (m, 5H, H-19, H-20, H-21), 4.82-4.77 (m, 2H, H-17), 4.43-4.40 (m, 1H, H-9), 3.78-3.62 (m, 2H, H-12), 3.26 (t, 2H, ^3J = 7.1 Hz, H-26), 3.17-3.13 (m, 2H, H-6), 3.13-3.09 (m, 2H, H-14), 2.92-2.77 (m, 2H, H-15), 2.30-2.27 (m, 2H, H-24), 2.16 (t, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-2), 1.84 (quin, 2H, ^3J = 7.1 Hz, H-25), 1.74-1.65 (m, 1H, H-10, 1.65-1.59 (m, 3H, H-10, H-11), 1.54 (quin, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-3), 1.51-1.46 (m, 2H, H-5), 1.42 (s, 9H, H-28), 1.30-1.24 (m, 2H, H-4).

^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.2 (C-1), 172.5 (C-23), 171.8 (C-8), 168.5 (C-29), 134.0 (C-18), 129.4 (C-21), 129.3 (C-19), 128.9 (C-20), 80.2 (C-27), 76.4 (C-17), 52.6 (C-9), 50.9 (C-26), 44.7 (C-12), 39.5 (C-6), 35.5 (C-2), 35.3 (C-14), 33.1 (C-24), 29.7 (C-15), 29.6 (C-11), 29.2 (C-5), 28.2 (C-28), 26.5 (C-4), 24.9 (C-25), 24.8 (C-3), 22.9 (C-10).

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M\text{-}HCOOH+H]^+$ = ber. für $C_{29}H_{48}N_7O_6^+$: 590.3661, gef. 590.3666.

Dimer-AHX-Ornithin-Fmoc 109



Ornithin-Monomer **80** (871 mg, 1.35 mmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (540 mg, 1.42 mmol, 1.05 Äq.) und HOBt (366 mg, 2.71 mmol, 2.00 Äq.) in abs. DMF (25 mL) gelöst. DIPEA (708 µL, 4.06 mmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun gelben Lösung wurde Monomer-AHX-Ornithin-NH_2 **157** (799 mg, 1.35 mmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (5 mL) gegeben und die Lösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 25:2 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Produkt als gelbes Öl (1.49 g, 1.23 mmol, 91%) erhalten.

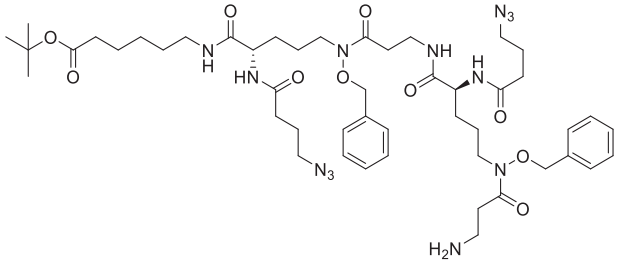
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 8.05-7.91 (m, 3H, H-16, H-40, H-50), 7.90-7.83 (m, 3H, H-7, H-33), 7.67 (d, 2H, ^3J = 7.36 Hz, H-30), 7.44-7.34 (m, 12H, H-32, H-37, H-38, H-39, H-47, H-48, H-49), 7.33-7.27 (m, 3H, H-25, H-31), 4.84-4.78 (m, 4H, H-35, H-45), 4.28 (d, 2H, ^3J = 6.89 Hz, H-27), 4.25-4.16 (m, 3H, H-9, H-18, H-28), 3.65-3.51 (m, 4H, H-12, H-21), 3.31-3.16 (m, 8H, H-15, H-24, H-44, H-54), 3.04-2.95 (m, 2H, H-6), 2.64-2.53 (m, 4H, H-14, H-23), 2.23-2.09 (m, 6H, H-2, H-42, H-52), 1.77-1.65 (m, 4H, H-43, H-53), 1.63-1.41 (m, 10H, H-3, H-10, H-11, H-19, H-20), 1.38 (s, 9H, H-56), 1.36-1.29 (m, 2H, H-5), 1.25-1.17 (m, 2H, H-4).

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 172.2, 171.6, 171.2, 156.0, 143.9, 140.7, 134.6, 129.3, 128.7, 128.4, 127.6, 127.0, 125.1, 120.1, 75.5, 65.3, 52.1, 50.3, 46.7, 44.1, 38.2, 36.3, 34.7, 32.0, 29.4, 28.7, 27.7, 25.7, 24.5, 24.3, 23.2, 23.1.

HRMS (ESI pos.) m/z $[M+H]^+$ = ber. für $C_{63}H_{84}N_{13}O_{12}^+$ 1214.6357, gef. 1214.6380.

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 2327.6, 2154.1, 2092.4, 2023.0, 1969.0, 1714.4, 1702.8, 1652.7, 1540.9, 1517.7, 1452.1, 1243.9, 1143.6, 1074.2, 977.7, 912.2, 877.5, 742.5, 696.2.

Dimer-AHX-Ornithin-NH_2 158



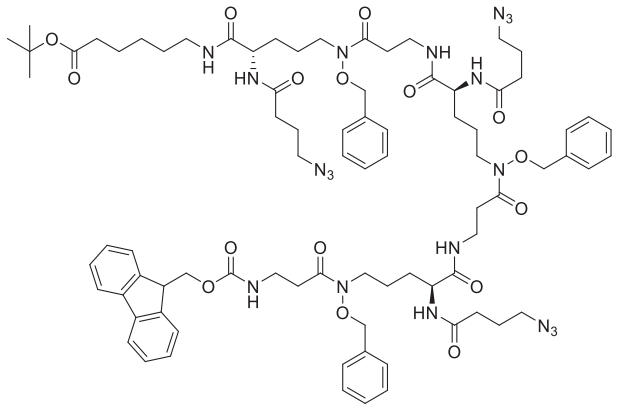
Dimer-AHX-Ornithin-Fmoc **109** (1.35 g, 1.11 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 20% Piperidin in CH_3CN (20 mL) gelöst und bei Raumtemperatur für 30 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der farblose Feststoff mit CH_2Cl_2 (3 x 5 mL) coevaporiert. Das erhaltene farblose Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2:CH_3OH 20:1→10:1+1% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloses Harz (841 mg, 848 µmol, 76%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{48}H_{73}N_{13}O_{10}^+$ 992.5676, gef. 992.5651

Retentionsfaktor R_f = 0.48 (CH_2Cl_2/CH_3OH 12:1+0.1% NEt_3 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 10% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 19.0 min.

Trimer-AHX-Ornithin-Fmoc 110



Ornithin-Monomer **80** (518 mg, 806 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (336 mg, 887 µmol, 1.05 Äq.) und HOBt (272 mg, 2.02 mmol, 2.50 Äq.) in abs. DMF (15 mL) gelöst. DIPEA (421 µL, 2.42 mmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun gelben Lösung wurde Dimer-AHX-Orn-NH_2 **158**

(800 mg, 806 µmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (5 mL) gegeben und die Lösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 25:1→8:1+0.1% NEt_3 v/v) gereinigt. Das Produkt wurde mit einer unbekannten Verunreinigung erhalten und daher erneut säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN+0.1% FA 50:50→10:90 v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (1.22 g, 756 µmol, 94%) erhalten.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.75 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 7.57-7.47 (s_{br}, 1H), 7.41-7.30 (m, 17H), 7.30-7.27 (m, 2H), 7.17-6.74 (m, 4H), 6.14-5.95 (m, 1H), 4.88-4.68 (m, 6H), 4.64-4.47 (m, 2H), 4.44-4.38 (m, 1H), 4.39-4.28 (m, 2H), 4.24-4.15 (m, 1H), 4.09-3.67 (m, 3H), 3.65-3.39 (m, 8H), 3.31-3.21 (m, 6H), 3.20-3.06 (m, 2H), 2.79-2.70 (m, 1H), 2.68-2.56 (m, 3H), 2.51-2.36 (m, 2H), 2.32-2.24 (m, 4H), 2.23-2.13 (m, 4H), 1.91-1.78 (m, 6H), 1.76-1.60 (m, 8H), 1.58-1.51 (m, 4H), 1.49-1.38 (m, 11H), 1.31-1.24 (m, 2H).

^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 172.3, 156.7, 144.2, 141.4, 134.1, 129.4, 128.9, 127.8, 127.1, 125.3, 120.1, 80.2, 76.5, 66.8, 52.6, 52.1, 50.9, 50.9, 47.4, 44.5, 39.5, 36.7, 35.5, 33.2, 32.8, 29.2, 28.2, 26.5, 24.9, 24.8, 23.1.

CHNO-Analyse ber. für $C_{82}H_{109}N_{19}O_{16}$: C, 60.19%; H, 6.80%; N, 16.46%; O, 15.83%; gef.: C, 60.75%; H, 6.83%; N, 16.00%; O, 15.36%.

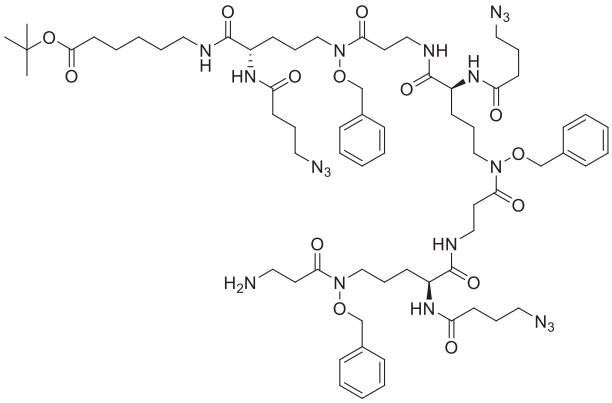
HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{82}H_{111}N_{19}O_{16}^+$ 808.9223, gef. 808.9226.

Retentionsfaktor: R_f = (SiO_2 H_2O/CH_3CN+0.05% FA 3:7 v/v, UV_{254}/Ninhydrin)

Spezifischer Drehwert: α_D^{25} = -3.8 ° (c = 1.6 mg/mL, CH_2Cl_2)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 70% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 10.5 min.

Trimer-AHX-Ornithin-NH_2 159



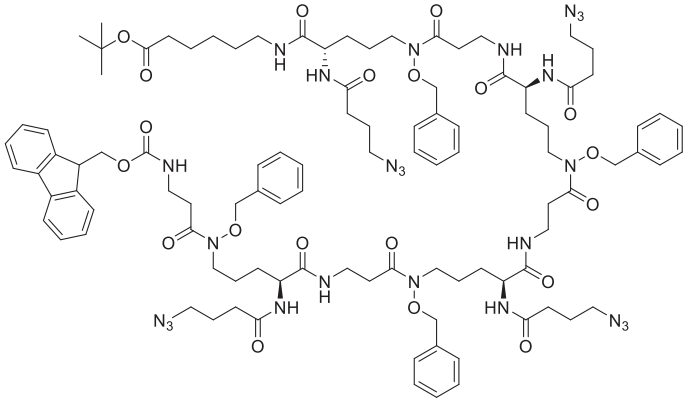
Trimer-AHX-Ornithin **MM366** (200 mg, 124 µmol, 1.00 Äq.) wurde in 20% Piperidin in CH_3CN (8 mL) gelöst und bei Raumtemperatur für 30 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der farblose Feststoff mit CH_2Cl_2 (3 x 5 mL) coevaporiert. Das erhaltene farblose Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2:CH_3OH 20:1→8:1+1% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloses Harz (142 mg, 102 µmol, 82%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ ber. für $C_{67}H_{100}N_{19}O_{14}^+$ 1394.7692, gef. 1394.7721.

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3294.8, 2970.8, 2939.0, 2098.2, 1718.3, 1636.3, 1540.9, 1450.2, 1366.3, 1246.8, 1150.3, 1004.7, 948.8, 741.5, 699.1, 544.8.

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 21.1 min.

Tetramer-AHX-Ornithin-Fmoc 111



Ornithin-Monomer **80** (65.4 mg, 102 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (40.5 mg, 107 µmol, 1.05 Äq.) und HOBt (34.4 mg, 255 µmol, 2.50 Äq.) in abs. DMF (6 mL) gelöst. DIPEA (53.0 µL, 306 µmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun gelben Lösung wurde Trimer-AHX-Orn-NH_2 **159** (142 mg, 102 µmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (2 mL) gegeben und die Lösung für 7.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 25:1→9:1+0.5% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Produkt mit einer unbekannten Verunreinigung erhalten und daher erneut säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:5+0.1% FA 5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser hygroskopischer Feststoff (188 mg, 93.0 µmol, 91%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.75 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 7.54-7.48 (m, 1H), 7.38-7.27 (m, 25H), 7.21-7.04 (m, 3H), 7.00-6.74 (m, 2H), 5.97 (s_{br}, 1H), 4.88-4.65 (m, 9H), 4.59-4.38 (m, 4H), 4.37-4.31 (m, 2H), 4.22-4.14 (m, 1H), 3.92-3.71 (m, 4H), 3.66-3.33 (m, 14H), 3.30-3.20 (m, 9H), 3.19-3.06 (m, 3H), 2.77-2.39 (m, 9H), 2.34-2.21 (m, 8H), 2.20-2.09 (m, 6H), 1.94-1.79 (m, 9H), 1.77-1.58 (m, 14H), 1.57-1.49 (m, 6H), 1.47-1.40 (m, 13H), 1.32-1.24 (m, 4H).

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.4, 173.1, 172.3, 172.0, 171.6, 156.7, 144.1, 141.4, 134.1, 129.4, 129.4, 129.2, 128.9, 127.8, 127.1, 125.3, 120.1, 80.2, 76.5, 76.4, 66.8, 52.6, 52.3, 52.3, 52.1, 50.9, 50.9, 47.3, 44.8, 44.4, 39.5, 36.6, 35.5, 35.4, 35.1, 33.1, 33.1, 33.0, 32.7, 32.2, 30.3, 29.8, 29.3, 28.2, 26.5, 24.9, 24.9, 24.8, 23.2.

HRMS (ESI pos.) m/z $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{101}H_{137}N_{25}O_{20}^{2+}$: 1010.0230, gef. 1010.0199.

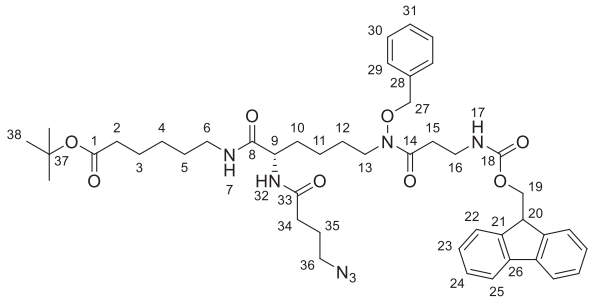
IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3291.9, 2980.5, 2886.0, 2096.2, 1717.3, 1636.3, 1540.9, 1484.0, 1449.2, 1413.6, 1367.3, 1248.7, 1150.3, 1073.2, 1007.6, 876.5, 740.5, 698.1, 539.0.

Spezifischer Drehwert: α_D^{25} = -9.0 ° (c = 1.0 mg/mL, CH_2Cl_2)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 70% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 11.6 min.

7.2.6. Synthese der Lysin-basierten Liganden

Monomer-AHX-Lysin-Fmoc 112



Lysin-Monomer **82** (1.50 g, 2.28 mmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (1.04 g, 2.74 mmol, 1.20 Äq.) und HOBt (463 mg, 3.43 mmol, 1.50 Äq.) in abs. DMF (30 mL) gelöst. DIPEA (1.19 mL, 6.85 mmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun gelben Lösung wurde 6-Aminohexansäure-*tert*-butylester **107** (449 mg, 2.40 mmol, 1.05 Äq.) gelöst in abs. DMF (3 mL) gegeben und die Lösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit CH_2Cl_2 coevaporiert (5 x 10 mL) um Reste von DMF und DIPEA zu entfernen. Das erhaltene Rohöl wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 40:1→25:1+0.1% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das erhaltene farblose Öl lyophyllisiert. Das Produkt wurde als farbloses Harz (1.85 g, 2.24 mmol, 98%) erhalten.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.75 (d, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-25), 7.58 (d, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-22), 7.38 (t, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-24), 7.36-7.32 (m, 5H, H-29, H-30, H-31), 7.28 (t, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-23), 6.50 (s_{br}, 2H, H-7, H-32), 5.68 (s_{br}, 1H, H-17), 4.77 (s, 2H, H-27), 4.38-4.30 (m, 3H, H-9, H-19), 4.22-4.17 (m, 1H, H-20), 3.74-3.59 (m, 2H, H-13), 3.51-3.40 (m, 2H, H-16), 3.30 (t, 2H, ^3J = 7.1 Hz, H-36), 3.22-3.17 (m, 2H, H-6), 2.71-2.54 (m, 2H, H-15), 2.27 (t, 2H, ^3J = 7.1 Hz, H-34), 2.18 (t, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-2), 1.88 (quin, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-35), 1.84-1.76 (m, 1H, H-10), 1.71-1.60 (m, 3H, H-10, H-11), 1.55 (quin, 2H, ^3J = 7.6 Hz, H-3), 1.50-1.45 (m, 2H, H-5), 1.42 (s, 9H, H-38), 1.35-1.25 (m, 4H, H-4, H-12).

Weitere Signale: δ [ppm] = 2.94, 2.84 konnten DMF zugeordnet werden. δ [ppm] = 2.82 keine Zuordnung.

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.1 (C-1), 172.1 (C-33), 171.6 (C-8), 156.6 (C-18), 144.1 (C-21), 141.4 (C-26), 134.1 (C-28), 129.3 (C-31), 129.2 (C-29), 128.9 (C-30), 127.8 (C-24), 127.1 (C-23), 125.2 (C-22), 120.1 (C-25), 80.2 (C-37), 76.5 (C-27), 66.8 (C-19), 53.1 (C-9), 50.9 (C-36),

47.3 (C-20), 46.7, 44.7 (C-13), 39.4 (C-6), 36.7 (C-16), 35.4 (C-2), 33.1 (C-34), 32.8 (C-15), 31.8 (C-10), 29.1 (C-5), 28.2 (C-38), 26.4 (C-11), 26.4 (C-4), 24.8 (C-3), 24.6 (C-35), 22.6 (C-12).

Weitere Signale: δ [ppm] = 162.7, 36.6, 31.6 konnten DMF zugeordnet werden. δ [ppm] = 38.8 keine Zuordnung.

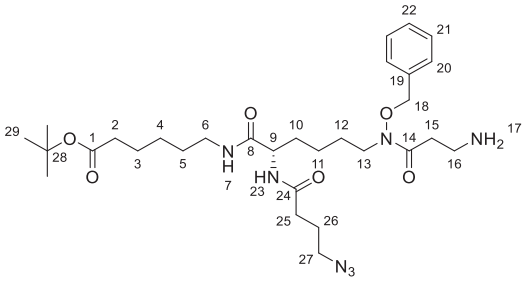
MS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{45}H_{60}N_7O_8^+$ 826.4498, gef. 826.4555.

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 2925.5, 2154.1, 2100.1, 1984.4, 1718.3, 1645.0, 1544.7, 1521.6, 1444.4, 1367.3, 1243.9, 1147.4, 946.9, 869.7, 757.9, 738.6, 703.9.

Retentionsfaktor: R_f = 0.46 (CH_2Cl_2/CH_3OH 40:1 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 70% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 11.0 min.

Monomer-AHX-Lysin-NH_2 160



Monomer-AHX-Lysin-Fmoc **MM341** (1.79 g, 2.17 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 20% Piperidin in CH_3CN (40 mL) gelöst und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der erhaltene farblose Feststoff säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 15:1+0.1% NEt_3→9:1+1% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und Gefriertrocknung wurde das Produkt als braunes Harz (1.28 g, 2.13 mmol, 98%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.41-7.33 (m, 5H, H-20, H-21, H-22), 6.76-6.74 (m, 1H, H-7), 6.67-6.64 (m, 1H, H-23), 4.80 (s, 2H, H-18), 4.34-4.31 (m, 1H, H-9), 3.75-3.60 (m, 2H, H-13), 3.31 (t, 2H, ^3J = 6.8 Hz, H-27), 3.21-3.17 (m, 2H, H-6), 3.04-2.95 (m, 2H, H-16), 2.68-2.53 (m, 2H, H-15), 2.31 (s_{br}, 2H, H-17), 2.28 (t, 2H, ^3J = 6.8 Hz, H-25), 2.19 (t, 2H, ^3J = 7.4 Hz, H-2), 1.89 (quin, 2H, ^3J = 6.8 Hz, H-26), 1.80-1.73 (m, 1H, H-10), 1.72-1.68 (m, 1H, H-12), 1.66-1.59

(m, 2H, H-10, H-12), 1.58-1.55 (m, 2H, H-3), 1.50-1.44 (m, 2H, H-5), 1.42 (s, 9H, H-29), 1.33-1.27 (m, 4H, H-4, H-11).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.2 (C-1, C-14), 172.1 (C-24), 171.7 (C-8), 134.5 (C-19), 129.3 (C-22), 129.2 (C-20), 128.9 (C-21), 80.3 (C-28), 76.4 (C-18), 53.2 (C-9), 50.9 (C-27), 44.3 (C-13), 39.4 (C-6), 37.3 (C-16), 35.5 (C-2), 34.9 (C-15), 33.1 (C-25), 31.8 (C-10), 29.2 (C-5), 28.2 (C-29), 26.4 (C-4), 26.2 (C-12), 24.9 (C-3), 24.7 (C-26), 22.5 (C-11).

Weitere Signale: δ [ppm] = 31.1 konnte nicht zugeordnet werden.

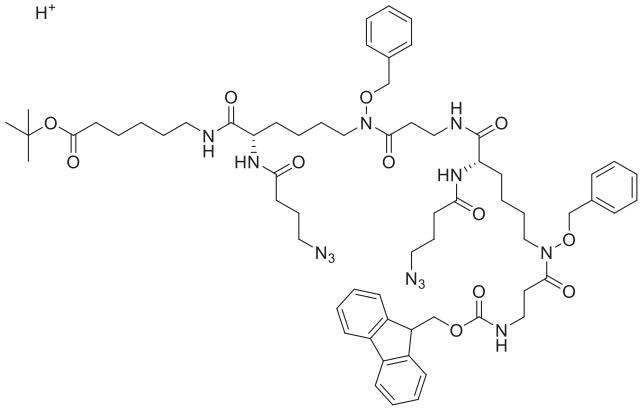
MS (ESI pos.) m/z $[M+H]^+$ = ber. für $C_{30}H_{50}N_7O_6^+$: 604.3817, gef. 604.3827.

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 2979.5, 2088.5, 1714.4, 1591.0, 1367.3, 1344.1, 1267.0, 1147.4, 962.3, 846.6, 730.9, 696.2, 650.9.

Retentionsfaktor: R_f = (CH_2Cl_2/CH_3OH 40:1 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 10% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 17.1 min.

Dimer-AHX-Lysin-Fmoc 113



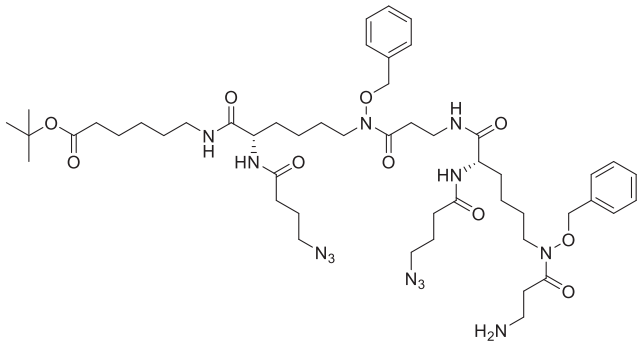
Lysin-Monomer **82** (751 mg, 1.14 mmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (455 mg, 1.20 mmol, 1.05 Äq.) und HOBt (309 mg, 2.29 mmol, 2.00 Äq.) in abs. DMF (20 mL) gelöst. DIPEA (597 µL, 3.43 mmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Reaktionslösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun gelben Reaktionslösung wurde Monomer-AHX-Lysin-NH_2 **160** (630 mg, 1.14 mmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (5 mL) gegeben und die Lösung für weitere 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an

SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH 15:1+0.1% NEt_3 v/v) gereinigt. Das Produkt wurde nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und Gefriertrocknung als brauner Feststoff (950 mg, 765 µmol, 67%) erhalten. Aus einer weiteren Fraktion wurde das Produkt mit abgespaltener Fmoc-Schutzgruppe isoliert (158 mg, 155 µmol, 14%).

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{65}H_{88}N_{13}O_{12}^+$ 1242.6670, gef. 1242.6683.

Retentionsfaktor R_f = 0.23 (CH_2Cl_2/CH_3OH 24:1 v/v, UV_{254}, Cerammoniumsulfat)

Dimer-AHX-Lysin-NH_2 161

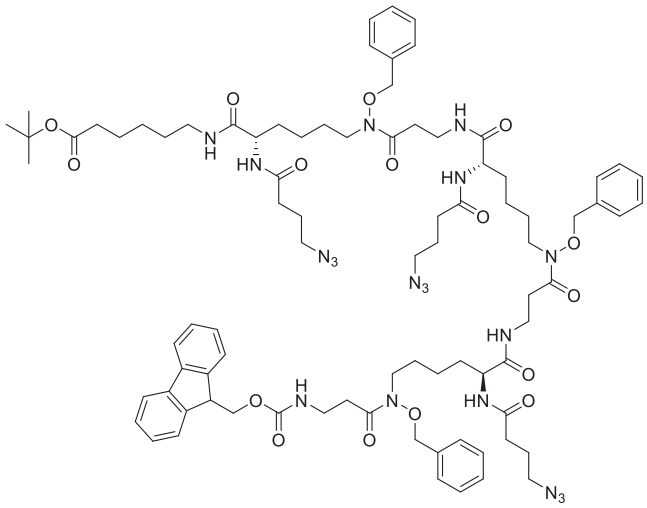


Die erhaltenen Fraktionen aus Dimer-AHX-Lysin-Fmoc **113** (1.14 g, 918 µmol, 1.00 Äq.) wurde in 20% Piperidin in CH_3CN (24 mL) gelöst und für 35 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der erhaltene farblose Feststoff säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 25:2+1% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und Gefriertrocknung wurde das Produkt als transparent, schwach gelbes Harz (821 mg, 804 µmol, 88%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{50'}H_{79}N_{13}O_{10}^{2+}$: 510.8031, gef. 510.8010.

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 10% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 5 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 17.6 min.

Trimer-AHX-Lysin-Fmoc 114



Lysin-Monomer **82** (515 mg, 784 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (312 mg, 823 µmol, 1.05 Äq.) und HOBt (212 mg, 1.57 mmol, 2.00 Äq.) in abs. DMF (15 mL) gelöst. DIPEA (410 µL, 2.35 mmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun gelben Lösung wurde Dimer-AHX-Lysin-NH_2 **161** (800 mg, 784 µmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (6 mL) gegeben und die Lösung für 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 25:1→8:1+0.1% NEt_3 v/v) gereinigt. Das Produkt wurde mit einer unbekannten Verunreinigung erhalten und daher erneut säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN+0.1% FA 50:50→10:90 v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (915 mg, 551 µmol, 70%) erhalten.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.76 (d, 2H), 7.59 (d, 2H), 7.52 (s_{br}, 1H), 7.40-7.31 (m, 17H), 7.28 (t, 2H), 7.24-6.29 (m, 4H), 6.04-5.66 (m, 1H), 4.84-4.69 (m, 6H), 4.71-4.43 (m, 3H), 4.27-4.13 (m, 1H), 4.01-3.72 (m, 1H), 3.70-3.52 (m, 5H), 3.50-3.36 (m, 5H), 3.36-3.10 (m, 9H), 2.74-2.46 (m, 5H), 2.34-2.14 (m, 9H), 1.92-1.72 (m, 8H), 1.73-1.53 (m, 12H), 1.52-1.46 (m, 2H), 1.44-1.38 (m, 10H), 1.34-1.19 (m, 8H).

^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 171.9, 156.6, 144.2, 141.4, 134.2, 129.5, 129.4, 129.4, 129.2, 128.9, 127.8, 127.1, 125.3, 120.1, 81.0, 76.5, 76.4, 76.3, 66.8, 53.1, 50.9, 47.4, 39.5, 36.7, 35.5, 35.2, 33.1, 32.8, 29.2, 28.3, 26.5, 24.9, 24.7, 22.7.

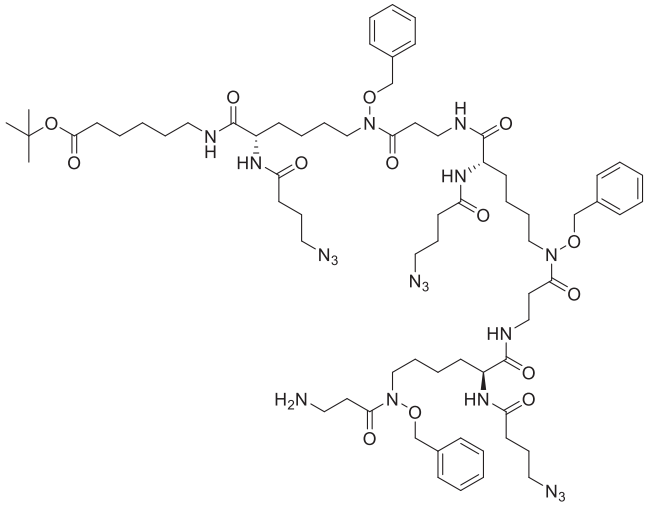
HRMS (ESI pos.) m/z $[M+H]^+$ = ber. für $C_{85}H_{116}N_{19}O_{16}^+$: 1658.8842, gef. 1658.8847.

IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3301.5, 2980.5, 2098.2, 1717.3, 1639.2, 1540.9, 1450.2, 1246.8, 1149.4, 968.1, 739.6, 698.1, 506.2.

Spezifischer Drehwert: α_D^{25} = 3.6 ° (c = 1.4 mg/mL, CH_2Cl_2)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 70% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 11.4 min.

Trimer-AHX-Lysin-NH_2 162

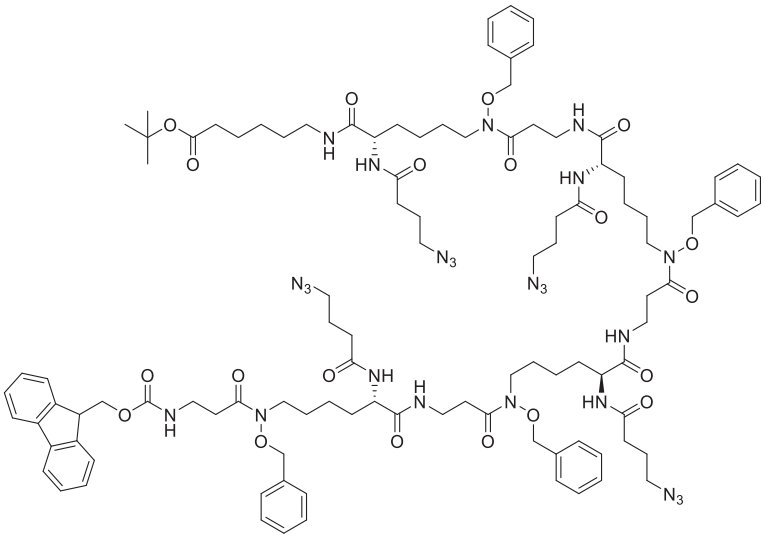


Trimer-Lysin-Fmoc **114** (200 mg, 121 µmol, 1.00 Äq.) wurde in 20% Piperidin in CH_3CN (10 mL) gelöst und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der erhaltene farblose Feststoff säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 24:1+1% NEt_3→8:1+1% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloses Harz (157 mg, 109 µmol, 91%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{105}H_{145}N_{25}O_{20}^{2+}$: 1038.0543, gef. 1038.0512.

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 10% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 5 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 19.5 min.

Tetramer-AHX-Lysin-Fmoc 115



Lysin-Monomer **82** (35.7 mg, 54.3 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (21.6 mg, 57.0 µmol, 1.05 Äq.) und HOBt (14.7 mg, 109 µmol, 2.00 Äq.) in abs. DMF (3 mL) gelöst. DIPEA (28.4 µL, 163 µmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun gelben Lösung wurde Trimer-AHX-Lys-NH_2 **162** (78.0 mg, 54.3 µmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (1 mL) gegeben und die Lösung für 7.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohöl säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 25:1→9:1+0.5% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Produkt mit einer unbekannten Verunreinigung erhalten und daher erneut säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:5+0.1% FA 5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser stark hygroskopischer Feststoff (89.1 mg, 42.9 µmol, 79%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.93-7.64 (m, 3H), 7.64-7.54 (m, 3H), 7.53-7.46 (m, 1H), 7.39-7.31 (m, 25H), 7.30-7.26 (m, 2H), 7.18-6.57 (m, 5H), 6.08-5.66 (m, 1H), 4.79-4.68 (m, 9H), 4.66-4.34 (m, 5H), 4.35-4.29 (m, 2H), 4.24-4.14 (m, 1H), 4.00-3.79 (m, 1H), 3.71-3.53 (m, 8H), 3.51-3.36 (m, 8H), 3.35-3.25 (m, 8H), 3.24-3.08 (m, 5H), 3.01-2.72 (m, 2H), 2.70-2.51 (m, 8H), 2.33-2.11 (m, 13H), 1.92-1.72 (m, 12H), 1.70-1.53 (m, 17H), 1.52-1.44 (m, 4H), 1.43-1.37 (m, 12H), 1.33-1.27 (m, 6H), 1.26-1.17 (m, 6H).

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.0, 173.0, 171.9, 171.9, 171.8, 156.5, 144.0, 141.3, 134.2, 134.1, 129.4, 129.2, 129.2, 129.1, 128.8, 127.6, 127.0, 125.2, 119.9, 80.1, 76.3, 76.2, 66.7, 53.0, 52.9, 52.7, 52.5, 50.8, 50.7, 50.6, 47.2, 44.4, 43.6, 39.3, 36.5, 35.4, 34.9, 33.0, 32.6, 32.3, 32.2, 31.9, 31.8, 31.6, 29.1, 28.1, 26.4, 26.3, 26.2, 24.8, 24.7, 24.6, 23.0, 22.6, 22.5.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{105}H_{145}N_{25}O_{20}^{2+}$: 1038.0543, gef. 1038.0512.

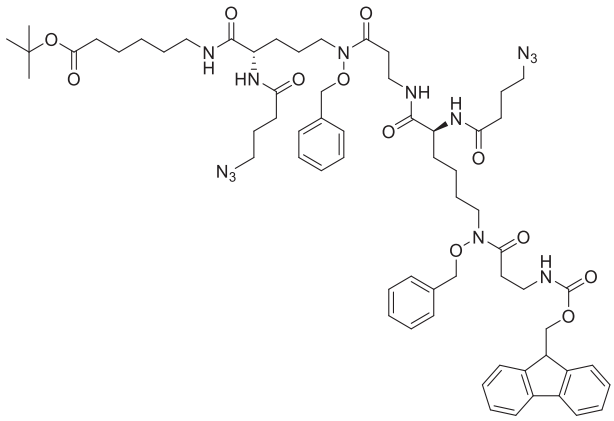
IR: $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3301.5, 2970.8, 2098.2, 1718.3, 1637.3, 1540.9, 1450.2, 1366.3, 1246.8, 1150.3, 1007.6, 954.6, 740.5, 698.1.

Spezifischer Drehwert: α_D^{25} = -8.0 ° (c = 1.0 mg/mL, CH_2Cl_2)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 70% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 12.2 min.

7.2.7. Synthese der alternierenden Liganden

Dimer-AHX-Orn-Lys 116

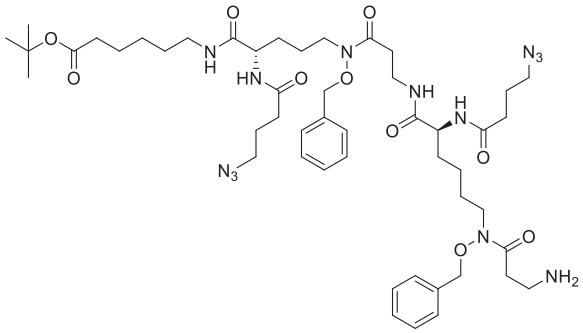


Lysin-Monomer **82** (250 mg, 424 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (169 mg, 445 µmol, 1.05 Äq.) und HOBt (143 mg, 1.06 mmol, 2.50 Äq.) in abs. DMF (5 mL) gelöst. DIPEA (222 µL, 1.27 mmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun gelben Lösung wurde AHX-Orn-NH_2 **157** (250 mg, 424 µmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (5 mL) gegeben und die Lösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit CH_2Cl_2 coevaporiert (3 x 10 mL) um Reste von DMF und DIPEA zu entfernen. Das erhaltene Rohöl wurde säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN, 95:5+0.1% FA→5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das erhaltene farblose Öl lyophyllisiert. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff (273 mg, 222 µmol, 52%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{64}H_{86}N_{13}O_{12}^+$ 1228.6513, gef. 1228.6489.

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 70% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 8.7 min.

Dimer-AHX-Orn-Lys-NH_2 163



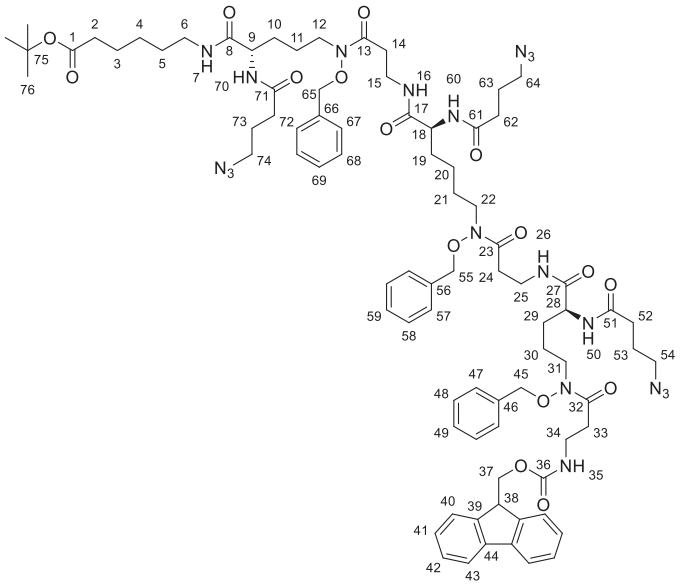
Dimer-AHX-Orn-Lys **116** (247 mg, 201 µmol, 1.00 Äq.) wurde in 20% Piperidin in CH_3CN (9 mL) gelöst und bei Raumtemperatur für 30 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der farblose Feststoff mit CH_2Cl_2 (3 x 5 mL) coevaporiert. Das erhaltene farblose Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2:CH_3OH 15:1+0.1% NEt_3→9:1+1% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloses Harz (200 mg, 199 µmol, 99%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{49}H_{76}N_{13}O_{10}^+$: 1006.5833, gef. 1006.5863.

Retentionsfaktor R_f = 0.48 (CH_2Cl_2/CH_3OH 12:1+0.1% NEt_3 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 10% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 5 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 18.6 min.

Trimer-AHX-Orn-Lys-Orn 118



Ornithin-Monomer **80** (63.2 mg, 98.4 µmol, 1.10 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (37.3 mg, 98.4 µmol, 1.10 Äq.) und HOBt (30.2 mg, 224 µmol, 2.50 Äq.) in abs. DMF (2 mL) gelöst. DIPEA (46.7 µL, 268 µmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun gelben Lösung wurde Dimer-AHX-Orn-Lys-NH_2 **163** (90.0 mg, 89.4 µmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (2 mL) gegeben und die Lösung für 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit CH_2Cl_2 coevaporiert (3 x 5 mL) um Reste von DMF und DIPEA zu entfernen. Das erhaltene Rohöl wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 25:1+0.1% NEt_3→9:1+1% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das erhaltene farblose Öl lyophyllisiert. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff (140 mg, 86.0 µmol, 96%) erhalten.

^{1}**H-NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 9.80 (s_{br}, 1H), 7.75 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 7.40-7.31 (m, 17H), 7.28-7.26 (m, 2H), 7.15-7.04 (m, 1H), 7.00-6.76 (m, 2H), 6.09-6.02 (m, 1H), 4.80-4.72 (m, 6H), 4.66-4.58 (m, 1H), 4.52-4.39 (m, 2H), 4.37-4.30 (m, 2H), 4.20-4.16 (m, 1H), 3.91-3.77 (m, 2H), 3.71-3.58 (m, 3H), 3.56-3.42 (m, 5H), 3.39-3.32 (m, 1H), 3.31-3.23 (m, 6H), 3.21-3.11 (m, 6H), 2.84-2.51 (m, 5H), 2.49-2.38 (m, 1H), 2.34-2.27 (m, 4H), 2.26-2.21 (m, 2H), 2.17 (t, 2H), 1.90-1.80 (m, 6H), 1.75-1.52 (m, 13H), 1.48-1.41 (m, 11H), 1.37 (t, 6H), 1.31-1.24 (m, 4H).

^{13}**C-NMR** (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.1, 172.8, 172.2, 156.7, 144.2, 141.4, 134.1, 129.5, 129.5, 129.4, 129.4, 129.4, 129.4, 129.3, 129.3, 128.9, 128.9, 127.8, 127.2, 125.3, 120.1, 80.2, 76.5, 76.4, 66.8, 52.7, 52.7, 52.6, 52.1, 50.9, 50.9, 50.9, 50.8, 50.8, 50.8, 47.4, 46.7, 44.7, 44.4, 44.3,

39.7, 36.7, 35.9, 35.5, 35.3, 35.1, 33.1, 33.0, 32.9, 32.8, 32.4, 32.2, 30.2, 29.3, 29.1, 28.3, 26.4, 26.4, 26.3, 24.9, 24.9, 24.7, 24.7, 23.2, 23.1, 23.0, 22.9, 22.6, 22.6, 8.8

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+H]^+$ = ber. für $C_{83}H_{112}N_{19}O_{16}^+$: 1630.8529, gef. 1630.8571.

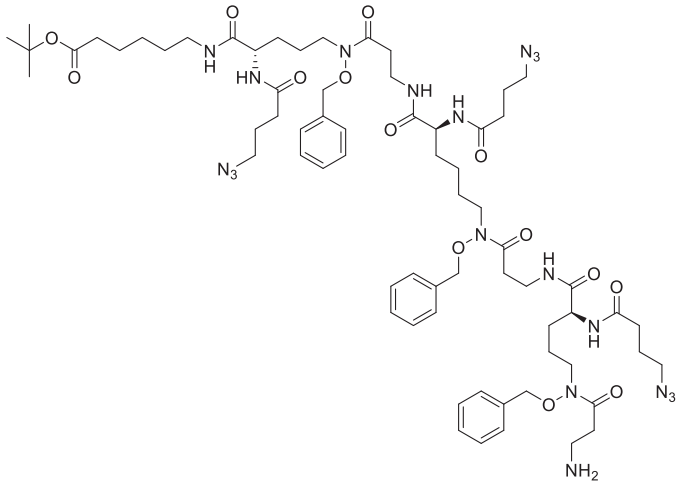
IR $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3302.5, 3075.9, 2941.9, 2869.6, 2094.3, 1730.8, 1636.3, 1539.9, 1529.3, 1525.4, 1449.2, 1367.3, 1295.9, 1268.9, 1242.9, 1203.4, 1146.5, 1062.6, 1000.9, 912.2, 853.4, 757.9, 754.0, 741.5, 698.1, 650.9, 557.3.

Retentionsfaktor R_f = 0.52 (CH_2Cl_2/CH_3OH 25:2+0.1% NEt_3 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

Spezifischer Drehwert: α_D^{25} = 8.2 ° (c = 1.1 mg/mL, CH_2Cl_2)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 70% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 8.7 min.

Trimer-AHX-Orn-Lys-Orn-NH_2 164

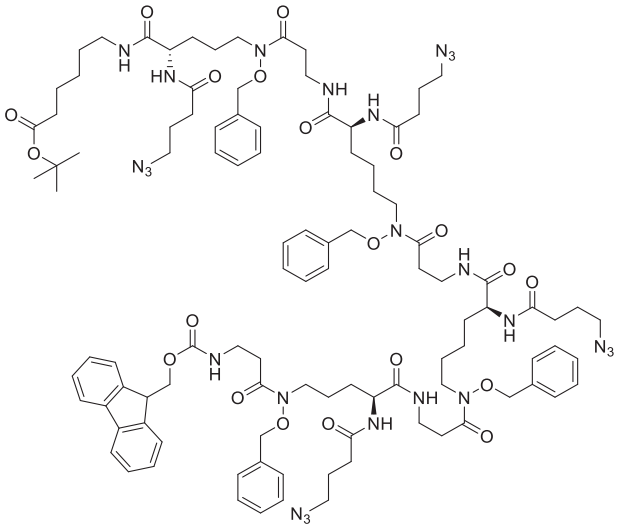


Trimer-AHX-Orn-Lys-Orn **118** (50.0 mg, 30.7 µmol, 1.00 Äq.) wurde in 20% Piperidin in CH_3CN (5 mL) gelöst und bei Raumtemperatur für 30 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der farblose Feststoff mit CH_2Cl_2 (3 x 5 mL) coevaporiert. Das erhaltene farblose Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2:CH_3OH 25:1+0.2% NEt_3→10:1+0.5% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloses Harz (41.8 mg, 29.7 µmol, 97%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{68}H_{103}N_{19}O_{14}^{2+}$: 704.8960, gef. 704.8945.

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 10% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 5 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 19.4 min.

Tetramer-AHX-Orn-Lys-Orn-Lys 119



Lysin-Monomer **82** (14.8 mg, 22.6 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (8.99 mg, 23.7 µmol, 1.05 Äq.) und HOBt (7.63 mg, 56.4 µmol, 2.50 Äq.) in abs. DMF (0.5 mL) gelöst. DIPEA (11.8 µL, 67.7 µmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun blassgelben Lösung wurde Trimer-AHX-Orn-Lys-Orn-NH_2 **164** (31.8 mg, 22.6 µmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (2.3 mL) gegeben und die Lösung für 7 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene braune Rückstand lyophyllisiert. Das erhaltene gelbe Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2:CH_3OH 25:1+0.1% NEt_3→25:2+0.5% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (17.4 mg, 8.50 µmol, 38%) erhalten.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.74 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 7.55-7.43 (m, 1H), 7.40 (m, 22H), 7.28 (t, 2H), 7.23-6.98 (m, 3H), 6.97-6.68 (m, 2H), 6.07-5.73 (m, 1H), 4.84-4.68 (m, 8H), 4.61-4.51 (m, 1H), 4.50-4.45 (m, 1H), 4.44-4.37 (m, 2H), 4.36-4.27 (m, 2H), 4.24-4.13 (m, 1H), 3.96-3.72 (m, 2H), 3.70-3.51 (m, 7H), 3.50-3.35 (m, 6H), 3.31-3.22 (m, 8H), 3.21-3.11 (m, 2H), 2.84-2.41 (m, 8H), 2.32-2.23 (m, 6H), 2.20-1.95 (m, 6H), 1.89-1.79 (m, 8H), 1.75-1.69 (m, 2H), 1.67-1.60 (m, 7H), 1.58-1.52 (m, 5H), 1.49-1.44 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.37-1.17 (m, 10H).

Weitere Signale: δ [ppm] = 0.88 und 0.31 konnten nicht zugeordnet werden.

^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 172.0, 156.6, 144.2, 141.4, 134.2, 129.5, 129.4, 129.3, 129.2, 128.9, 127.8, 127.1, 125.3, 120.1, 80.2, 76.6, 76.4, 66.8, 52.5, 50.9, 47.4, 44.5, 39.5, 36.6, 35.5, 35.1, 33.1, 32.4, 29.3, 28.3, 26.5, 24.9, 24.8, 22.7.

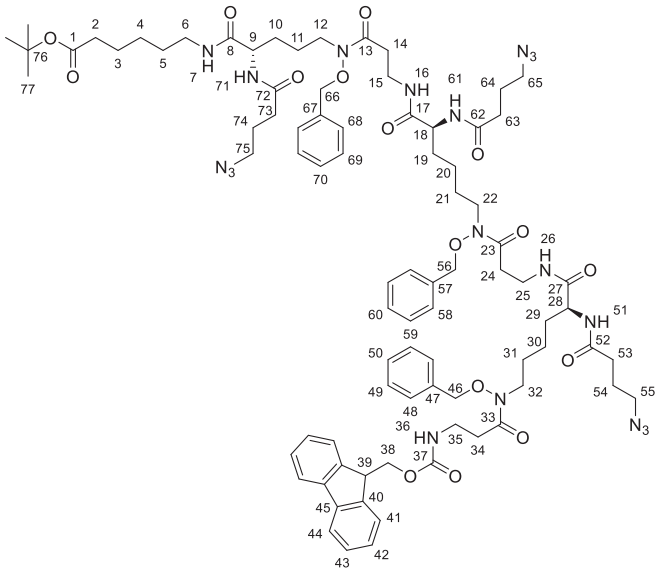
Weitere Signale: δ [ppm] = 99.7 konnte nicht zugeordnet werden.

HRMS (ESI pos.) m/z $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{103}H_{141}N_{25}O_{20}^{2+}$: 1024.0387, gef. 1024.0381.

Retentionsfaktor: R_f = 0.44 (CH_2Cl_2/CH_3OH 15:1+0.1% NEt_3 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 70% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 16.4 min.

Trimer-AHX-Orn-Lys-Lys 117



Lysin-Monomer **82** (64.6 mg, 98.4 µmol, 1.10 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (37.3 mg, 98.4 µmol, 1.10 Äq.) und HOBt (30.2 mg, 224 µmol, 2.50 Äq.) in abs. DMF (2 mL) gelöst. DIPEA (46.7 µL, 268 µmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun gelben Lösung wurde Dimer-AHX-Orn-Lys-NH_2 **163** (90.0 mg, 89.4 µmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (2 mL) gegeben und die Lösung für 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit CH_2Cl_2 coevaporiert (3 x 5 mL) um Reste von DMF und DIPEA zu entfernen. Das erhaltene Rohöl wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2/CH_3OH, 25:1+0.1% NEt_3→9:1+1% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des

Lösungsmittels im Vakuum wurde das erhaltene farblose Öl lyophyllisiert. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff (135 mg, 81.8 µmol, 92%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.75 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 7.39-7.27 (m, 19H), 7.11-6.99 (m, 2H), 6.89-6.65 (m, 1H), 5.73 (s_{br}, 1H), 4.77-4.73 (m, 6H), 4.53-4.38 (m, 3H), 4.34 (d, 2H), 4.20-4.17 (m, 1H), 3.94-3.74 (m, 6H), 3.54-3.35 (m, 6H), 3.32-3.24 (m, 6H), 3.18-3.09 (m, 4H), 2.84-2.60 (m, 4H), 2.58-2.40 (m, 2H), 2.34-2.27 (m, 4H), 2.19-2.16 (m, 4H), 1.91-1.85 (m, 4H), 1.84-1.80 (m, 2H), 1.78-1.70 (m, 2H), 1.67-1.58 (m, 7H), 1.57-1.52 (m, 3H), 1.49-1.44 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.37 (t, 4H), 1.33-1.24 (m, 6H).

Aufgrund von Rotameren, inter- und intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen ist eine extreme Signalverbreiterung sowie ein starker Intensitätsverlust in den 2D-Spektren zu beobachten. Eine genaue Zuordnung aller Signale ist somit nicht möglich.

^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 173.2, 172.6, 172.0, 156.6, 144.1, 141.4, 134.2, 129.5, 129.5, 129.4, 129.4, 129.4, 129.3, 128.9, 128.9, 127.8, 127.2, 125.3, 120.1, 100.1, 80.2, 76.5, 76.4, 76.4, 66.9, 53.3, 52.7, 52.7, 52.6, 52.5, 50.9, 50.9, 50.8, 47.4, 46.7, 44.7, 44.3, 44.0, 39.6, 39.6, 36.6, 35.8, 35.8, 35.5, 35.2, 33.1, 33.1, 33.0, 32.9, 32.9, 32.8, 32.5, 32.4, 32.2, 29.1, 28.3, 26.5, 26.4, 25.0, 24.9, 24.9, 24.8, 24.7, 22.7, 22.6, 8.8.

HRMS (ESI pos): m/z $[M+H]^+$ = ber. für $C_{84}H_{114}N_{19}O_{16}^+$: 1644.8685, gef. 1644.8678.

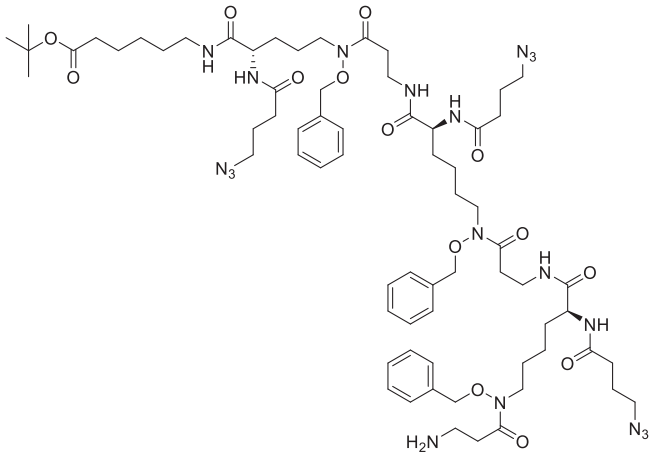
IR $\tilde{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 3298.6, 3070.1, 2939.0, 2863.8, 2094.3, 1636.3, 1538.0, 1449.2, 1423.2, 1409.7, 1367.3, 1295.9, 1269.0, 1240.0, 1203.4, 1148.4, 1059.7, 998.0, 912.2, 840.8, 742.5, 696.2, 653.8, 627.7, 555.4.

Retentionsfaktor R_f = 0.52 (CH_2Cl_2/CH_3OH 25:2+0.1% NEt_3 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

Spezifischer Drehwert: α_D^{25} = -2.0 ° (c = 1.0 mg/mL, CH_2Cl_2)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 70% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 6.4 min.

Trimer-AHX-Orn-Lys-Lys-NH_2 165

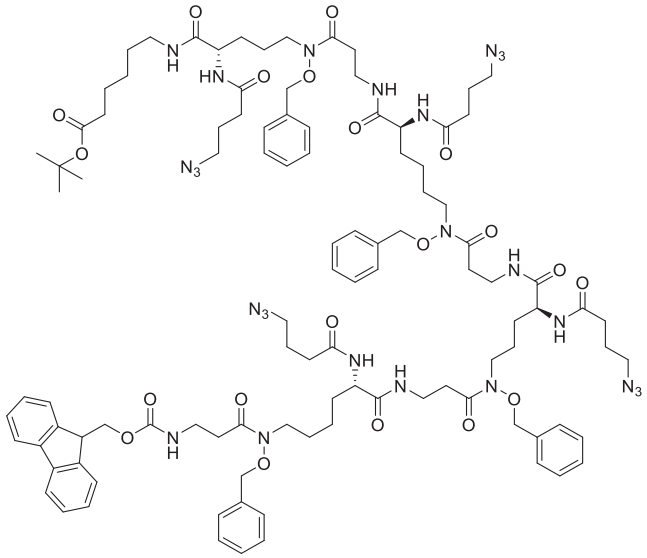


Trimer-AHX-Orn-Lys-Lys **117** (50.0 mg, 30.4 µmol, 1.00 Äq.) wurde in 20% Piperidin in CH_3CN (5 mL) gelöst und bei Raumtemperatur für 30 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der farblose Feststoff mit CH_2Cl_2 (3 x 5 mL) coevaporiert. Das erhaltene farblose Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2:CH_3OH 20:1+0.2% NEt_3→10:1+1% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (42.0 mg, 29.5 µmol, 97%) erhalten.

HRMS (ESI pos): *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{69}H_{105}N_{19}O_{14}^{2+}$: 711.9039, gef. 711.9023.

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 10% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 5 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 19.5 min.

Tetramer-Orn-Lys-Lys-Orn 120



Ornithin-Monomer **80** (15.5 mg, 22.5 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit HBTU (8.96 mg, 23.6 µmol, 1.05 Äq.) und HOBt (7.60 mg, 56.2 µmol, 2.50 Äq.) in abs. DMF (0.5 mL) gelöst. DIPEA (11.8 µL, 67.5 µmol, 3.00 Äq.) wurde zugegeben und die Lösung für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der nun blassgelben Lösung wurde Trimer-AHX-Orn-Lys-Lys-NH_2 **165** (32.0 mg, 22.5 µmol, 1.00 Äq.) gelöst in abs. DMF (2.3 mL) gegeben und die Lösung für 7 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand lyophyllisiert. Das erhaltene gelbe Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an SiO_2 (CH_2Cl_2:CH_3OH 25:1+0.1% NEt_3→25:2+0.5% NEt_3 v/v) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und anschließender Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (13.0 mg, 8.50 µmol, 28%) erhalten.

^{1}**H-NMR** (500 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 7.75 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 7.39-7.32 (m, 22H), 7.30-7.27 (m, 2H), 7.22-6.85 (m, 4H), 6.80-6.60 (m, 1H), 6.24-5.89 (m, 1H), 4.79-4.70 (m, 8H), 4.68-4.57 (m, 1H), 4.56-4.37 (m, 3H), 4.36-4.25 (m, 2H), 4.24-4.12 (m, 1H), 3.94-3.77 (m, 2H), 3.74-3.67 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 4H), 3.52-3.40 (m, 6H), 3.38-3.33 (m, 1H), 3.31-3.21 (m, 9H), 3.18-3.07 (m, 2H), 2.87-2.68 (m, 2H), 2.65-2.54 (m, 4H), 2.50-2.42 (m, 1H), 2.31-2.24 (m, 5H), 2.23-2.12 (m, 5H), 1.90-1.80 (m, 9H), 1.76-1.66 (m, 5H9, 1.65-1.51 (m, 13H), 1.49-1.44 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.32-1.19 (m, 10H).

Weitere Signale: δ [ppm] = 0.88, 0.12, 0.09 und 0.07 ohne Zuordnung.

^{13}C-NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm] = 172.1, 144.2, 141.4, 129.5, 129.2, 128.9, 127.8, 127.2, 125.3, 120.1, 81.3, 77.4, 77.2, 76.9, 76.4, 66.8, 50.9, 47.4, 44.5, 44.4, 39.5, 36.7, 35.5, 33.1, 32.4, 29.8, 29.3, 28.3, 26.5, 24.9, 24.8, 23.2, 22.7.

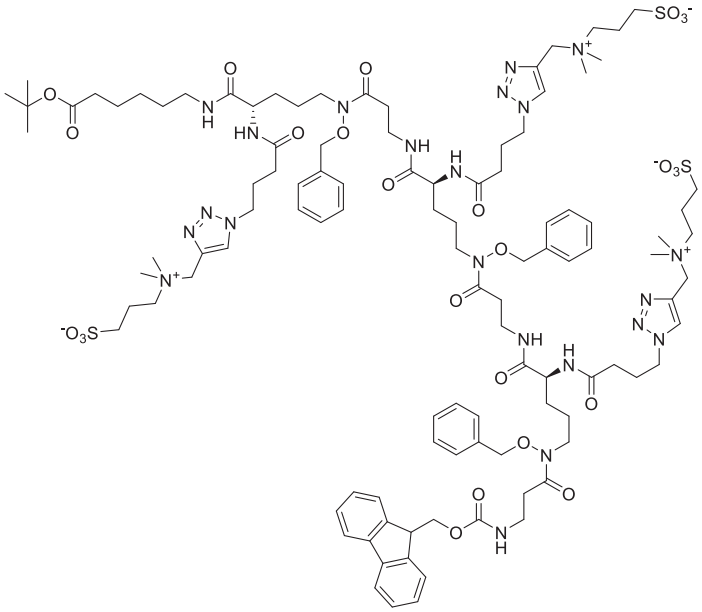
HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{103}H_{141}N_{25}O_{20}^{2+}$: 1024.0387, gef. 1024.0374.

Retentionsfaktor: R_f = 0.42 (CH_2Cl_2/CH_3OH 15:1+0.1% NEt_3 v/v, UV_{254}, Ninhydrin)

HPLC (Nucleodur RP8, 150 x 2 mm ID, 5 µm Partikel, 2min halten 70% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, dann in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 16.2 min.

7.2.8. Seitenkettenfunktionalisierung mittels „Click“-Chemie

Trimer-Click-Ornithin 125



Trimer-AHX-Ornithin **110** (200.0 mg, 124 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit Zwitterion **123** (114 mg, 557 µmol, 1.50 Äq. pro Azid), CuI (8.83 mg, 46.4 µmol, 0.13 Äq. pro Azid) und Natriumascorbat (48.9 mg, 247 µmol, 0.67 Äq. pro Azid) in CH_3CN (8 mL) suspendiert. Es wurde demin. H_2O zugegeben bis eine klare Lösung entstand (2 mL). Die Reaktionslösung wurde 2 h unter Mikrowellenbedingungen bei 70 °C gerührt. Die erhaltene blassgrüne Suspension wurde lyophyllisiert, und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:5+0.1% FA→5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser, hygroskopischer Feststoff (239 mg, 107 µmol, 87%) erhalten.

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 8.48 (s, 1H), 8.47 (s, 2H), 8.06 (d, 2H, ^3J = 8.0 Hz), 8.02 (d, 1H, ^3J = 8.0 Hz), 7.96-7.92 (m, 2H), 7.88 (d, 2H, ^3J = 7.6 Hz), 7.86 (t, 1H, ^3J = 5.8 Hz), 7.67 (d, 2H, ^3J = 7.5 Hz), 7.43-7.35 (m, 17H), 7.33-7.28 (m, 3H), 4.85-4.77 (m, 6H), 4.65-4.61 (m, 6H), 4.42-4.34 (m, 6H), 4.28 (d, 2H, ^3J = 7.4 Hz), 4.23-4.16 (m, 4H), 3.64-3.55 (m, 6H),

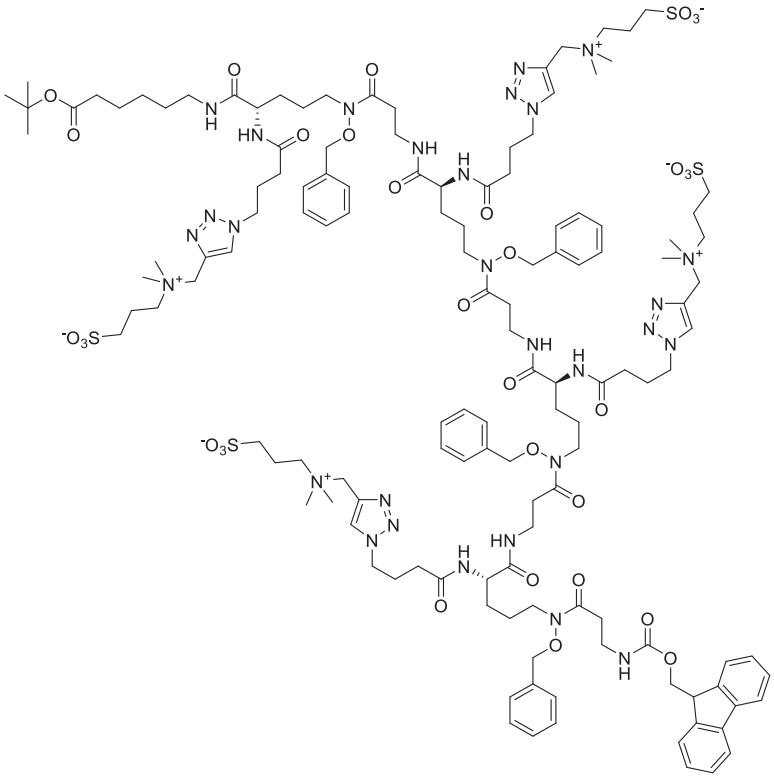
Aufgrund von Überlagerung mit dem Lösungsmittelsignal δ = 2.50 ppm und δ = 3.33 ppm stimmt die Protonenanzahl im NMR nicht mit der tatsächlichen Anzahl überein.

^{13}C-NMR (151 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 172.2, 171.7, 163.8, 143.9, 140.7, 135.1, 129.4, 128.7, 128.4, 128.2, 127.6, 127.0, 120.1, 115.1, 79.3, 61.8, 57.0, 52.3, 49.7, 49.3, 47.6, 46.7, 40.1, 39.9, 39.8, 39.7, 39.5, 39.4, 39.2, 39.1, 34.7, 31.6, 28.7, 27.8, 25.7, 25.6, 25.5, 24.2, 18.9, 17.0.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{106}H_{156}N_{22}O_{25}S_3^{2+}$: 1116.5382, gef. 1116.5409.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 5% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA in 10 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.6 mL/min, 190-500 nm): t_R = 8.2 min.

Tetramer-Click-Ornithin 127



Tetramer-AHX-Ornithin **111** (100.0 mg, 49.5 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit Zwitterion **123** (61.0 mg, 297 µmol, 1.50 Äq. pro Azid), CuI (4.72 mg, 24.8 µmol, 0.13 Äq. Pro Azid) und Natriumascorbat (26.2 mg, 132 µmol, 0.67 Äq. pro Azid) in CH_3CN (5 mL) suspendiert. Es wurde demin. H_2O zugegeben bis eine klare Lösung entstand (1.5 mL). Die Reaktionslösung wurde 2 h unter Mikrowellenbedingungen bei 70 °C gerührt. Die erhaltene blassgrüne Suspension wurde lyophyllisiert, und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:5+0.1% FA→5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser, hygroskopischer Feststoff (122 mg, 42.9 µmol, 87%) erhalten.

^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 8.48 (s, 1H), 8.46 (s, 3H), 8.08-8.00 (m, 4H), 7.98-7.91 (m, 3H), 7.90-7.84 (m, 3H), 7.71-7.64 (m, 2H), 7.43-7.27 (m, 25H), 4.84-4.75 (m, 8H), 4.62 (s,

8H), 4.42-4.32 (m, 8H), 4.30-4.13 (m, 8H), 3.64-3.55 (m, 8H), 3.29-3.14 (m, 9H), 2.99 (s, 24H), 2.63-2.54 (m, 8H), 2.19-1.95 (m, 27H), 1.64-1.41 (m, 19H), 1.37-1.31 (m, 11H), 1.28-1.14 (m, 4H).

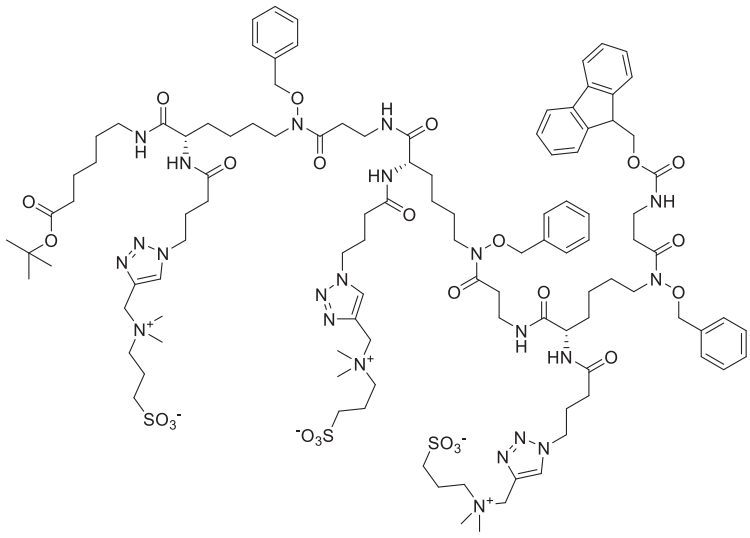
Aufgrund von Überlagerung mit dem Lösungsmittelsignal δ = 2.50 ppm und δ = 3.33 ppm stimmt die Protonenanzahl im NMR nicht mit der tatsächlichen Anzahl überein.

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 176.4, 174.2, 171.2, 153.2, 135.1, 129.4, 128.7, 128.4, 128.3, 127.6, 127.0, 125.1, 120.1, 99.5, 75.4, 61.8, 57.0, 52.3, 49.7, 49.3, 47.6, 43.7, 38.3, 36.3, 34.7, 31.6, 27.8, 25.7, 25.6, 24.9, 24.3, 18.9.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+3H]^{3+}$ = ber. für $C_{133}H_{197}N_{29}O_{32}S_4^{3+}$: 1420.1776, gef. 1420.1751.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 5 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 19.9 min.

Trimer-Click-Lysin 124



Trimer-AHX-Lysin **114** (100.0 mg, 60.3 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit Zwitterion **123** (55.7 mg, 271 µmol, 1.50 Äq. pro Azid), CuI (4.36 mg, 22.9 µmol, 0.13 Äq. Pro Azid) und Natriumascorbat (23.9 mg, 121 µmol, 0.67 Äq. pro Azid) in CH_3CN (5 mL) suspendiert. Es wurde demin. H_2O zugegeben bis eine klare Lösung entstand (1.5 mL). Die Reaktionslösung wurde 2 h unter Mikrowellenbedingungen bei 70 °C gerührt. Die erhaltene blassgrüne Suspension wurde lyophyllisiert, und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:5+0.1% FA→5:95+0.1% FA v/v)

gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser, hygroskopischer Feststoff (126 mg, 55.3 µmol, 92%) erhalten.

^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 8.49 (s, 1H), 8.47 (s, 2H), 8.04-7.84 (m, 9H), 7.69-7.64 (m, 2H), 7.43-7.27 (m, 21H), 4.84-4.77 (m, 6H), 4.63 (s, 6H), 4.44-4.25 (m, 9H), 4.24-4.07 (m, 5H), 3.61-3.50 (m, 6H), 3.41-3.35 (m, 6H), 3.28-3.15 (m, 7H), 3.00 (s, 20H), 2.64-2.53 (m, 6H), 2.19-1.99 (m, 21H), 1.64-1.39 (m, 16H), 1.39-1.33 (s, 11H), 1.30-1.12 (m, 10H).

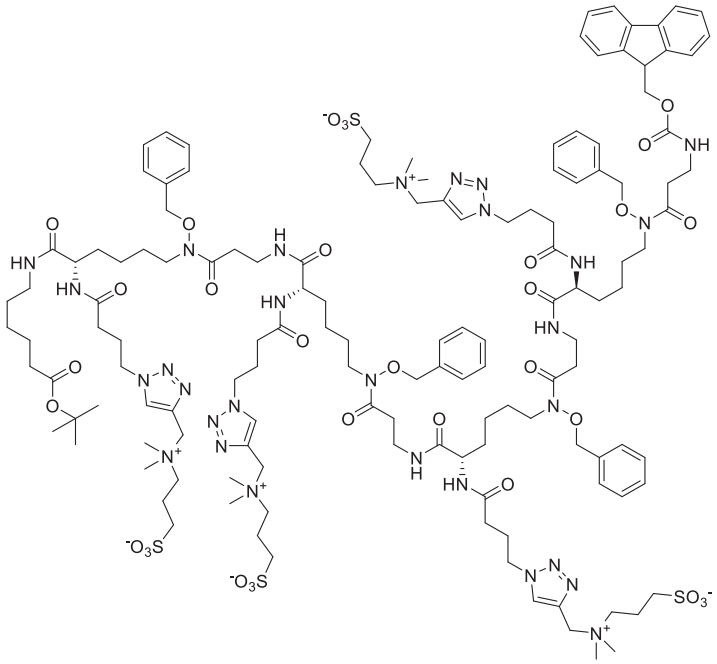
Aufgrund von Überlagerung mit dem Lösungsmittelsignal δ = 2.50 ppm und δ = 3.33 ppm stimmt die Protonenanzahl im NMR nicht mit der tatsächlichen Anzahl überein.

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 171.9, 171.1, 155.4, 143.9, 140.7, 137.4, 135.1, 129.4, 128.7, 128.5, 128.3, 127.6, 127.5, 127.0, 125.1, 120.1, 75.5, 61.8, 57.0, 52.6, 51.0, 49.7, 49.3, 47.6, 36.4, 34.7, 31.6, 28.7, 27.8, 26.7, 25.6, 24.3, 22.7, 18.9.

HRMS (ESI pos.) m/z $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{109}H_{162}N_{22}O_{25}S_3^{2+}$: 1137.5616, gef. 1137.5610.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 5 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 20.1 min.

Tetramer-Click-Lysin 128



Tetramer-AHX-Lysin **115** (57.8 mg, 27.9 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit Zwitterion **123** (34.3 mg, 167 µmol, 1.50 Äq. pro Azid), CuI (2.65 mg, 13.9 µmol, 0.13 Äq. Pro Azid) und Natriumascorbat (14.7 mg, 74.4 µmol, 0.67 Äq. pro Azid) in CH_3CN (3.5 mL) suspendiert. Es wurde demin. H_2O zugegeben bis eine klare Lösung entstand (1 mL). Die Reaktionslösung wurde 1.5 h unter Mikrowellenbedingungen bei 70 °C gerührt. Die erhaltene blassgrüne Suspension wurde lyophyllisiert, und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:5+0.1% FA→5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (26.3 mg, 9.08 µmol, 34%) erhalten.

^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 8.49 (s, 1H), 8.47 (s, 3H), 8.04-7.85 (m, 9H), 7.69-7.65 (m, 2H), 7.43-7.27 (m, 25H), 4.86-4.75 (m, 8H), 4.63 (s, 8H), 4.44-4.32 (m, 8H), 4.30-4.24 (m, 2H), 4.23-4.09 (m, 5H), 3.63-3.48 (m, 8H), 3.42-3.36 (m, 4H), 3.30-3.16 (m, 9H), 3.00 (s, 24H), 2.62-2.54 (m, 6H), 2.19-1.99 (m, 25H), 1.65-1.40 (m, 18H), 1.37 (s, 9H), 1.35-1.29 (m, 2H), 1.28-1.12 (m, 10H).

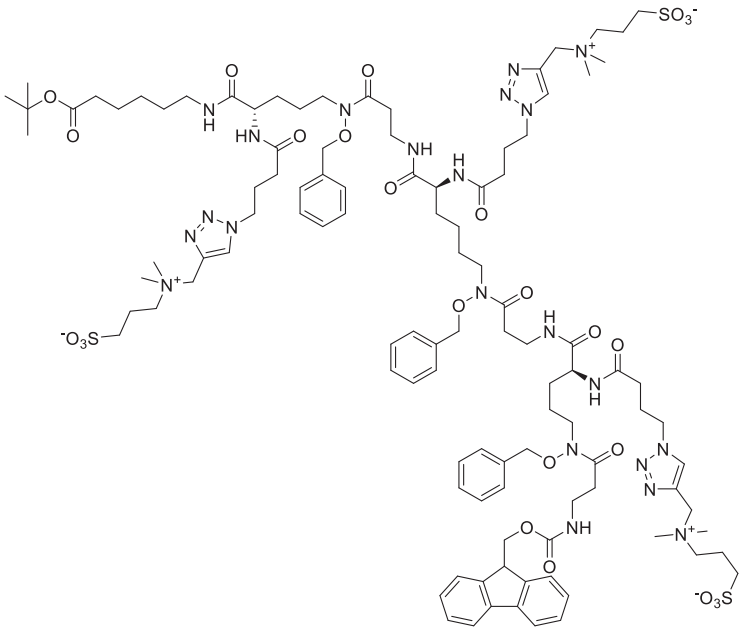
Aufgrund von Überlagerung mit dem Lösungsmittelsignal δ = 2.50 ppm und δ = 3.33 ppm stimmt die Protonenanzahl im NMR nicht mit der tatsächlichen Anzahl überein.

^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 171.9, 171.5, 171.1, 154.7, 154.3, 143.9, 140.7, 135.1, 129.4, 128.7, 128.5, 128.3, 127.6, 127.1, 125.1, 120.1, 75.6, 61.8, 57.0, 52.6, 49.7, 49.3, 47.6, 44.2, 36.6, 34.7, 31.6, 28.7, 27.8, 26.2, 25.6, 24.3, 22.8, 18.9.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+3H]^{3+}$ ber. für $C_{137}H_{206}N_{29}O_{32}S_4^{3+}$: 965.8083, gef. 965.8063.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 5 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 20.3 min.

Trimer-Click-AHX-Orn-Lys-Orn 126

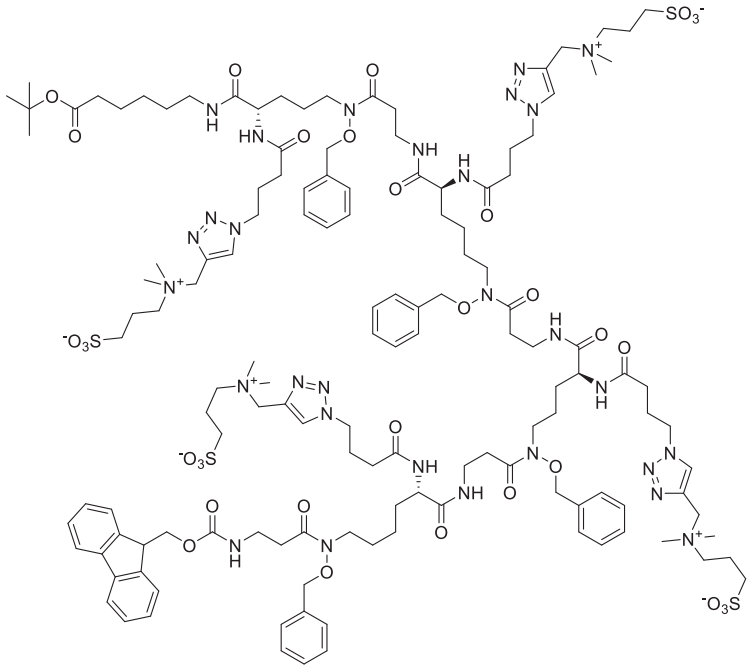


Trimer-AHX-Orn-Lys-Orn **118** (50.0 mg, 30.7 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit Zwitterion **123** (28.3 mg, 138 µmol, 1.50 Äq. pro Azid), CuI (2.22 mg, 11.7 µmol, 0.13 Äq. Pro Azid) und Natriumascorbat (12.2 mg, 61.3 µmol, 0.67 Äq. pro Azid) in CH_3CN (3.5 mL) suspendiert. Es wurde demin. H_2O zugegeben bis eine klare Lösung entstand (1 mL). Die Reaktionslösung wurde 1.5 h unter Mikrowellenbedingungen bei 70 °C gerührt. Die erhaltene blassgrüne Suspension wurde lyophyllisiert, und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:5+0.1% FA→5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (31.3 mg, 13.9 µmol, 45%) erhalten, wobei eine teilweise Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe beobachtet wurde. Das erhaltene Produkt wurde ohne weitere Reinigung für die folgende Synthese verwendet.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{107}H_{158}N_{22}O_{25}S_3^{2+}$: 1123.5460, gef. 1123.5423; $[M+2H-Fmoc]^{2+}$ = ber. für $C_{92}H_{148}N_{22}O_{23}S_3^{2+}$: 1012.5119, gef. 1012.5121.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 20.3 min (Produkt); t_R = 16.6 min (Produkt-Fmoc).

Tetramer-Click-AHX-Orn-Lys-Orn-Lys 130

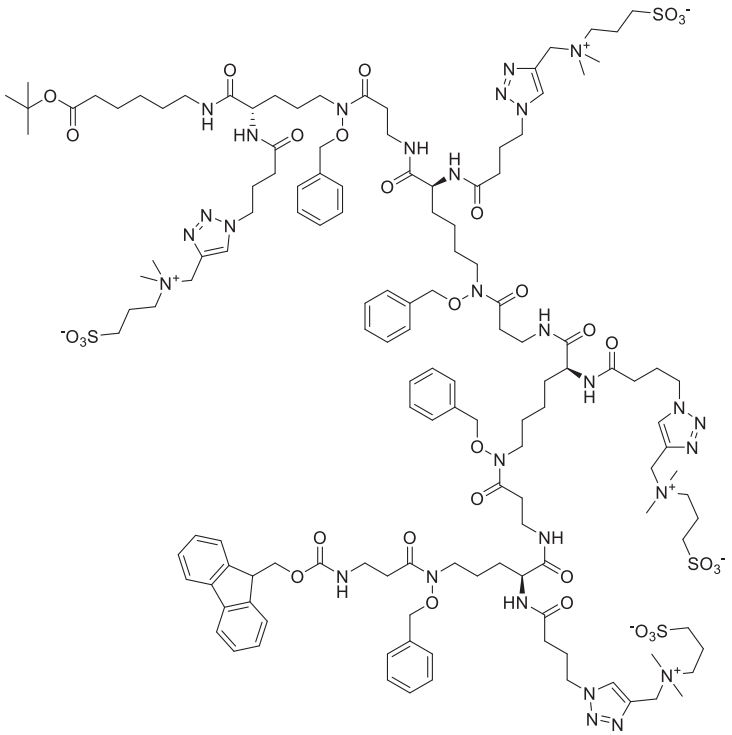


Tetramer-AHX-Orn-Lys-Orn-Lys **119** (15.3 mg, 7.47 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit Zwitterion **123** (9.20 mg, 44.8 µmol, 1.50 Äq. pro Azid), CuI (740 µg, 3.89 µmol, 0.13 Äq. Pro Azid) und Natriumascorbat (3.97 mg, 20.0 µmol, 0.67 Äq. pro Azid) in CH_3CN (2.0 mL) suspendiert. Es wurde demin. H_2O zugegeben bis eine klare Lösung entstand (1.0 mL). Die Reaktionslösung wurde 2 h unter Mikrowellenbedingungen bei 70 °C gerührt. Die erhaltene blassgrüne Suspension wurde lyophyllisiert, und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:5+0.1% FA→5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (18.6 mg, 6.48 µmol, 87%) erhalten, wobei eine Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe beobachtet wurde.

ESI-MS *m/z* $[M+3H-Fmoc]^{3+}$ = ber. für $C_{120}H_{192}N_{29}O_{30}S_4^{2+}$: 882.7763, gef. 882.7703.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 20.4 min (Produkt); t_R = 16.7 min (Produkt-Fmoc).

Tetramer-Click-AHX-Orn-Lys-Lys-Orn 129



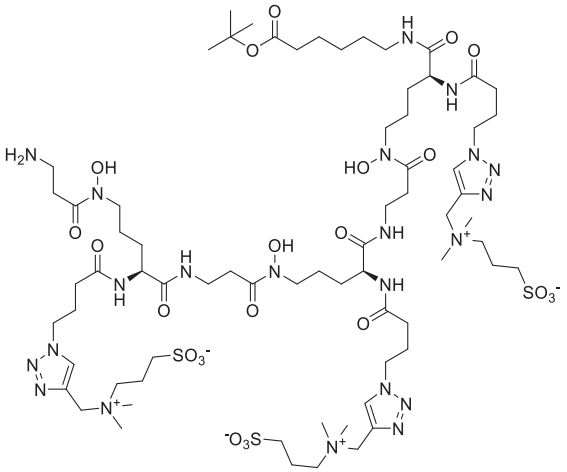
Tetramer-AHX-Orn-Lys-Lys-Orn **120** (27.5 mg, 13.4 µmol, 1.00 Äq.) wurde zusammen mit Zwitterion **123** (16.5 mg, 80.6 µmol, 1.50 Äq. pro Azid), CuI (1.33 mg, 6.98 µmol, 0.13 Äq. Pro Azid) und Natriumascorbat (7.13 mg, 36.0 µmol, 0.67 Äq. pro Azid) in CH_3CN (2.0 mL) suspendiert. Es wurde demin. H_2O zugegeben bis eine klare Lösung entstand (1.0 mL). Die Reaktionslösung wurde 2 h unter Mikrowellenbedingungen bei 70 °C gerührt. Die erhaltene blassgrüne Suspension wurde lyophyllisiert, und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an SiO_2-RP18 (H_2O/CH_3CN 95:5+0.1% FA→5:95+0.1% FA v/v) gereinigt. Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (25.7 mg, 8.96 µmol, 67%) erhalten, wobei eine teilweise Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe beobachtet wurde.

ESI-MS *m/z* $[M+3H-Fmoc]^{3+}$ = ber. für $C_{120}H_{192}N_{29}O_{30}S_4^{3+}$: 882.7763, gef. 882.7704.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 20.3 min (Produkt); t_R = 16.6 min (Produkt-Fmoc).

7.2.9. Abspaltung der verbleibenden Schutzgruppen

Ligand-Trimer-Ornithin 133



Trimer-Click-Ornithin **125** (15.2 mg, 6.81 µmol, 1.00 Äq.) wurde in einer Mischung aus H_2O/CH_3OH (2:1 3 mL + 0.6 mL Essigsäure) gelöst und mit Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.00 mg) versetzt. Die schwarze Suspension wurde unter H_2-Atmosphäre über 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde mittels Filtration über ein Celite-Pad entfernt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene farblose Rückstand wurde lyophyllisiert und im Anschluss in demin. H_2O (4 mL) aufgenommen und mit Piperidin (1 mL) versetzt, woraufhin das Fmoc-Piperidin-Addukt als weißer voluminöser Feststoff aus der Lösung ausfiel. Nach Rühren für 15 min wurde die erhaltene Suspension über ein Watte-Pad filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Gefriertrocknung wurde der erhaltene farblose Feststoff mittels präparativer HPLC gereinigt.

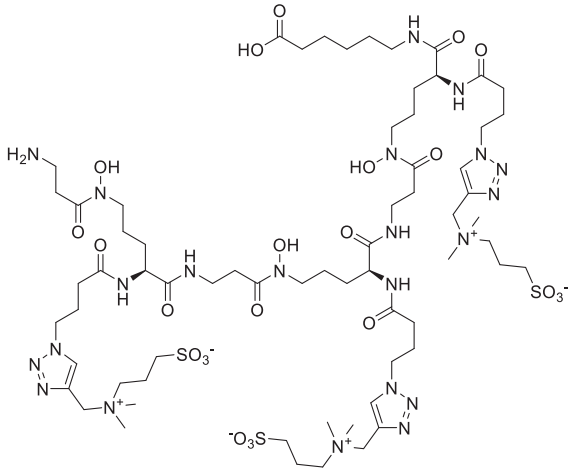
Methode: NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.1% FA, 4 min halten, linearer Gradient auf 98% CH_3CN in H_2O in 26 min, 4 min halten, 5.0 mL/min, 200 nm. t_R = 13.4 min

Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (11.0 mg, 6.32 µmol, 93%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber- für $C_{70}H_{128}N_{22}O_{23}S_3^{2+}$: 870.4337, gef. 870.4301.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 5 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 14.3 min

Ligand-Trimer-Ornithin-COOH 135



Trimer-Click-Ornithin **125** (15.0 mg, 6.72 µmol, 1.00 Äq.) wurde in einer Mischung aus H_2O/CH_3OH (2:1 3 mL + 0.6 mL Essigsäure) gelöst und mit Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.00 mg) versetzt. Die schwarze Suspension wurde unter H_2-Atmosphäre über 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde mittels Filtration über ein Celite-Pad entfernt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in einem Gemisch aus TFA/H_2O/TES (20:20:1, 1 mL) aufgenommen und für 120 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene farblose Rückstand lyophyllisiert. Das erhaltene blassgelbe Harz wurde in demin. H_2O (4 mL) aufgenommen und mit Piperidin (1 mL) versetzt, woraufhin das Fmoc-Piperidin-Addukt als weißer voluminöser Feststoff aus der Lösung ausfiel. Nach Rühren für 15 min wurde die erhaltene Suspension über ein Watte-Pad filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Gefriertrocknung wurde der erhaltene farblose Feststoff mittels präparativer HPLC gereinigt.

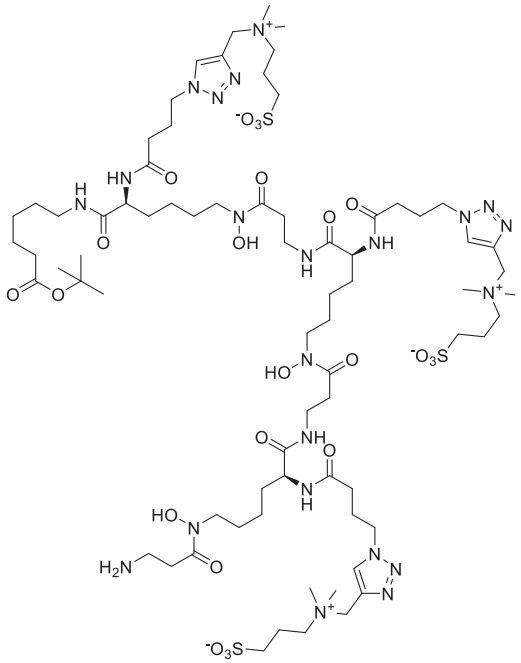
Methode: NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.1% FA, 4 min halten, linearer Gradient auf 98% CH_3CN in H_2O in 26 min, 4 min halten, 5.0 mL/min, 200 nm. t_R = 10.3 min

Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (9.90 mg, 5.94 µmol, 88%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{66}H_{120}N_{22}O_{23}S_3^{2+}$ 842.4024, gef. 842.0427.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 17.1 min.

Ligand-Trimer-Lysin 132



Trimer-Click-Lysin **124** (15.6 mg, 6.86 µmol, 1.00 Äq.) wurde in einer Mischung aus H_2O/CH_3OH (2:1 3 mL + 0.6 mL Essigsäure) gelöst und mit Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.00 mg) versetzt. Die schwarze Suspension wurde unter H_2-Atmosphäre über 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde mittels Filtration über ein Celite-Pad entfernt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene farblose Rückstand wurde lyophyllisiert und im Anschluss in demin. H_2O (4 mL) aufgenommen und mit Piperidin (1 mL) versetzt, woraufhin das Fmoc-Piperidin-Addukt als weißer voluminöser Feststoff aus der Lösung ausfiel. Nach Rühren für 15 min wurde die erhaltene Suspension über ein Watte-Pad filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Gefriertrocknung wurde der erhaltene farblose Feststoff mittels präparativer HPLC gereinigt.

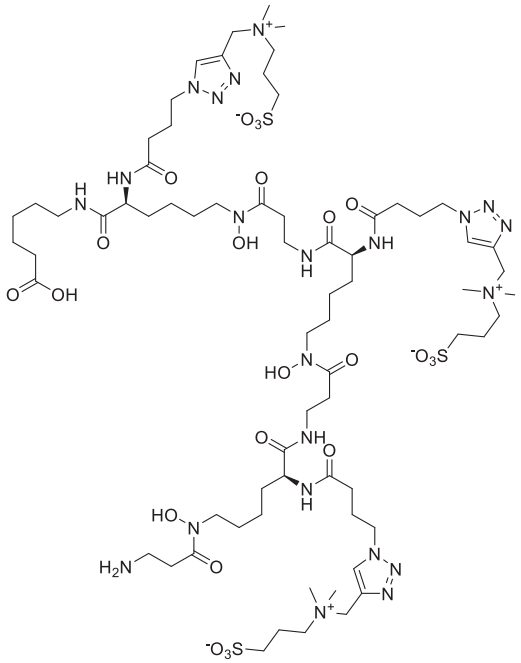
Methode: NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.1% FA, 4 min halten, linearer Gradient auf 98% CH_3CN in H_2O in 26 min, 4 min halten, 5.0 mL/min, 200 nm. t_R = 14.2 min

Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (10.2 mg, 5.72 µmol, 83%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{73}H_{134}N_{22}O_{23}S_3^{2+}$: 891.4572, gef. 891.4561.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 14.6 min

Ligand-Trimer-Lysin-COOH 136



Trimer-Click-Lysin **124** (20 mg, 8.79 µmol, 1.00 Äq.) wurde in einer Mischung aus H_2O/CH_3OH (2:1 3 mL + 0.6 mL Essigsäure) gelöst und mit Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.00 mg) versetzt. Die schwarze Suspension wurde unter H_2-Atmosphäre über 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde mittels Filtration über ein Celite-Pad entfernt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in einem Gemisch aus TFA/H_2O/TES (20:20:1, 1 mL) aufgenommen und für 120 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene farblose Rückstand lyophyllisiert. Das erhaltene blassgelbe Harz wurde in demin. H_2O (4 mL) aufgenommen und mit Piperidin (1 mL) versetzt, woraufhin das Fmoc-Piperidin-Addukt als weißer voluminöser Feststoff aus der Lösung ausfiel. Nach Rühren für 15 min wurde die erhaltene Suspension über ein Watte-Pad filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Gefriertrocknung wurde der erhaltene farblose Feststoff mittels präparativer HPLC gereinigt.

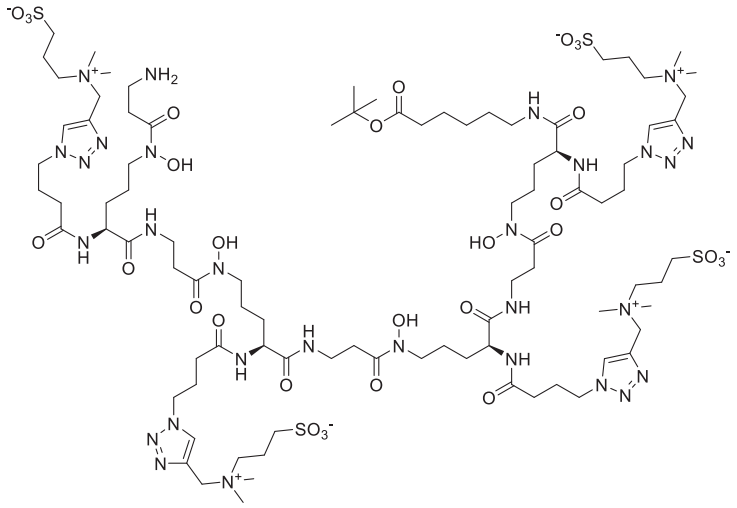
Methode: NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.1% FA, 4 min halten, linearer Gradient auf 98% CH_3CN in H_2O in 26 min, 4 min halten, 5.0 mL/min, 200 nm. t_R = 11.2 min

Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (10.0 mg, 5.79 µmol, 66%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{69}H_{126}N_{22}O_{23}S_3^{2+}$ 863.4259, gef. 863.4252.

HPLC (NUCLEODUR® C_8 HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 3.5 min; t_R = 12.9 min.

Ligand-Tetramer-Ornithin 137



Tetramer-Click-Ornithin **127** (15.5 mg, 5.46 µmol, 1.00 Äq.) wurde in einer Mischung aus H_2O/CH_3OH (2:1 3 mL + 0.6 mL Essigsäure) gelöst und mit Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.00 mg) versetzt. Die schwarze Suspension wurde unter H_2-Atmosphäre über 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde mittels Filtration über ein Celite-Pad entfernt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene farblose Rückstand wurde lyophyllisiert und im Anschluss in demin. H_2O (4 mL) aufgenommen und mit Piperidin (1 mL) versetzt, woraufhin das Fmoc-Piperidin-Addukt als weißer voluminöser Feststoff aus der Lösung ausfiel. Nach Rühren für 15 min wurde die erhaltene Suspension über ein Watte-Pad filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Gefriertrocknung wurde der erhaltene farblose Feststoff mittels präparativer HPLC gereinigt.

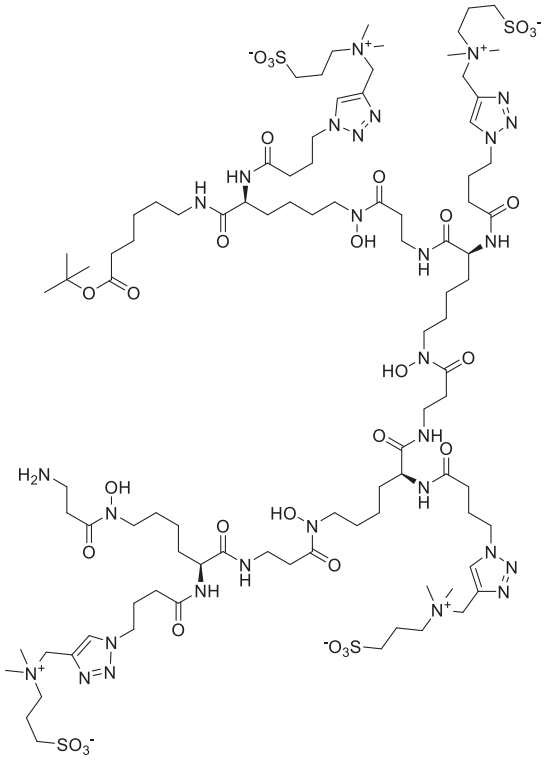
Methode: NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.1% FA, 4 min halten, linearer Gradient auf 98% CH_3CN in H_2O in 26 min, 4 min halten, 5.0 mL/min, 200 nm. t_R = 13.5 min

Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (7.60 mg, 3.37 µmol, 62%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{90}H_{163}N_{29}O_{30}S_4^{3+}$ 1129.0496, gef. 1129.04839.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 5 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): 14.1 min

Ligand-Tetramer-Lysin 138



Tetramer-Click-Lysin **128** (9.60 mg, 3.31 µmol, 1.00 Äq.) wurde in einer Mischung aus H_2O/CH_3OH (2:1 3 mL + 0.6 mL Essigsäure) gelöst und mit Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.00 mg) versetzt. Die schwarze Suspension wurde unter H_2-Atmosphäre über 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde mittels Filtration über ein Celite-Pad entfernt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene farblose Rückstand wurde lyophyllisiert und im Anschluss in demin. H_2O (4 mL) aufgenommen und mit Piperidin (1 mL) versetzt, woraufhin das Fmoc-Piperidin-Addukt als weißer voluminöser Feststoff aus der Lösung ausfiel. Nach Rühren für 15 min wurde die erhaltene Suspension über ein Watte-Pad filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Gefriertrocknung wurde der erhaltene farblose Feststoff mittels präparativer HPLC gereinigt.

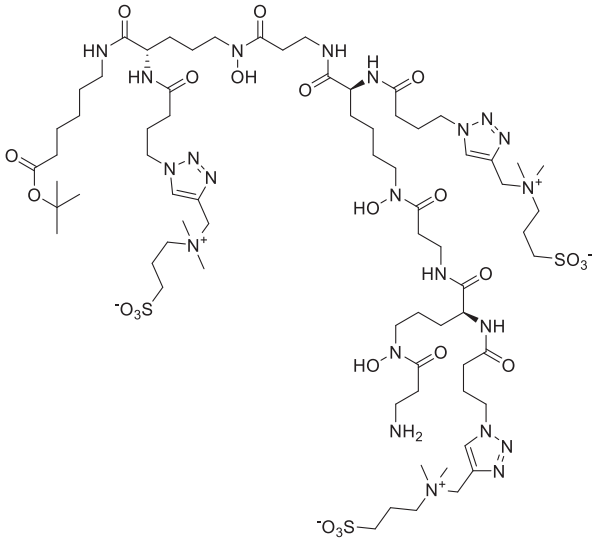
Methode: NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.1% FA, 4 min halten, linearer Gradient auf 98% CH_3CN in H_2O in 26 min, 4 min halten, 5.0 mL/min, 200 nm. t_R = 13.7 min

Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (4.00 mg, 1.73 µmol, 52%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+3H]^{3+}$ = ber. für $C_{94}H_{172}N_{29}O_{30}S_4^{3+}$ 771.7230, gef. 771.7240.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 5% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 14.9 min

Ligand-Trimer-ABA 134



Trimer-Click-ABA **126** (10.0 mg, 4.45 µmol, 1.00 Äq.) wurde in einer Mischung aus H_2O/CH_3OH (2:1 3 mL + 0.6 mL Essigsäure) gelöst und mit Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.00 mg) versetzt. Die schwarze Suspension wurde unter H_2-Atmosphäre über 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde mittels Filtration über ein Celite-Pad entfernt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene farblose Rückstand wurde lyophyllisiert und im Anschluss in demin. H_2O (4 mL) aufgenommen und mit Piperidin (1 mL) versetzt, woraufhin das Fmoc-Piperidin-Addukt als weißer voluminöser Feststoff aus der Lösung ausfiel. Nach Rühren für 15 min wurde die erhaltene Suspension über ein Watte-Pad filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Gefriertrocknung wurde der erhaltene farblose Feststoff mittels präparativer HPLC gereinigt.

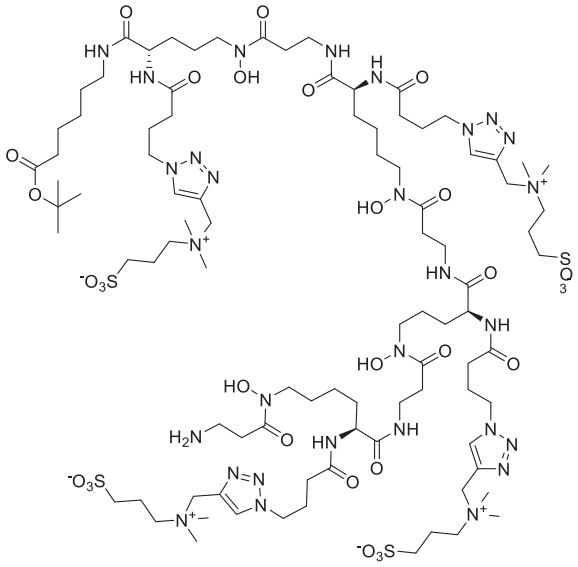
Methode: NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.1% FA, 4 min halten, linearer Gradient auf 98% CH_3CN in H_2O in 26 min, 4 min halten, 5.0 mL/min, 200 nm. t_R = 13.7 min

Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (3.30 mg, 1.88 µmol, 42%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+2H]^{2+}$ = ber. für $C_{71}H_{130}N_{22}O_{23}S_3^{2+}$ 877.4415, gef. 877.4440.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 14.6 min.

Ligand-Tetramer-ABAB 139



Tetramer-Click-ABAB **130** (8.00 mg, 2.79 µmol, 1.00 Äq.) wurde in einer Mischung aus H_2O/CH_3OH (2:1 3 mL + 0.6 mL Essigsäure) gelöst und mit Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.00 mg) versetzt. Die schwarze Suspension wurde unter H_2-Atmosphäre über 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde mittels Filtration über ein Celite-Pad entfernt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene farblose Rückstand wurde lyophyllisiert und im Anschluss in demin. H_2O (4 mL) aufgenommen und mit Piperidin (1 mL) versetzt, woraufhin das Fmoc-Piperidin-Addukt als weißer voluminöser Feststoff aus der Lösung ausfiel. Nach Rühren für 15 min wurde die erhaltene Suspension über ein Watte-Pad filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Gefriertrocknung wurde der erhaltene farblose Feststoff mittels präparativer HPLC gereinigt.

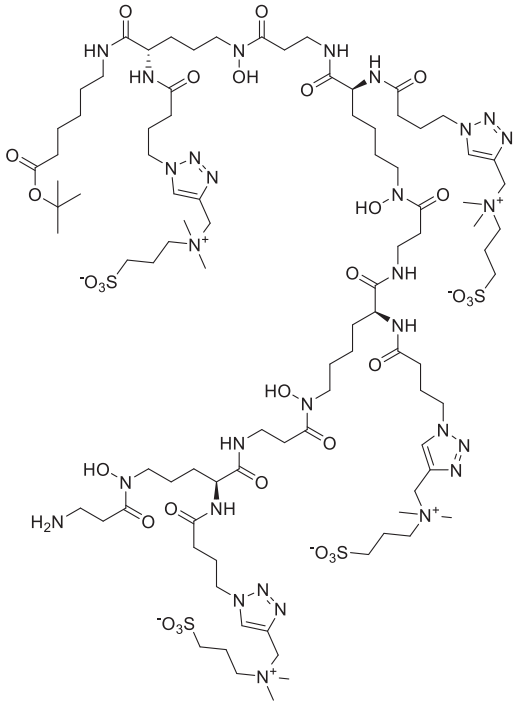
Methode: NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.1% FA, 4 min halten, linearer Gradient auf 98% CH_3CN in H_2O in 26 min, 4 min halten, 5.0 mL/min, 200 nm. t_R = 13.6 min

Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (2.10 mg, 0.92 µmol, 33%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+3H]^{3+}$ = ber. für $C_{92}H_{168}N_{29}O_{30}S_4^{3+}$: 762.3793, gef. 762.3814.

HPLC (NUCLEODUR® C_8 HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 14.9 min

Ligand-Tetramer-ABBA 140



Tetramer-Click-ABBA **129** (7.80 mg, 2.72 µmol, 1.00 Äq.) wurde in einer Mischung aus H_2O/CH_3OH (2:1 3 mL + 0.6 mL Essigsäure) gelöst und mit Pd/C (10% auf Aktivkohle, 1.00 mg) versetzt. Die schwarze Suspension wurde unter H_2-Atmosphäre über 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Katalysator wurde mittels Filtration über ein Celite-Pad entfernt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene farblose Rückstand wurde lyophyllisiert und im Anschluss in demin. H_2O (4 mL) aufgenommen und mit Piperidin (1 mL) versetzt, woraufhin das Fmoc-Piperidin-Addukt als weißer voluminöser Feststoff aus der Lösung ausfiel. Nach Rühren für 15 min wurde die erhaltene Suspension über ein Watte-Pad filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Gefriertrocknung wurde der erhaltene farblose Feststoff mittels präparativer HPLC gereinigt.

Methode: NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 250 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.1% FA, 4 min halten, linearer Gradient auf 98% CH_3CN in H_2O in 26 min, 4 min halten, 5.0 mL/min, 200 nm. t_R = 13.6 min
Nach Gefriertrocknung wurde das Produkt als farbloser Feststoff (2.60 mg, 1.14 µmol, 42%) erhalten.

HRMS (ESI pos.) *m/z* $[M+3H]^{3+}$ = ber. für $C_{92}H_{168}N_{29}O_{30}S_4^{3+}$ 762.3793, gef. 762.3804.

HPLC (NUCLEODUR® C_8 HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm): t_R = 15.0 min.

7.3. Komplexierungsstudie mit NatZirconium [108]

7.3.1. Tranchelatisierungsassay

Für das Labelling von DFO **9**, sowie der Liganden **132-140** mit Zirconium wurden in einem 15 mL Zentrifugen-Röhrchen 600 µL einer 0.0072 mM Lösung des Chelators in 0.05 M HCl, zu 200 µL einer 0.0216 mM Lösung $ZrCl_4$ in 0.05 M HCl gegeben. Unter Rühren bei Raumtemperatur wurde der pH-Wert der Lösung durch Zugabe von 0.05 M Na_2CO_3-Lösung (1000 µL) auf einen Wert von pH = 8.5-9.0 eingestellt und die Lösung für 90 min gerührt. Anschließende Gefriertrocknung lieferte einen voluminösen, farblosen Feststoff. Die so erhaltenen Komplexe **144-152** wurden mittels HPLC-MS (ESI pos.) identifiziert.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm)

Vorevaluation aller Liganden

Die erhaltenen Zr-Komplexe **144-152** wurden in 500 µL Milli-Q®-Wasser gelöst und mit 100 µL EDTA-Lösung (1000-facher Überschuss, 0.0432 mM) versetzt. Durch Zugabe von 0.05 M HCl wurde der pH-Wert der Lösung auf pH = 7 eingestellt und die Lösung bei Raumtemperatur gelagert. Nach 0 h, 2 h, 8 h und 24 h wurden 15 µL der Lösung mittels HPLC-MS (ESI pos.) analysiert. Die Menge an intaktem Zr-Komplex wurde durch Integration des EIC für die $[M+3H]^{3+}$, $[M+2H+Na]^{3+}$ und $[M+2H]^{3+}$ bestimmt.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm)

Evaluation von Tetramer-Ornithin

Für die Evaluation des erfolgreichsten Treffers der Vorevaluation, Tetramer-Ornithin-Zr-Komplex **149**, wurden in einem 1 mL Eppendorf-Tube® 600 µL einer 0.0072 mM Lösung des Chelators in 0.05 M HCl, zu 200 µL einer 0.0216 mM Lösung $ZrCl_4$ in 0.05 M HCl gegeben. Der pH-Wert der Lösung durch Zugabe von 0.05 M Na_2CO_3-Lösung (1000 µL) auf einen Wert von pH = 8.5-9.0 eingestellt und die Lösung für 90 min bei 37 °C auf einem

Eppendorf Thermomaxx inkubiert. Anschließende Gefriertrocknung lieferte einen voluminösen, farblosen Feststoff. Nach Lösung in 500 µL Milli-Q®-Wasser wurden 100 µL EDTA-Lösung 1000--facher Überschuss, 0.0432 mM) bzw. in einem zweiten Experiment 100 µL DFO-Lösung (300-facher Überschuss, 0.0130 mM) zugegeben. Durch Zugabe von 0.05 M HCl wurde der pH-Wert der Lösung auf pH = 7 eingestellt und die Lösung bei Raumtemperatur gelagert. Nach 0 h, 2 h, 8 h und 24 h wurden 15 µL der Lösung mittels HPLC-MS (ESI pos.) analysiert. Die Menge an intaktem Zr-Komplex wurde durch Integration des EIC für die $[M+3H]^{3+}$, $[M+2H+Na]^{3+}$ und $[M+2H]^{3+}$ bestimmt. Als Referenz diente der nach 0 h gemessene Wert an intaktem Zr-Komplex.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm)

7.3.2. Kinetik der Bildung des Zr-Komplexes

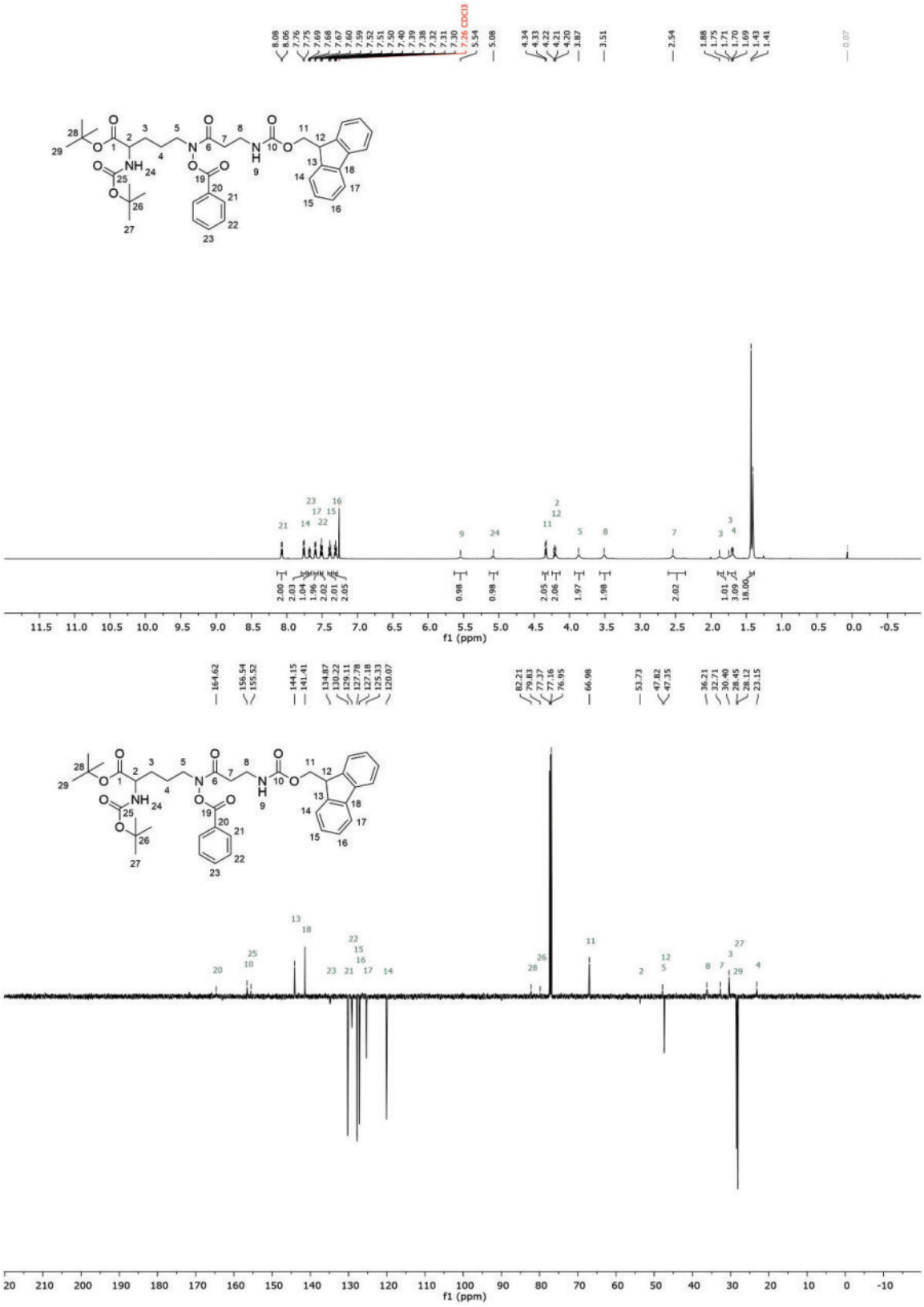
Für die Evaluation der Komplexbildungskinetik von **149** mit Zirconium wurden in einem 1 mL Eppendorf-Tube® 600 µL einer 0.0072 mM Lösung des Chelators in 0.05 M HCl, zu 200 µL einer 0.0216 mM Lösung $ZrCl_4$ in 0.05 M HCl gegeben. Der pH-Wert der Lösung durch Zugabe von 0.05 M Na_2CO_3-Lösung (1000 µL) auf einen Wert von pH = 8.5-9.0 eingestellt und die Lösung bei 24 °C bzw. bei 37 °C auf einem Eppendorf Thermomaxx inkubiert. Nach 0.0 h, 1.5 h, 3.0 h, 4.5 h, 6.0 h und 18 h wurden 15 µL der Lösung mittels HPLC-MS (ESI pos.) analysiert. Die Menge an gebildetem Zr-Komplex wurde durch Integration des EIC für die $[M+3H]^{3+}$, $[M+2H+Na]^{3+}$ und $[M+2H]^{3+}$ bestimmt.

HPLC (NUCLEODUR® C_{18} HTec EC, 150 x 10 mm ID, 5 µm Partikel, 2% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, in 15 min linearer Gradient auf 95% CH_3CN in H_2O mit 0.05% FA, 2 min halten, 0.2 mL/min, 190-500 nm)

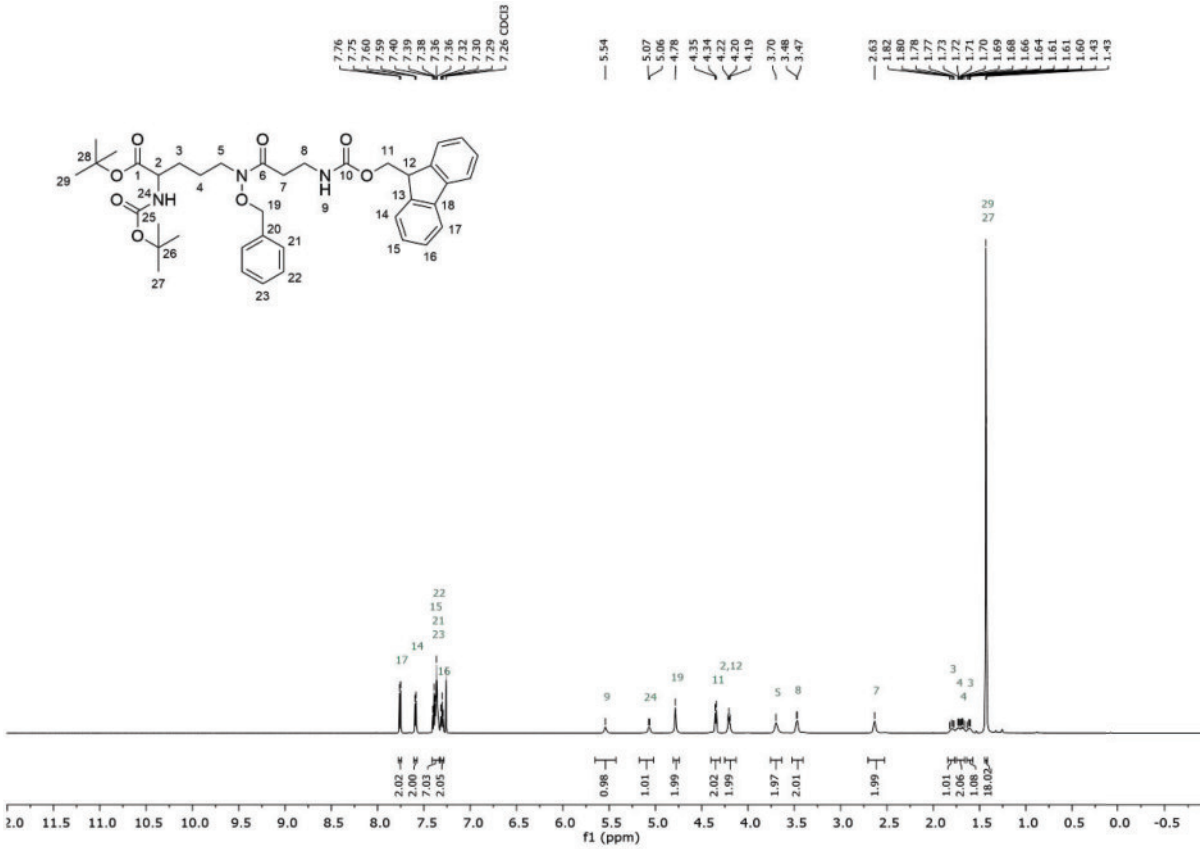
8. Anhang

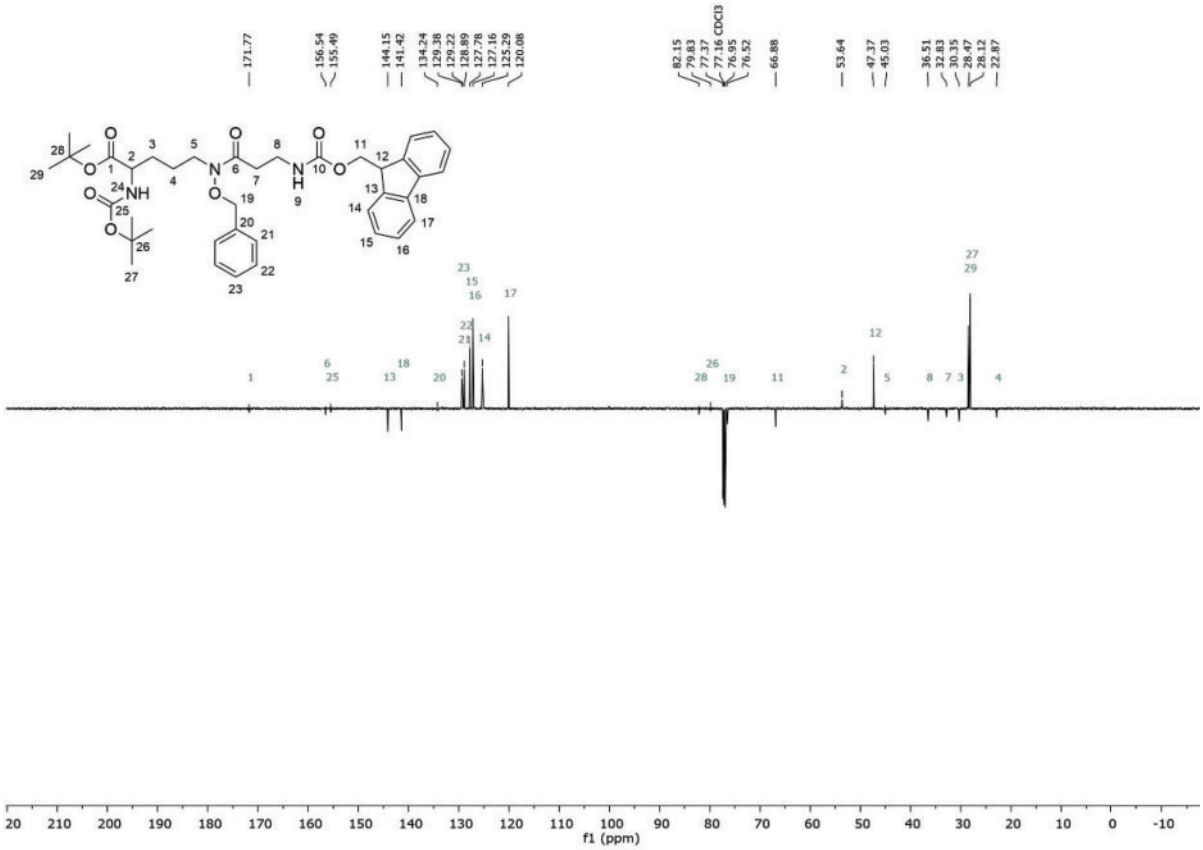
8.1. NMR- und LC-MS-Spektren

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **72**

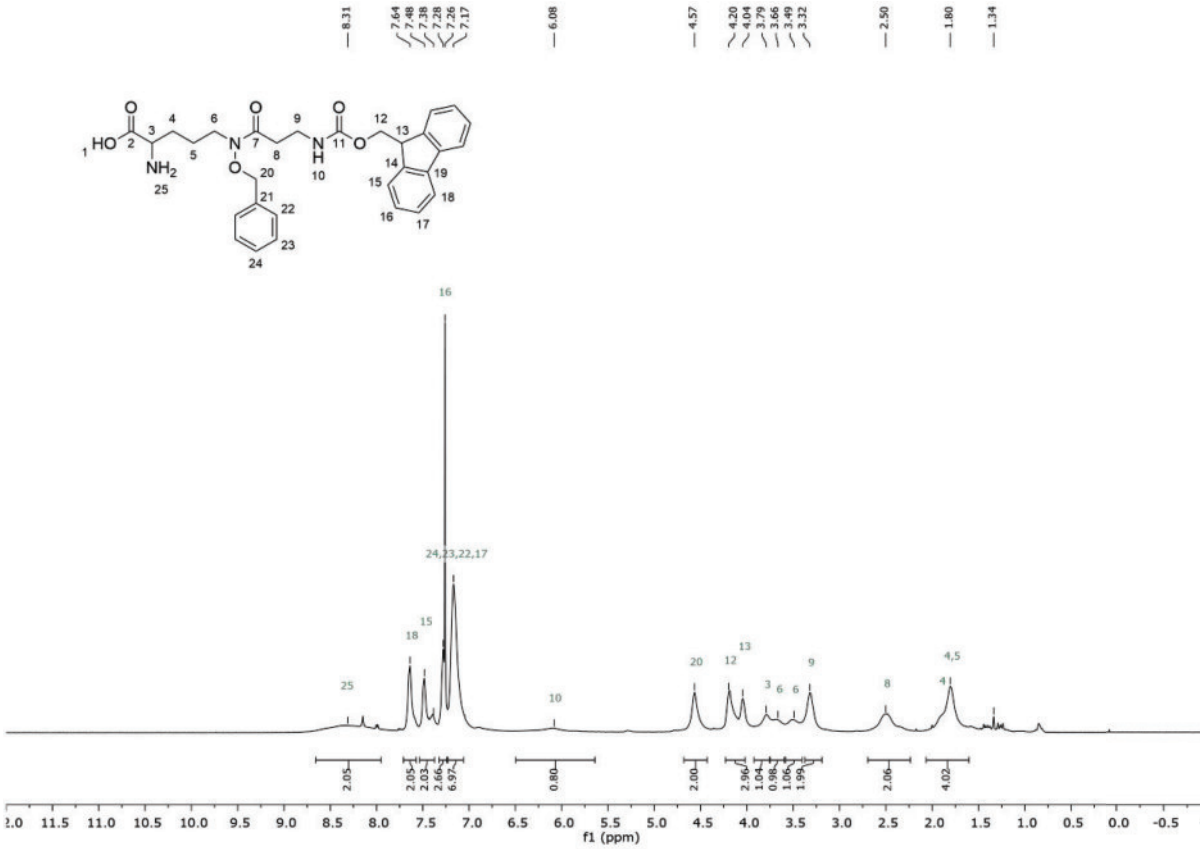


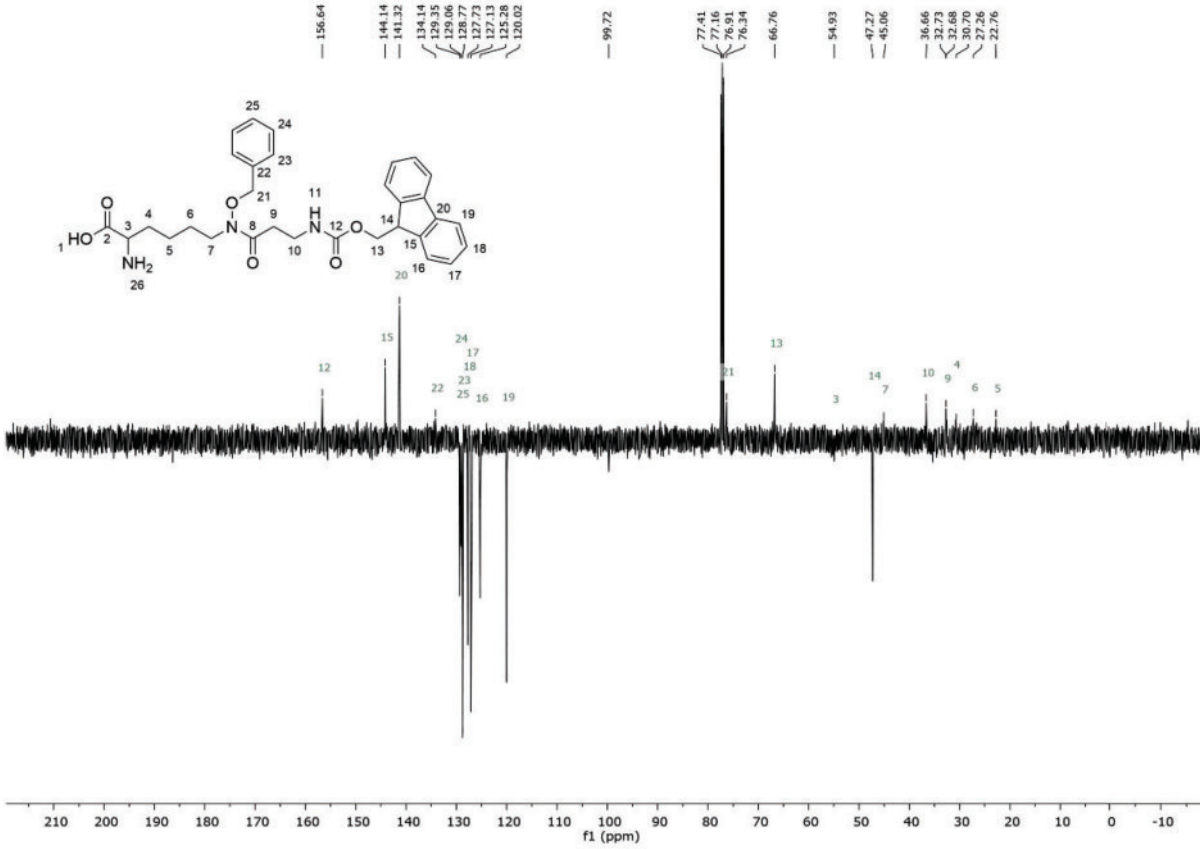
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **155**



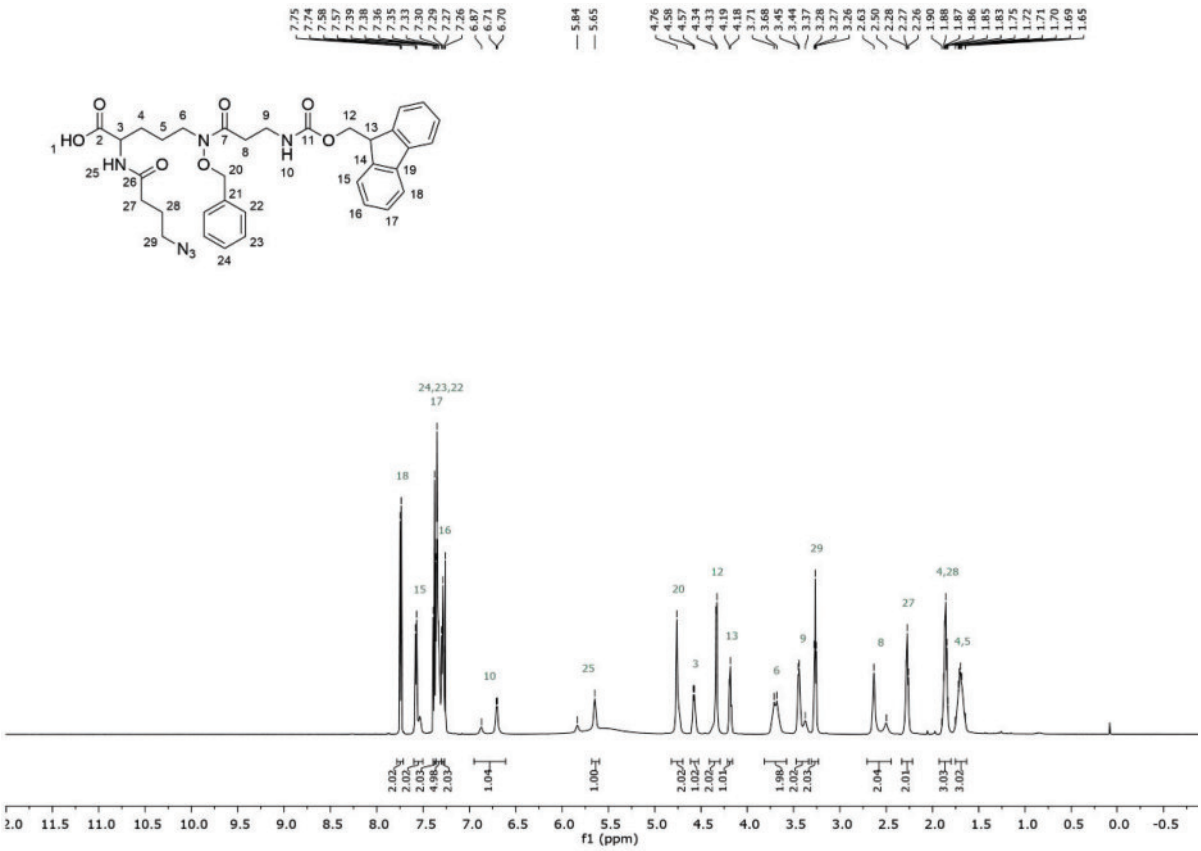


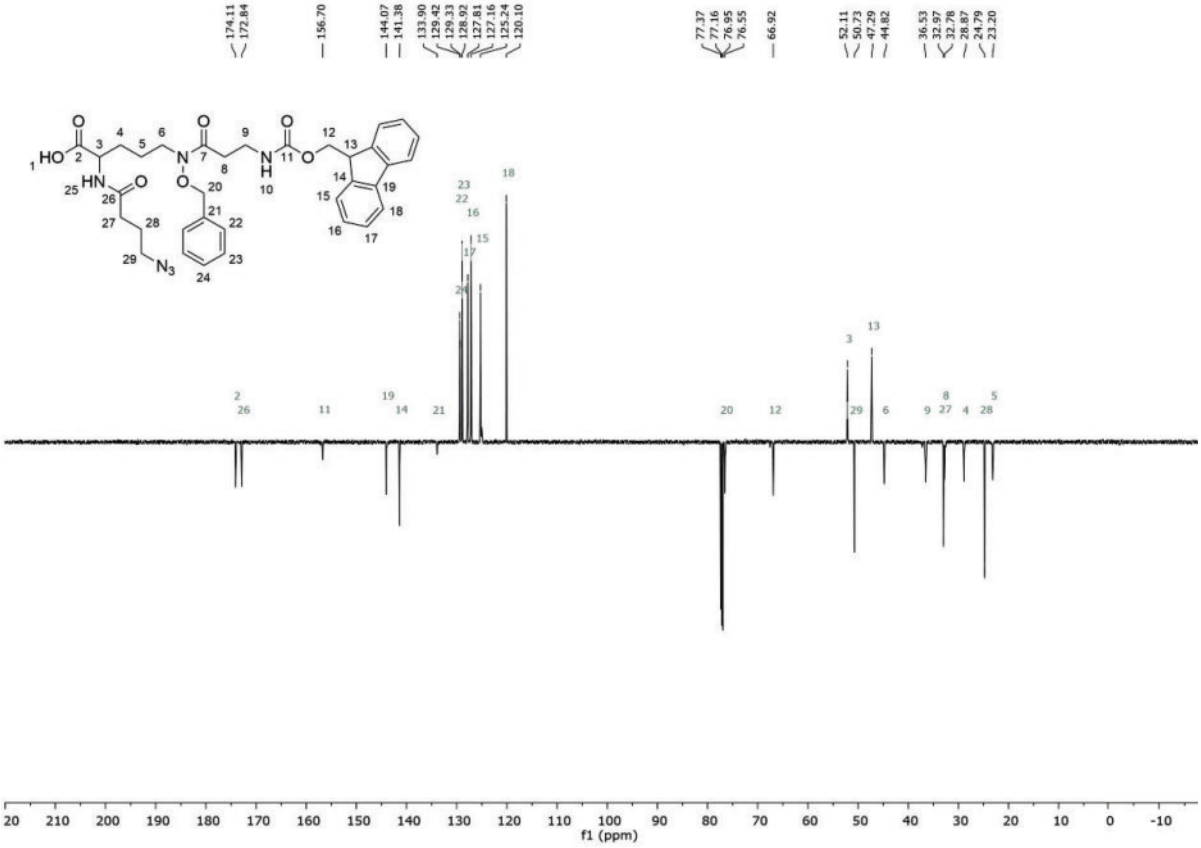
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **76**



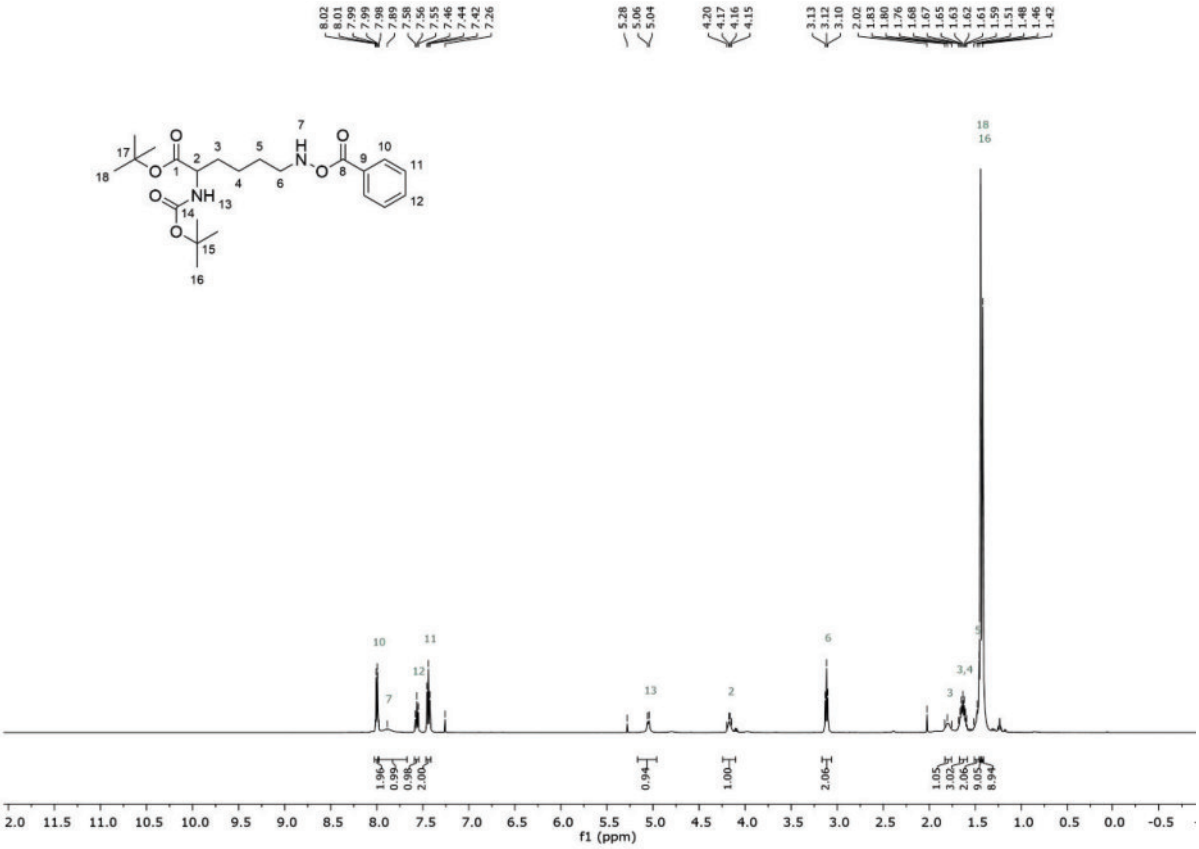


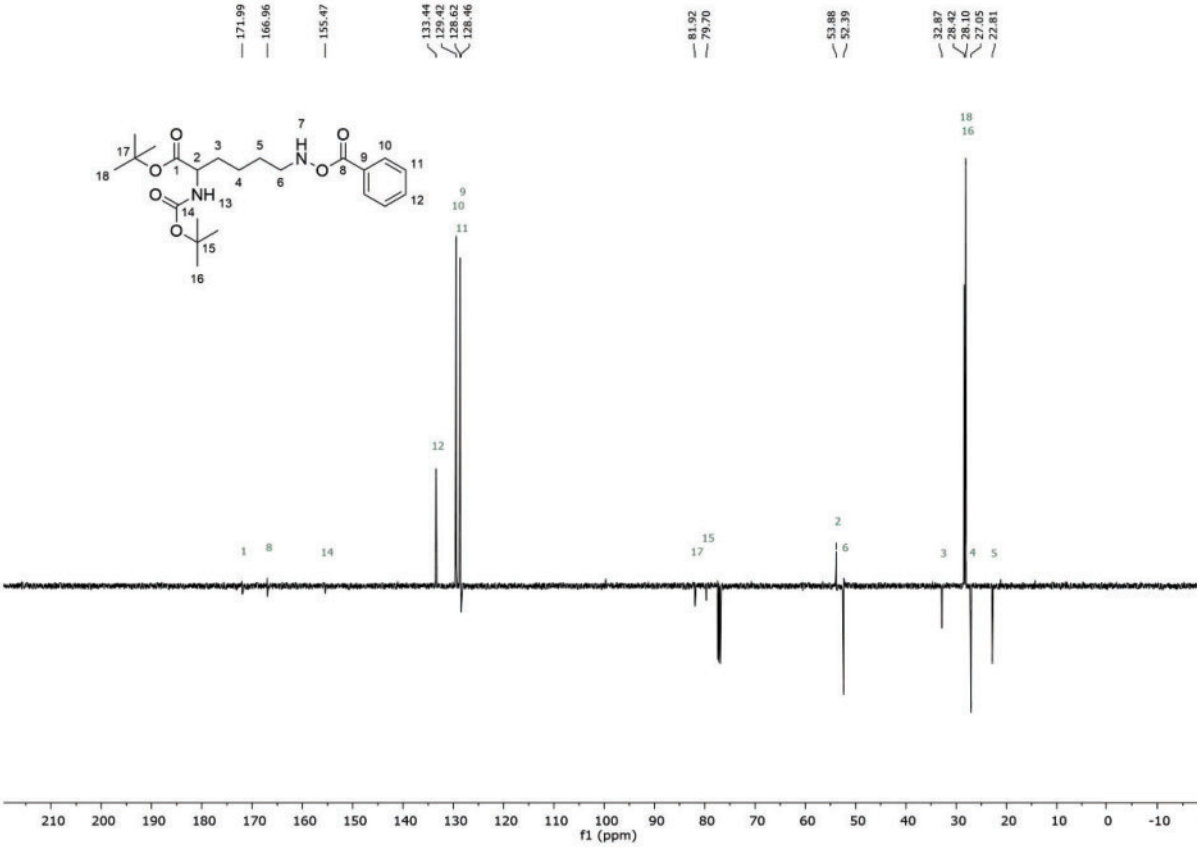
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **80**



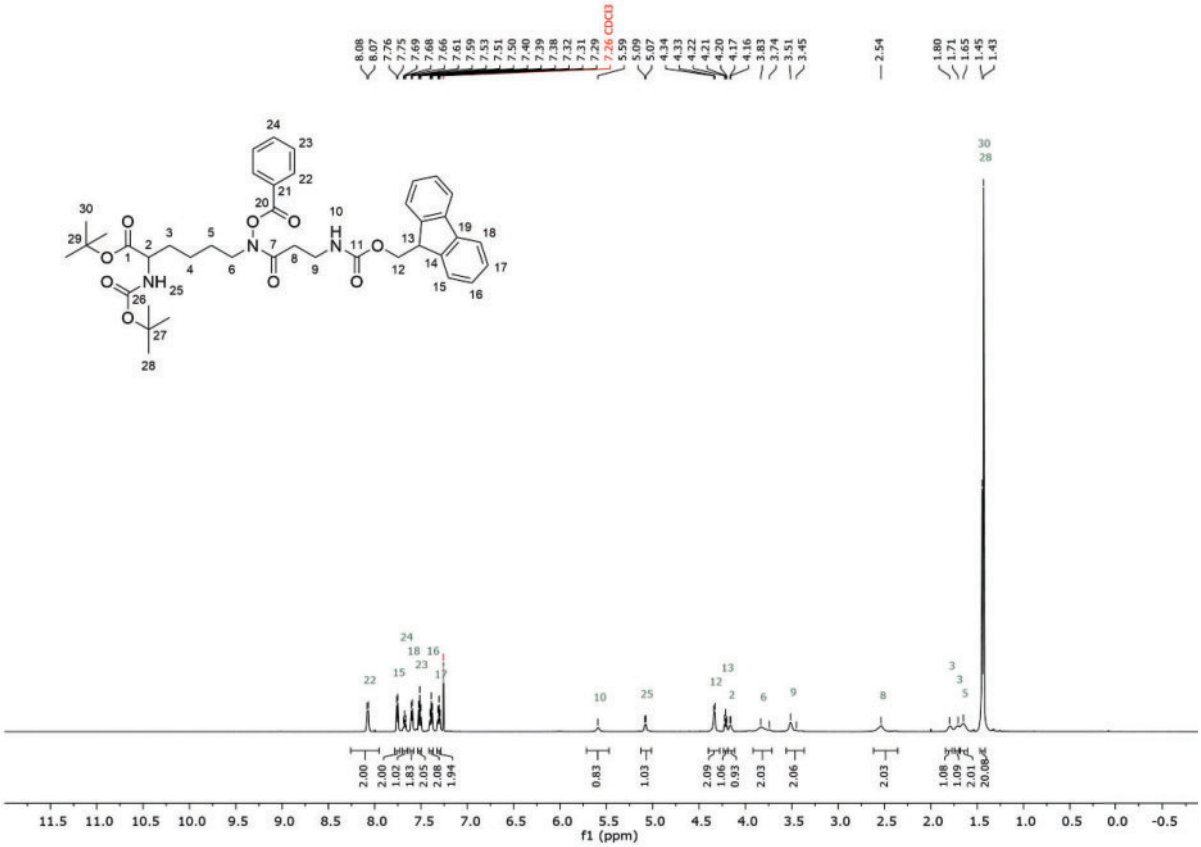


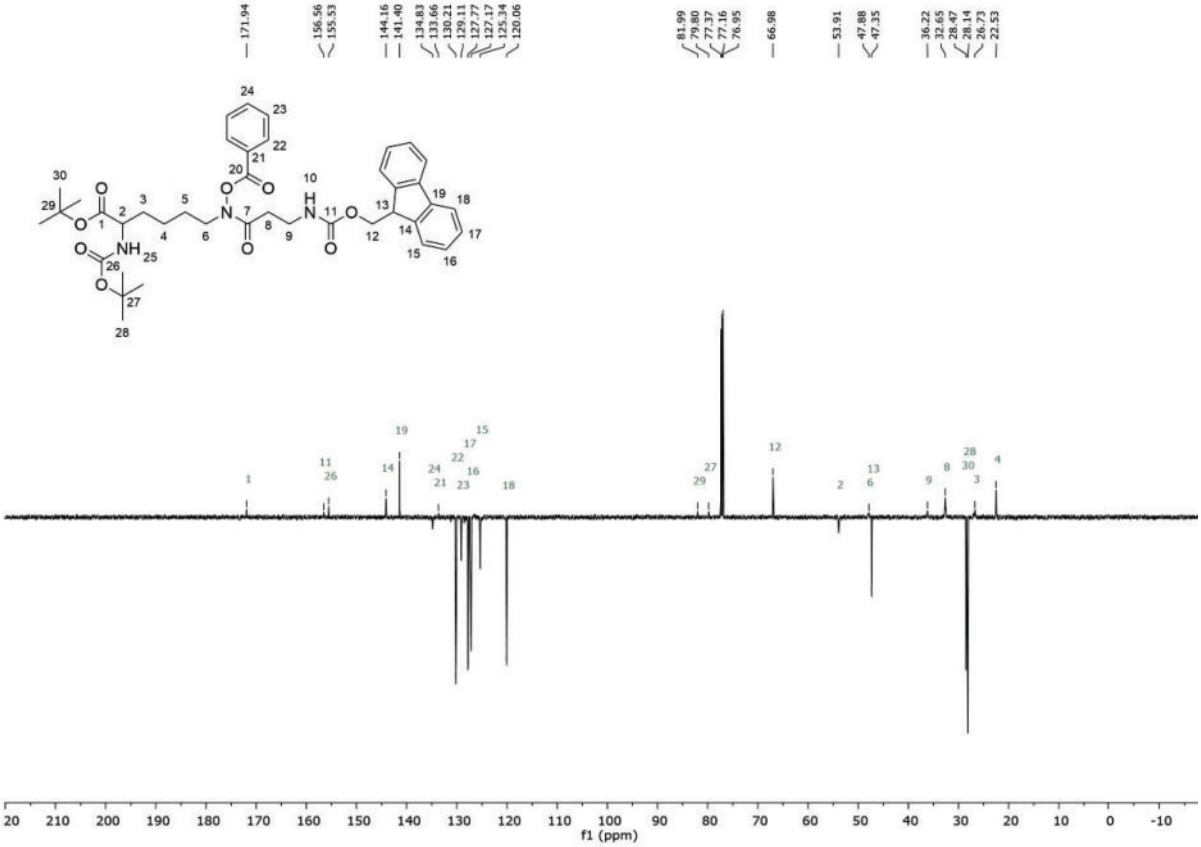
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **69**



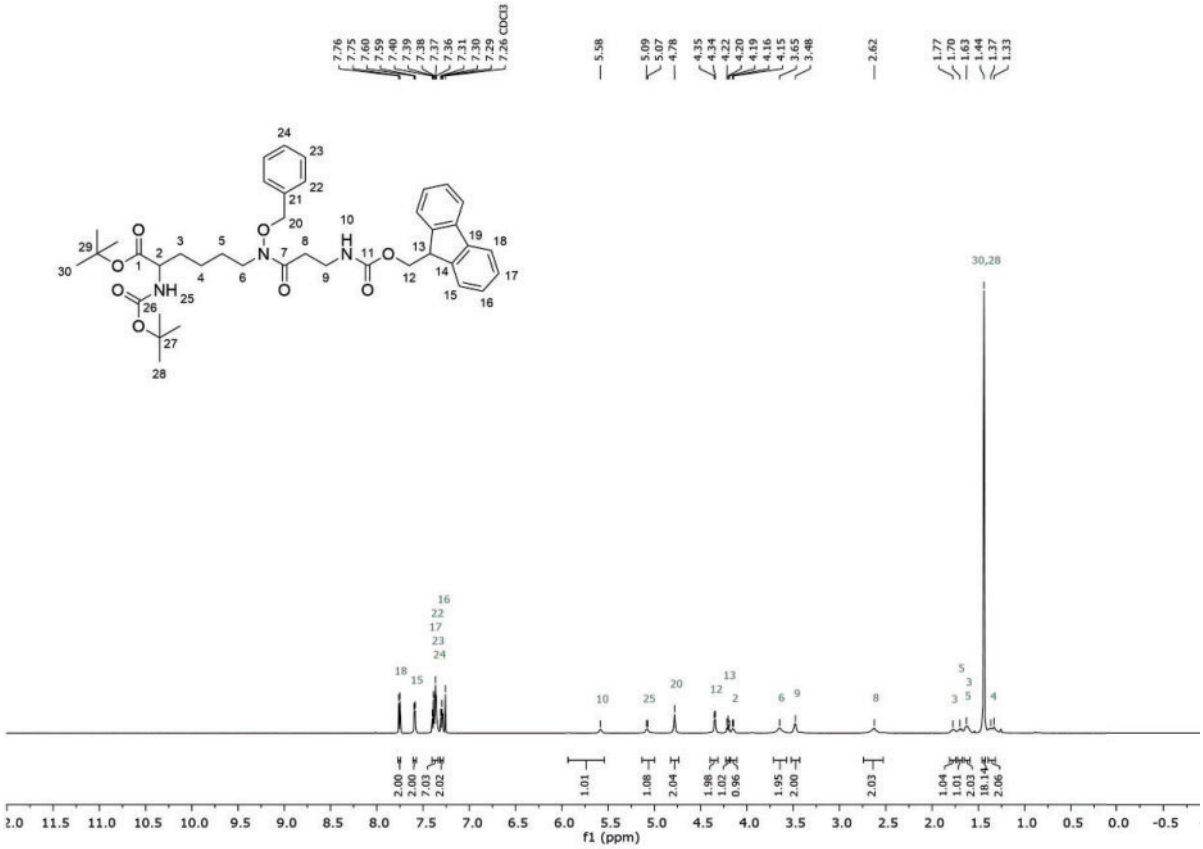


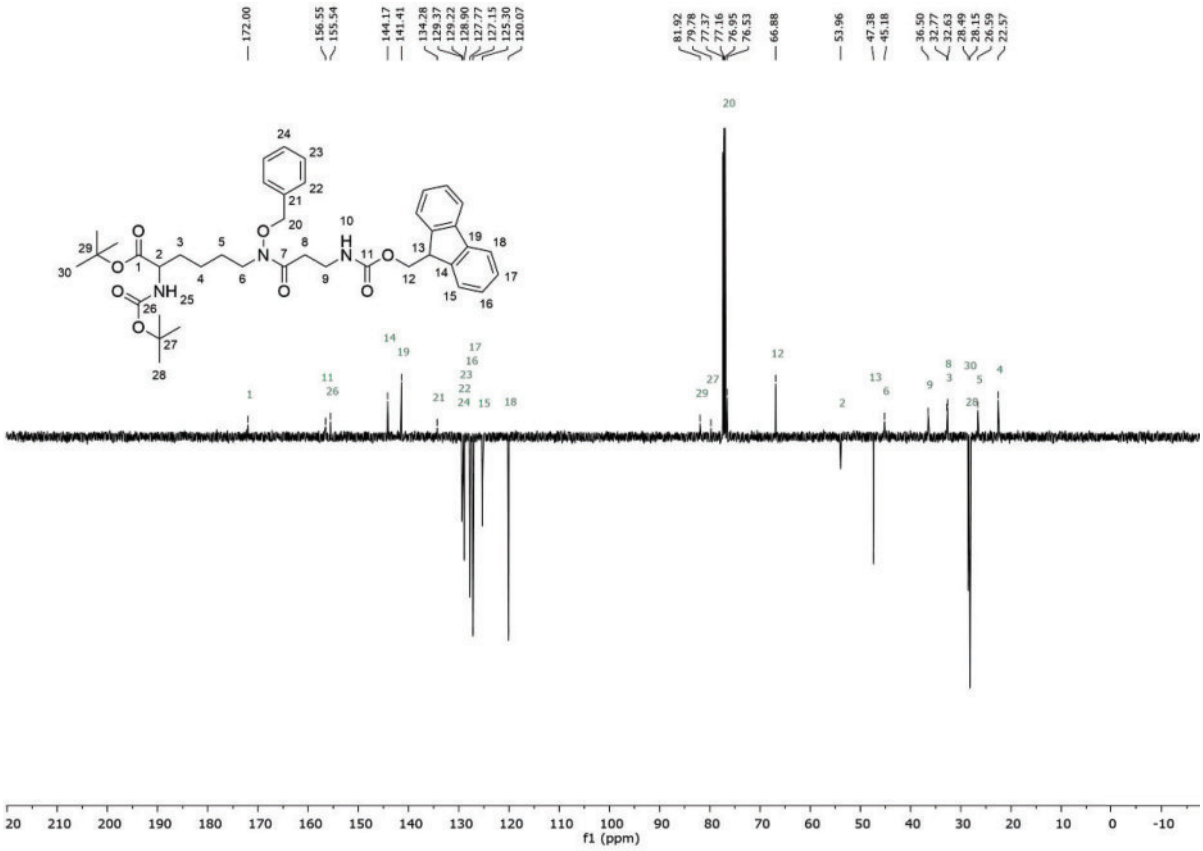
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **74**



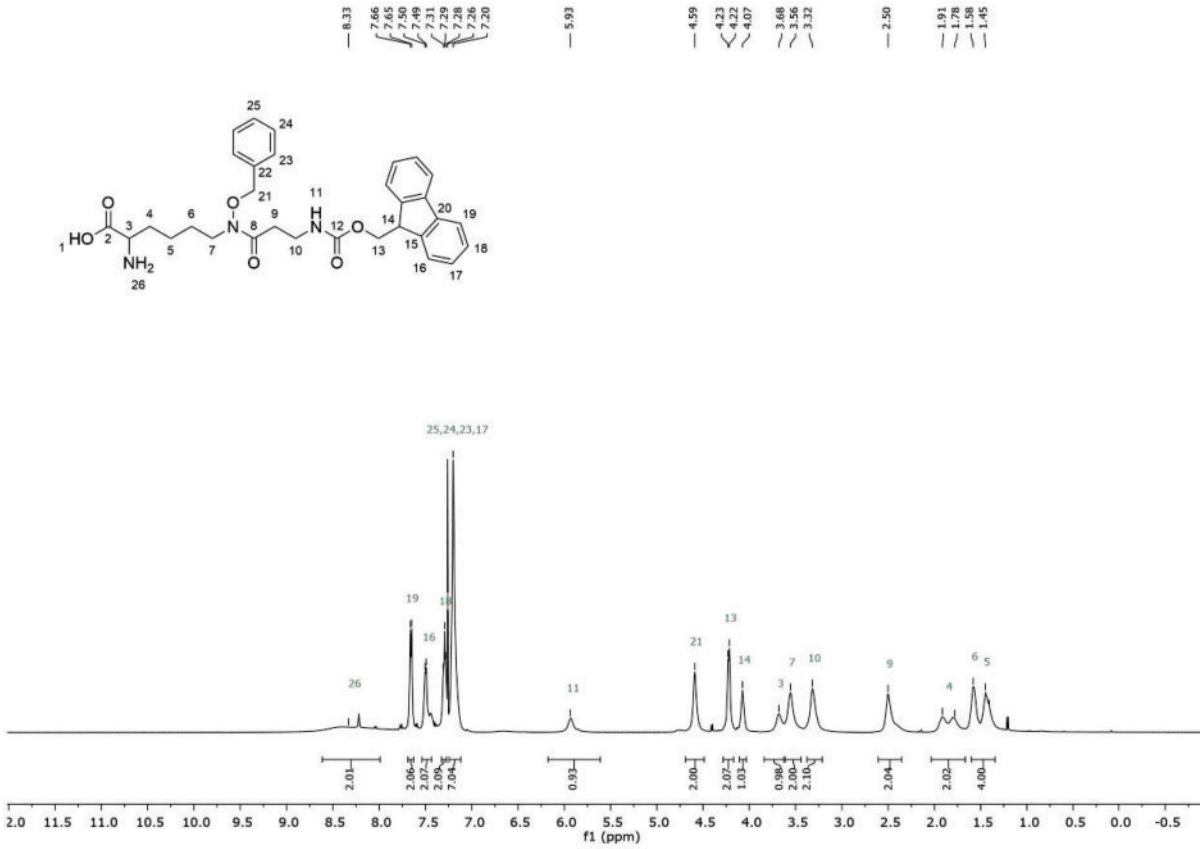


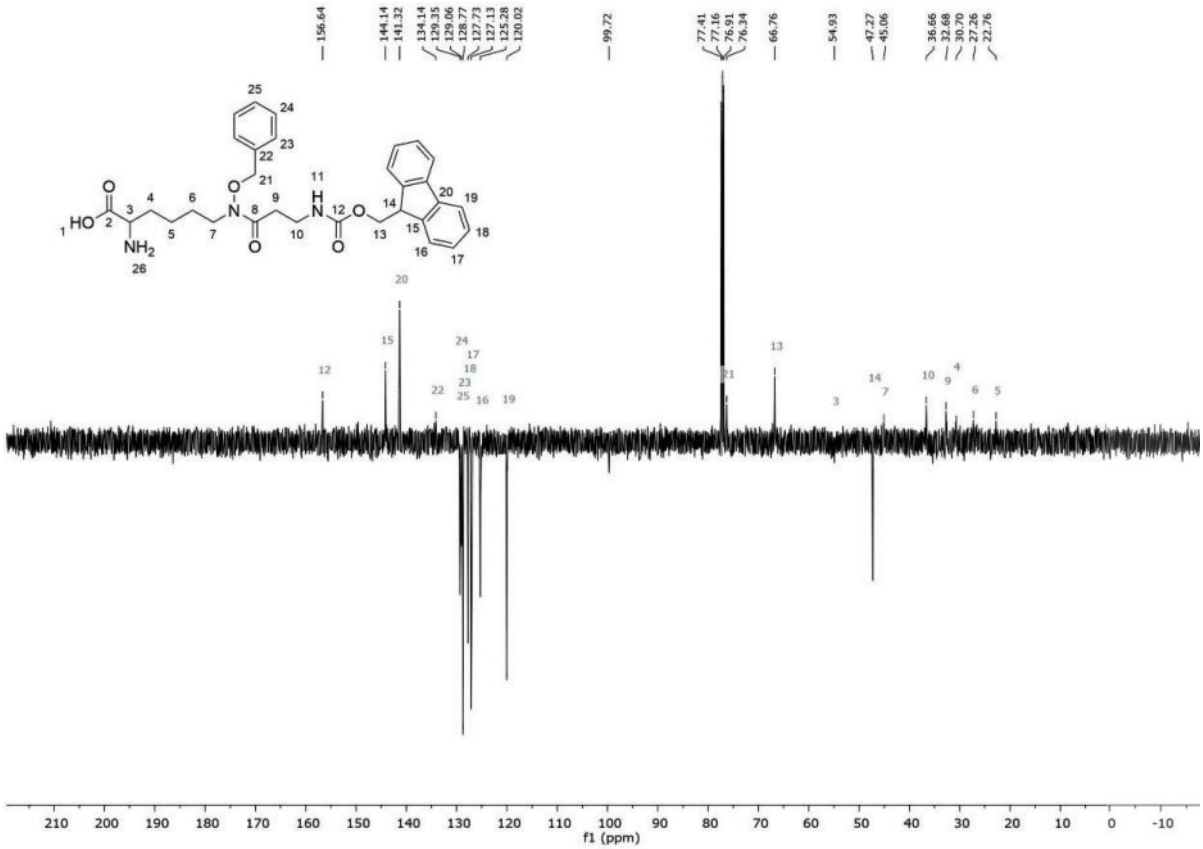
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **156**



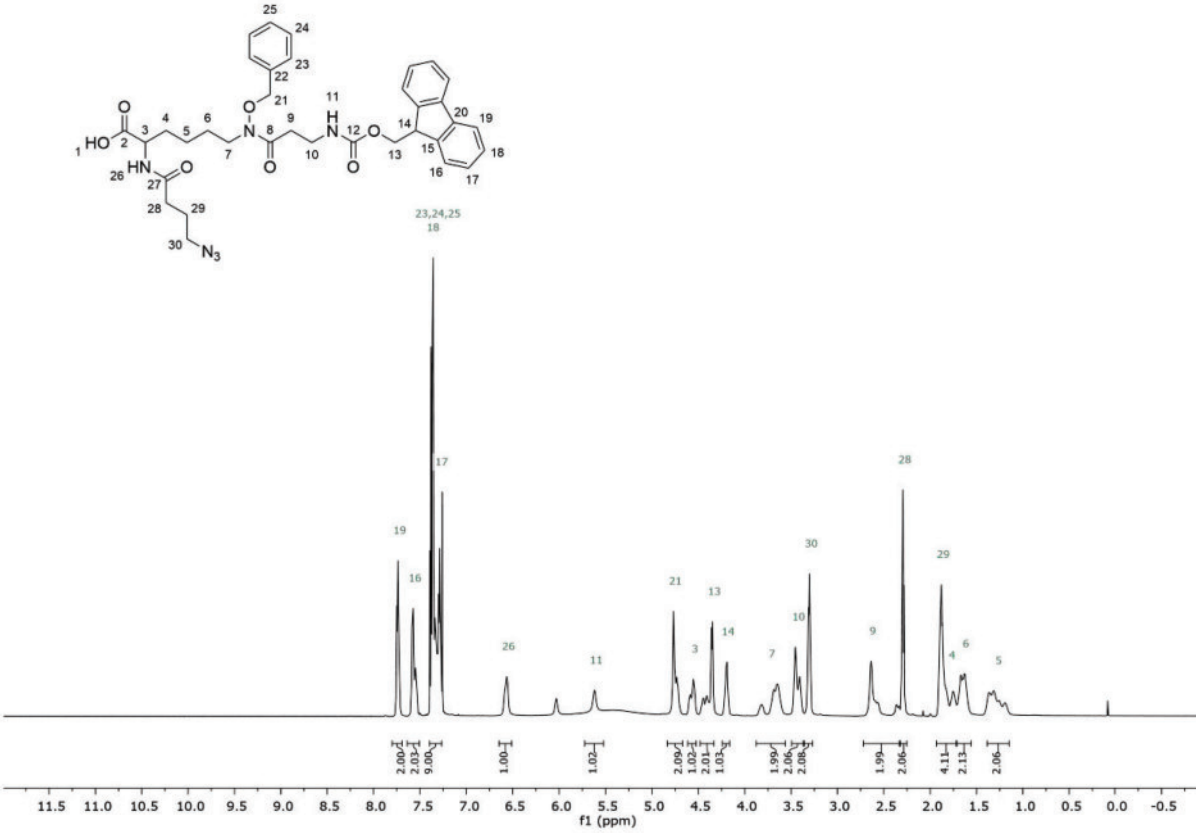


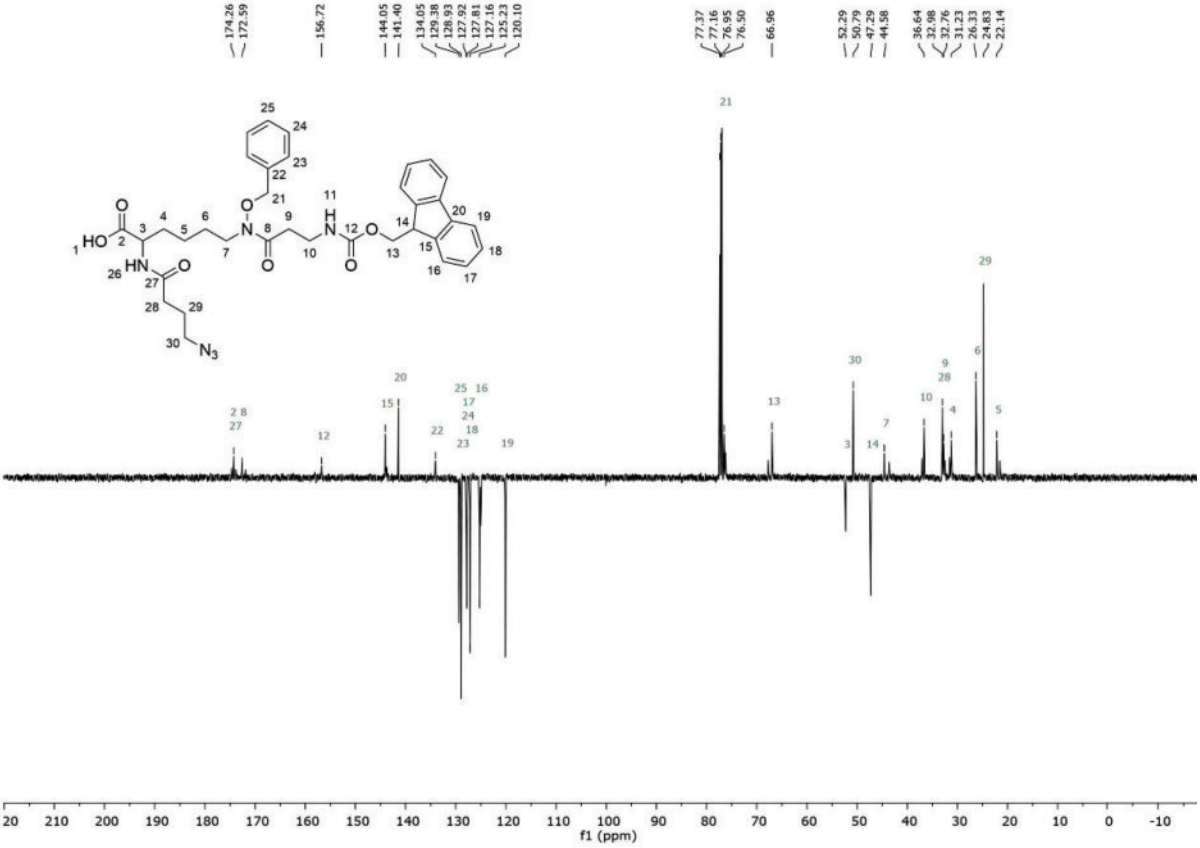
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **78**



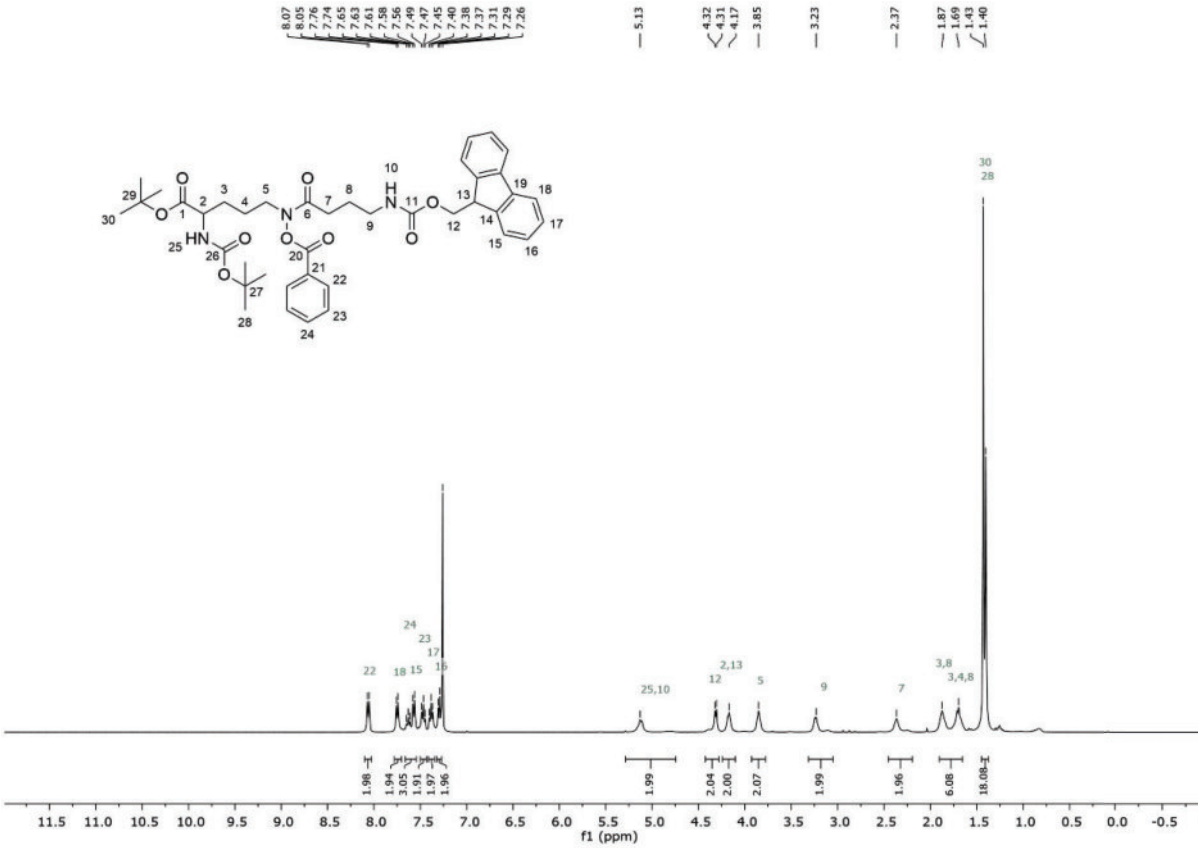


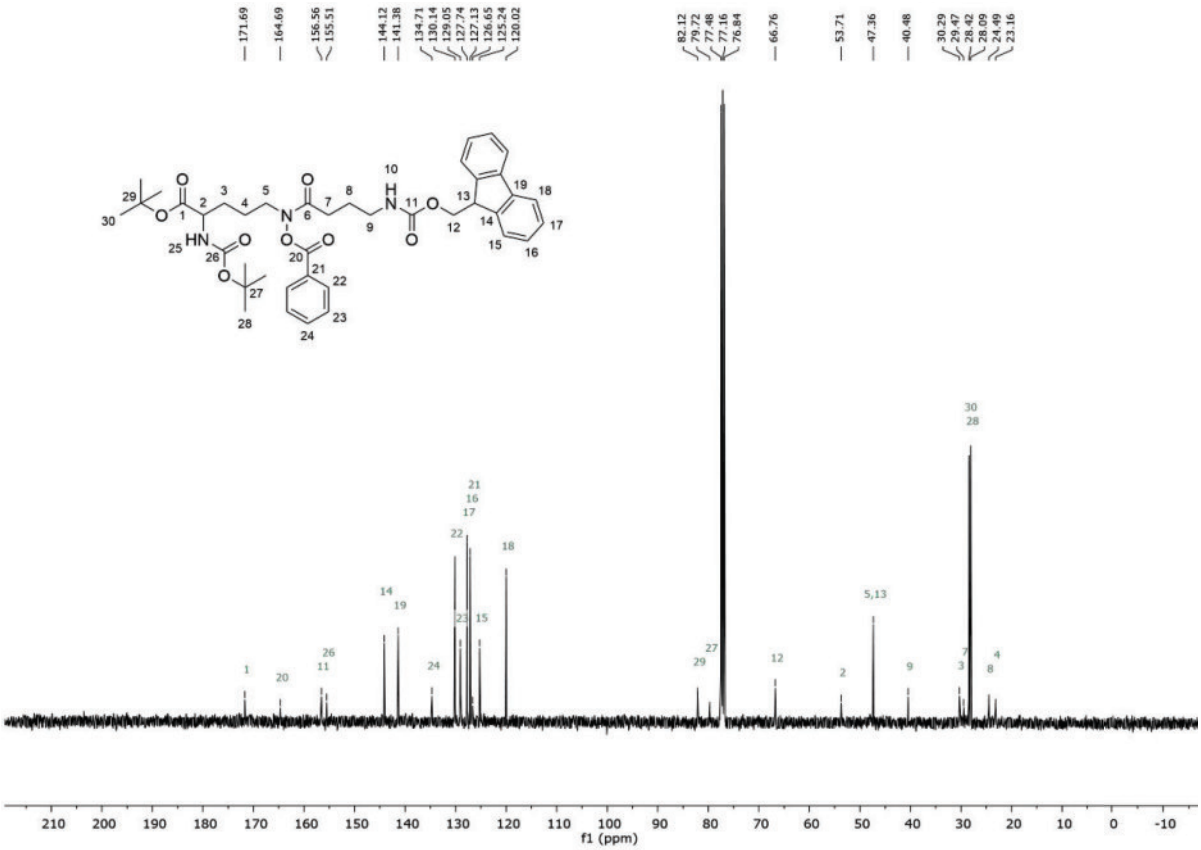
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **82**



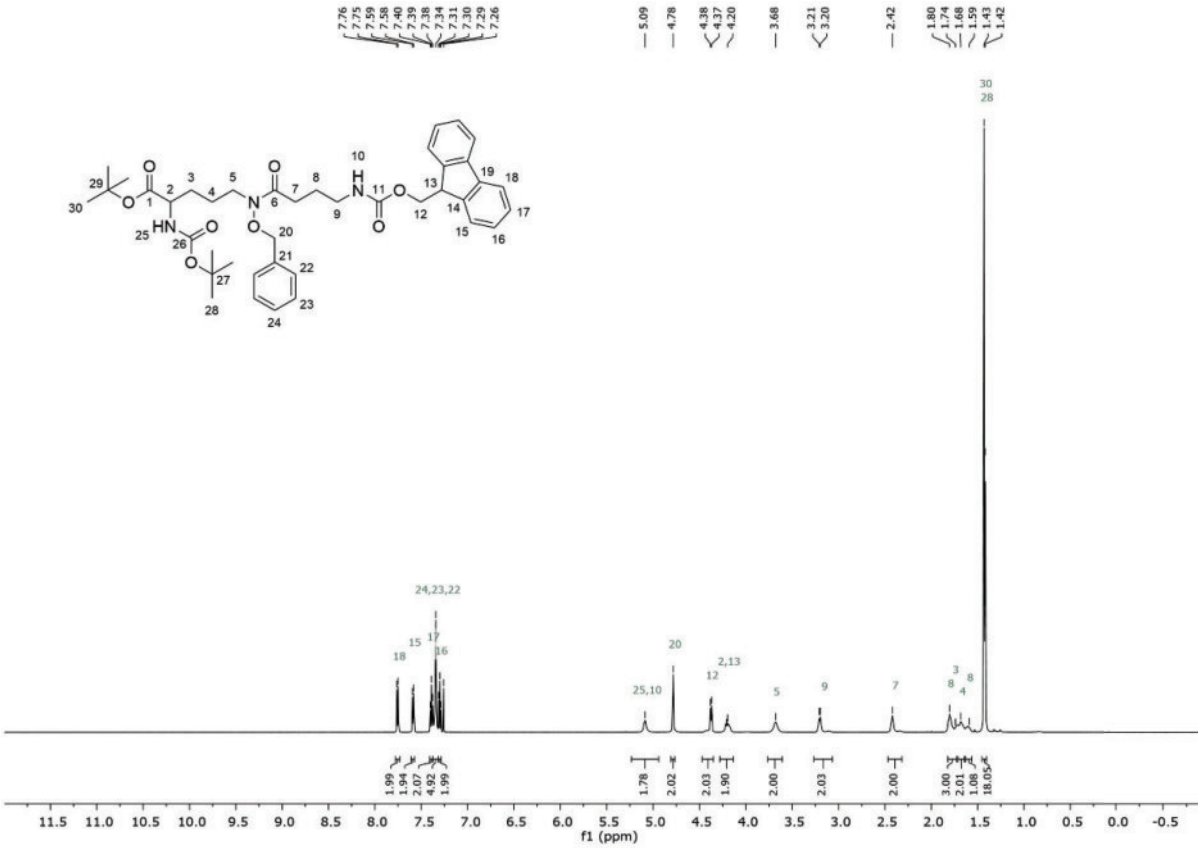


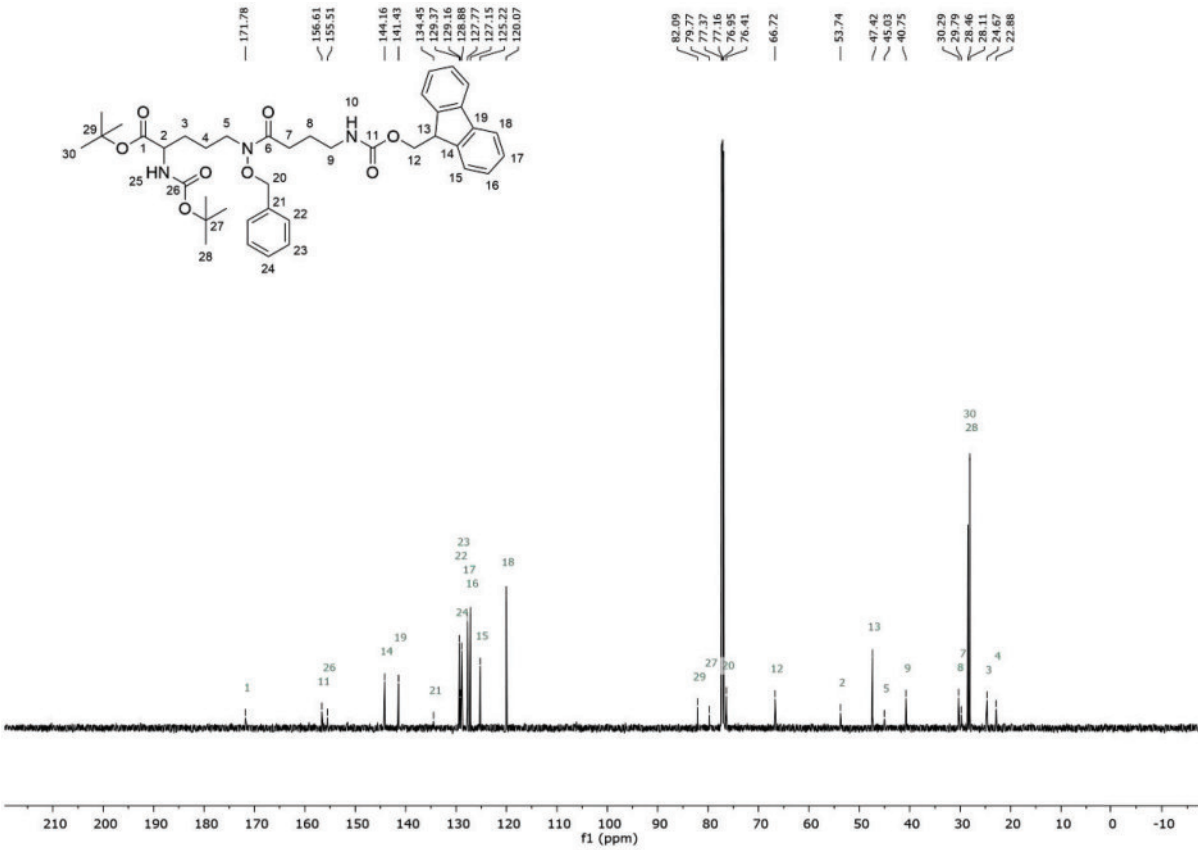
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **73**



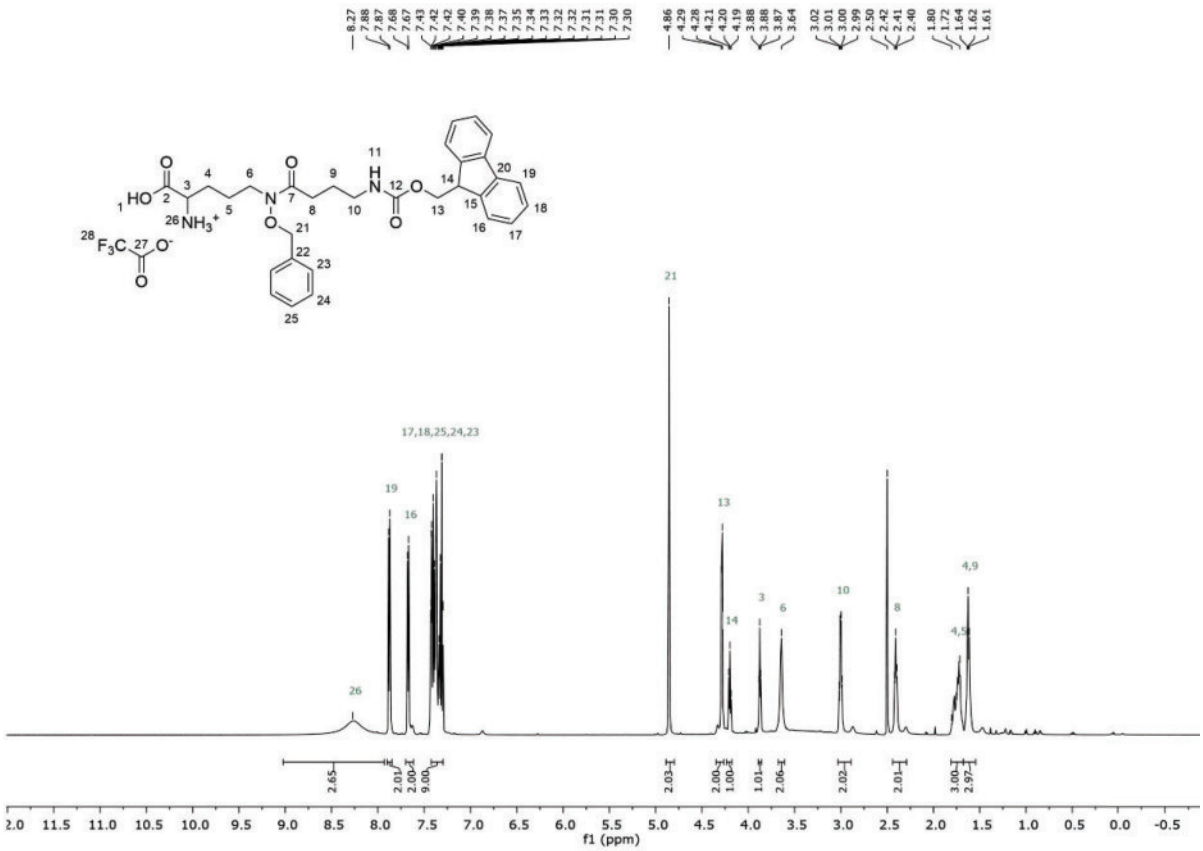


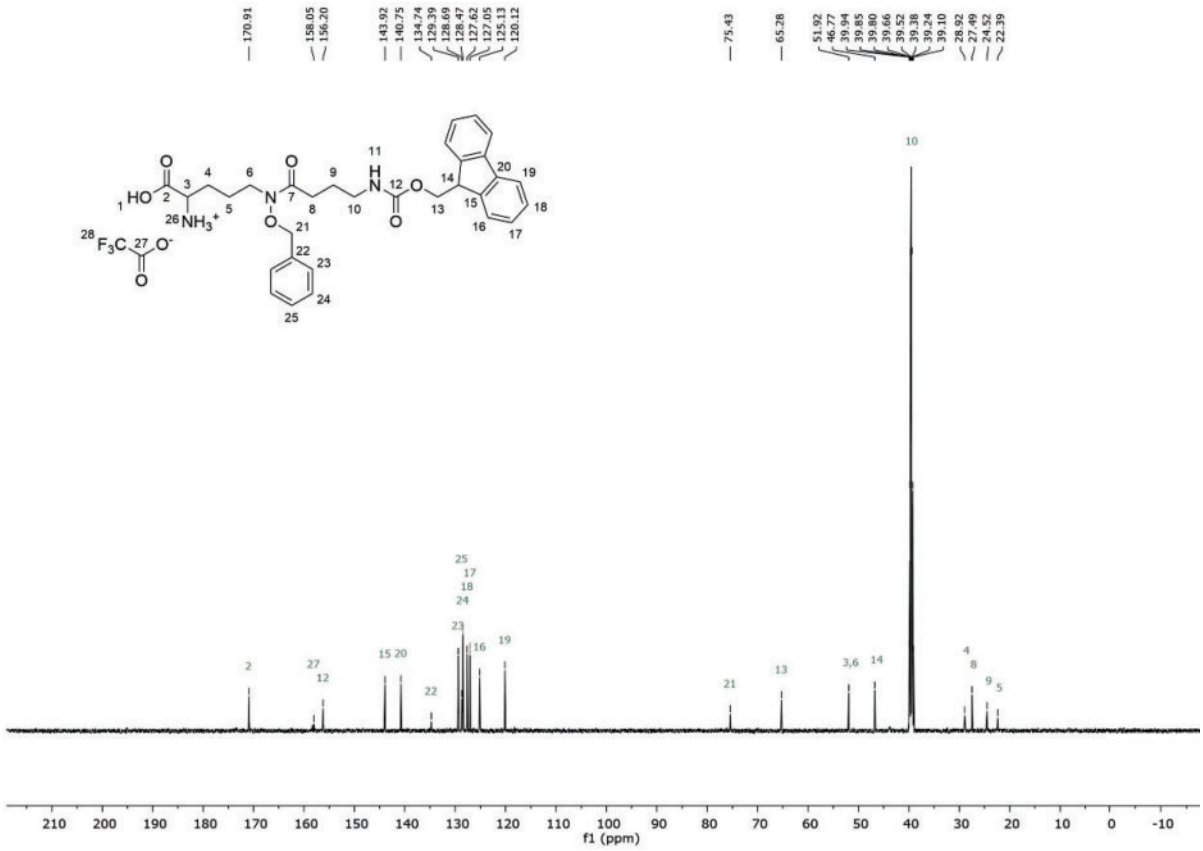
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **77**



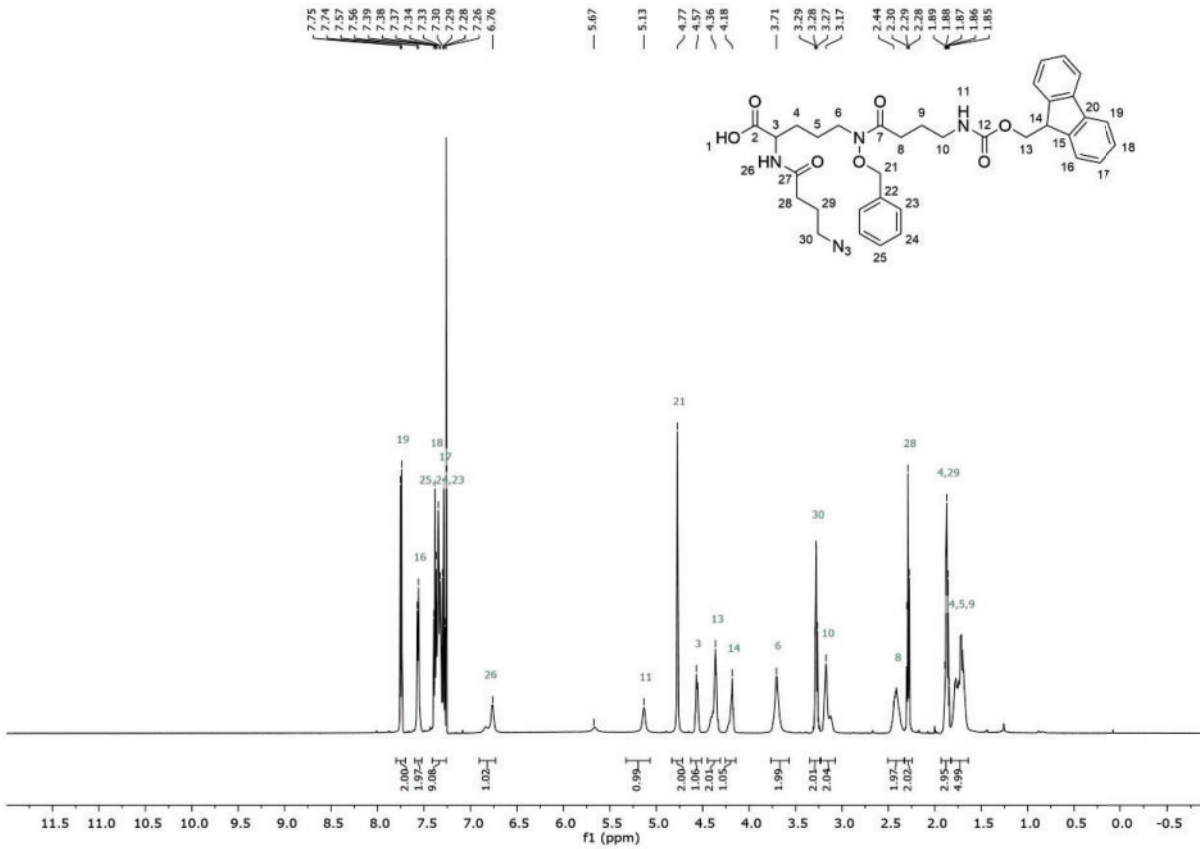


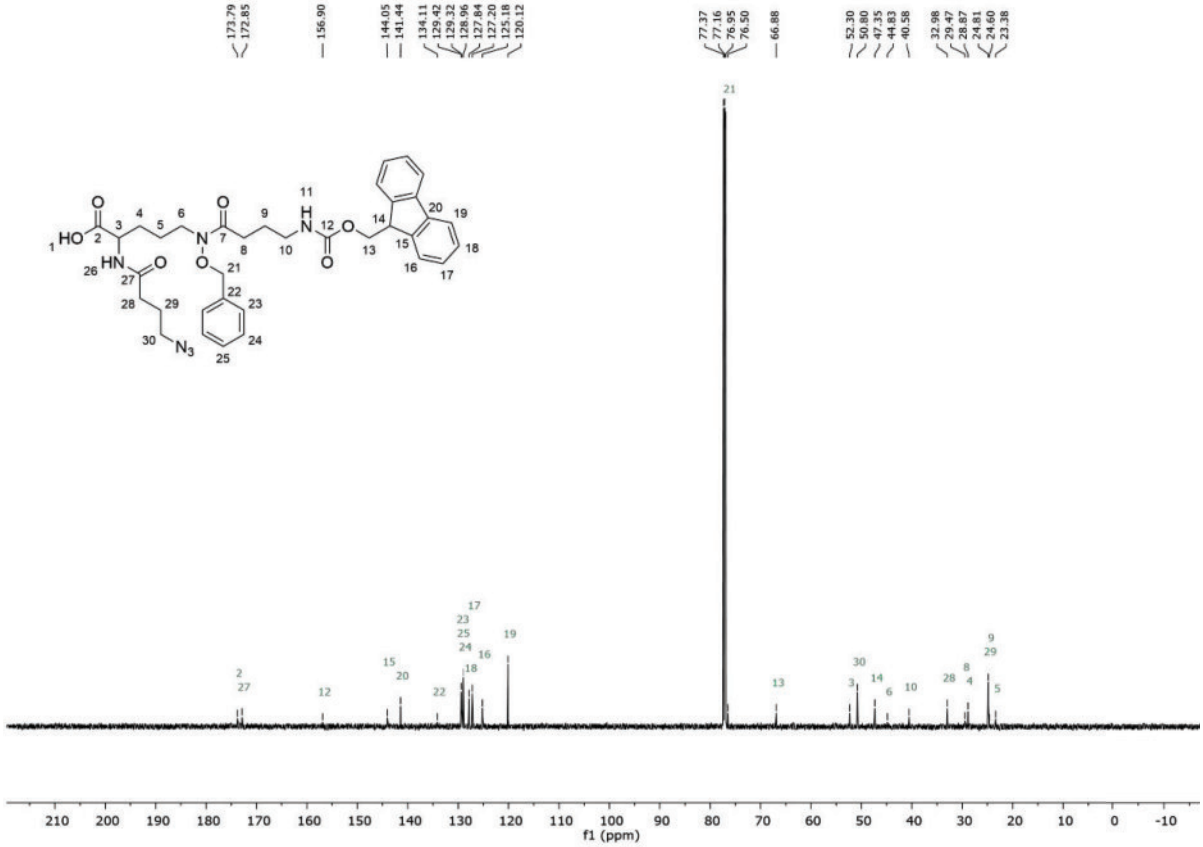
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **96**



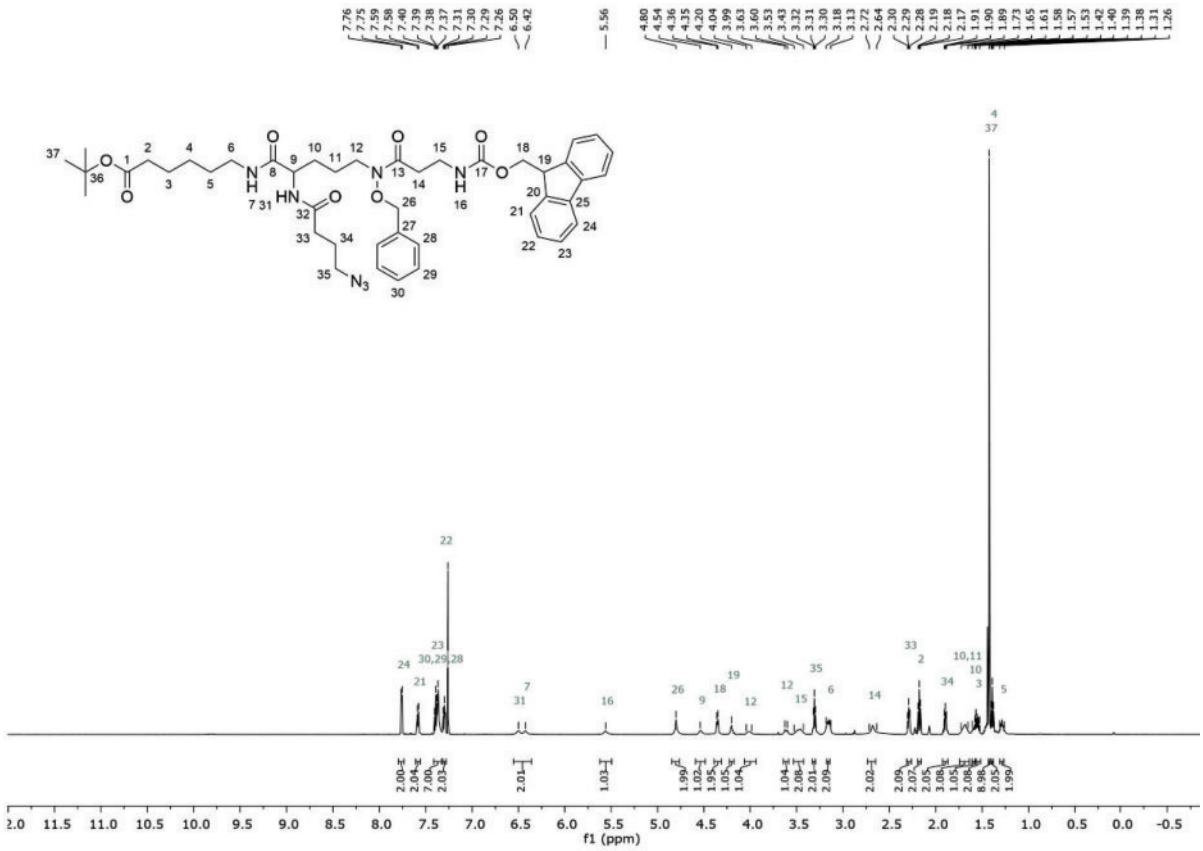


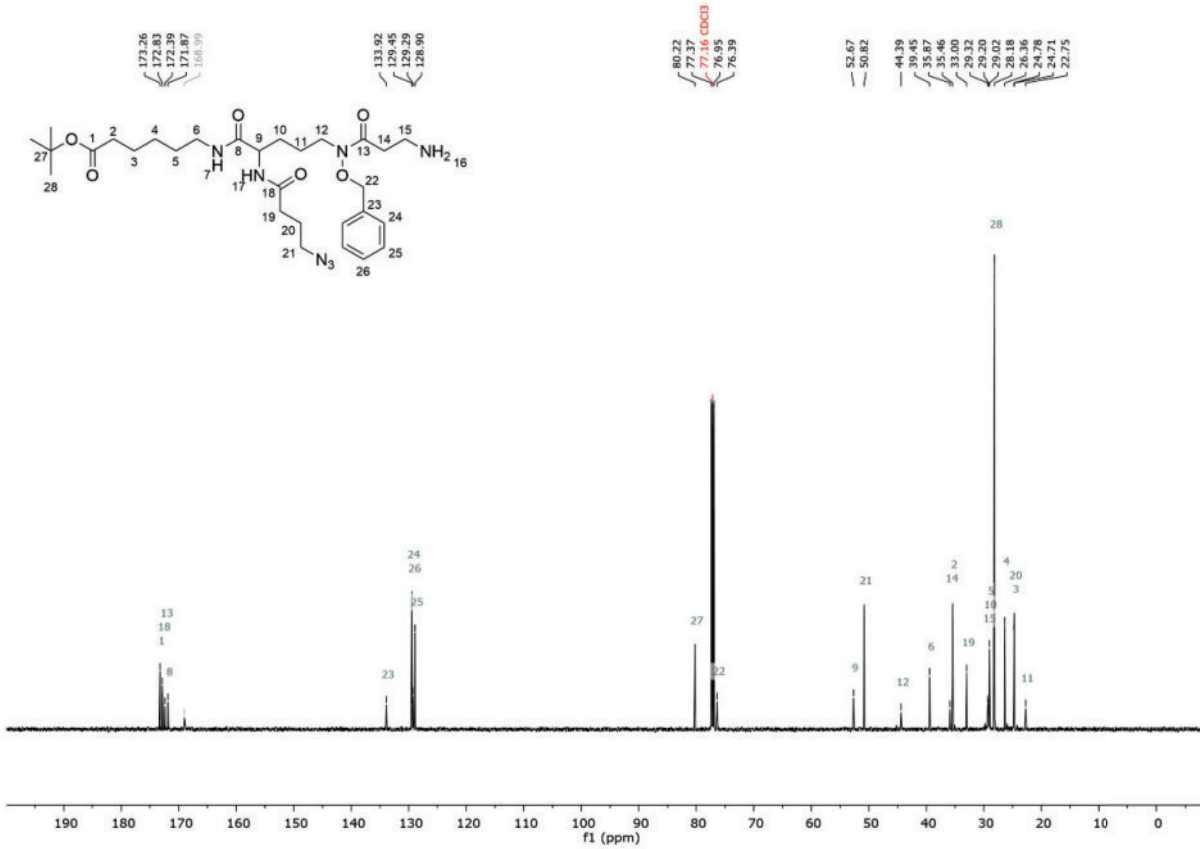
^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **81**



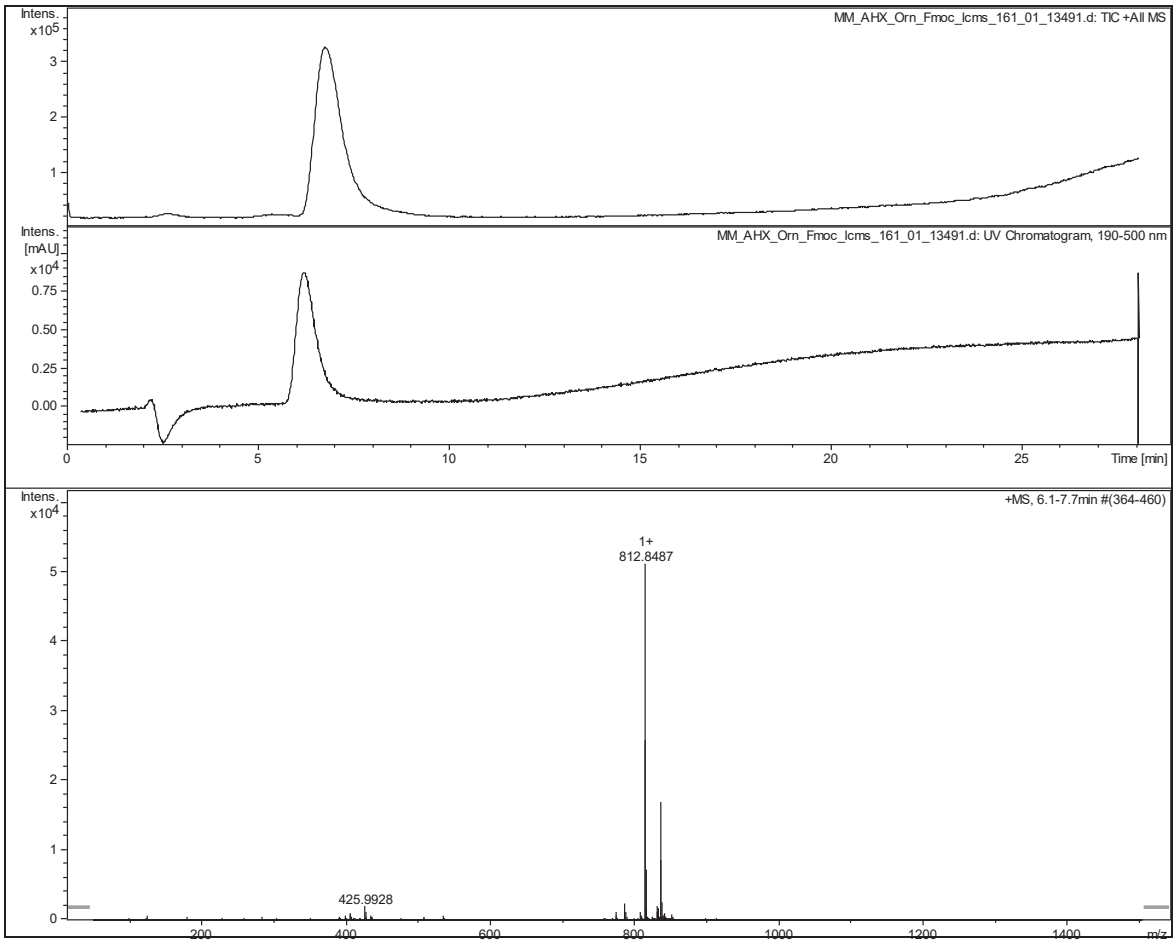


^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **108**

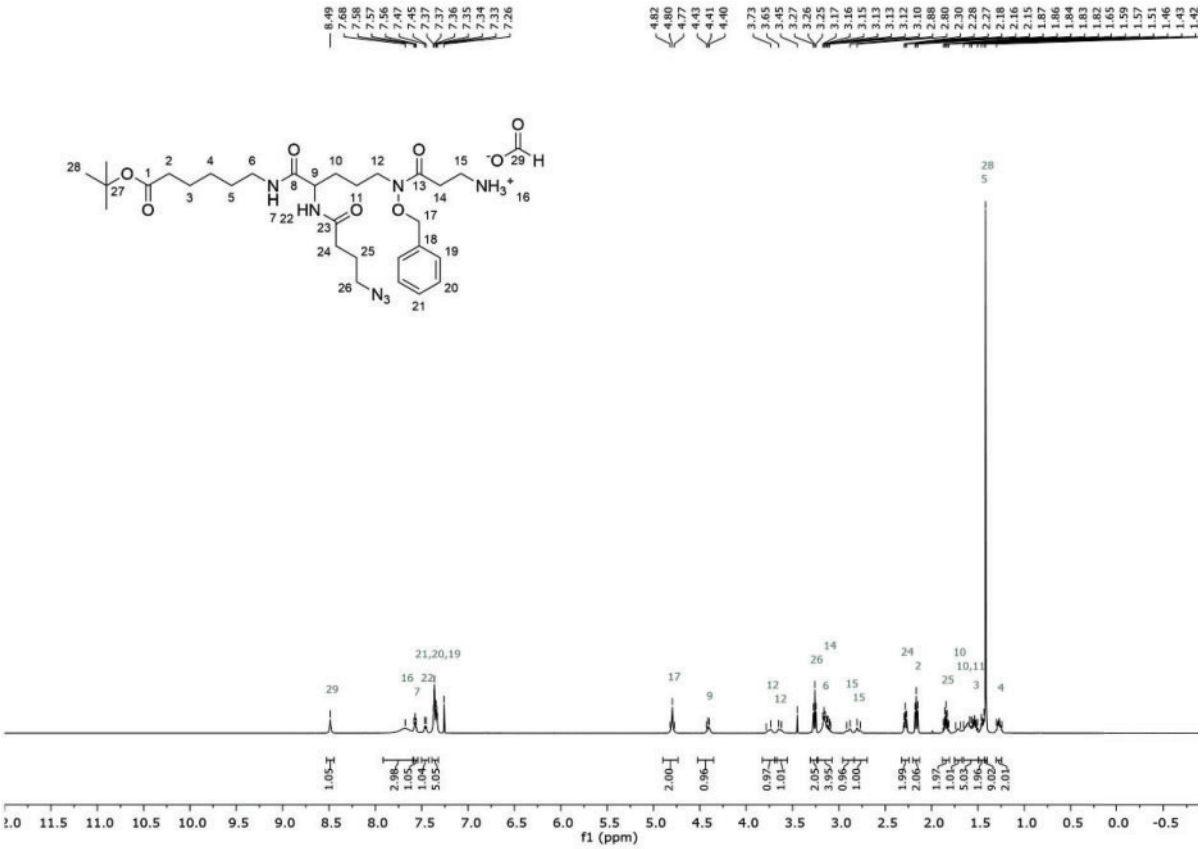


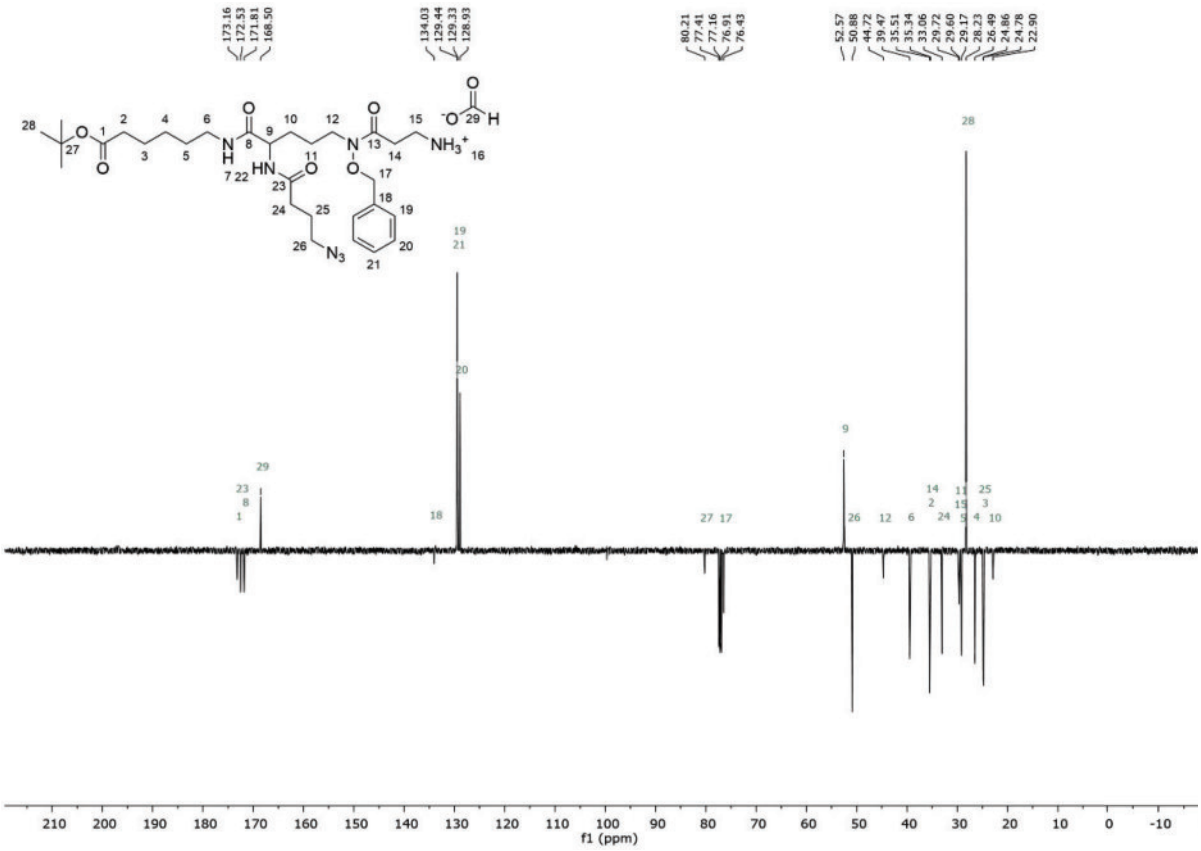


LC-MS **108**

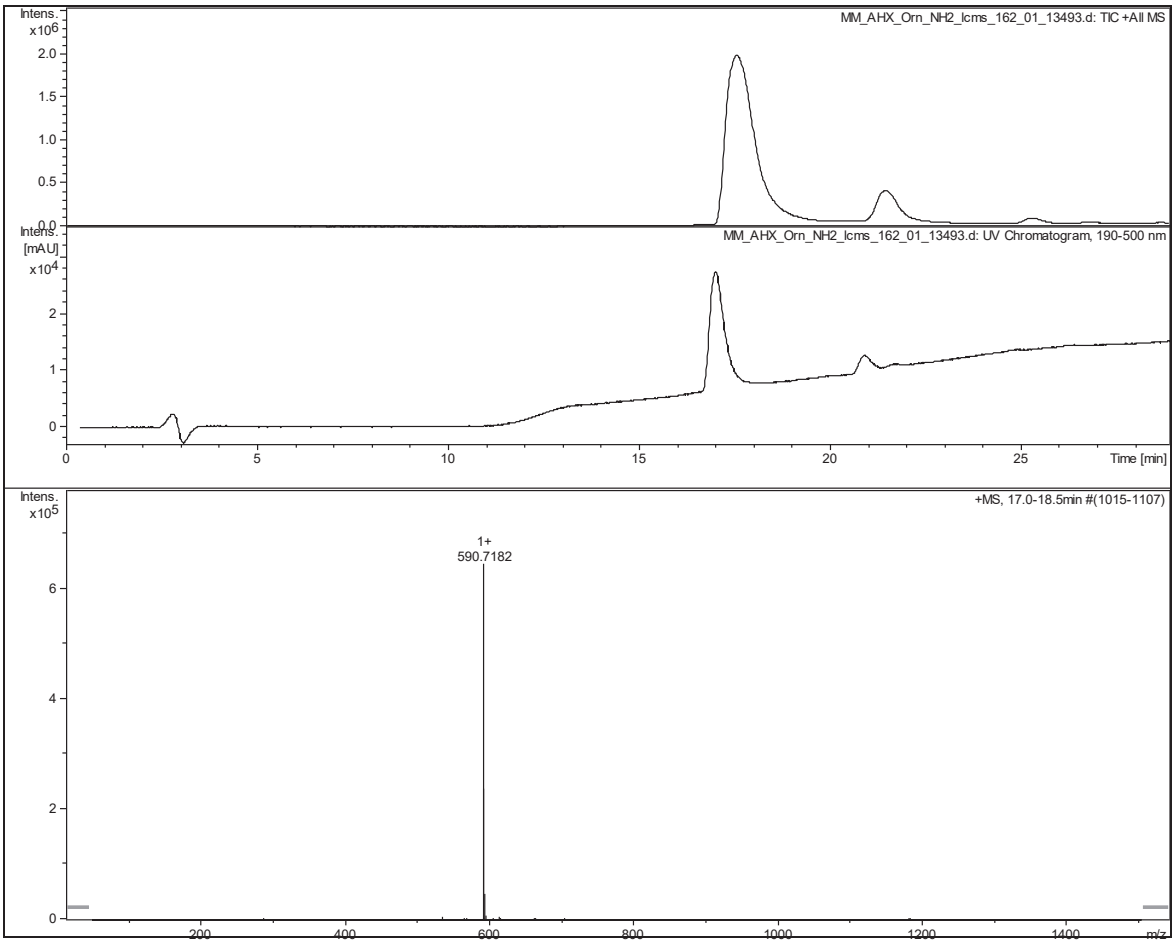

Intens.
x10^5
MM_AHX_Orn_Fmoc_lcms_161_01_13491.d: TIC +All MS
Intens.
[mAU]
x10^4
MM_AHX_Orn_Fmoc_lcms_161_01_13491.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Time [min]
Intens.
x10^4
+MS, 6.1-7.7min #(364-460)
1+
812.8487
425.9928
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **157**

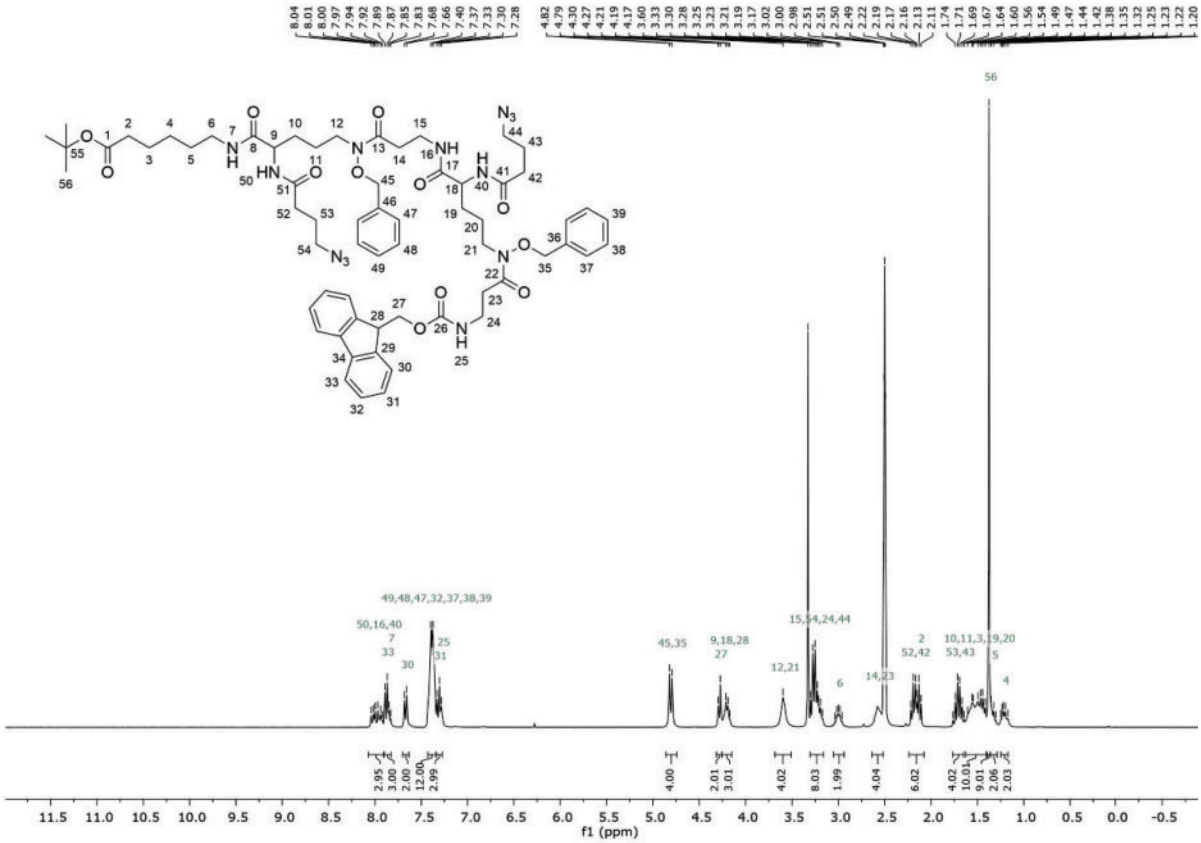


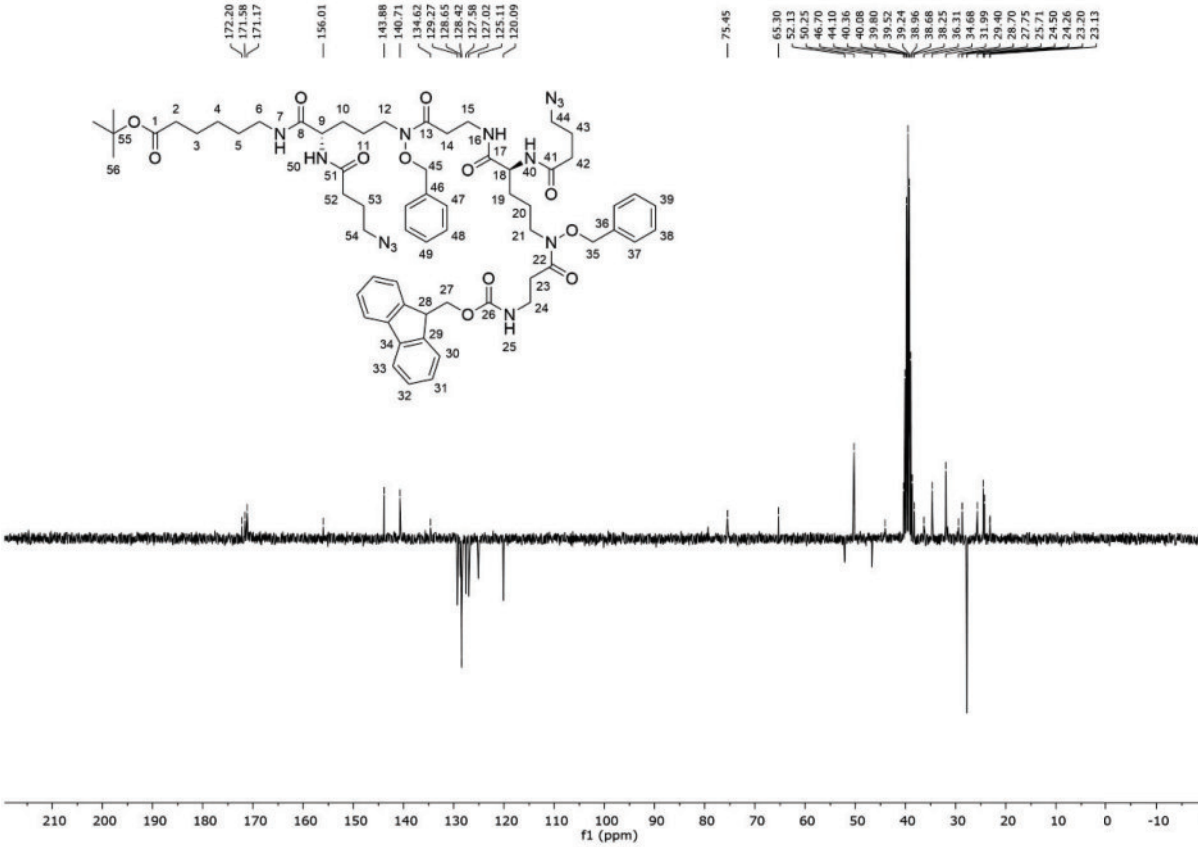


LC-MS **157**

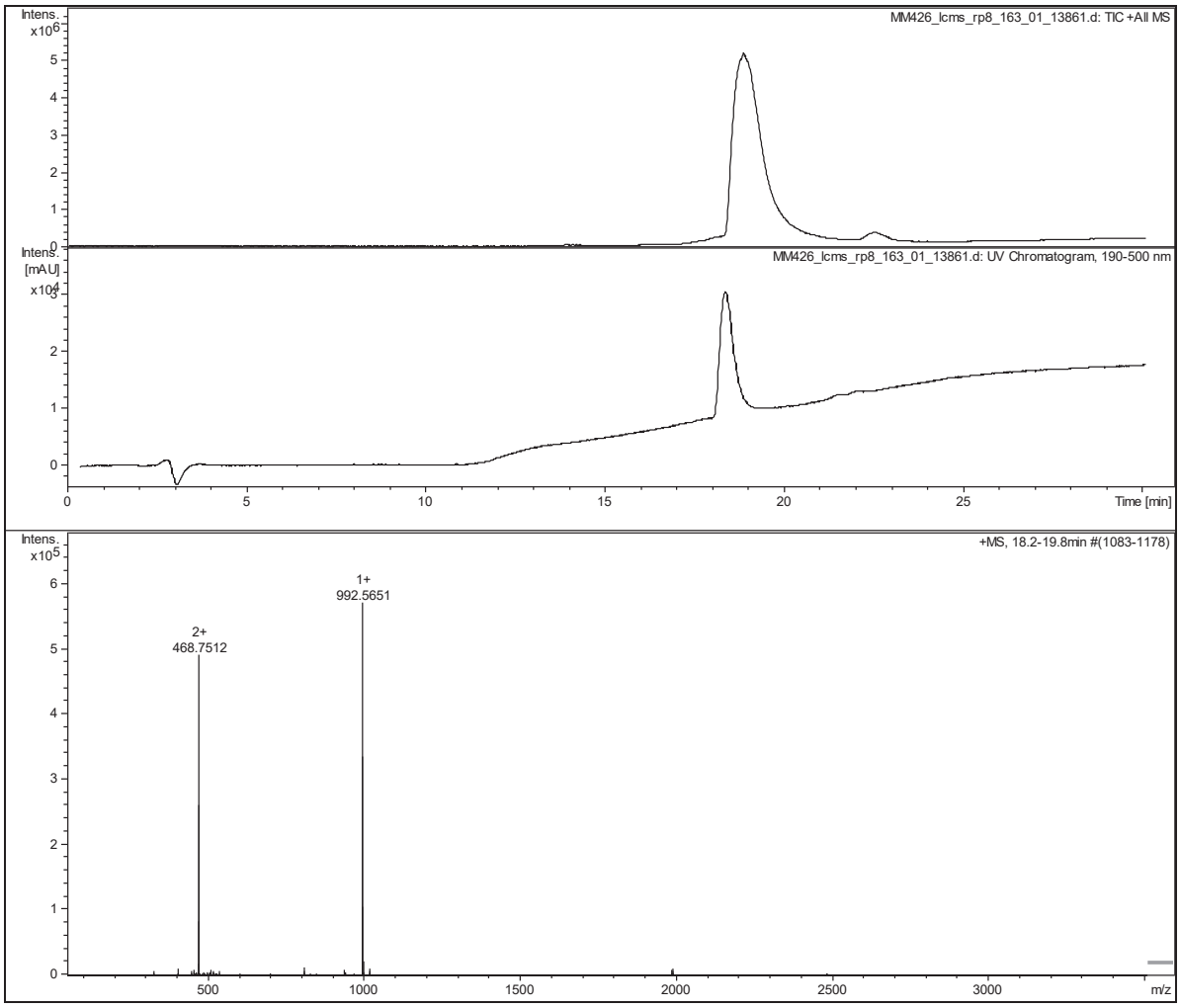

Intens.
x10^6
MM_AHX_Orn_NH2_lcms_162_01_13493.d: TIC +All MS
Intens.
[mAU]
x10^4
MM_AHX_Orn_NH2_lcms_162_01_13493.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Time [min]
Intens.
x10^5
+MS, 17.0-18.5min #(1015-1107)
1+
590.7182
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **109**

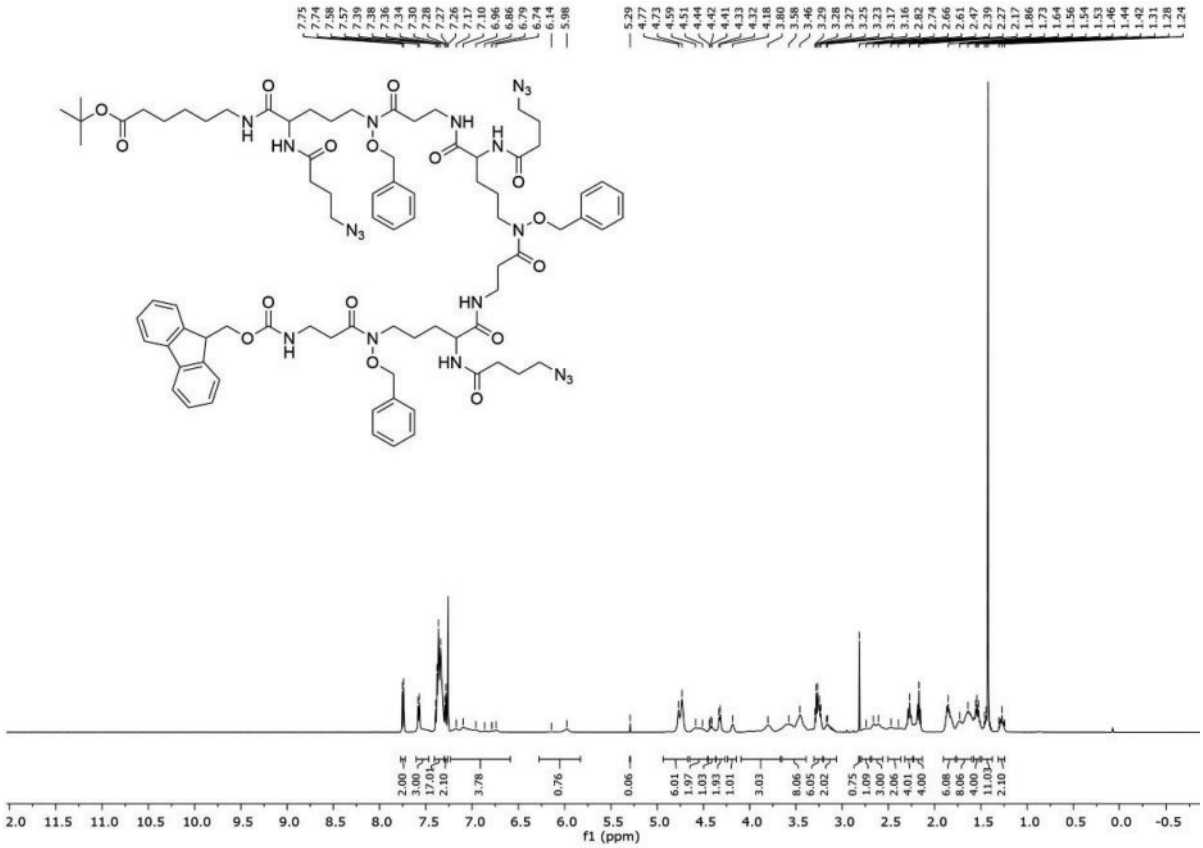


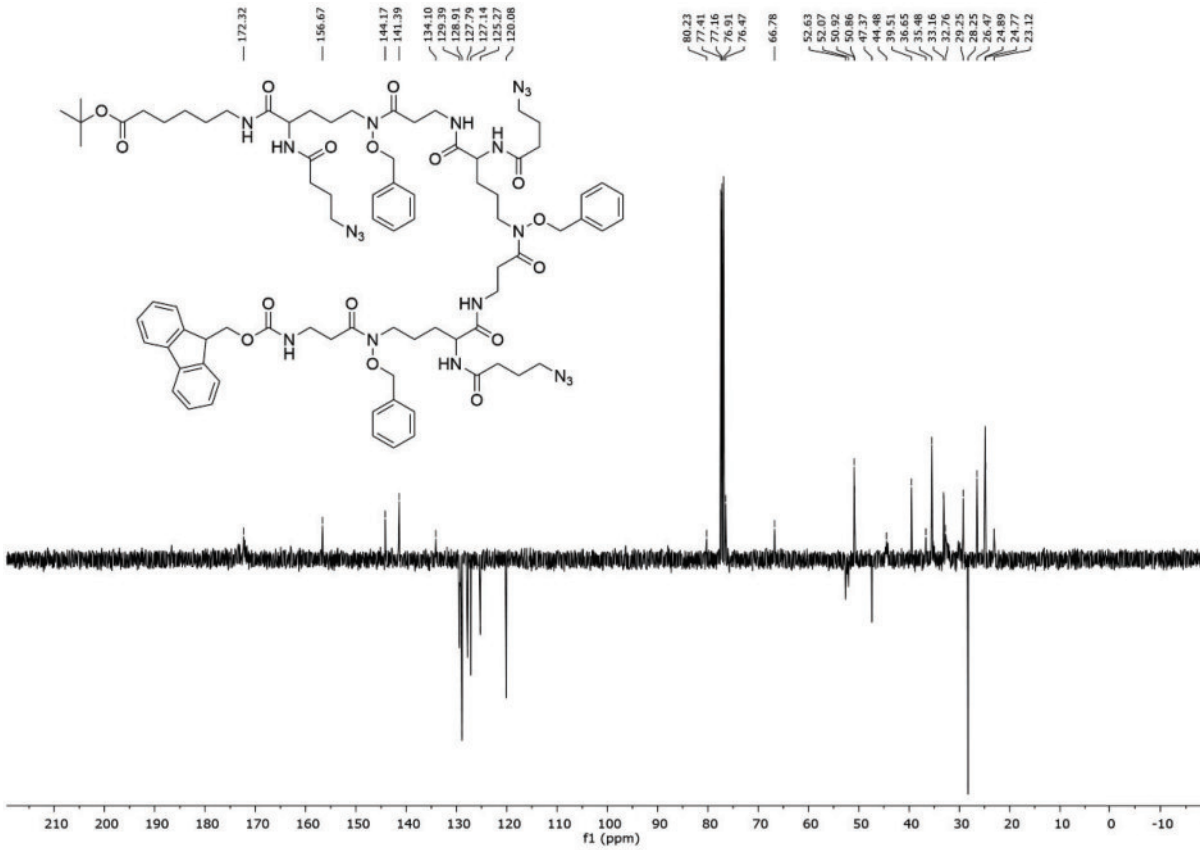


LC-MS **158**

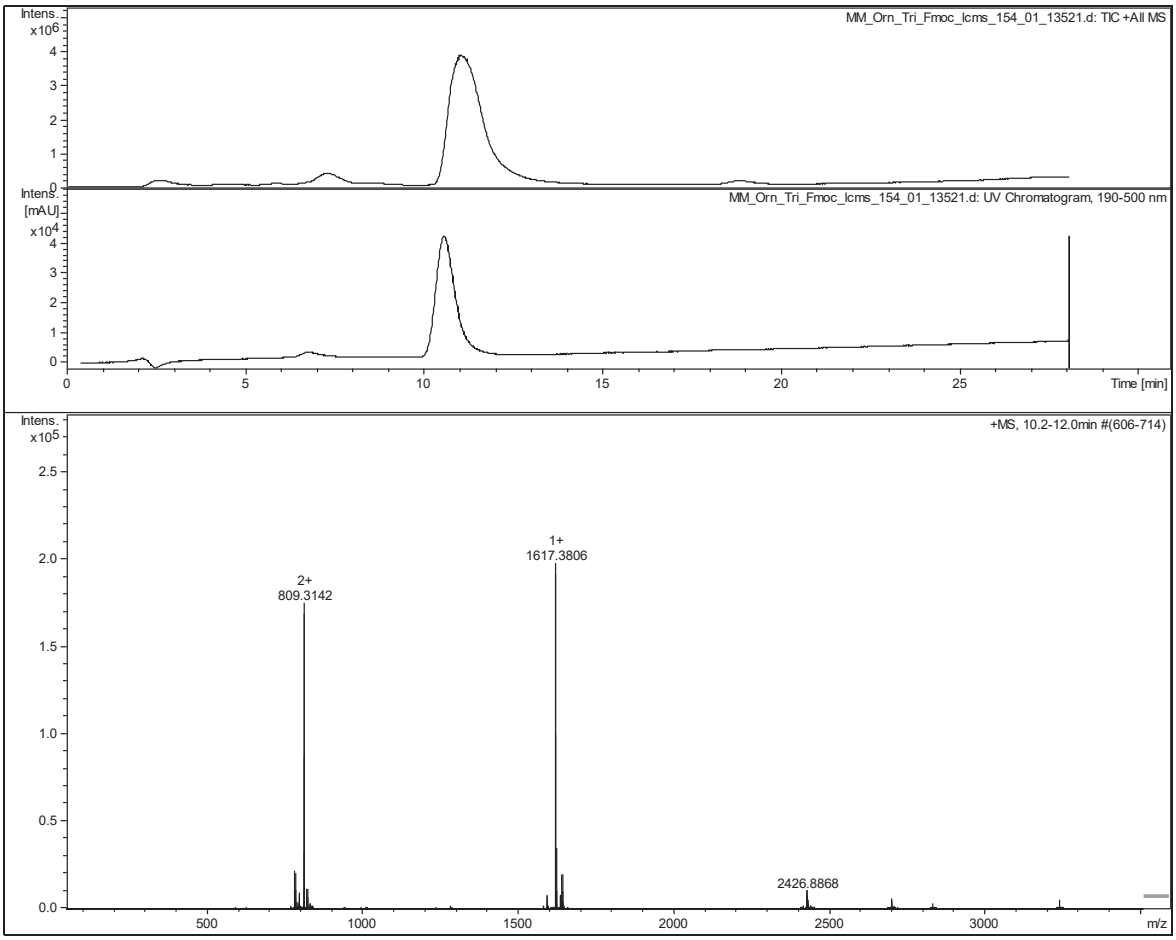

Intens.
x10^6
MM426_lcms_rp8_163_01_13861.d: TIC +All MS
Intens.
[mAU]
x10^4
MM426_lcms_rp8_163_01_13861.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Time [min]
Intens.
x10^5
+MS, 18.2-19.8min #(1083-1178)
1+
992.5651
2+
468.7512
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **110**

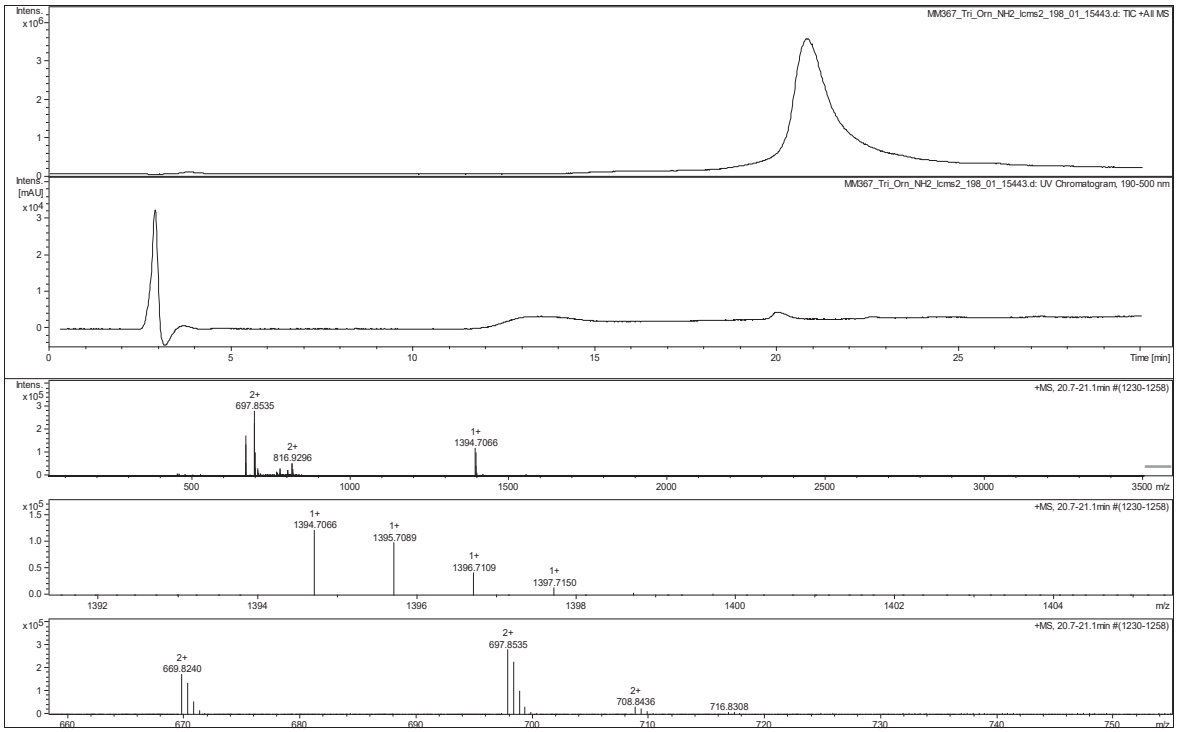




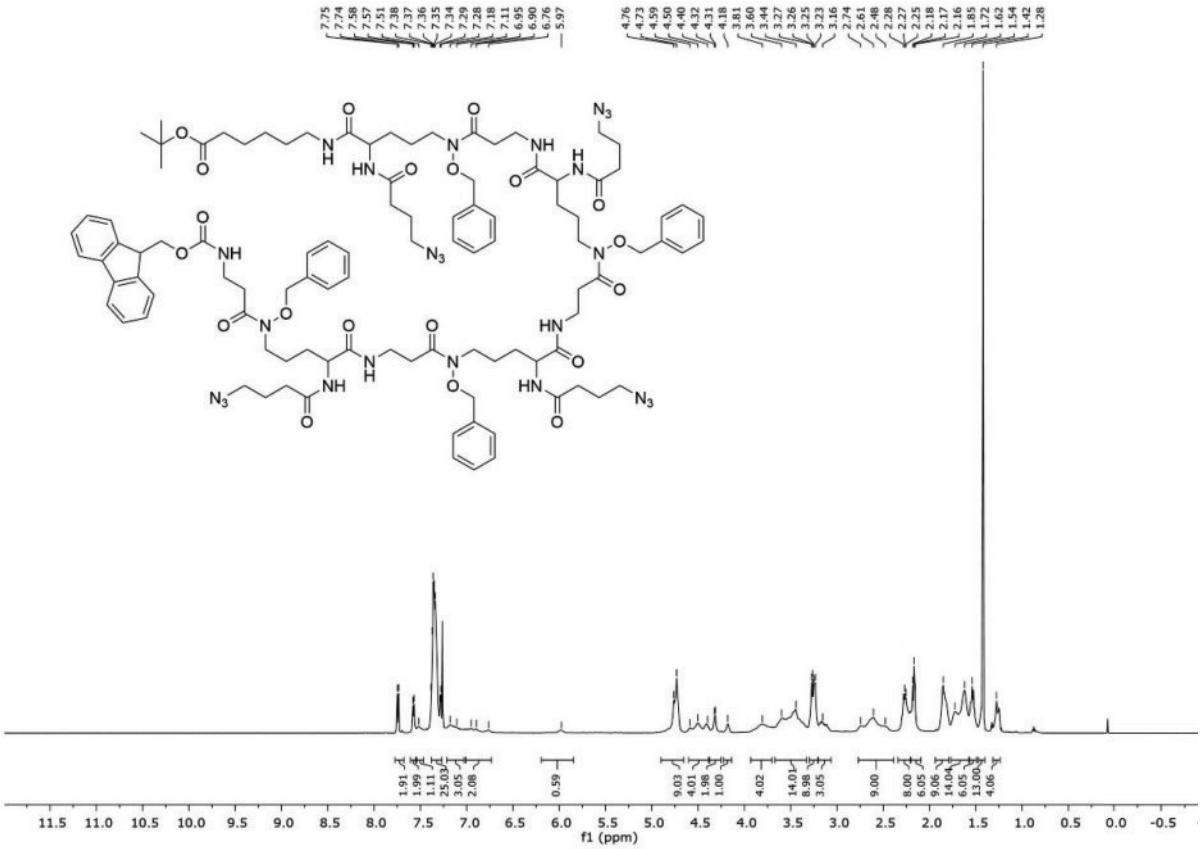
LC-MS **110**

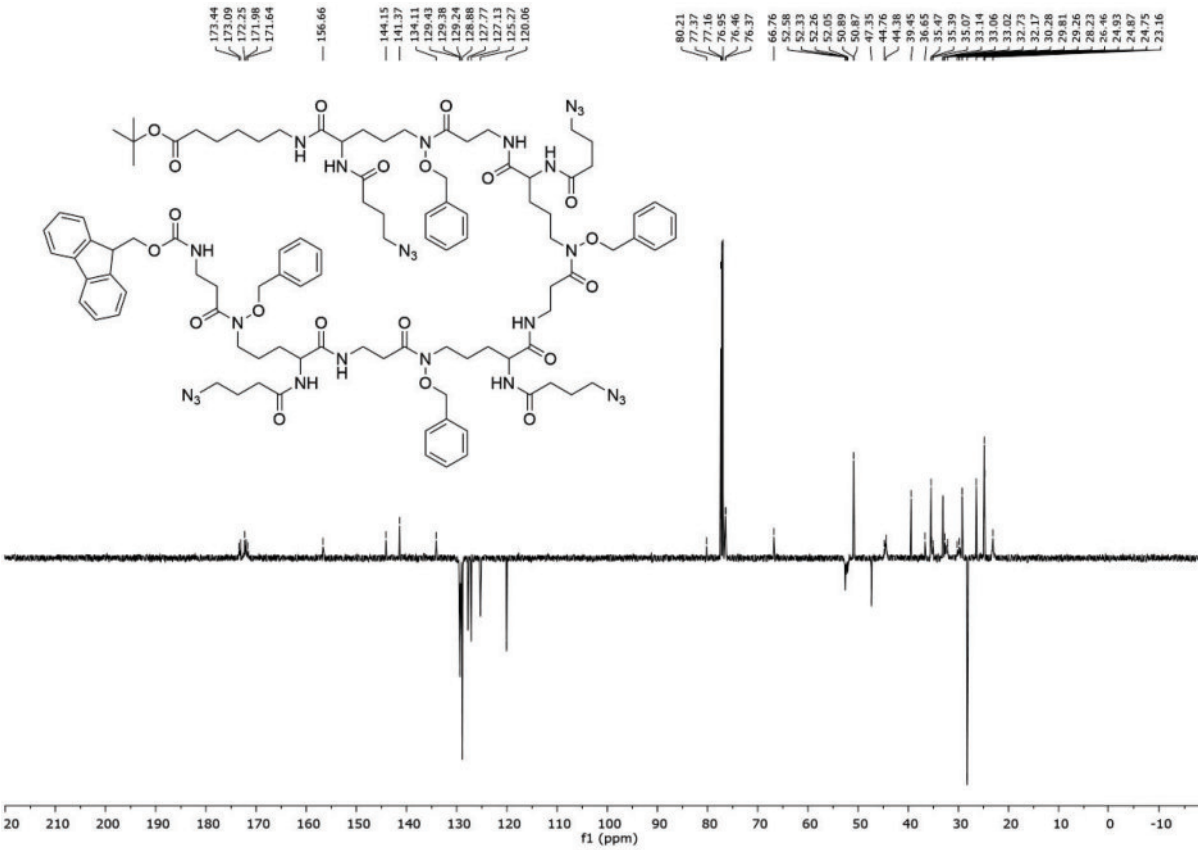


LC-MS **159**

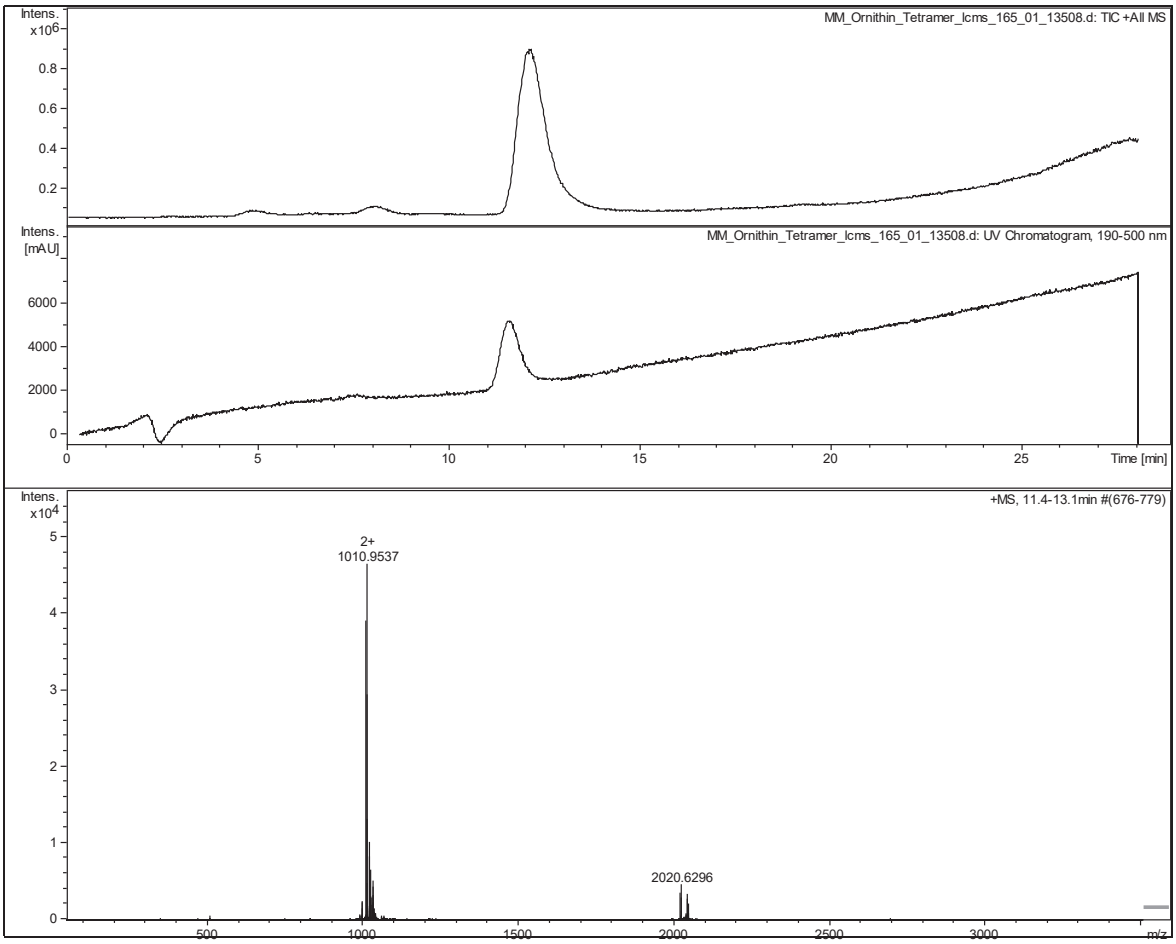


^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **111**

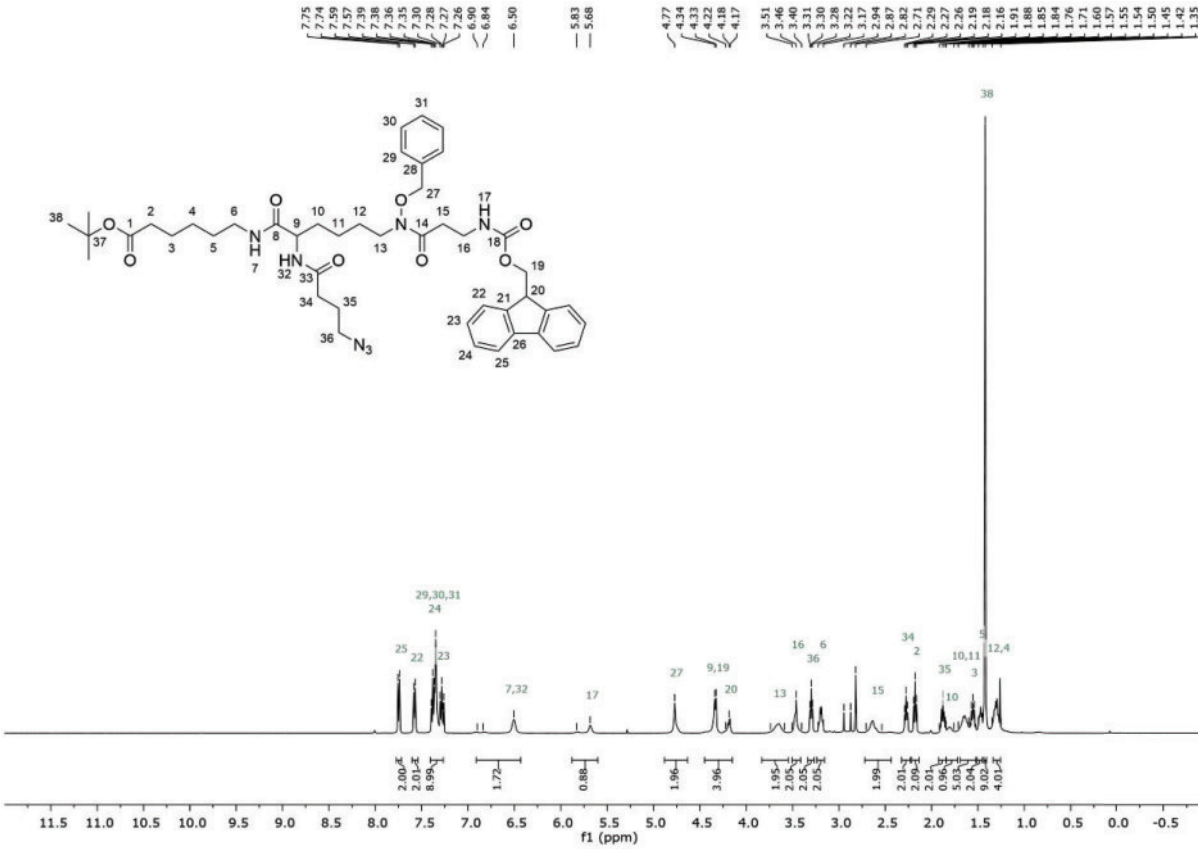


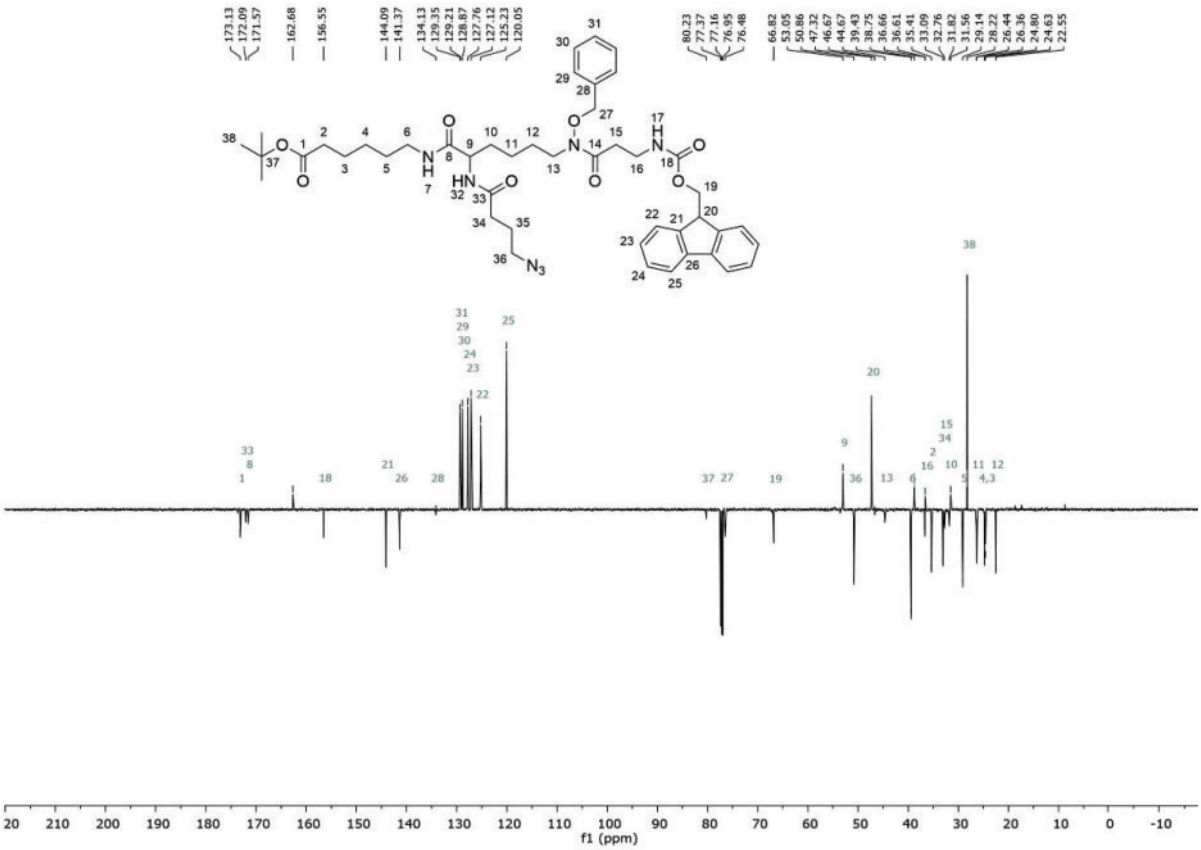


LC-MS **111**

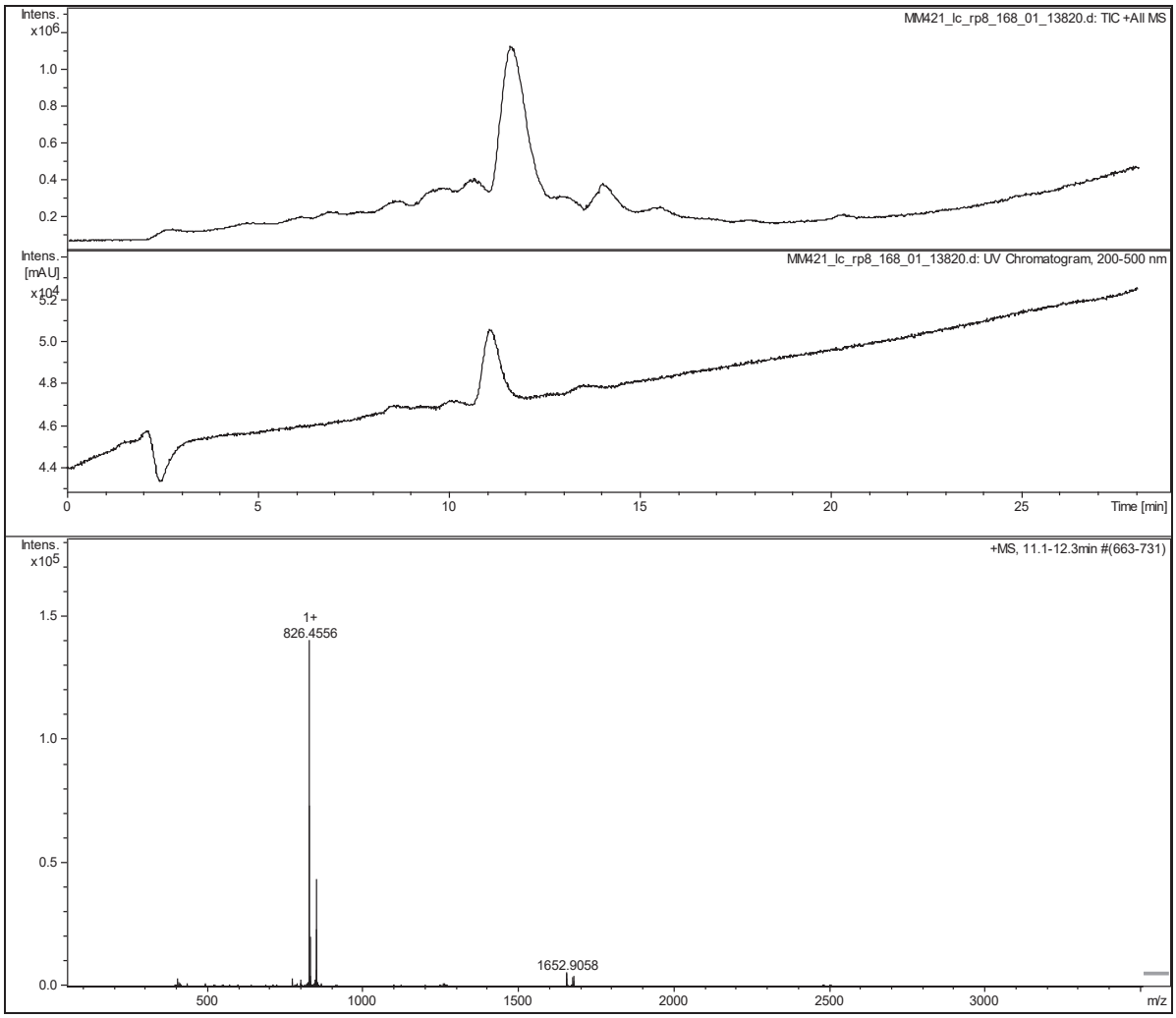

Intens.
x10^6
MM_Ornithin_Tetramer_lcms_165_01_13508.d: TIC +All MS
0.8
0.6
0.4
0.2
Intens.
[mAU]
MM_Ornithin_Tetramer_lcms_165_01_13508.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
6000
4000
2000
0
0
5
10
15
20
25
Time [min]
Intens.
x10^4
+MS, 11.4-13.1min #(676-779)
2+
1010.9537
2020.6296
5
4
3
2
1
0
500
1000
1500
2000
2500
3000
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **112**

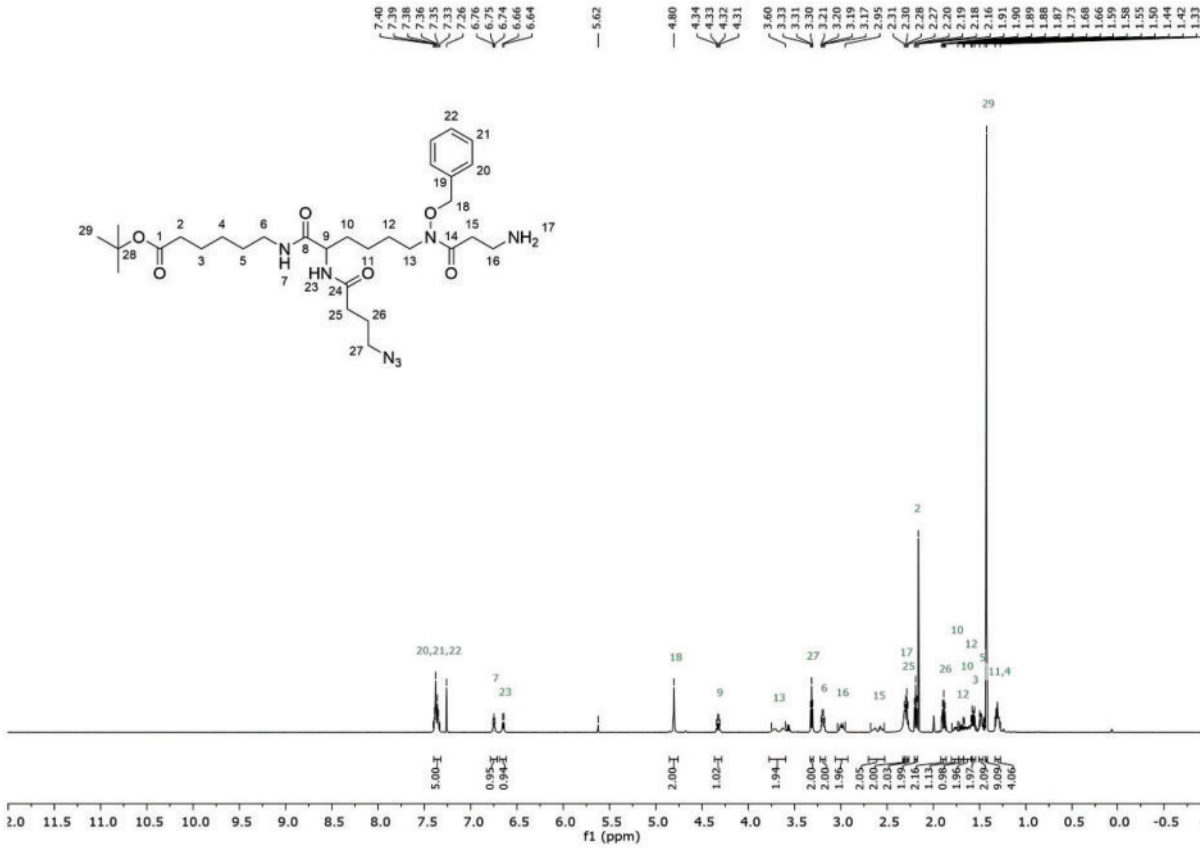


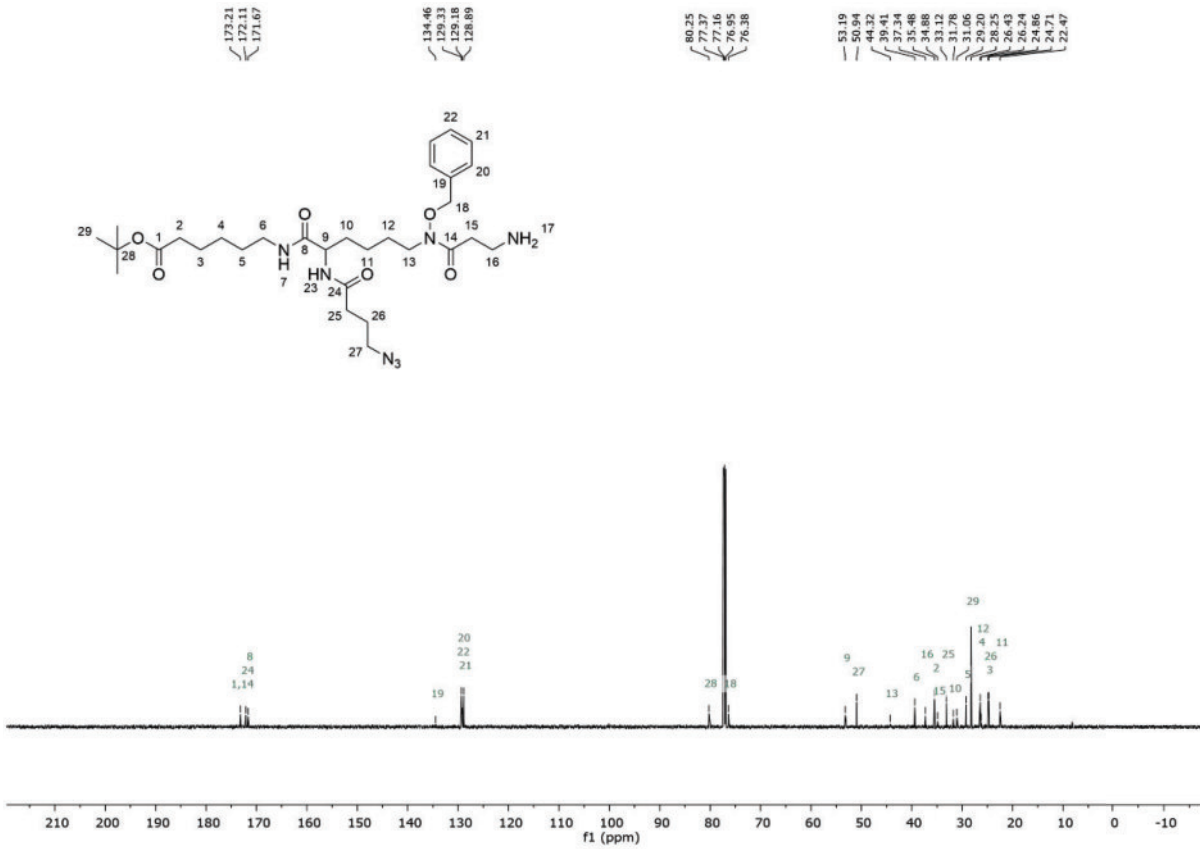


LC-MS **112**

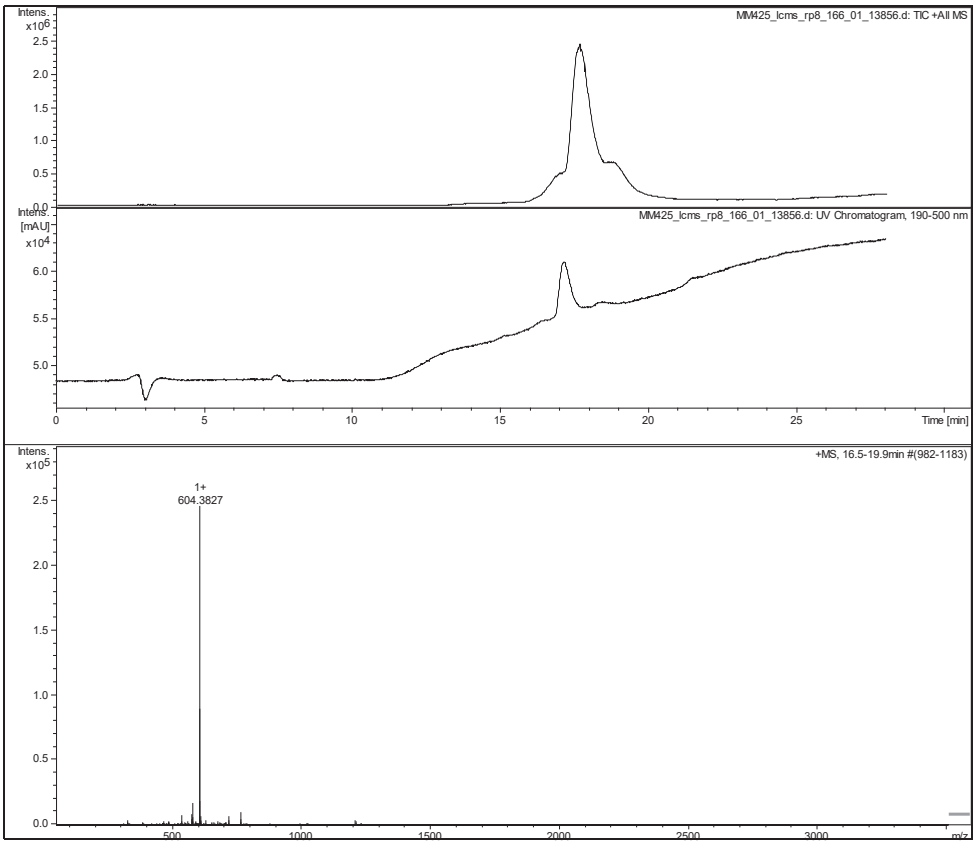

Intens.
x10^6
MM421_lc_rp8_168_01_13820.d: TIC +All MS
Intens.
[mAU]
x10^4
MM421_lc_rp8_168_01_13820.d: UV Chromatogram, 200-500 nm
Time [min]
Intens.
x10^5
+MS, 11.1-12.3min #(663-731)
1+
826.4556
1652.9058
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **160**

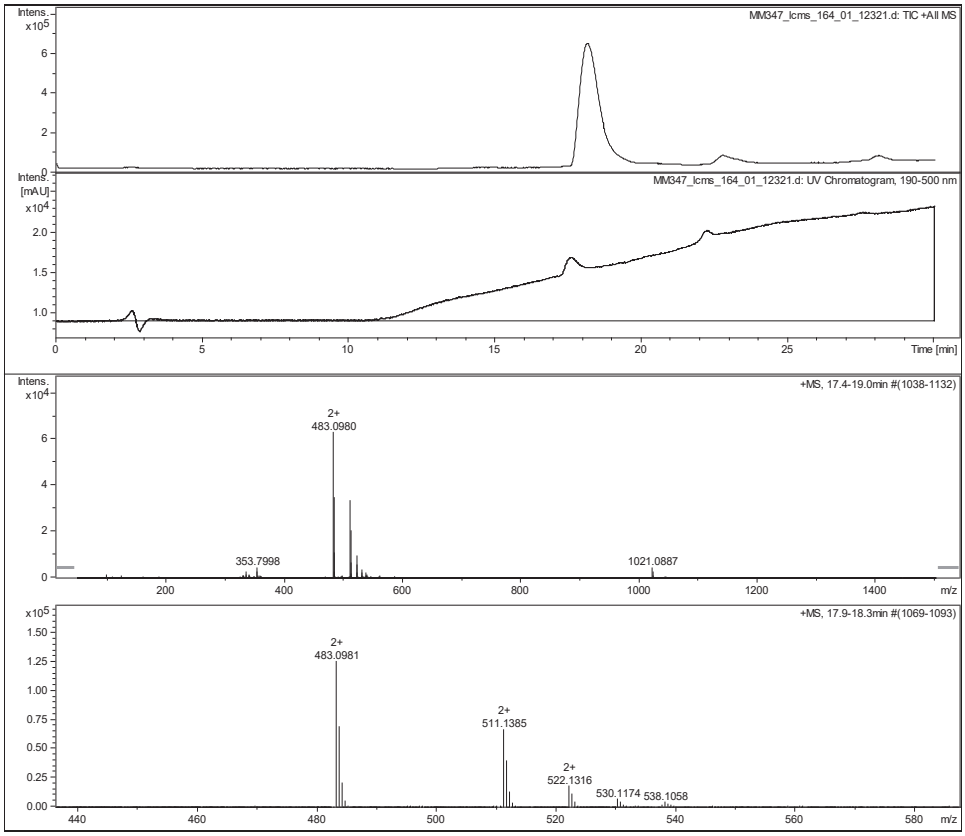




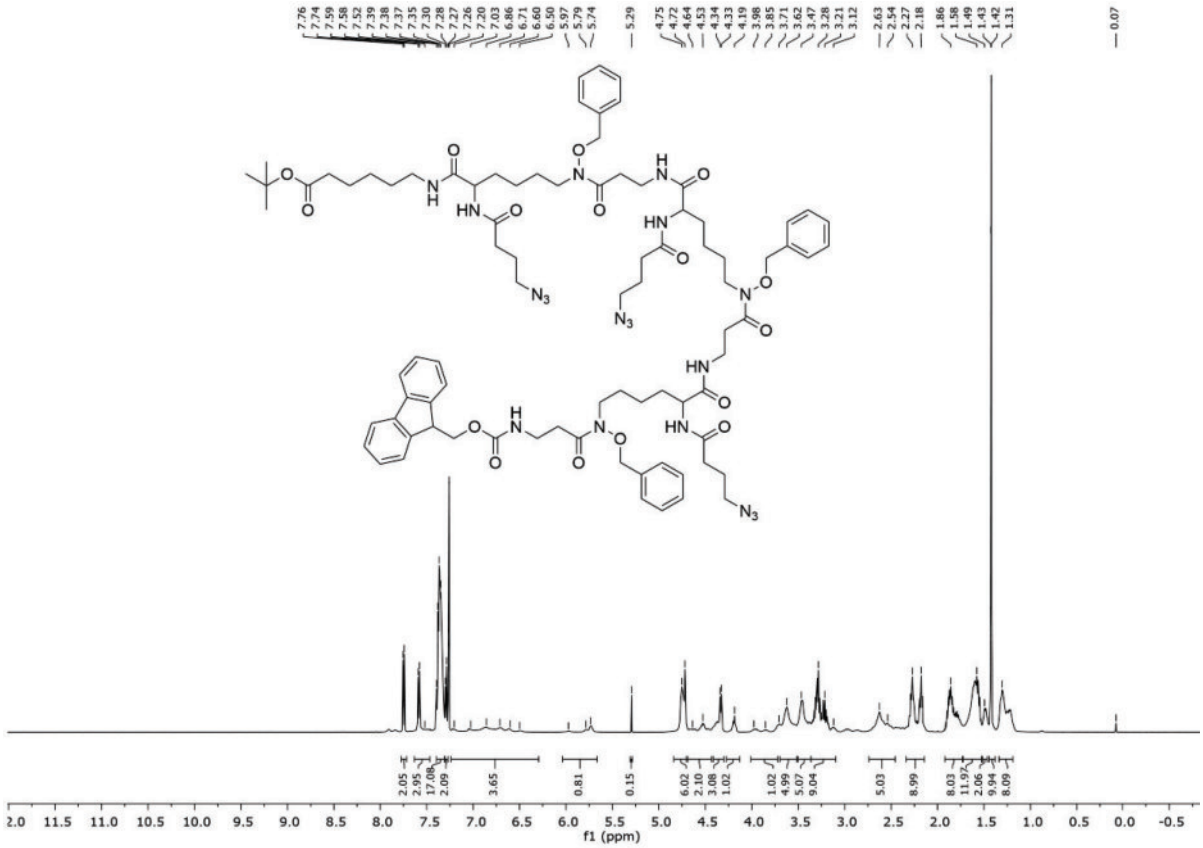
LC-MS **160**

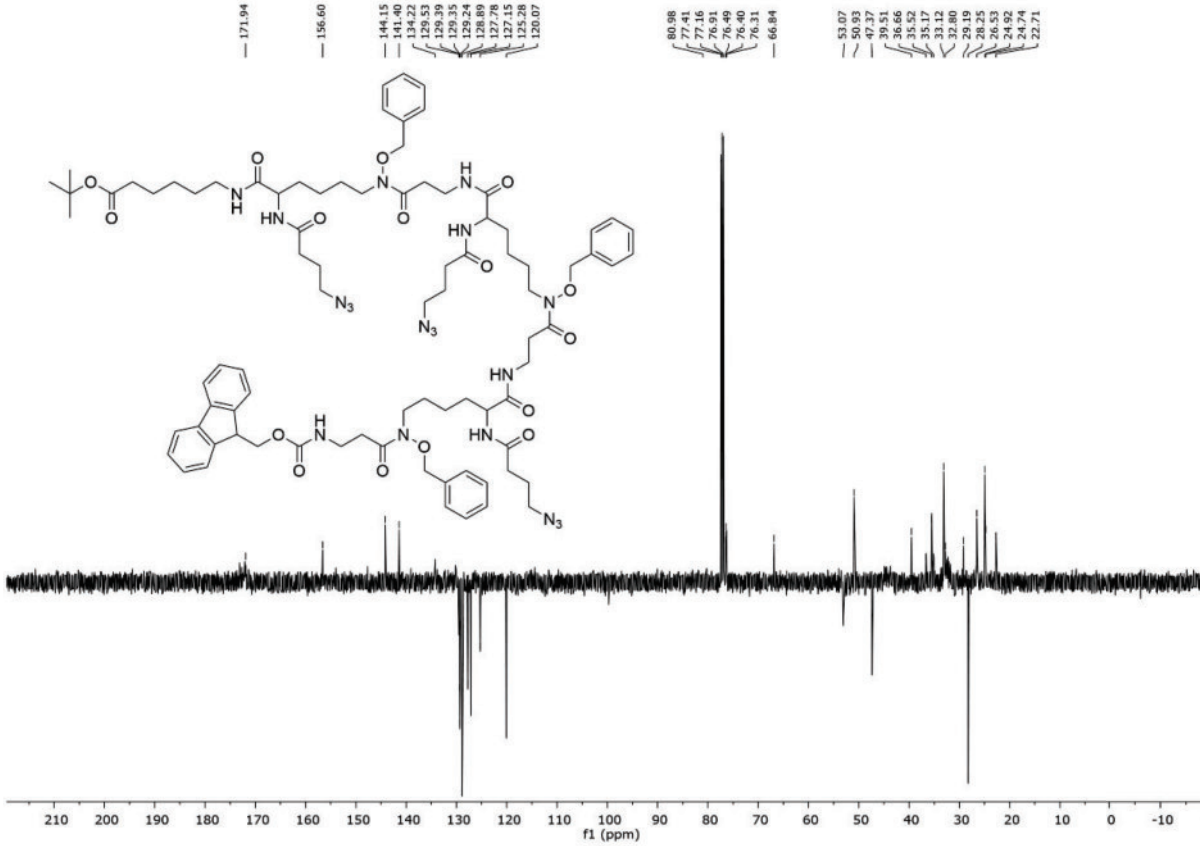


LC-MS **161**

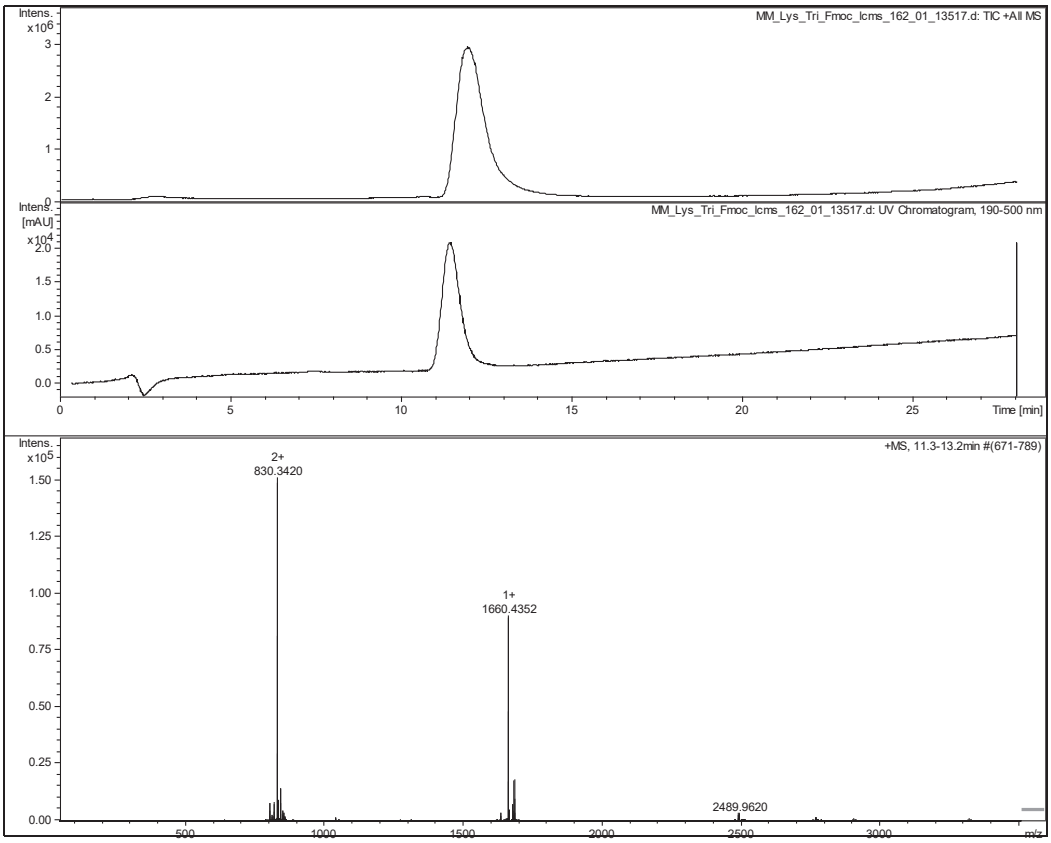


^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **114**

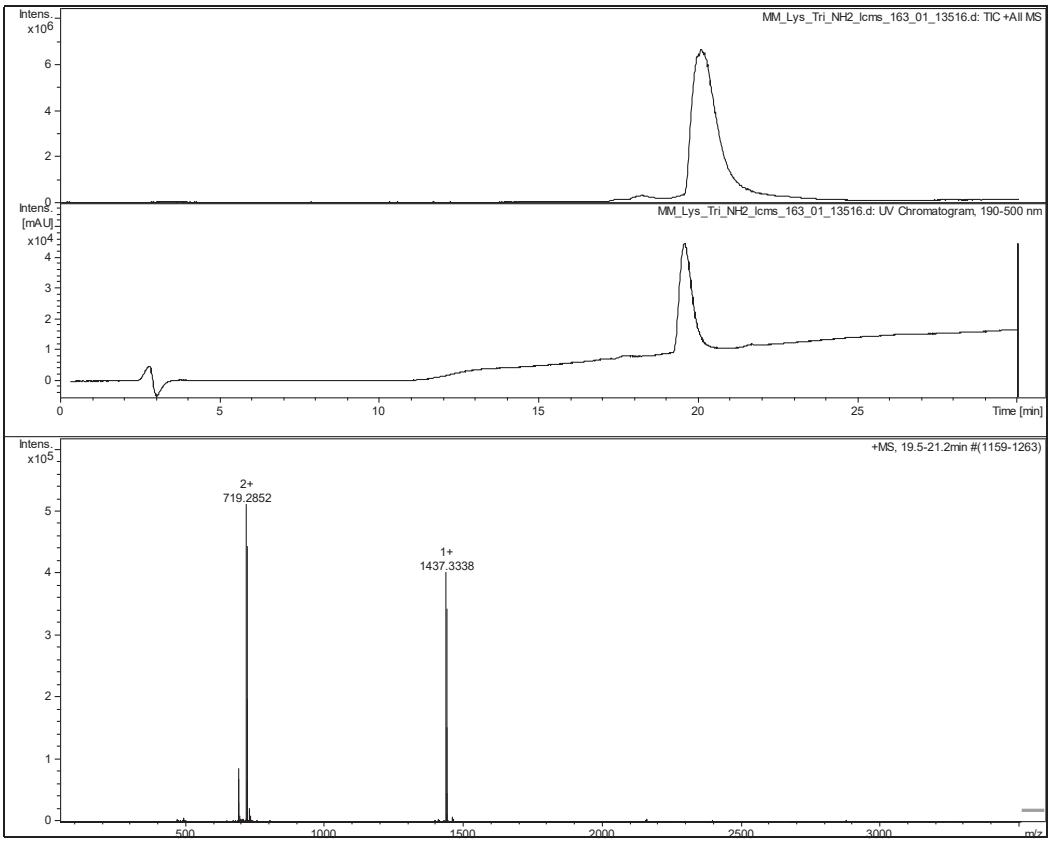




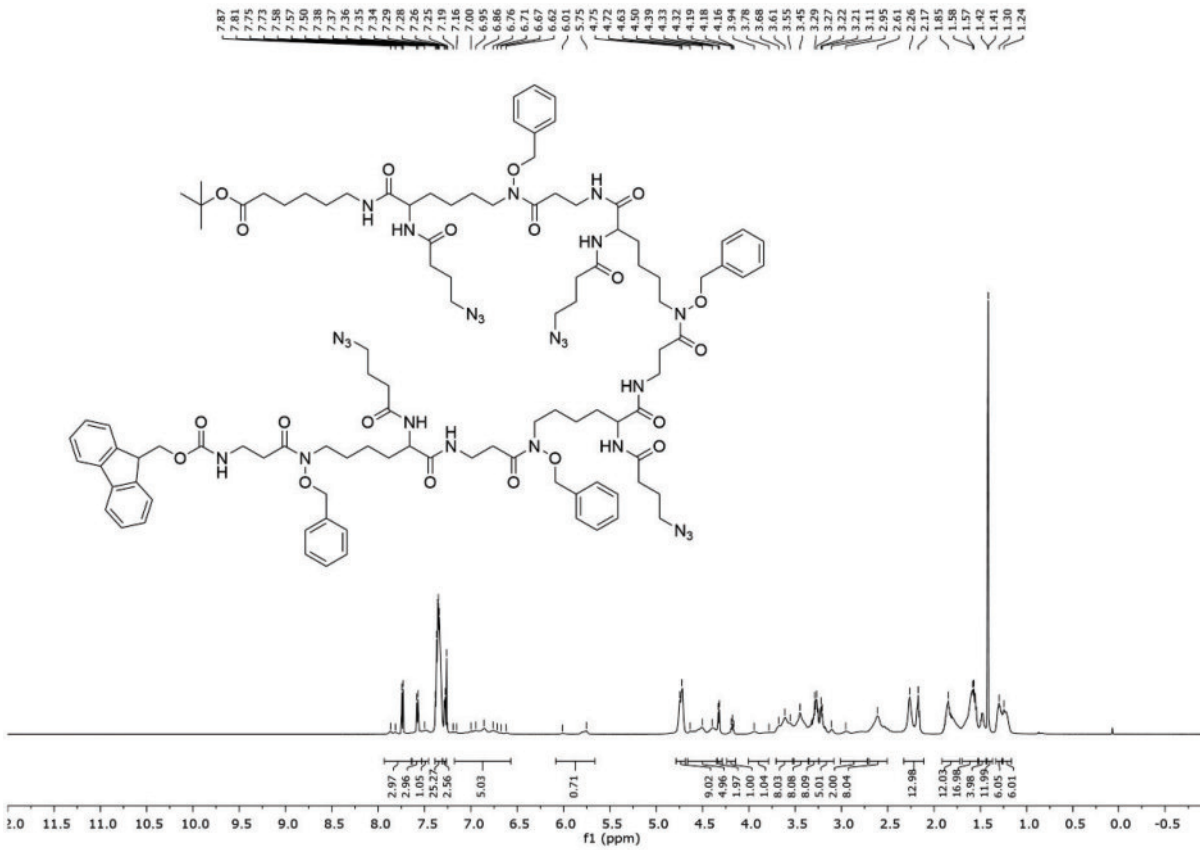
LC-MS **114**

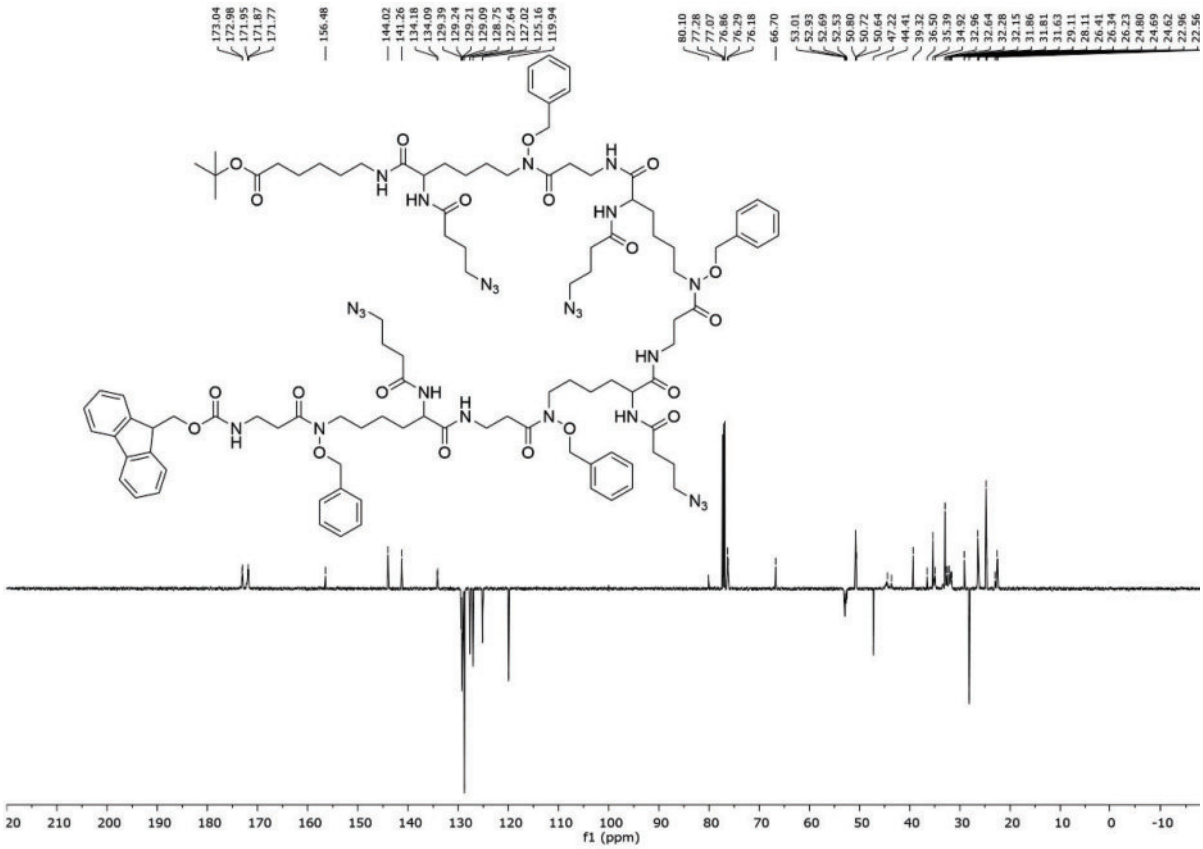


LC-MS **162**

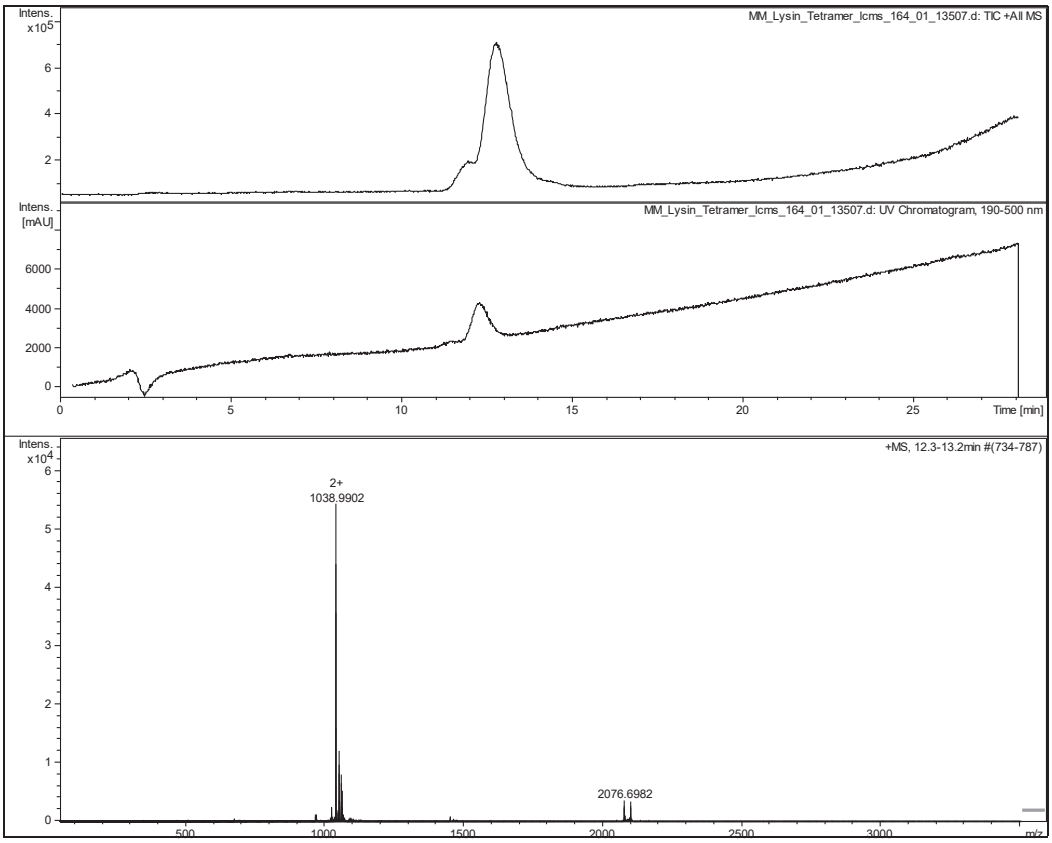


^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **115**

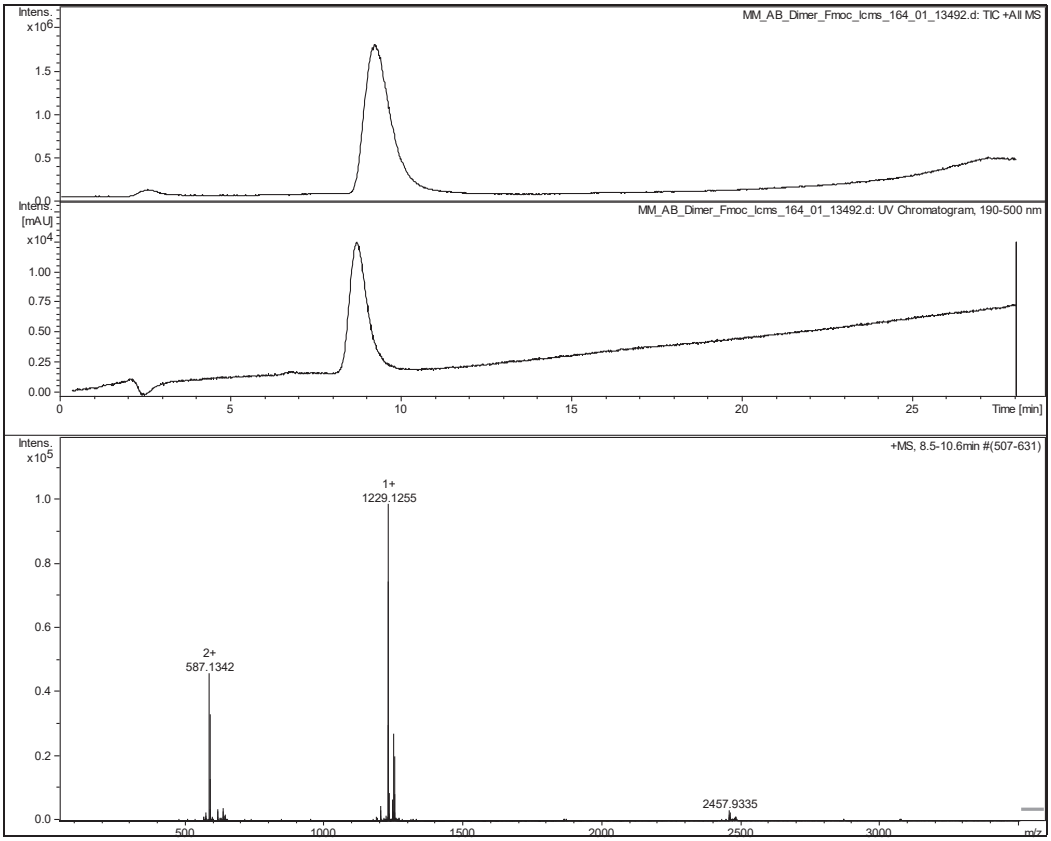




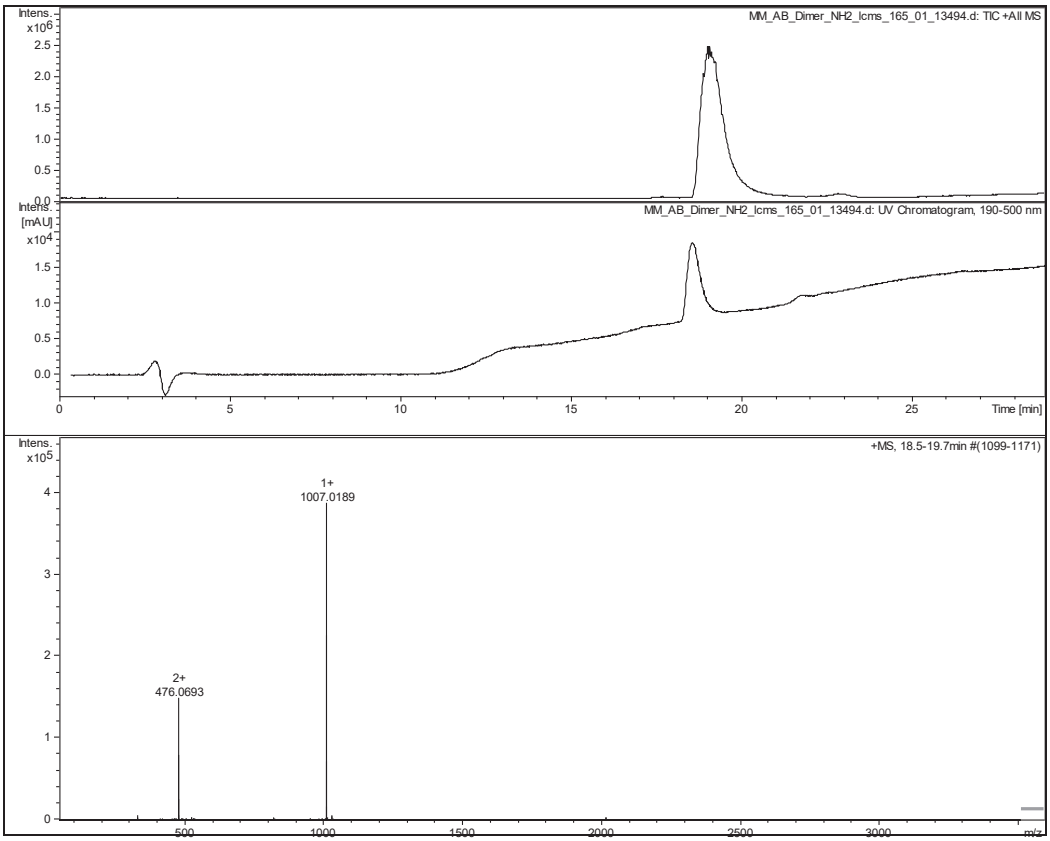
LC-MS **115**



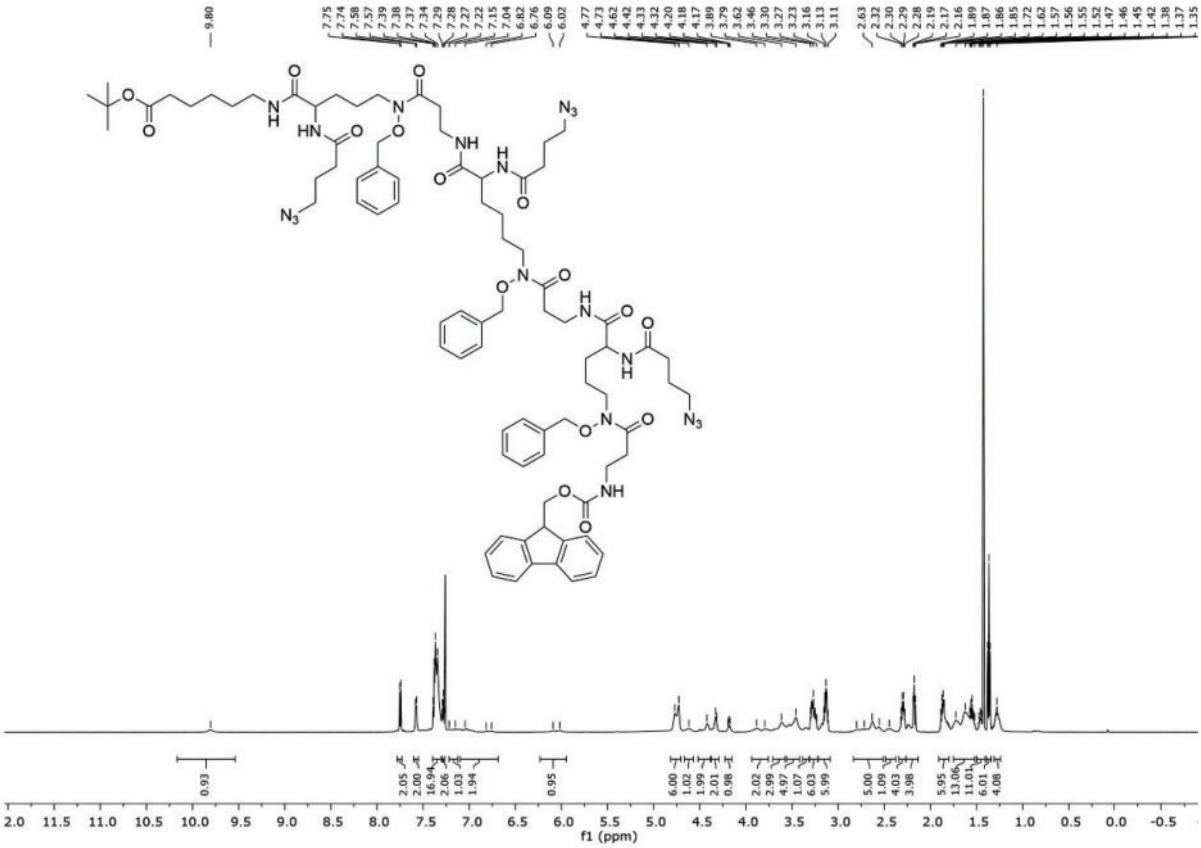
LC-MS **116**

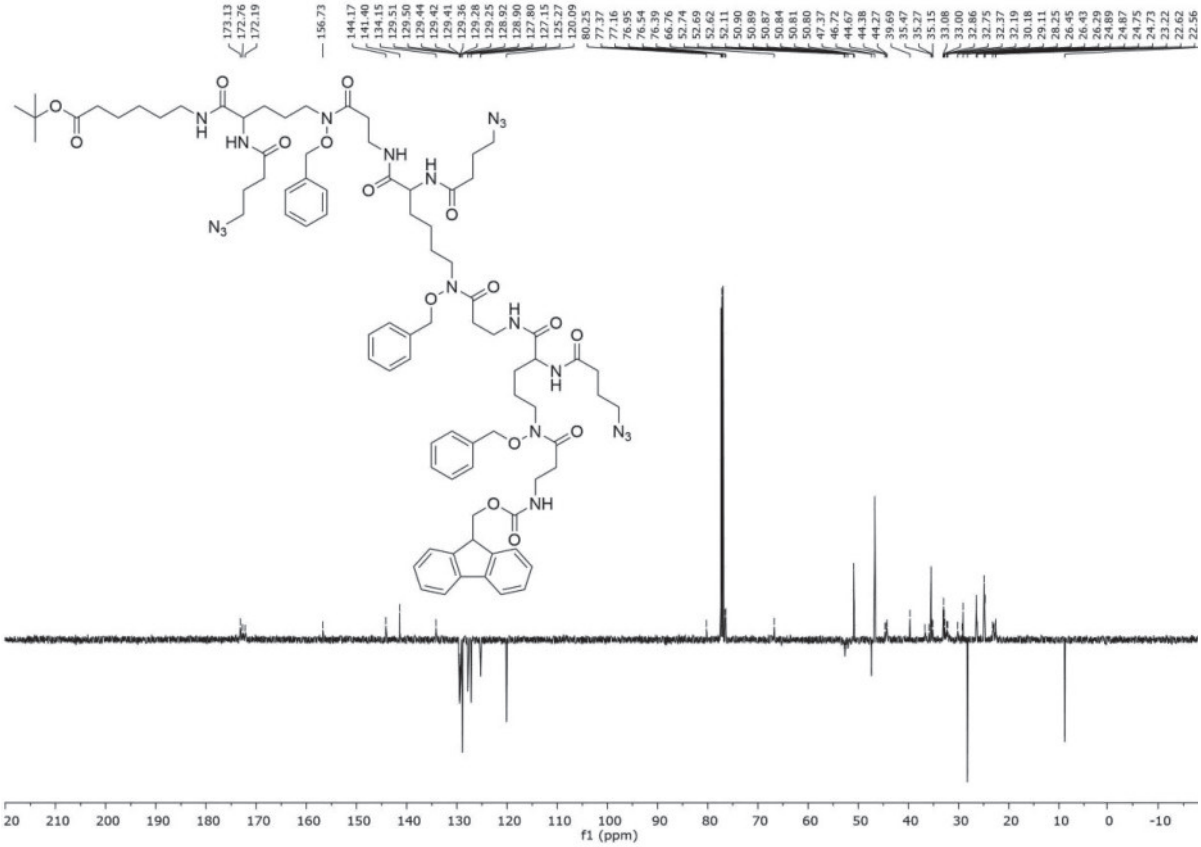


LC-MS **163**

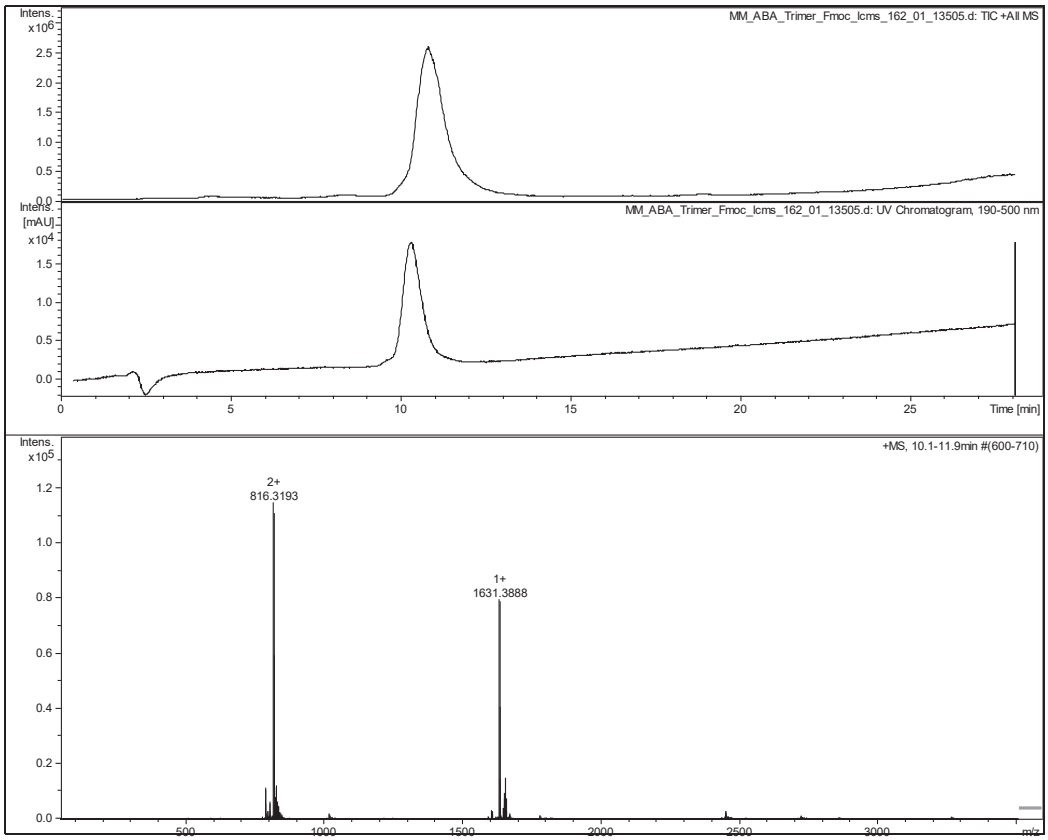

MM_AB_Dimer_NH2_lcms_165_01_13494.d: TIC +All MS
Intens.
x10^6
MM_AB_Dimer_NH2_lcms_165_01_13494.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Intens.
[mAU]
x10^4
Time [min]
+MS, 18.5-19.7min #(1099-1171)
Intens.
x10^5
1+
1007.0189
2+
476.0693
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **118**

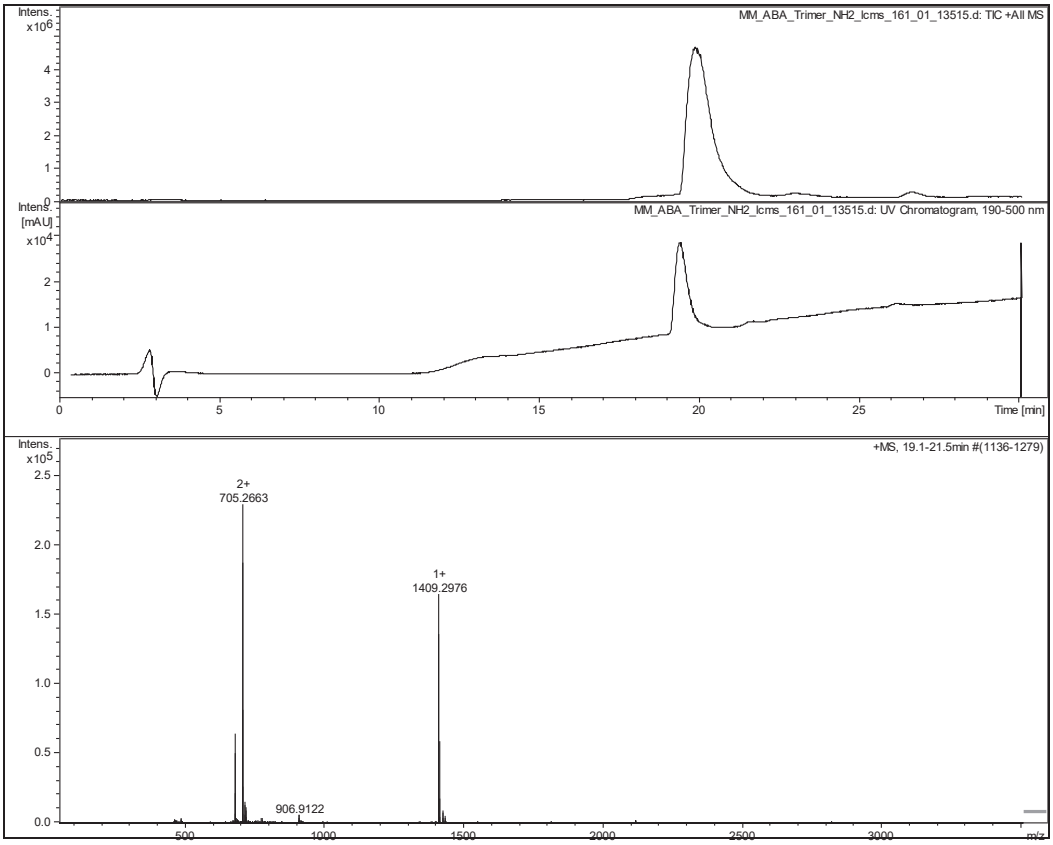




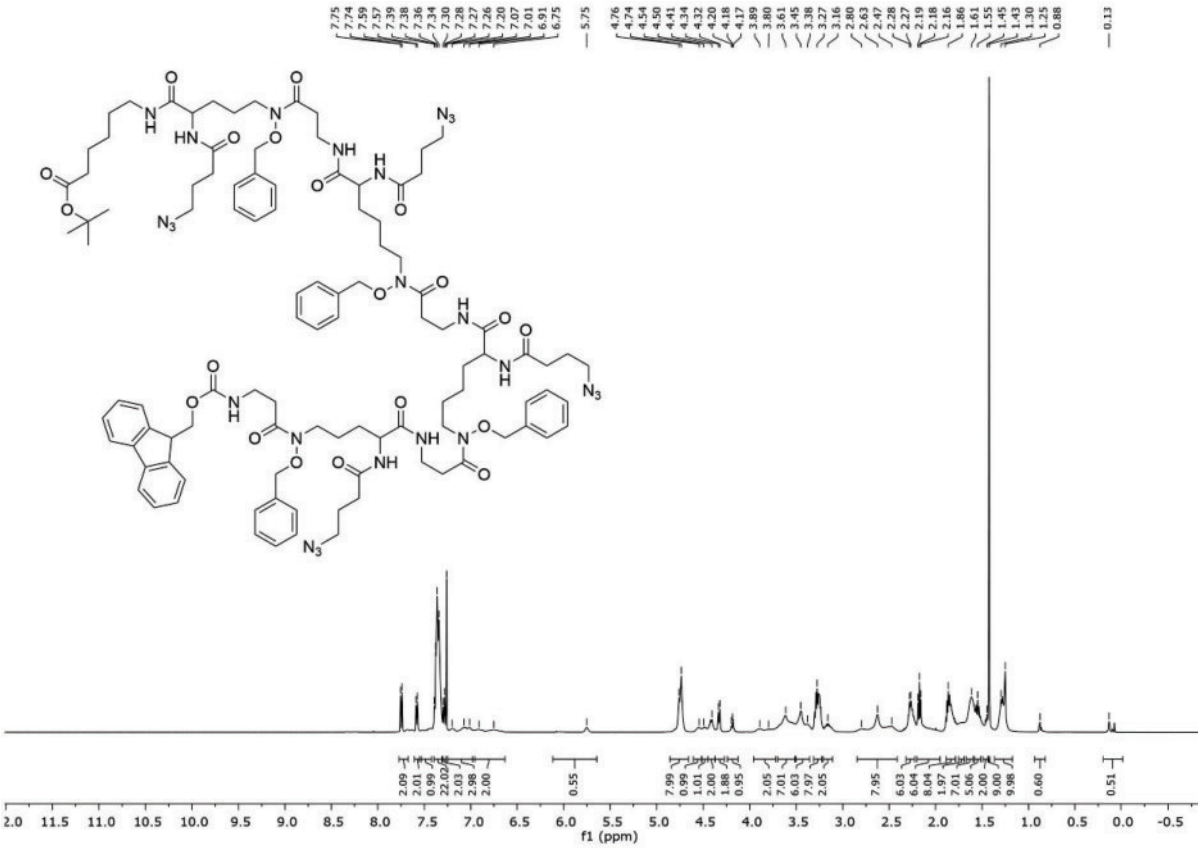
LC-MS **118**

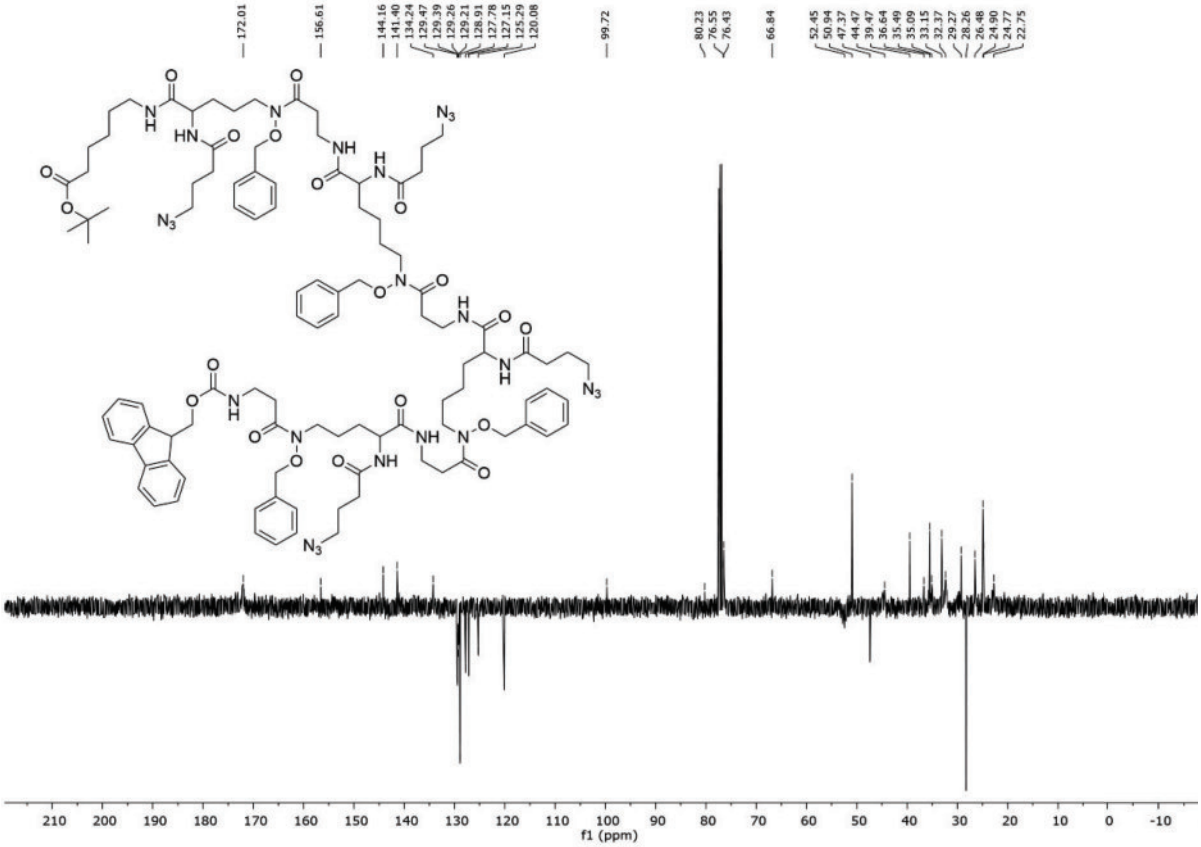


LC-MS **164**

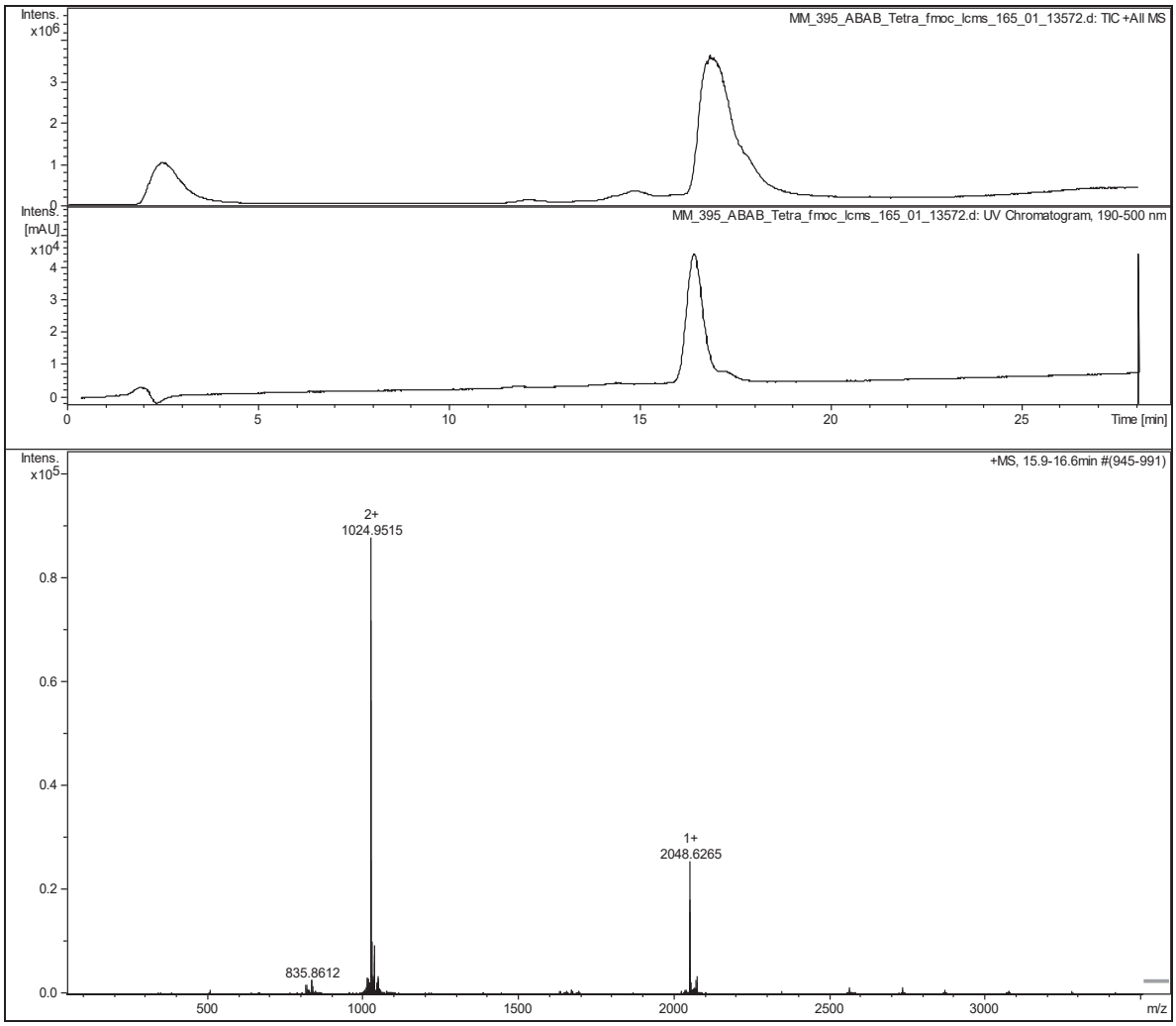


^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **119**

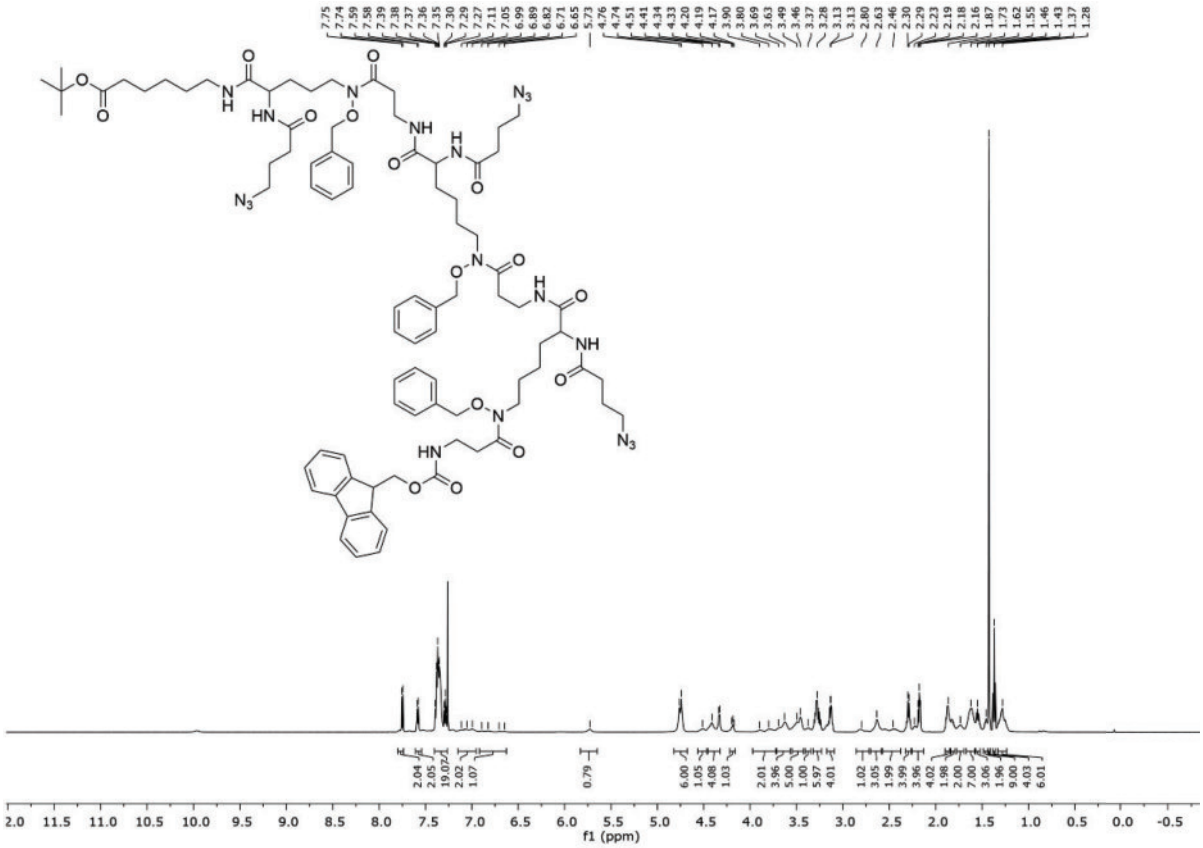


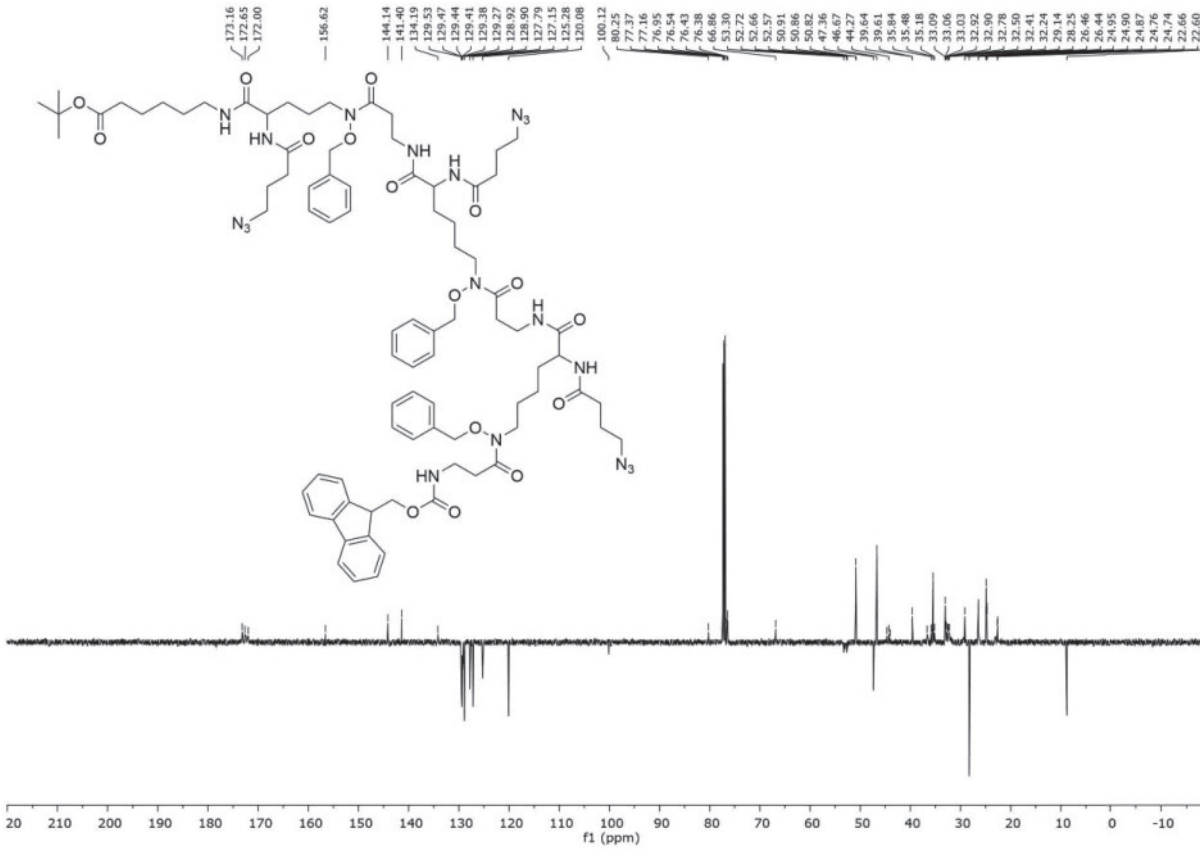


LC-MS **119**

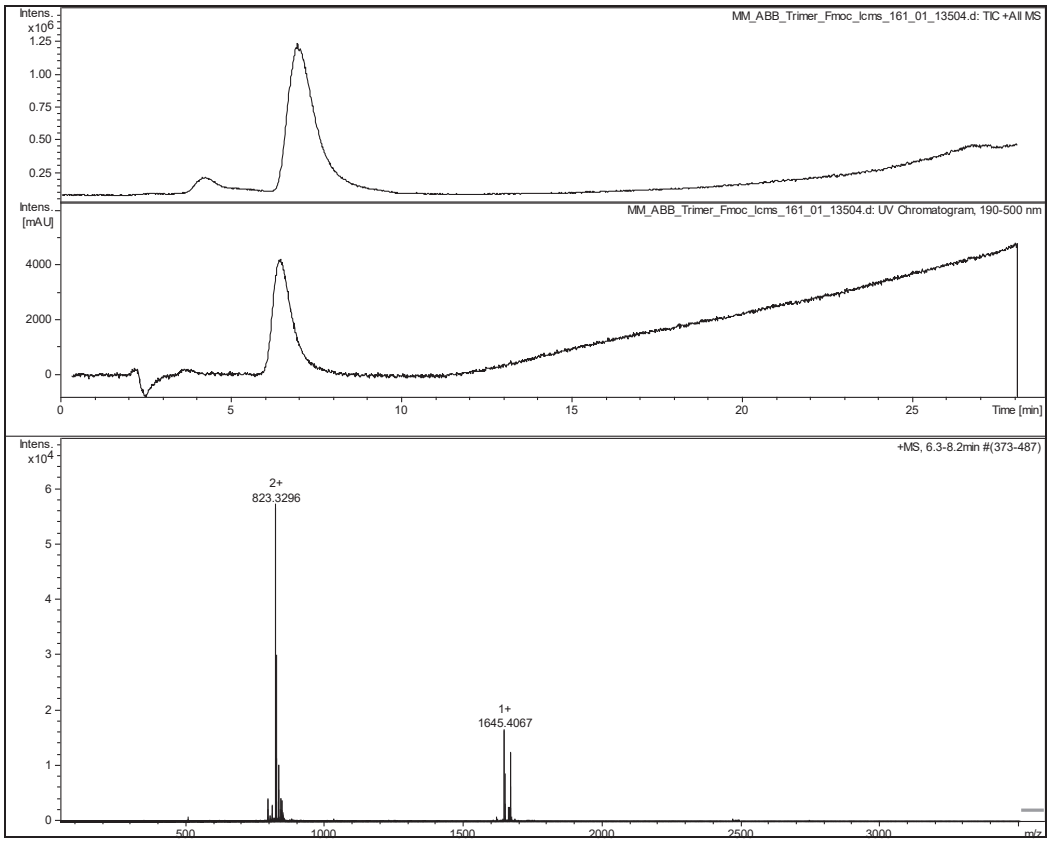

MM_395_ABAB_Tetra_fmoc_lcms_165_01_13572.d: TIC +All MS
Intens.
x10^6
MM_395_ABAB_Tetra_fmoc_lcms_165_01_13572.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Intens.
[mAU]
x10^4
Time [min]
+MS, 15.9-16.6min #(945-991)
Intens.
x10^5
2+
1024.9515
1+
2048.6265
835.8612
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **117**

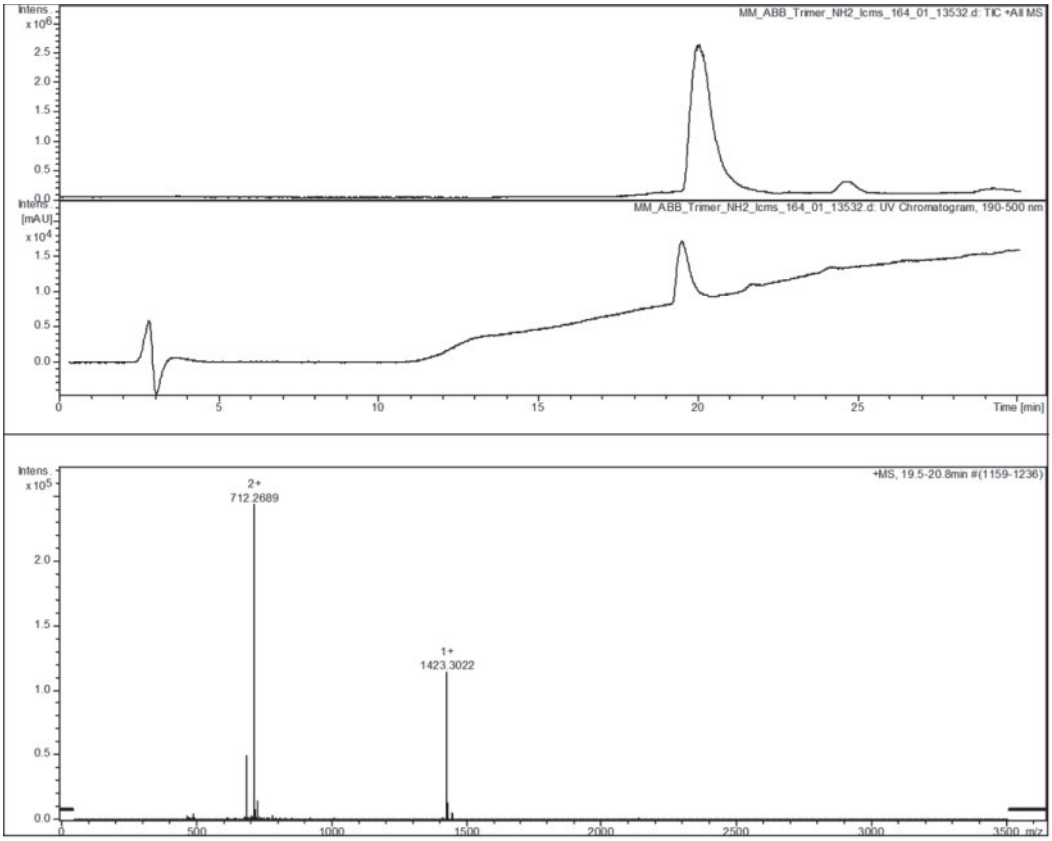




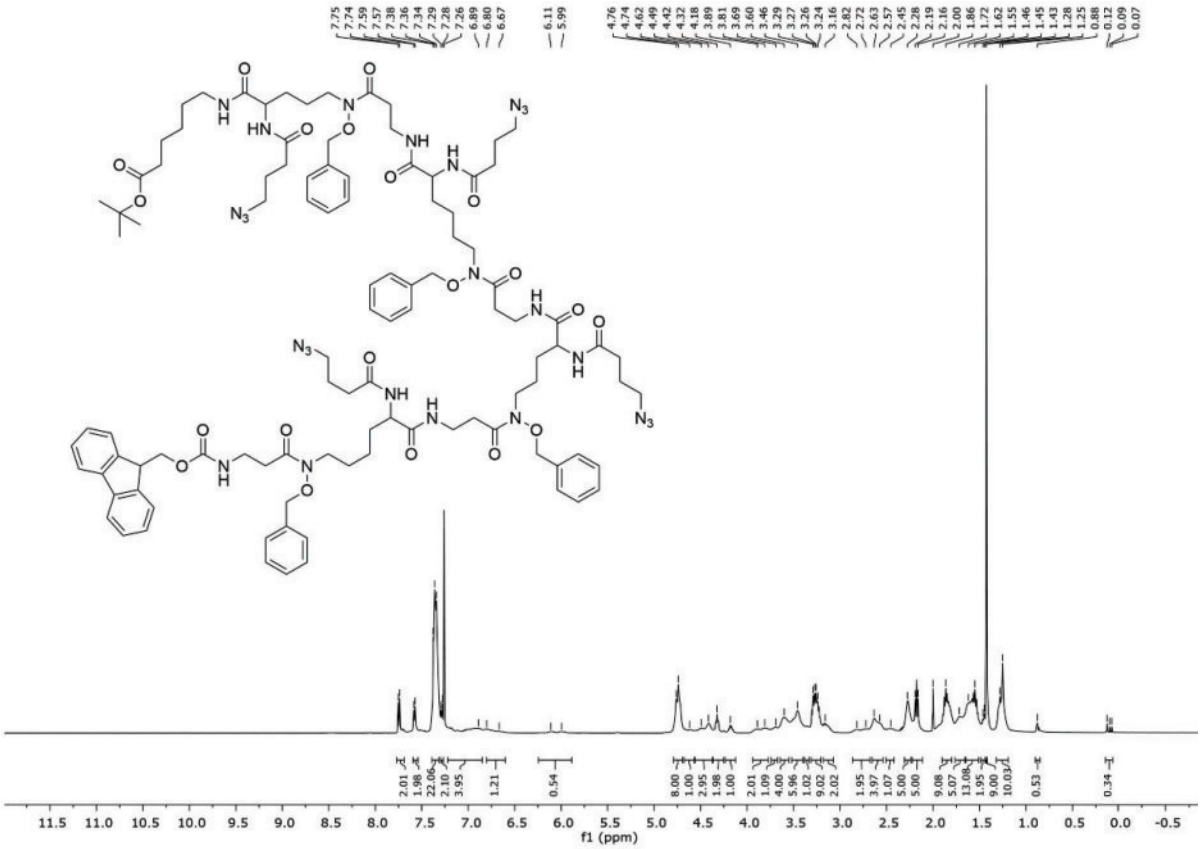
LC-MS **117**

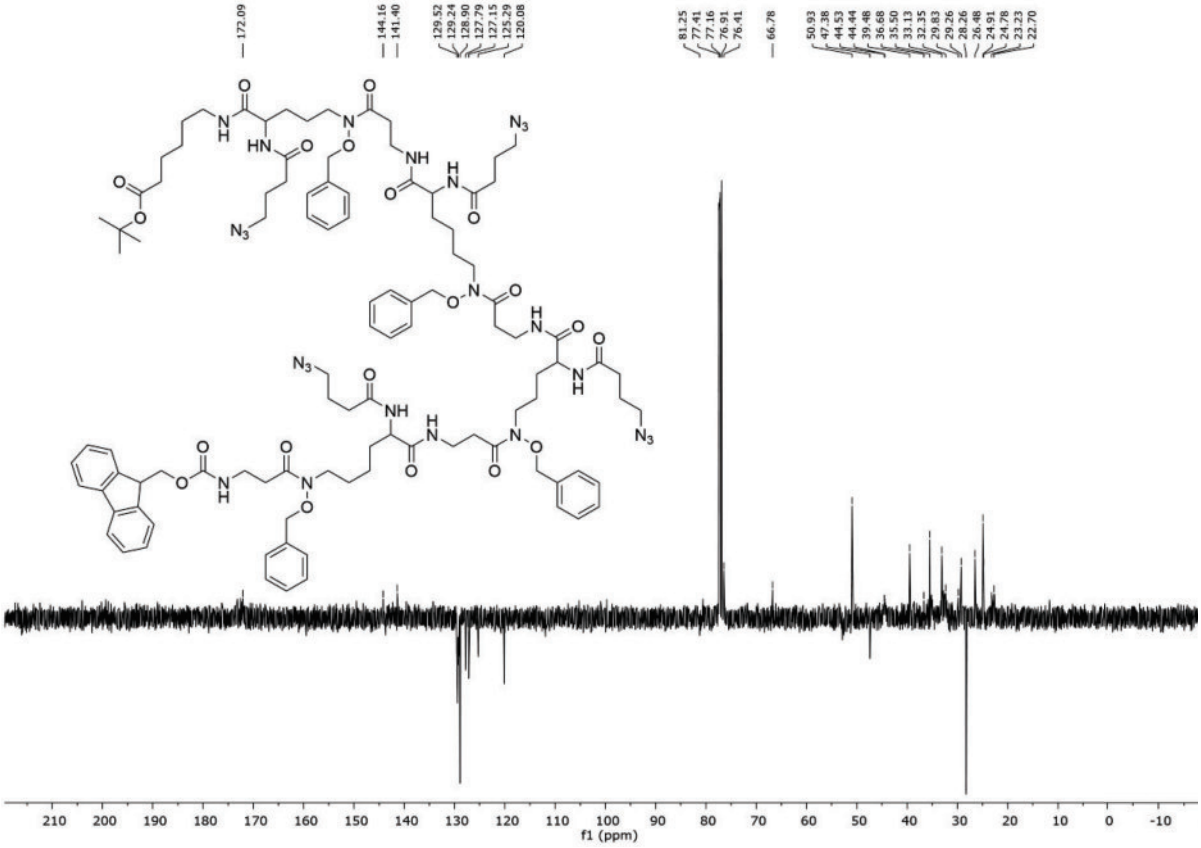


LC-MS **165**

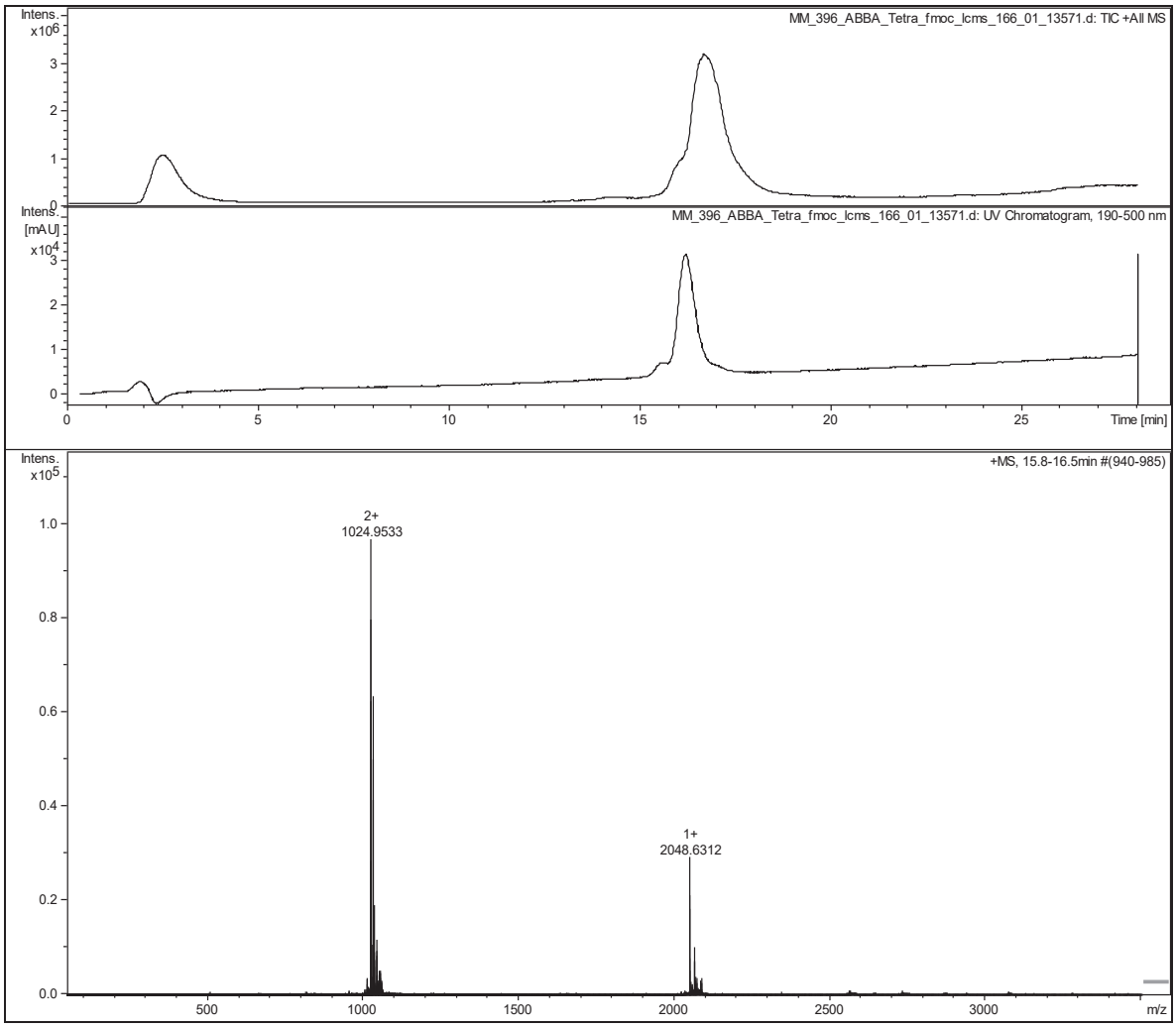


^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **120**

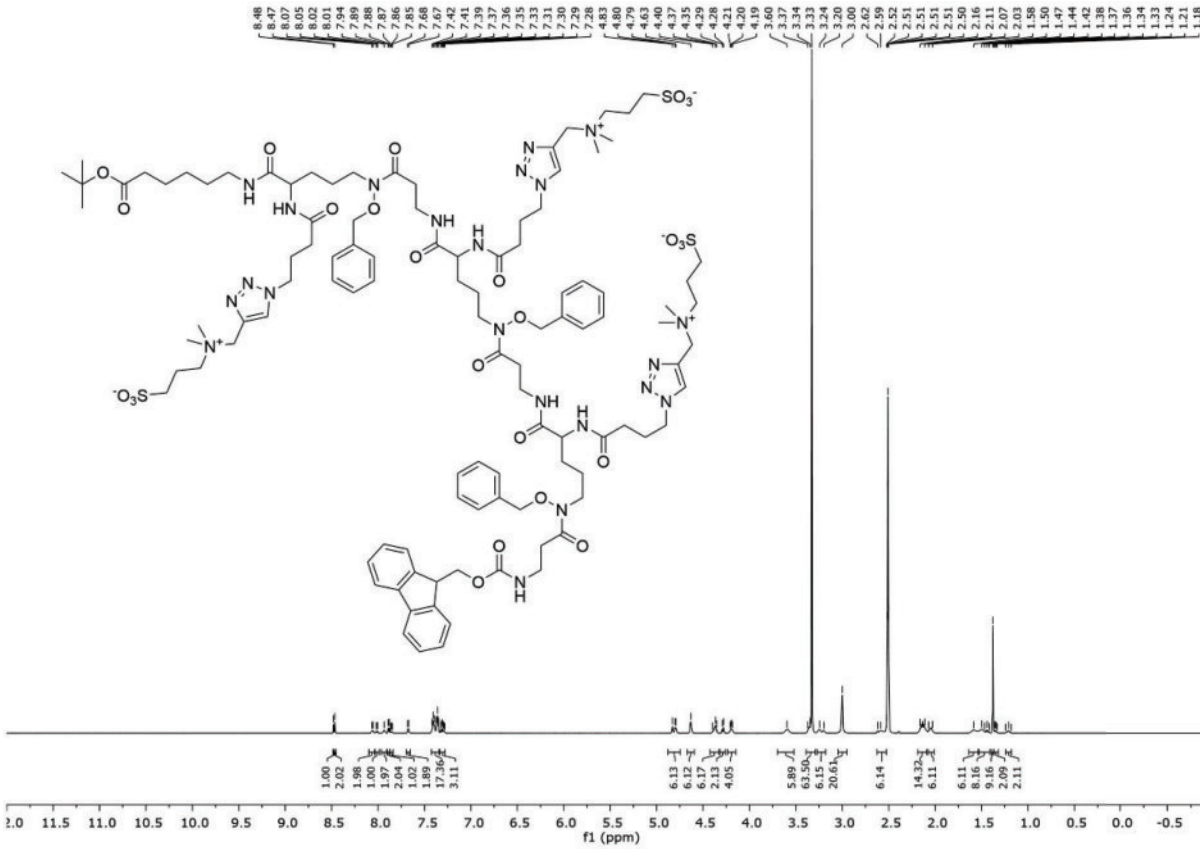


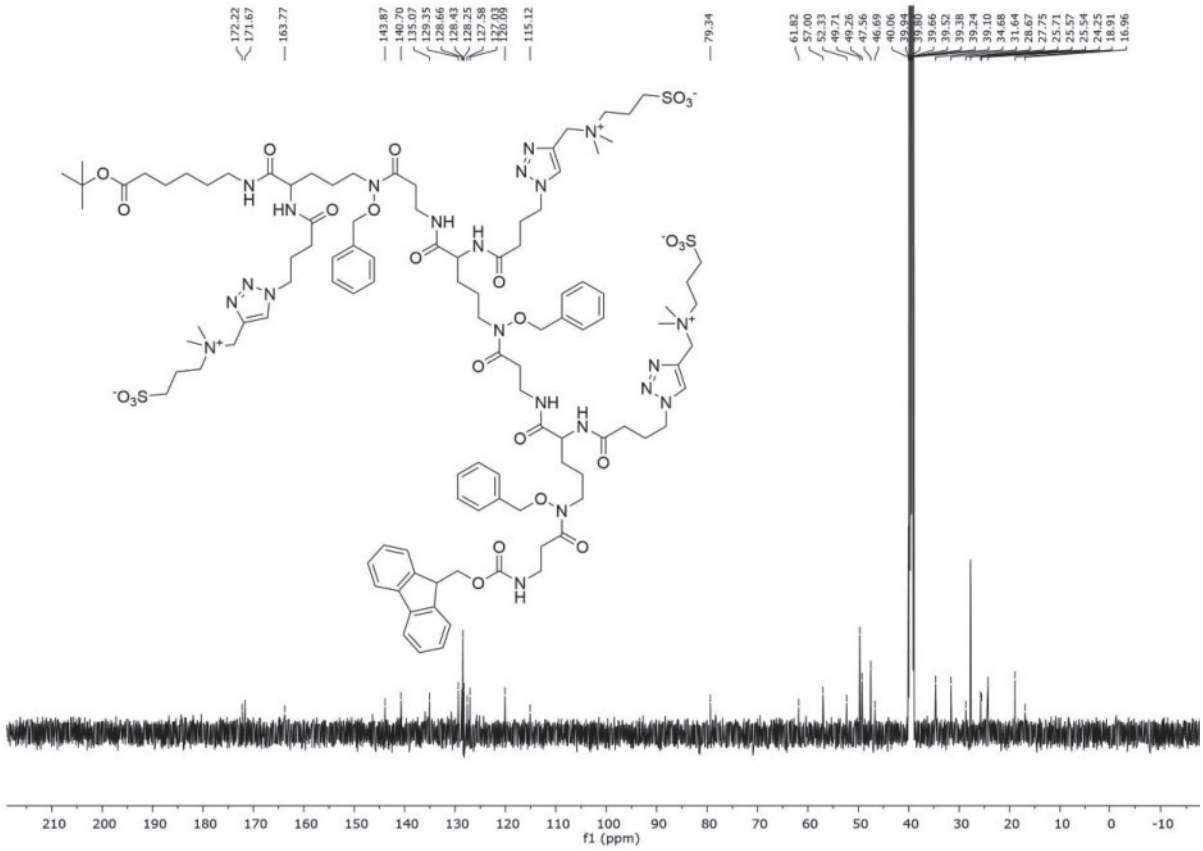


LC-MS **120**

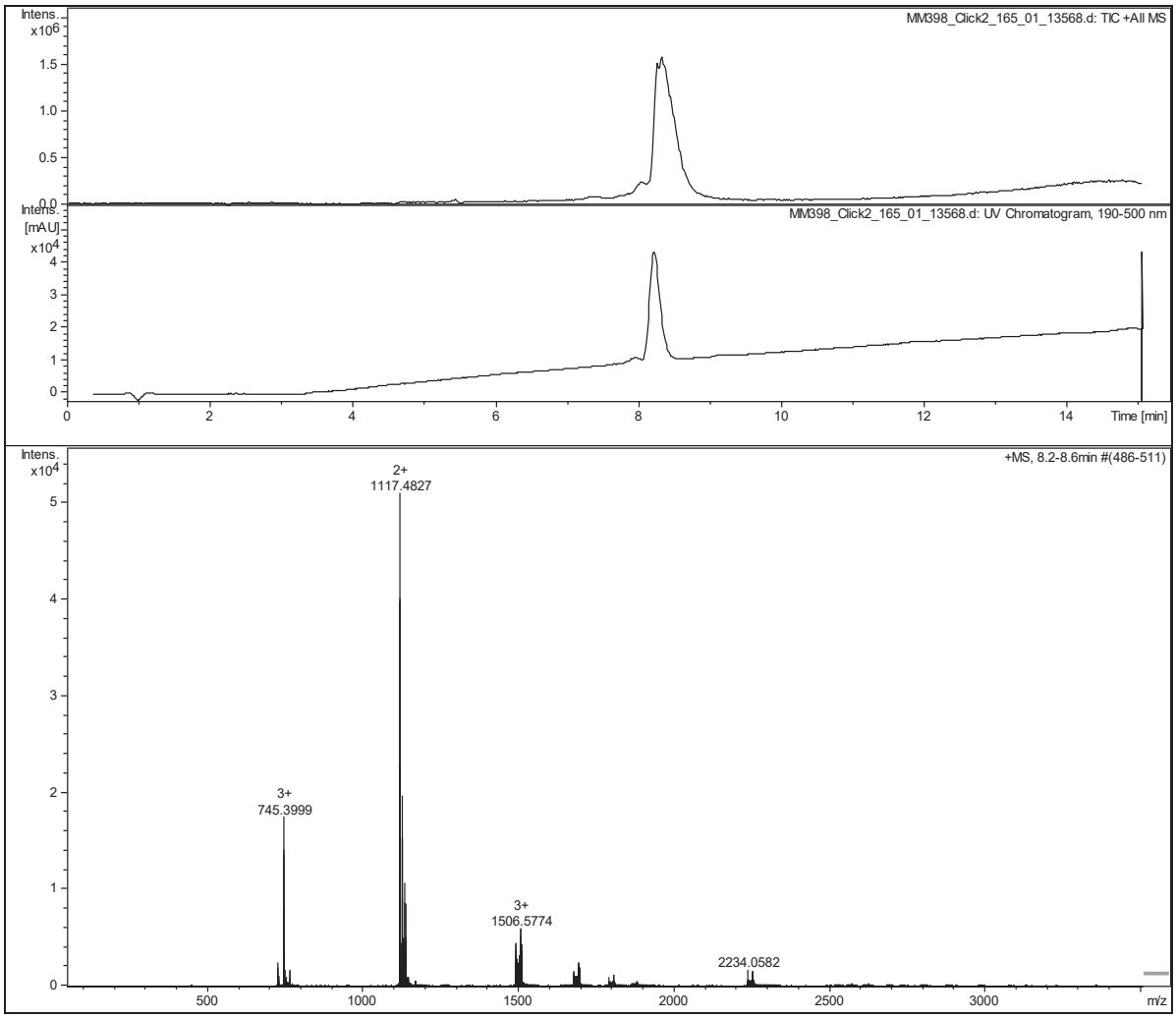

MM_396_ABBA_Tetra_fmoc_lcms_166_01_13571.d: TIC +All MS
Intens.
x10^6
MM_396_ABBA_Tetra_fmoc_lcms_166_01_13571.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Intens.
[mAU]
x10^4
Time [min]
+MS, 15.8-16.5min #(940-985)
Intens.
x10^5
2+
1024.9533
1+
2048.6312
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **125**

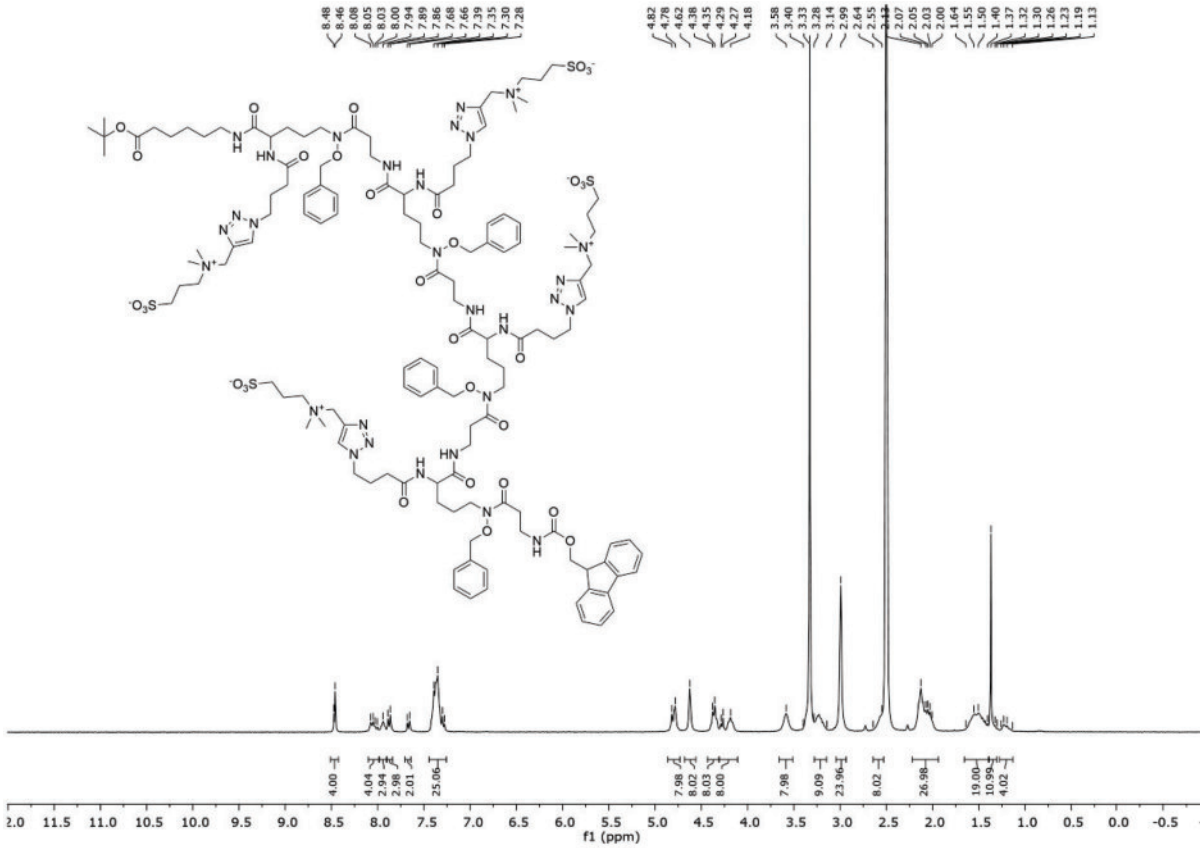


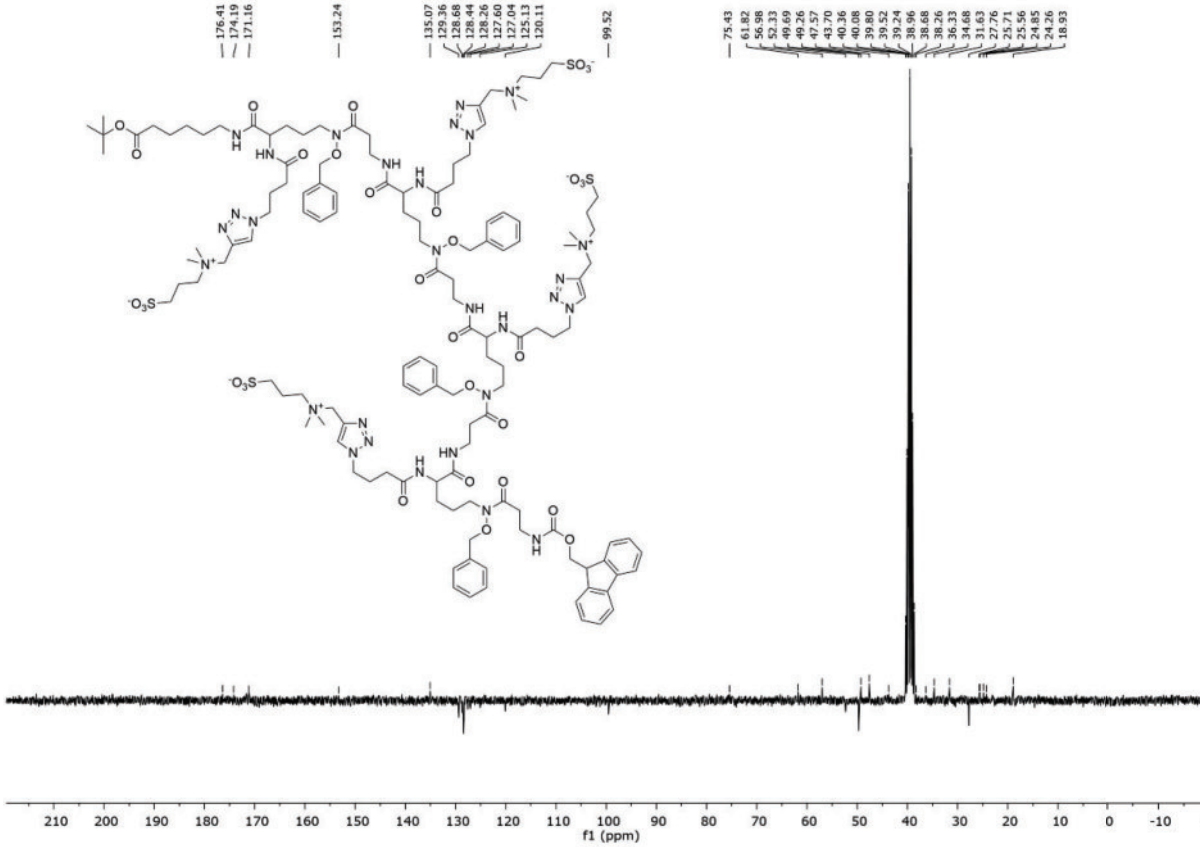


LC-MS **125**

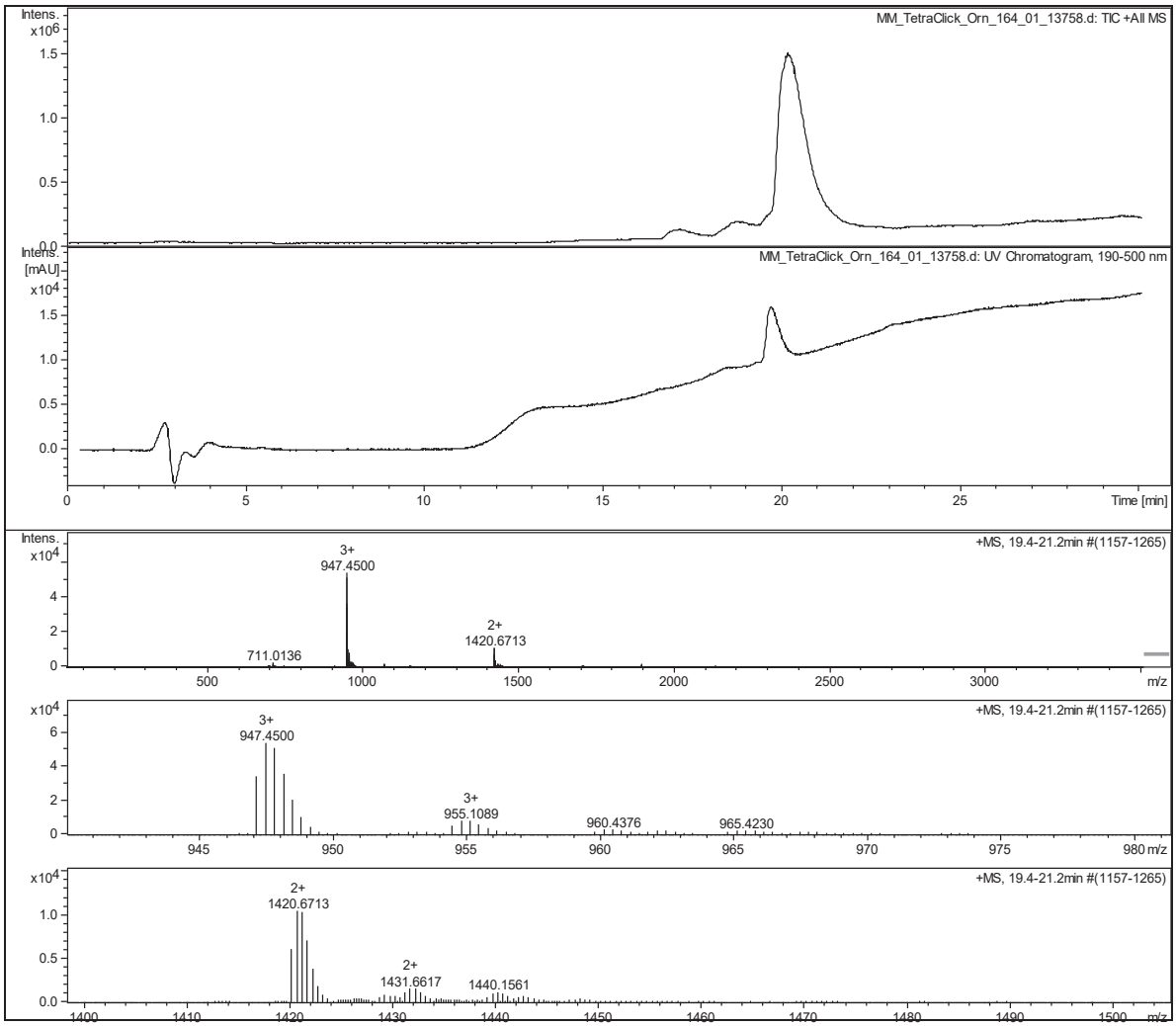

MM398_Click2_165_01_13568.d: TIC +All MS
Intens.
x10^6
MM398_Click2_165_01_13568.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Intens.
[mAU]
x10^4
Time [min]
+MS, 8.2-8.6min #(486-511)
Intens.
x10^4
2+
1117.4827
3+
745.3999
3+
1506.5774
2234.0582
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **127**

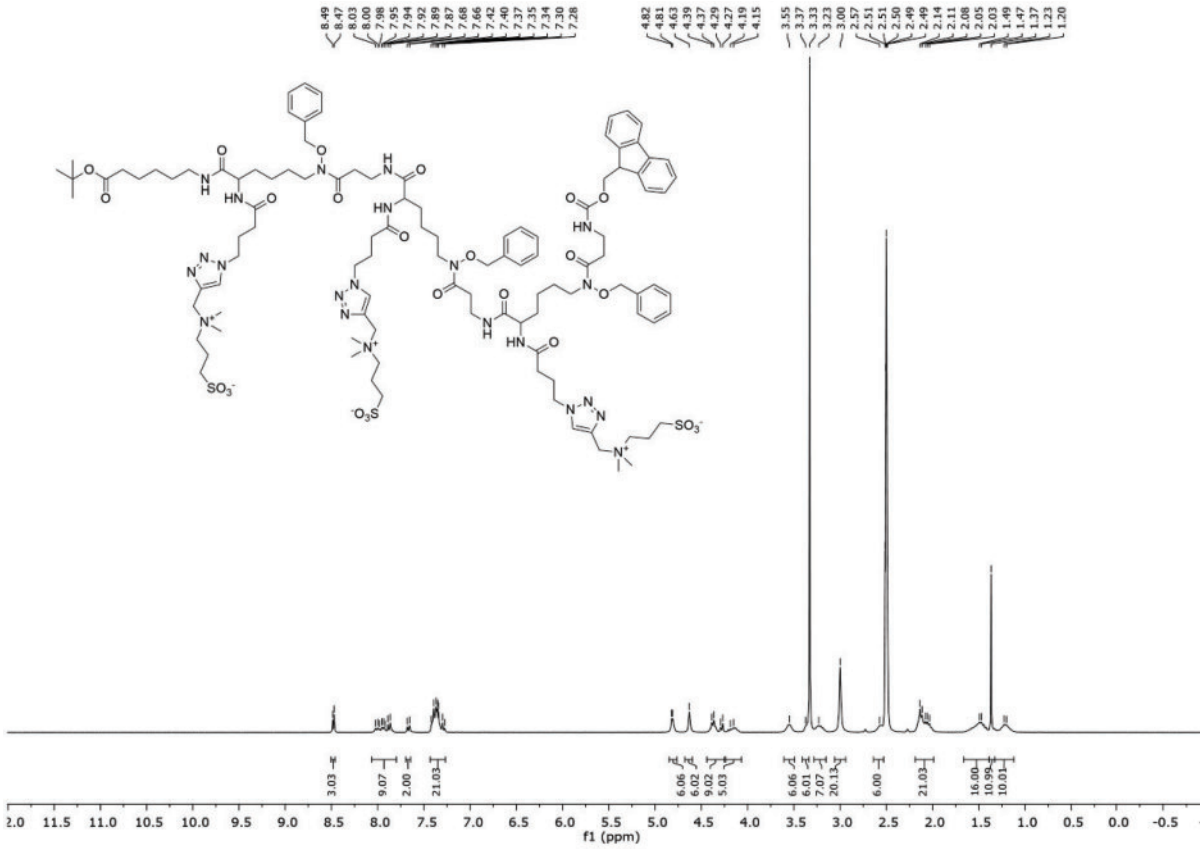


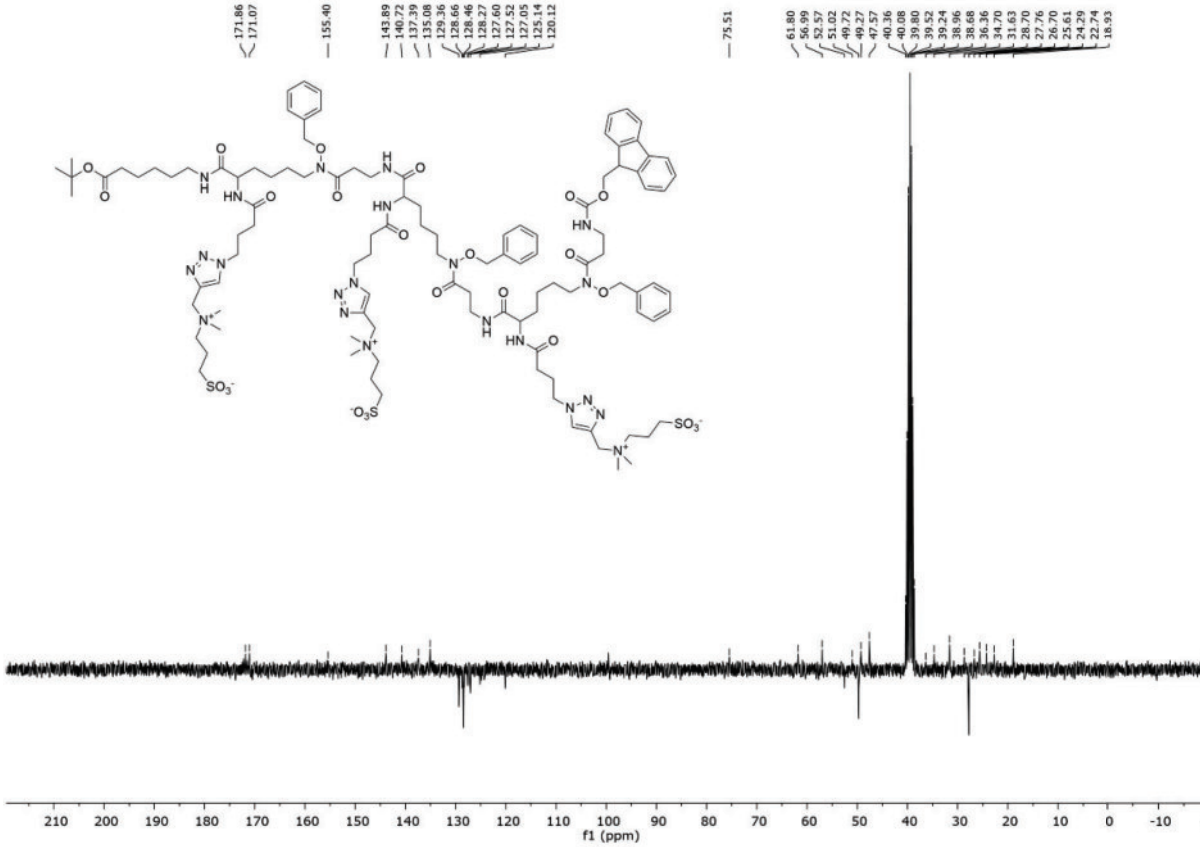


LC-MS **127**

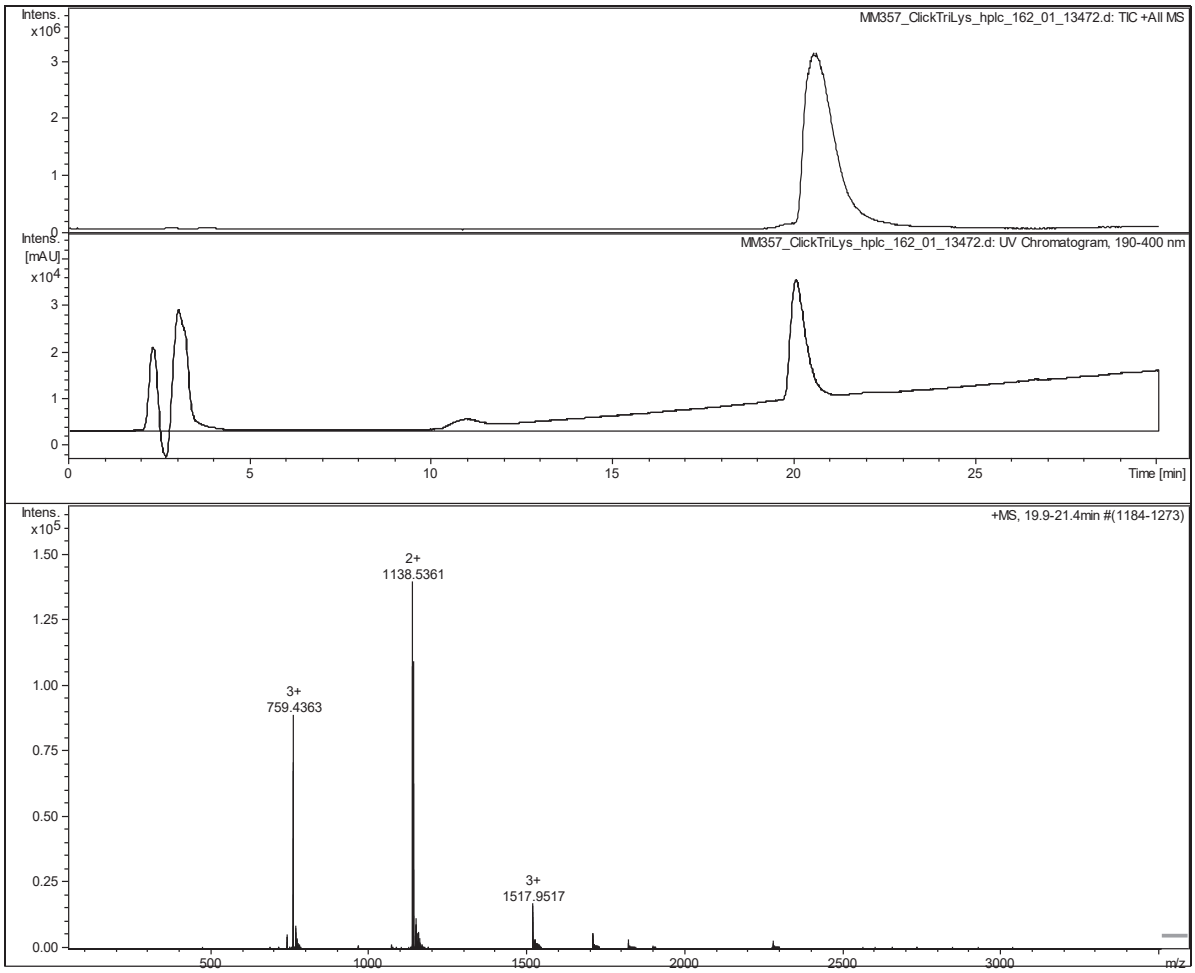

MM_TetraClick_Orn_164_01_13758.d: TIC +All MS
Intens. x10^6
MM_TetraClick_Orn_164_01_13758.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Intens. [mAU] x10^4
Time [min]
+MS, 19.4-21.2min #(1157-1265)
3+ 947.4500
2+ 1420.6713
711.0136
3+ 955.1089
960.4376
965.4230
2+ 1431.6617
1440.1561
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **124**

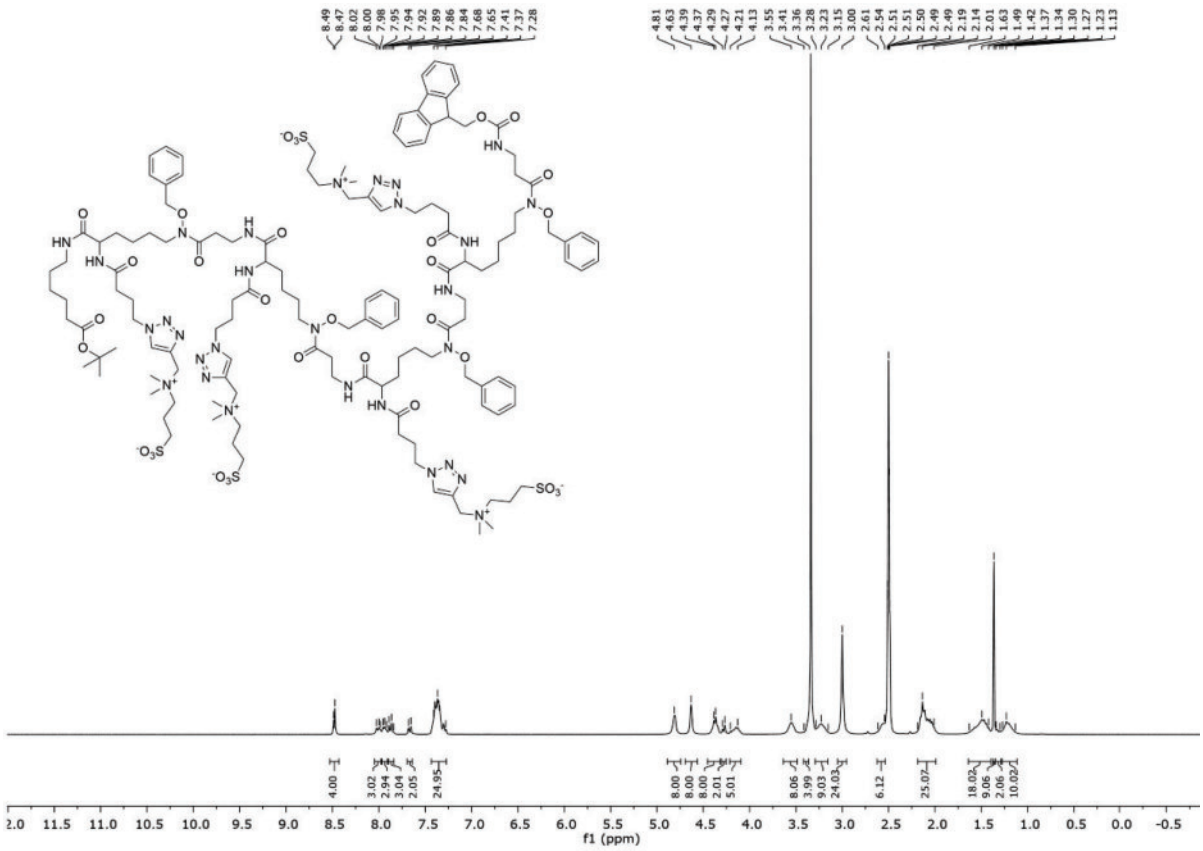


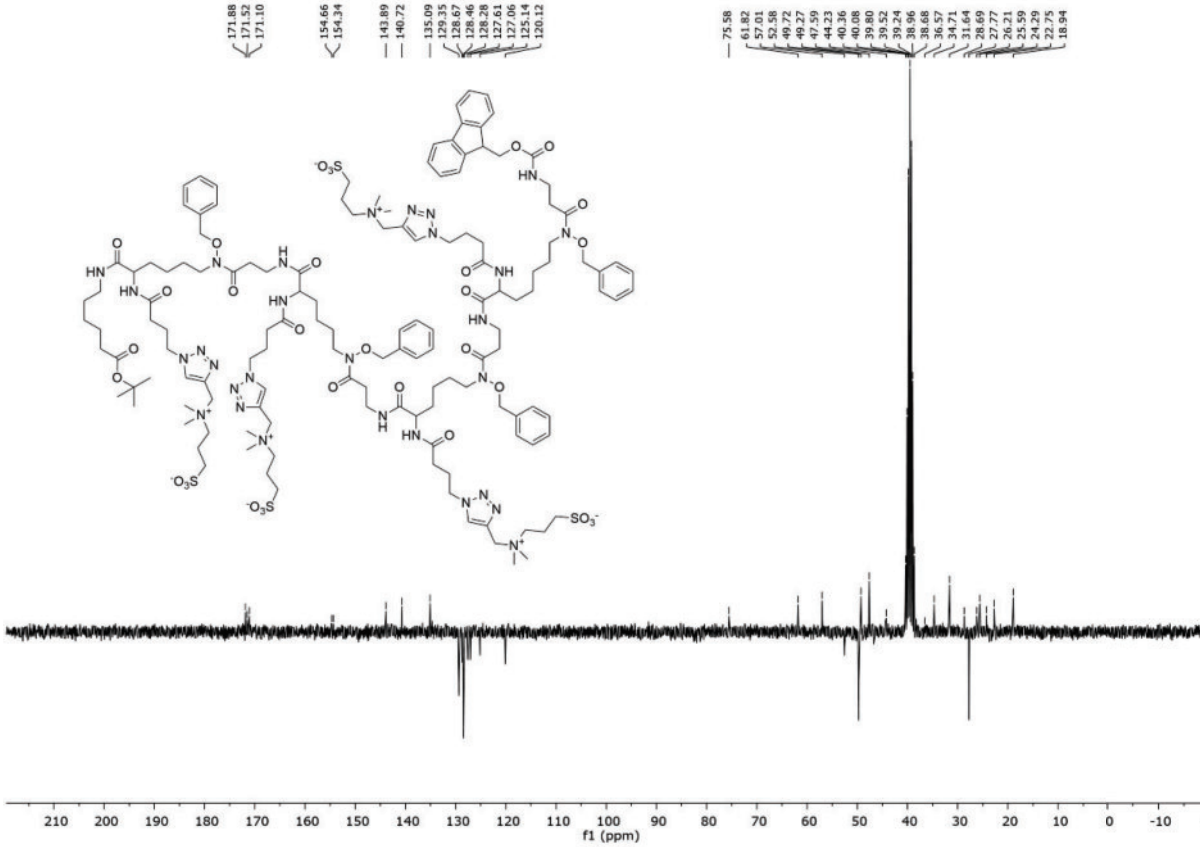


LC-MS **124**

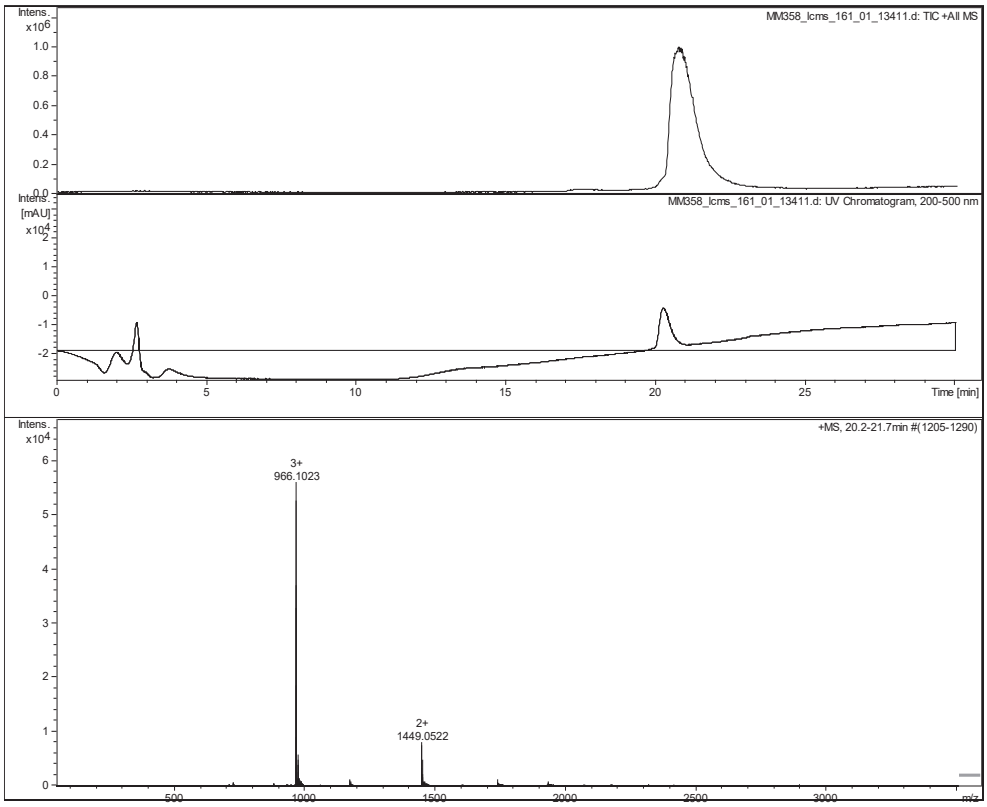

Intens.
x10^6
MM357_ClickTriLys_hplc_162_01_13472.d: TIC +All MS
Intens.
[mAU]
x10^4
MM357_ClickTriLys_hplc_162_01_13472.d: UV Chromatogram, 190-400 nm
Time [min]
Intens.
x10^5
+MS, 19.9-21.4min #(1184-1273)
2+
1138.5361
3+
759.4363
3+
1517.9517
m/z

^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR **128**

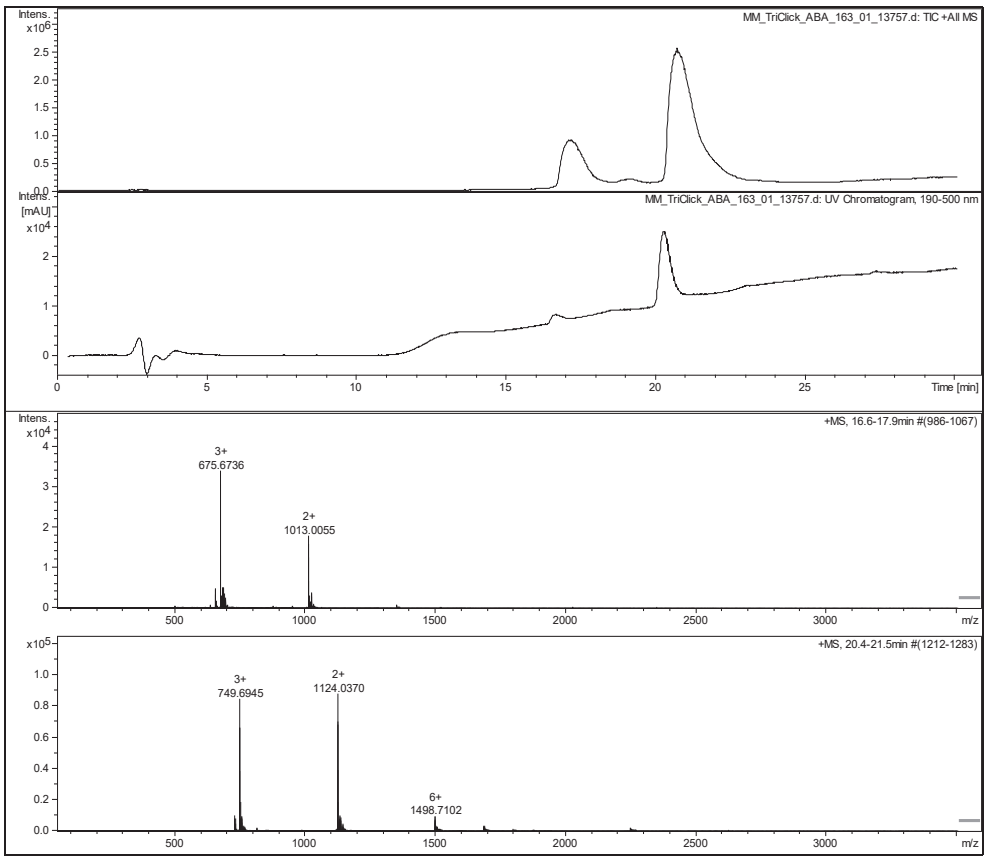




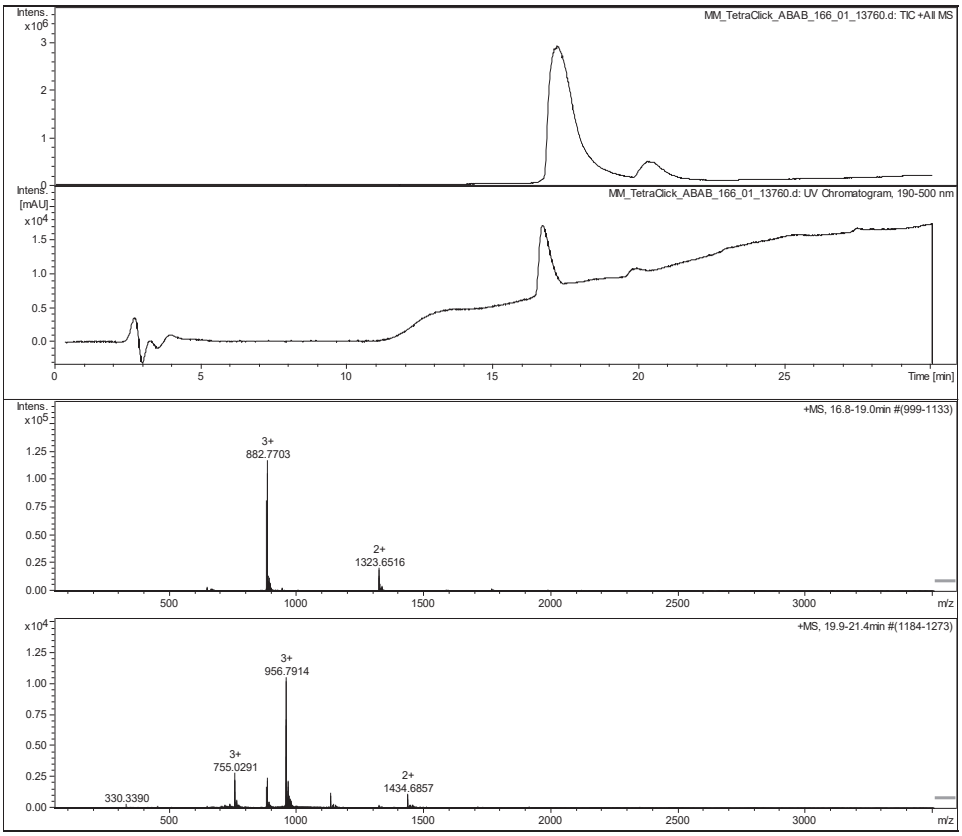
LC-MS **128**



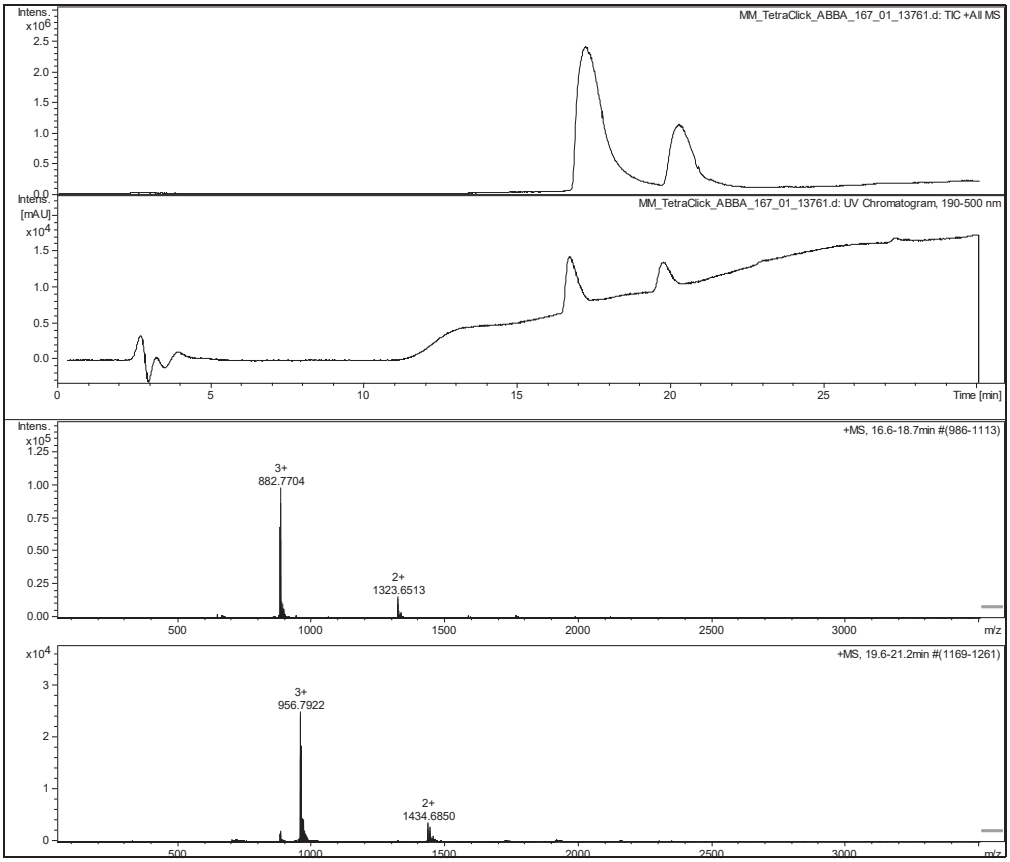
LC-MS **126**



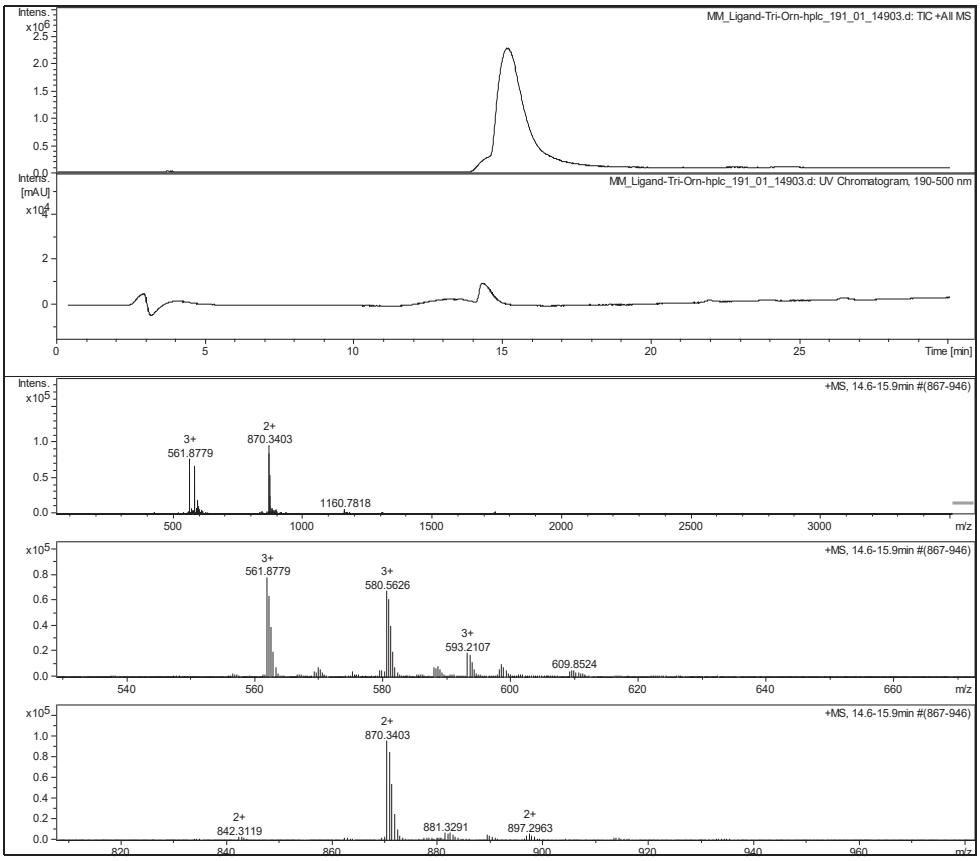
LC-MS **130**



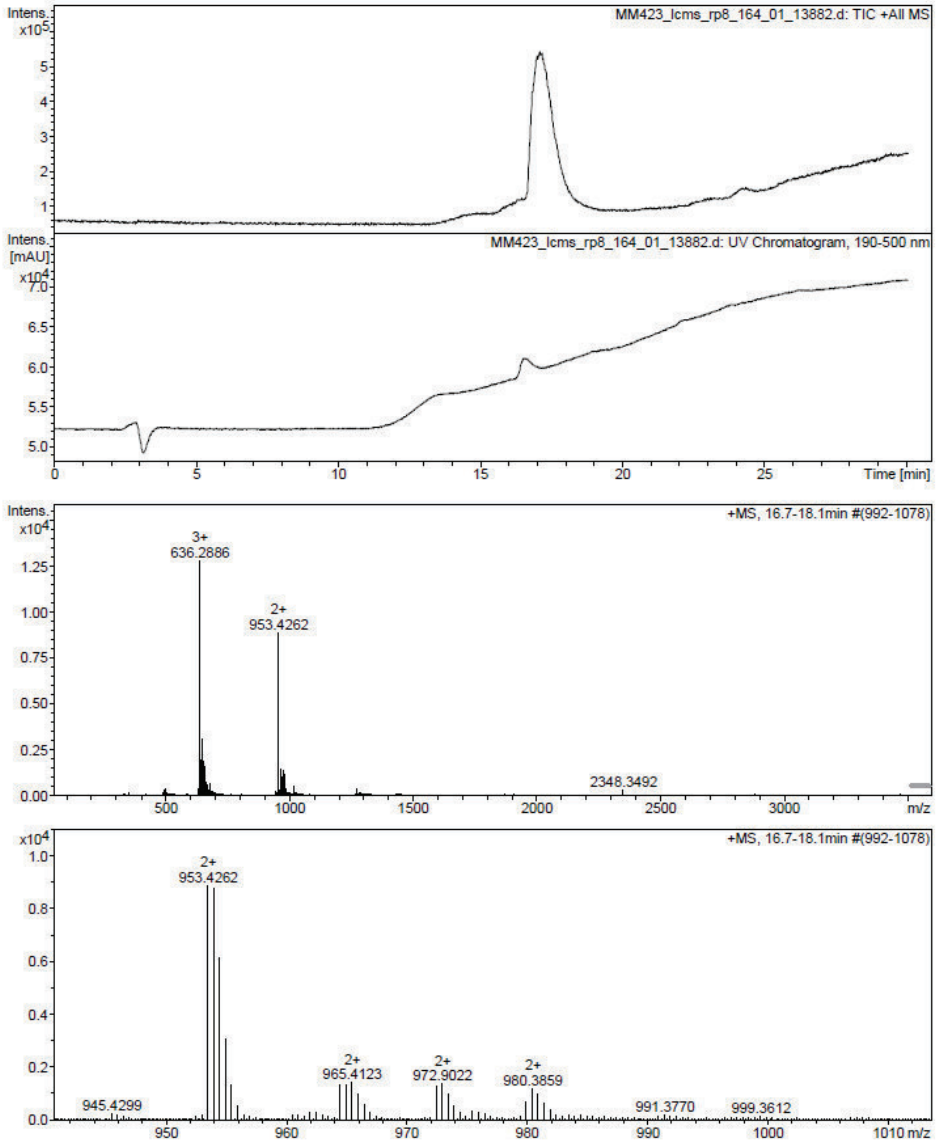
LC-MS **129**



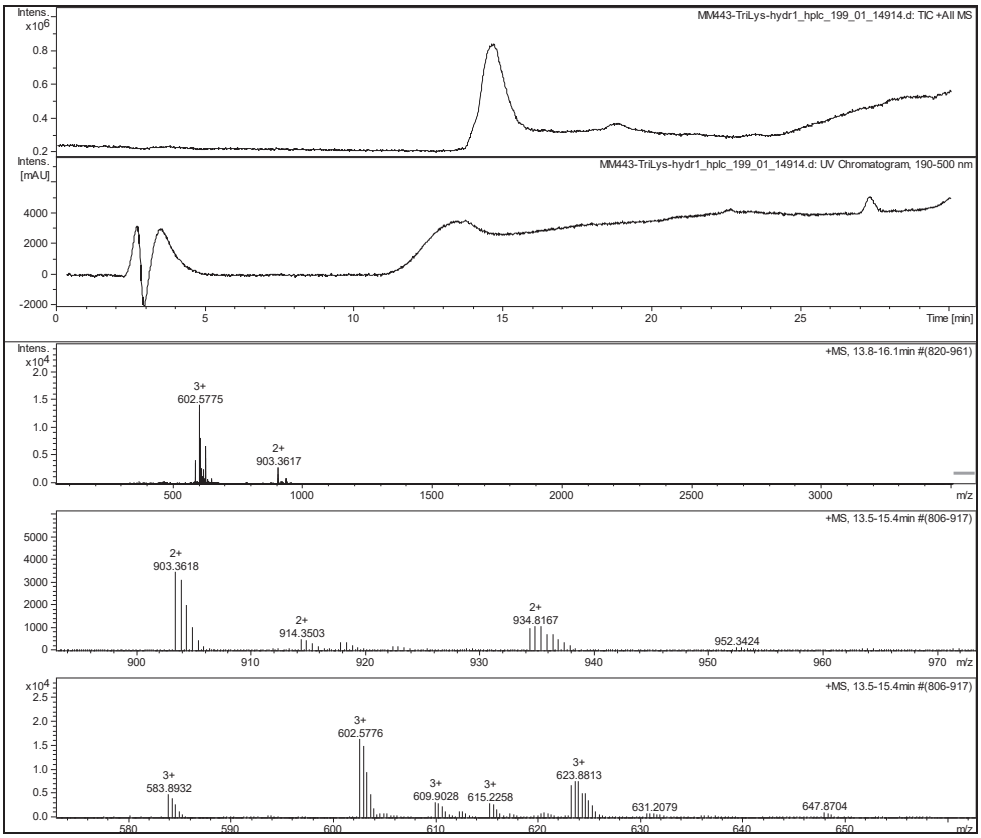
LC-MS **133**


MM_Ligand-Tri-Orn-hplc_191_01_14903.d: TIC +All MS
Intens.
x10^5
MM_Ligand-Tri-Orn-hplc_191_01_14903.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Intens.
[mAU]
x10^4
Time [min]
+MS, 14.6-15.9min #(867-946)
3+
561.8779
2+
870.3403
1160.7818
m/z
3+
561.8779
3+
580.5626
3+
593.2107
609.8524
2+
870.3403
2+
842.3119
881.3291
2+
897.2963

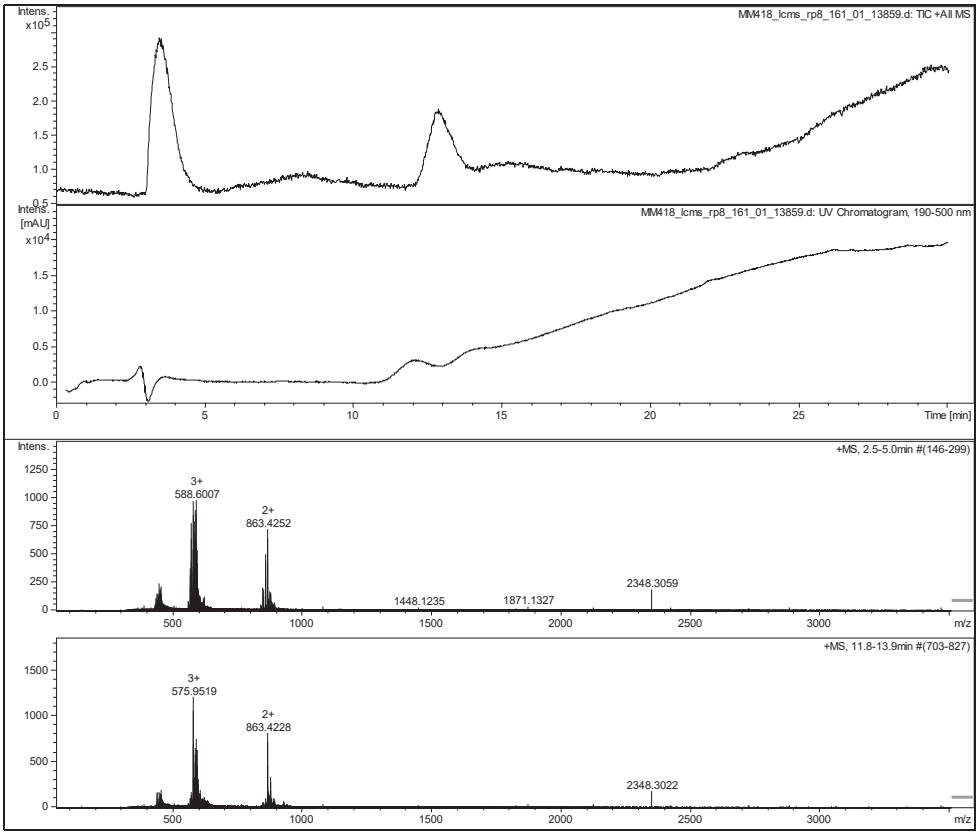
LC-MS **135**


MM423_lcms_rp8_164_01_13882.d: TIC +All MS
Intens. x10^5
MM423_lcms_rp8_164_01_13882.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Intens. [mAU] x10^4
Time [min]
+MS, 16.7-18.1min #(992-1078)
Intens. x10^4
3+ 636.2886
2+ 953.4262
2348.3492
m/z
+MS, 16.7-18.1min #(992-1078)
x10^4
2+ 953.4262
2+ 965.4123
2+ 972.9022
2+ 980.3859
945.4299
991.3770
999.3612
m/z

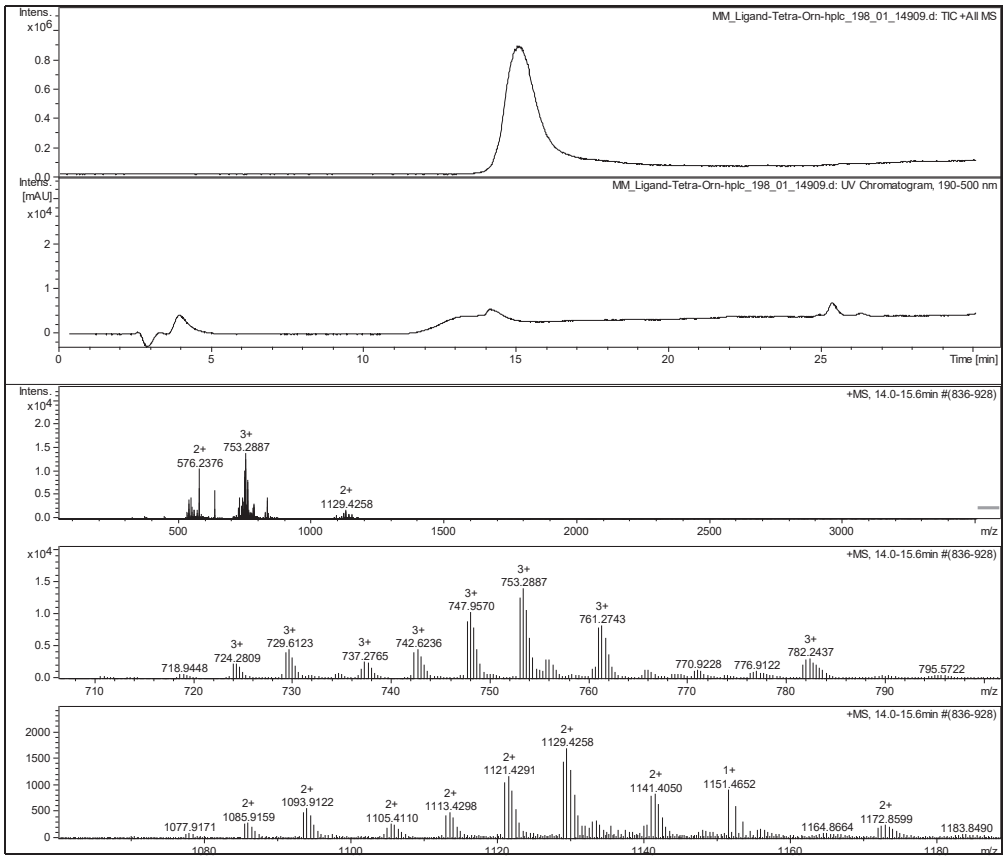
LC-MS **132**



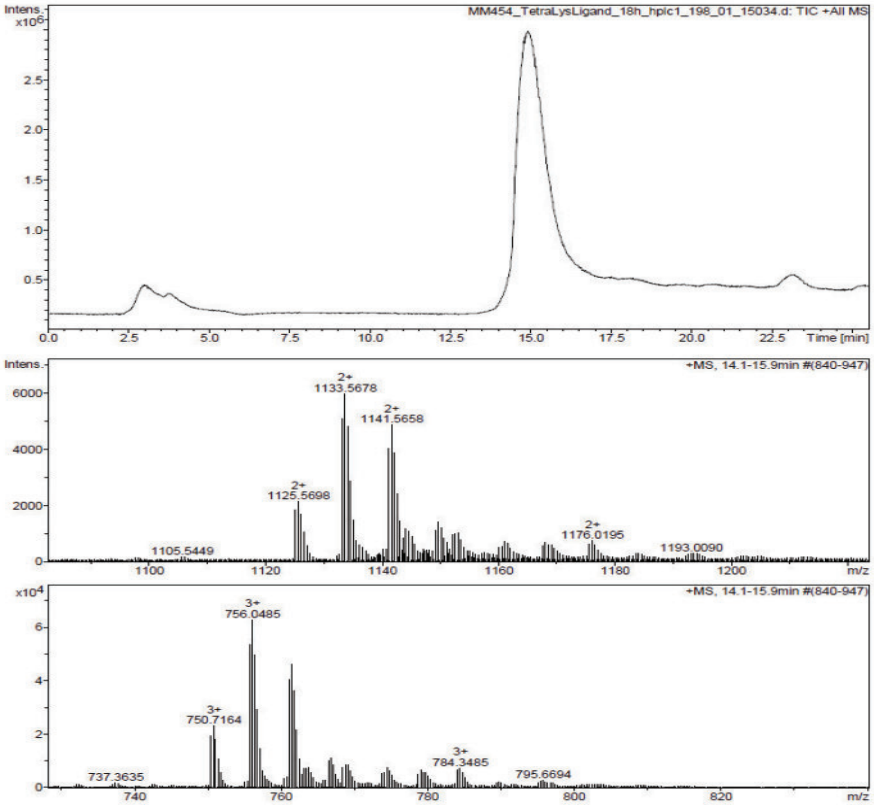
LC-MS **136**



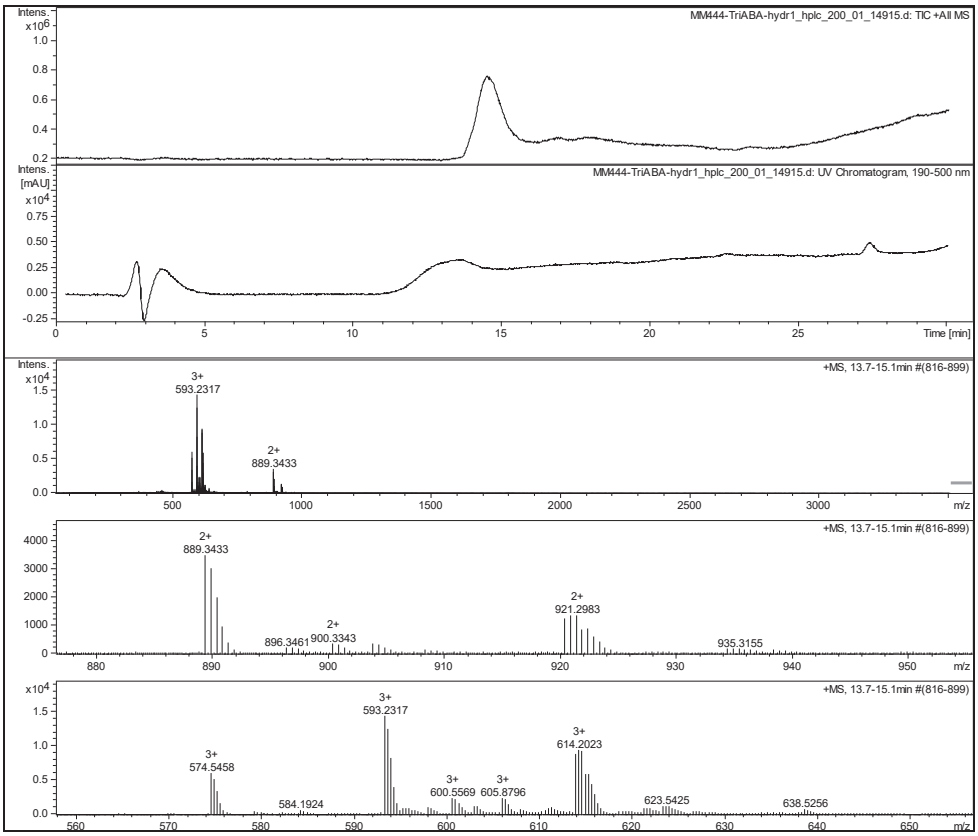
LC-MS **137**



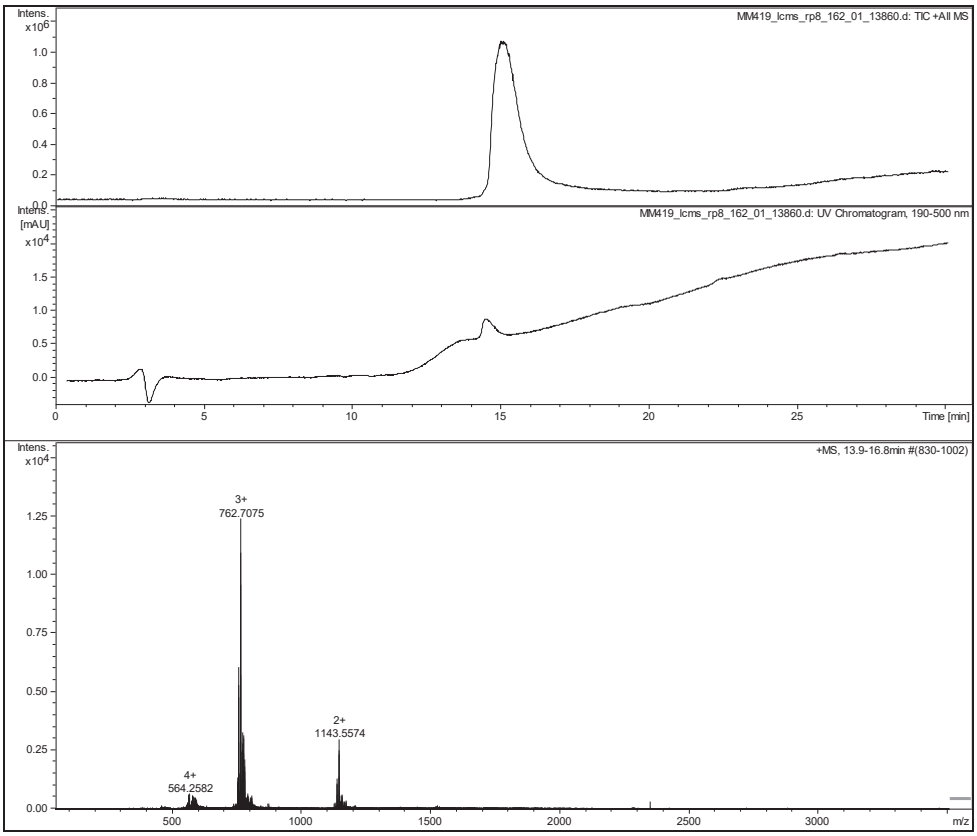
LC-MS **138**



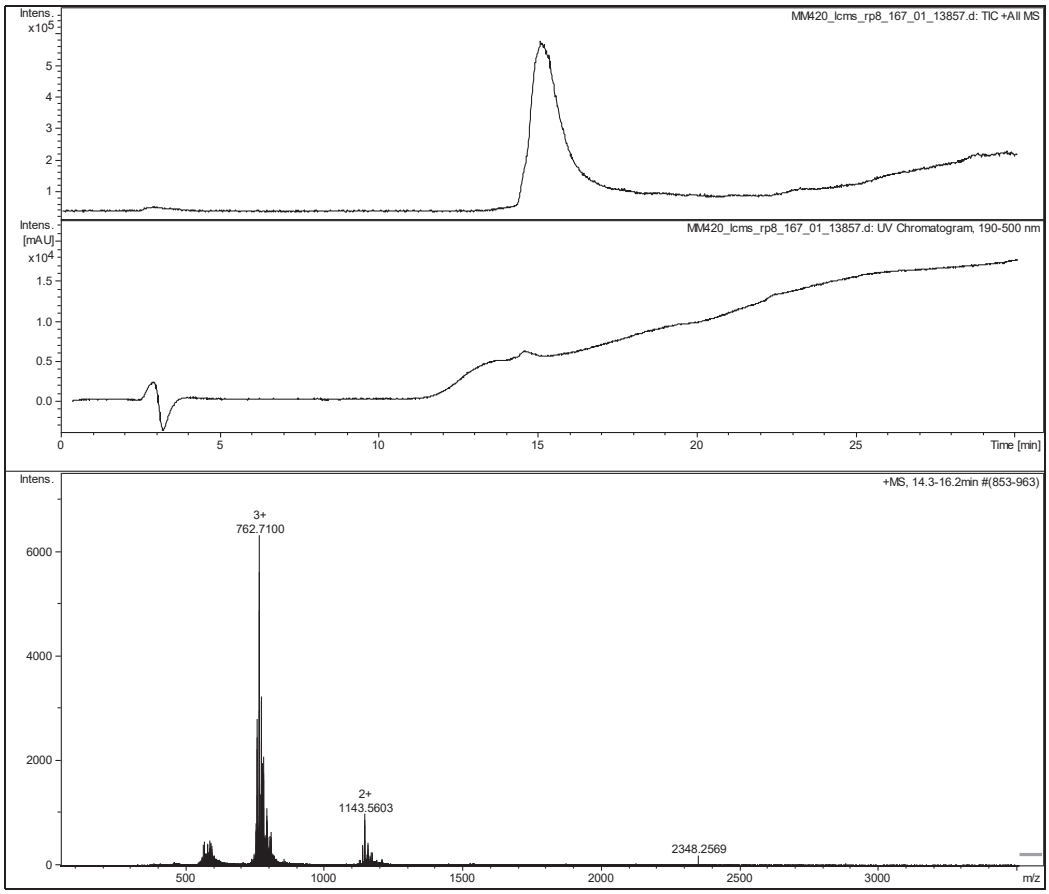
LC-MS **134**



LC-MS **139**



LC-MS **140**


Intens.
x10^5
MM420_lcms_rp8_167_01_13857.d: TIC +All MS
Intens.
[mAU]
x10^4
MM420_lcms_rp8_167_01_13857.d: UV Chromatogram, 190-500 nm
Time [min]
Intens.
+MS, 14.3-16.2min #(853-963)
3+
762.7100
2+
1143.5603
2348.2569
m/z

8.2. LC-MS-Spektren der Komplexevaluation

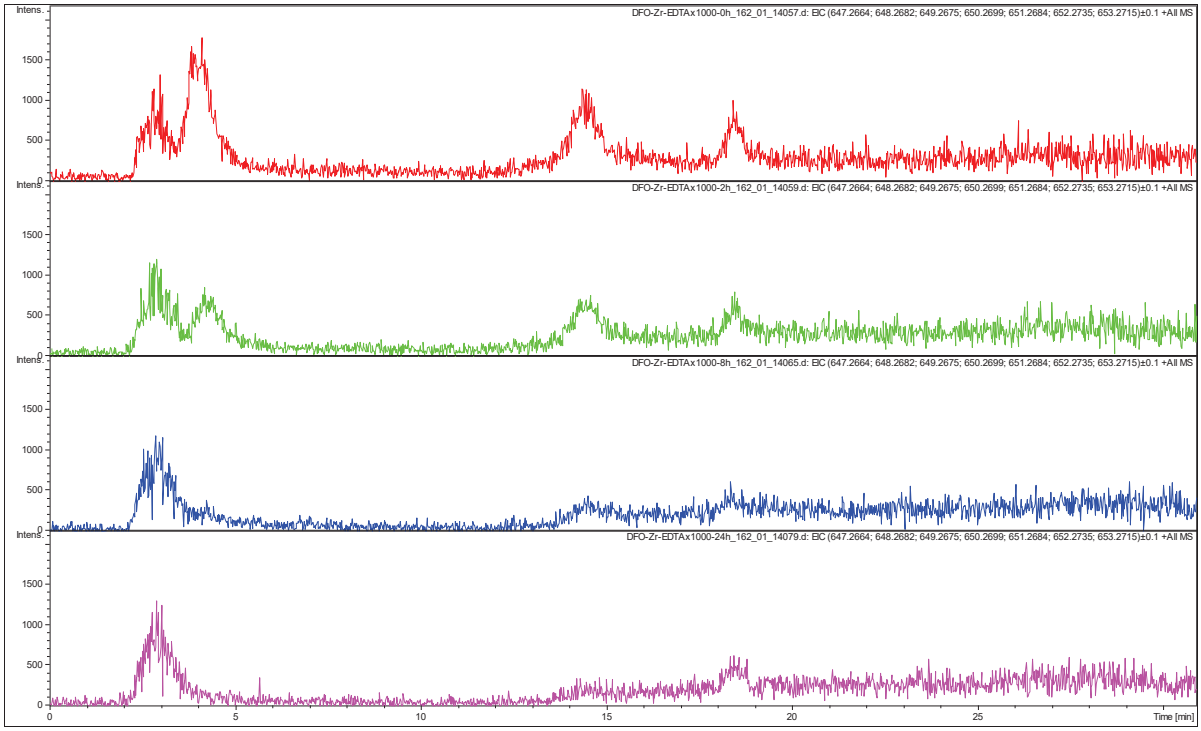
Die hier dargestellten Daten wurden mittels der Software ESI Compass 1.3 DataAnalysis 4.0 SP1 der Firma *Bruker Daltonics* geplottet. Die Integration erfolgte mit dem Programm ESI Compass 1.3 QuantAnalysis 2.0 SP1.

8.2.1. Vorevaluation

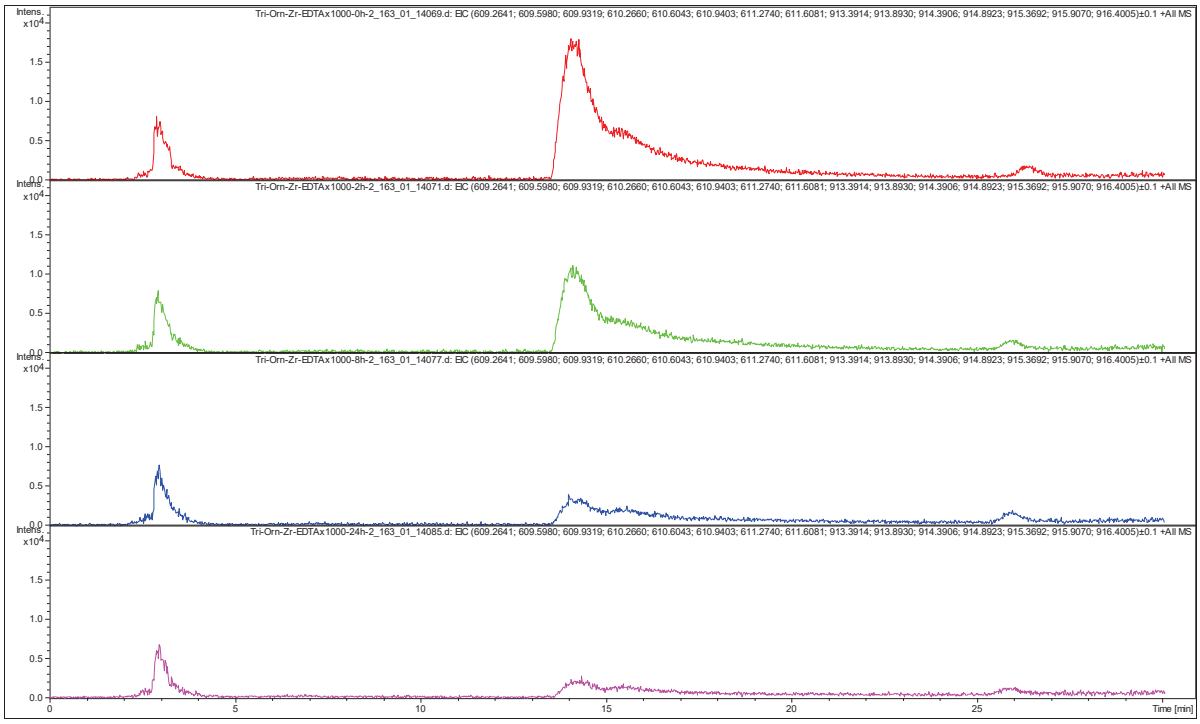
Der Farbcode entspricht folgendem Schema:

Rot:	Chromatogramm der 0 h Messung
Grün:	Chromatogramm der 2 h Messung
Blau:	Chromatogramm der 8 h Messung (in wenigen Fällen 11 h)
Pink:	Chromatogramm der 24 h Messung (in wenigen Fällen 33 h)

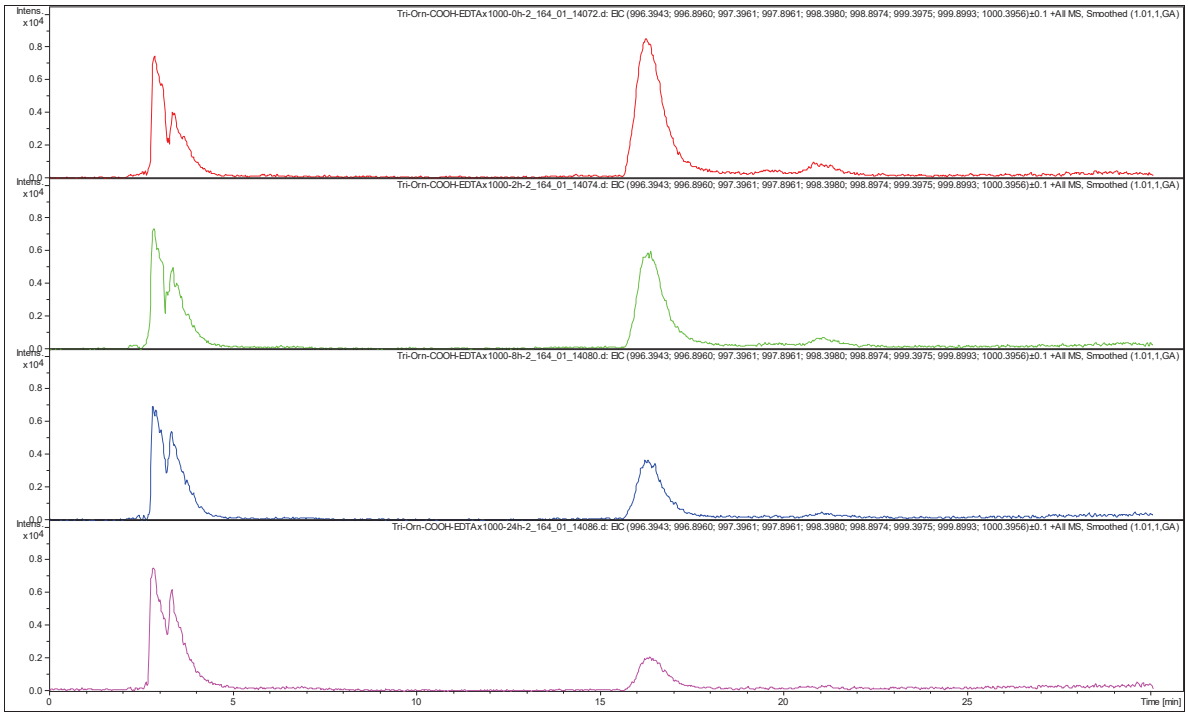
LC-MS (EIC) **DFO vs 1000x EDTA**



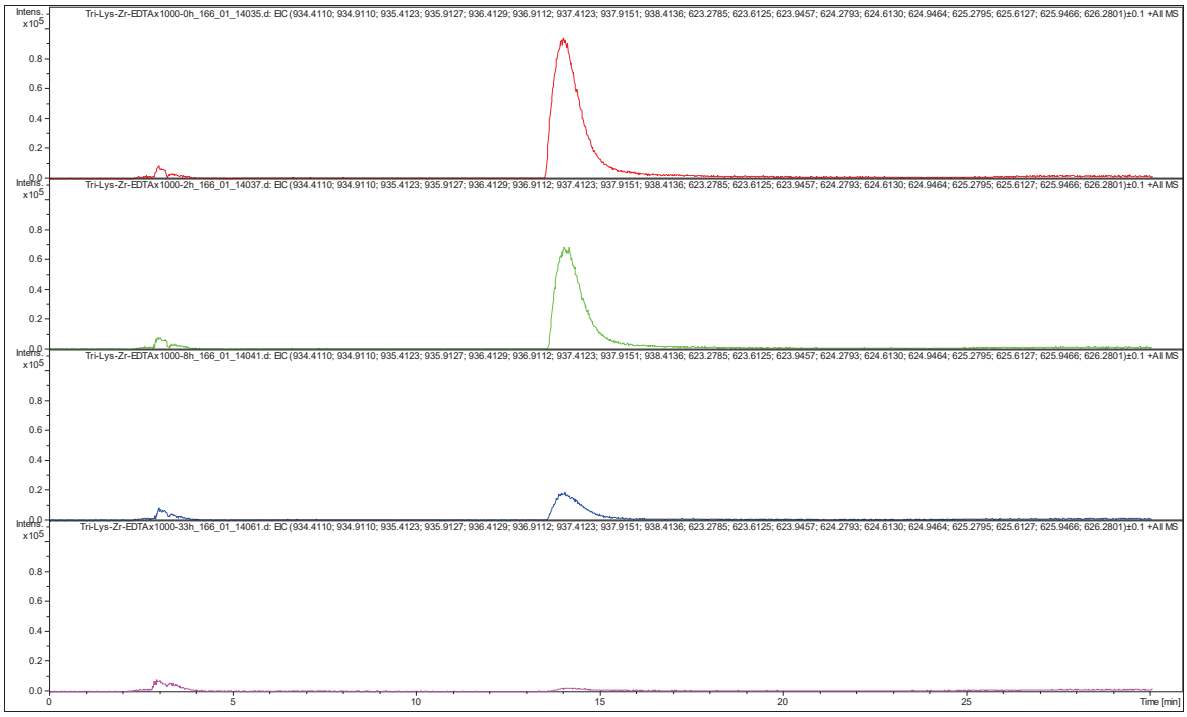
LC-MS (EIC) TriOrn-Zr vs 1000x EDTA



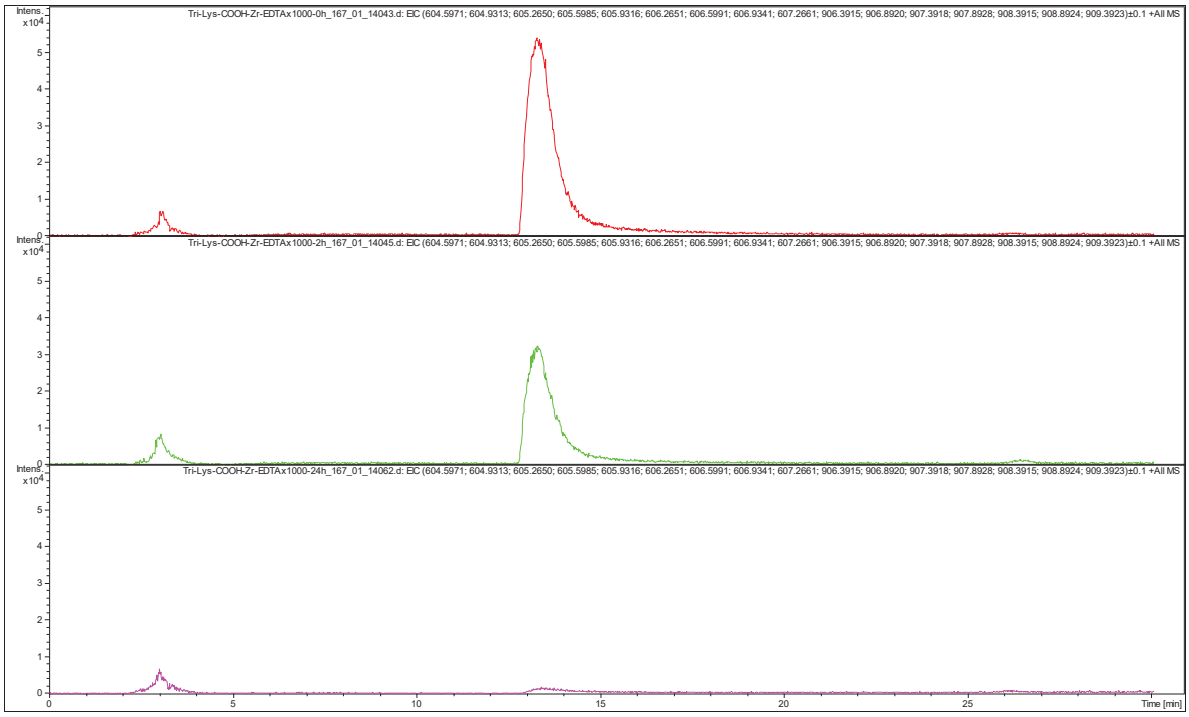
LC-MS (EIC) TriOrnCOOH-Zr vs 1000x EDTA



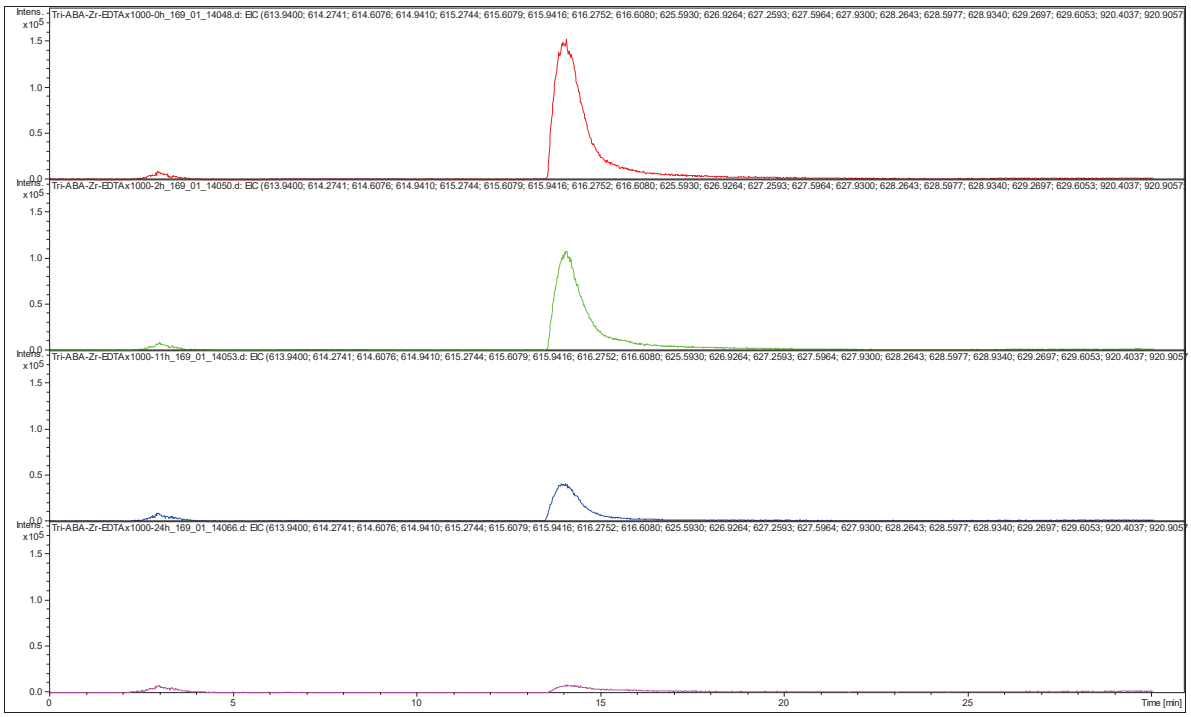
LC-MS (EIC) TriLys-Zr vs 1000x EDTA



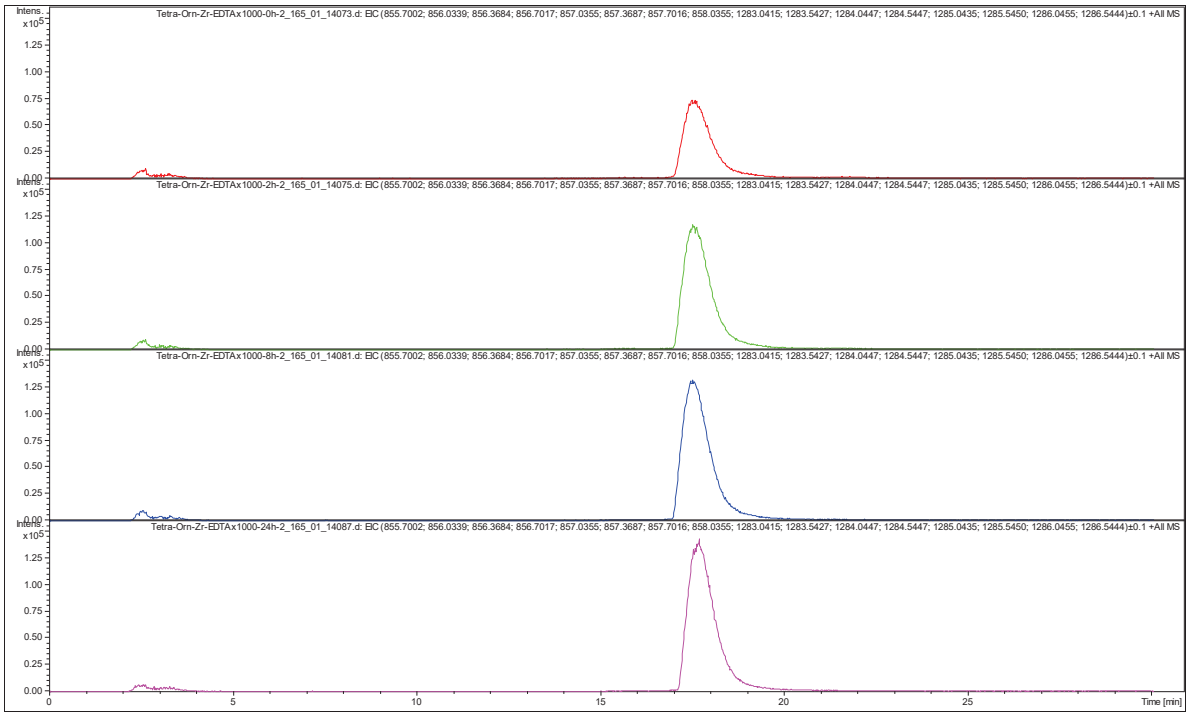
LC-MS (EIC) TriLysCOOH-Zr vs 1000x EDTA



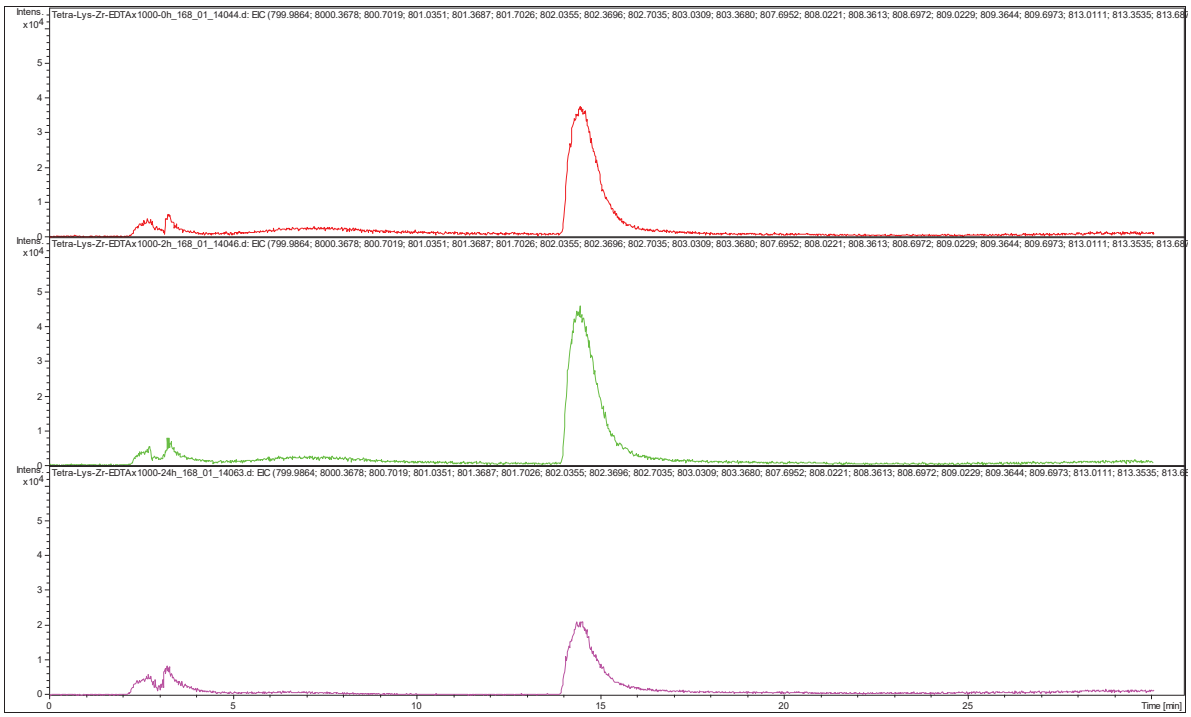
LC-MS (EIC) TriABA-Zr vs 1000x EDTA



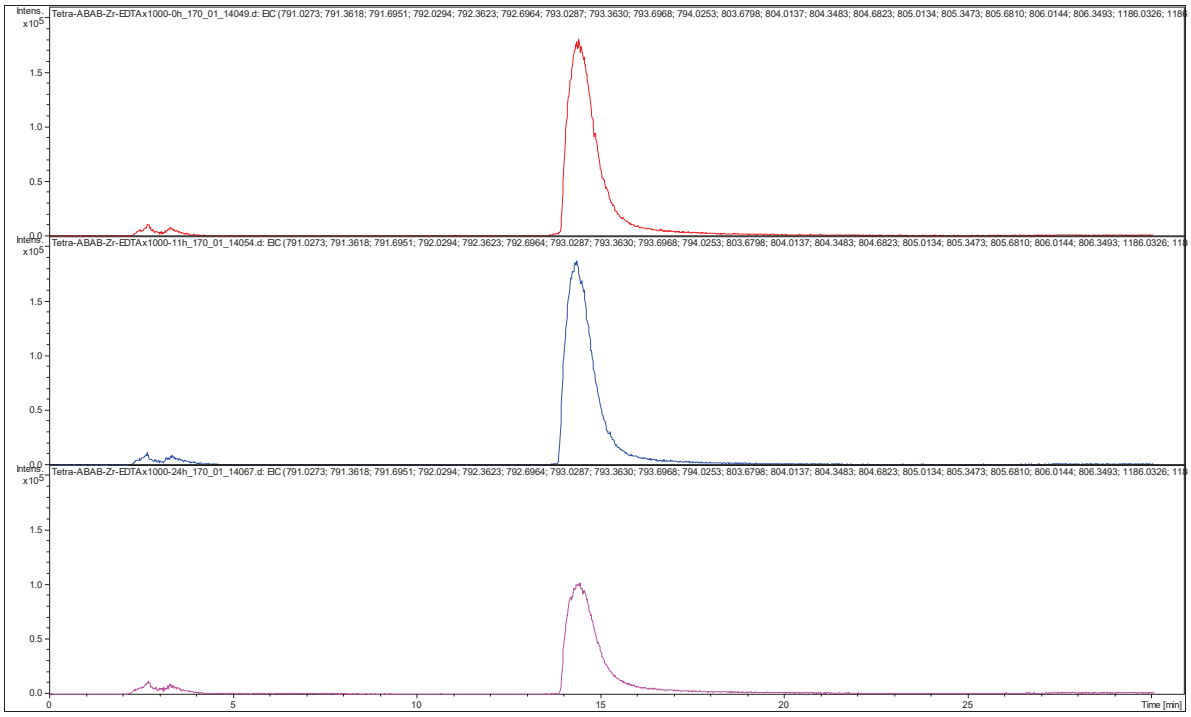
LC-MS (EIC) TetraOrn-Zr vs 1000x EDTA



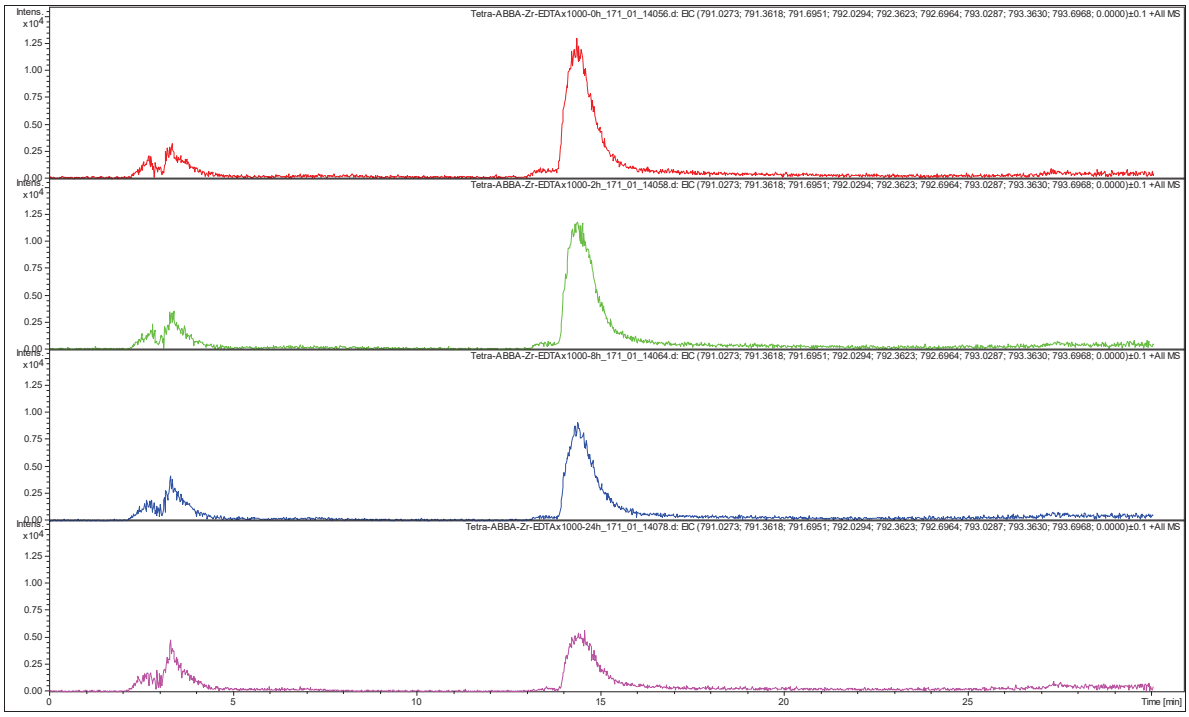
LC-MS (EIC) **TetraLys-Zr vs 1000x EDTA**



LC-MS (EIC) **TetraABAB-Zr vs 1000x EDTA**



LC-MS (EIC) TetraABBA-Zr vs 1000x EDTA

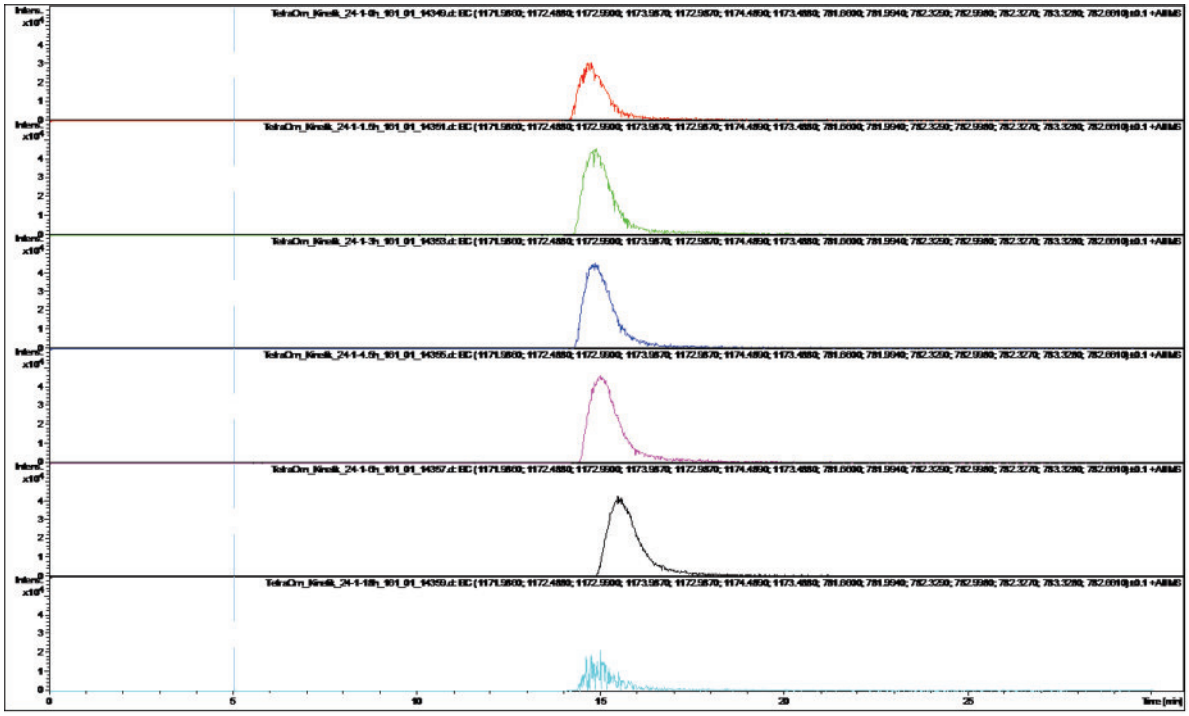


8.2.2. Kinetikstudie

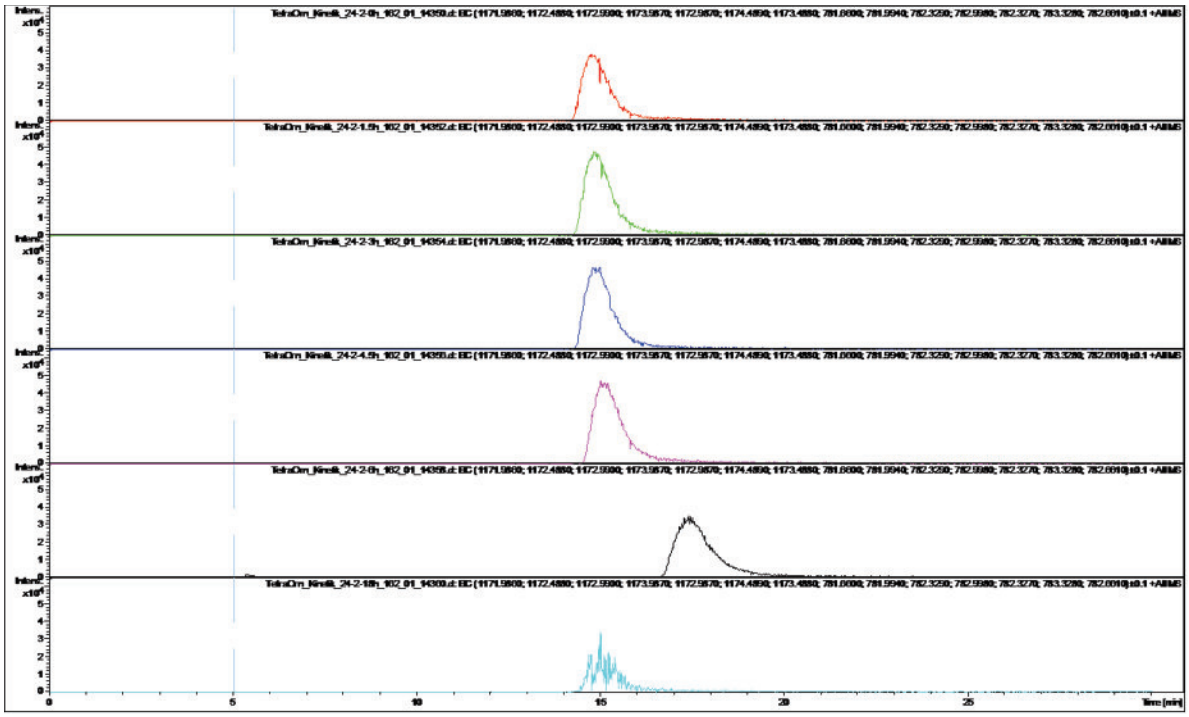
Der Farbcode entspricht folgendem Schema:

Rot:	Chromatogramm der 0 h Messung
Grün:	Chromatogramm der 1.5 h Messung
Blau:	Chromatogramm der 3 h Messung (in wenigen Fällen 11 h)
Pink:	Chromatogramm der 4.5 h Messung (in wenigen Fällen 33 h)
Schwarz:	Chromatogramm der 6 h Messung
Türkis:	Chromatogramm der 18 h Messung

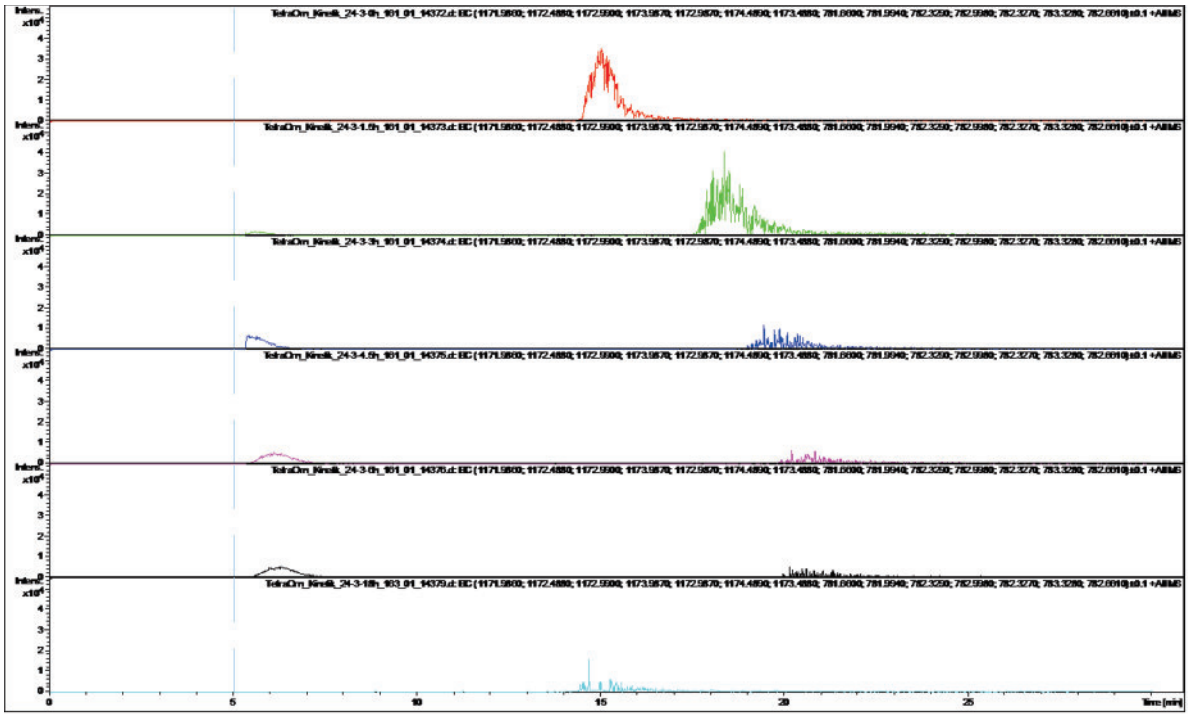
LC-MS (EIC) **TetraOrn-Zr 24 °C - 1**



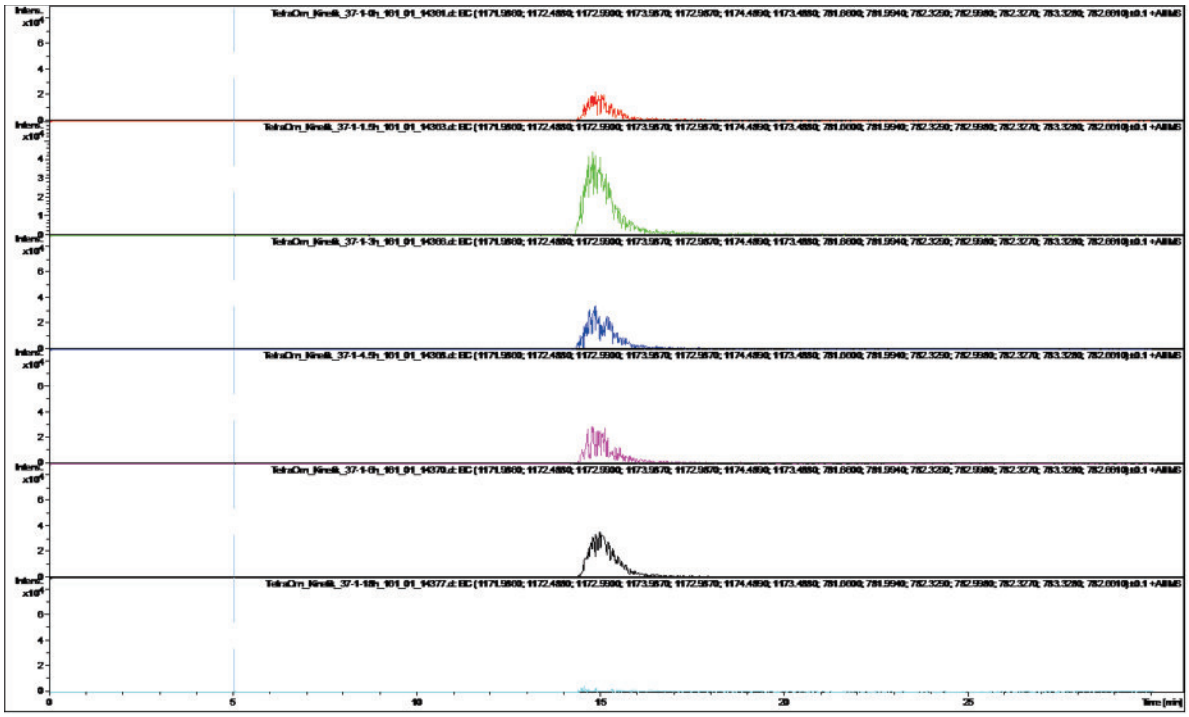
LC-MS (EIC) **TetraOrn-Zr 24 °C - 2**



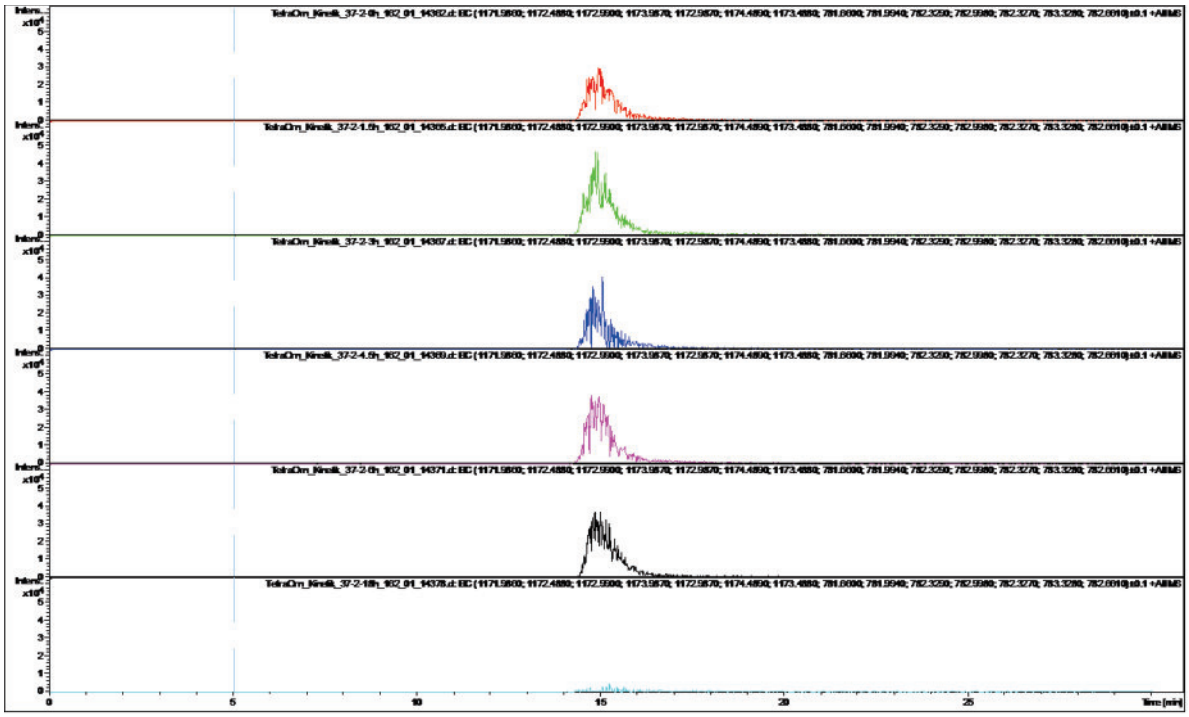
LC-MS (EIC) **TetraOrn-Zr 24 °C - 3**



LC-MS (EIC) **TetraOrn-Zr 37 °C - 1**



LC-MS (EIC) **TetraOrn-Zr 37 °C - 2**

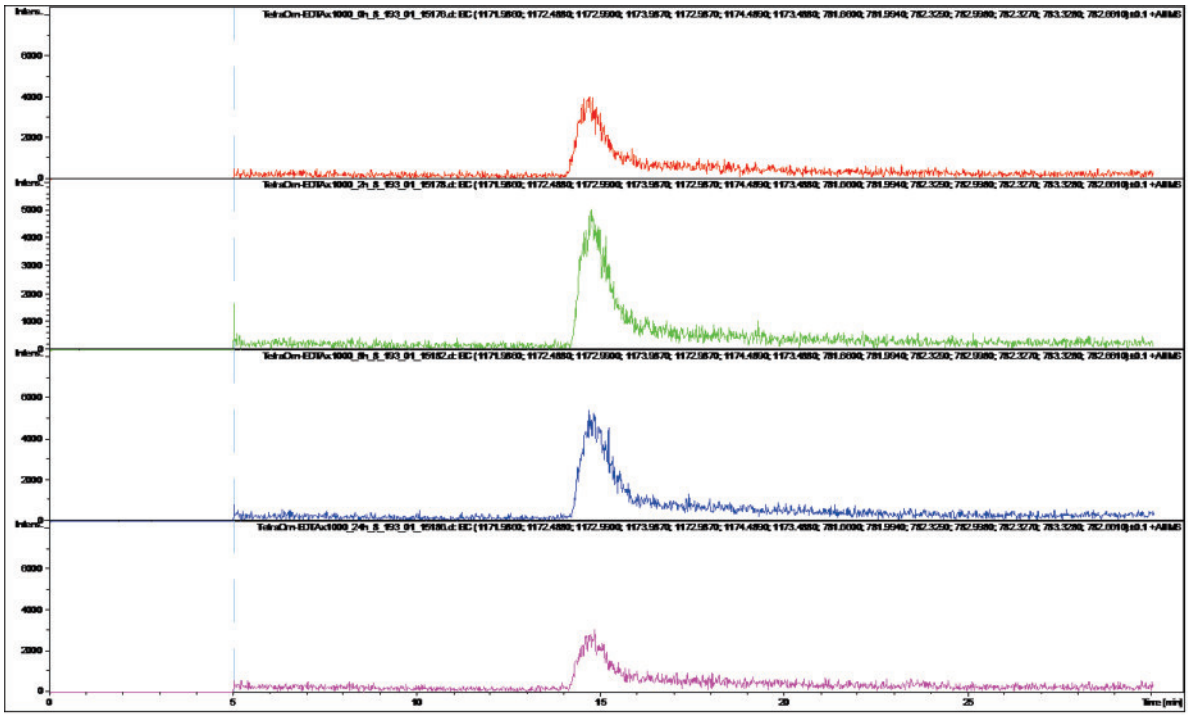


8.2.3. Validierung von Tetra-Orn-Zr 149

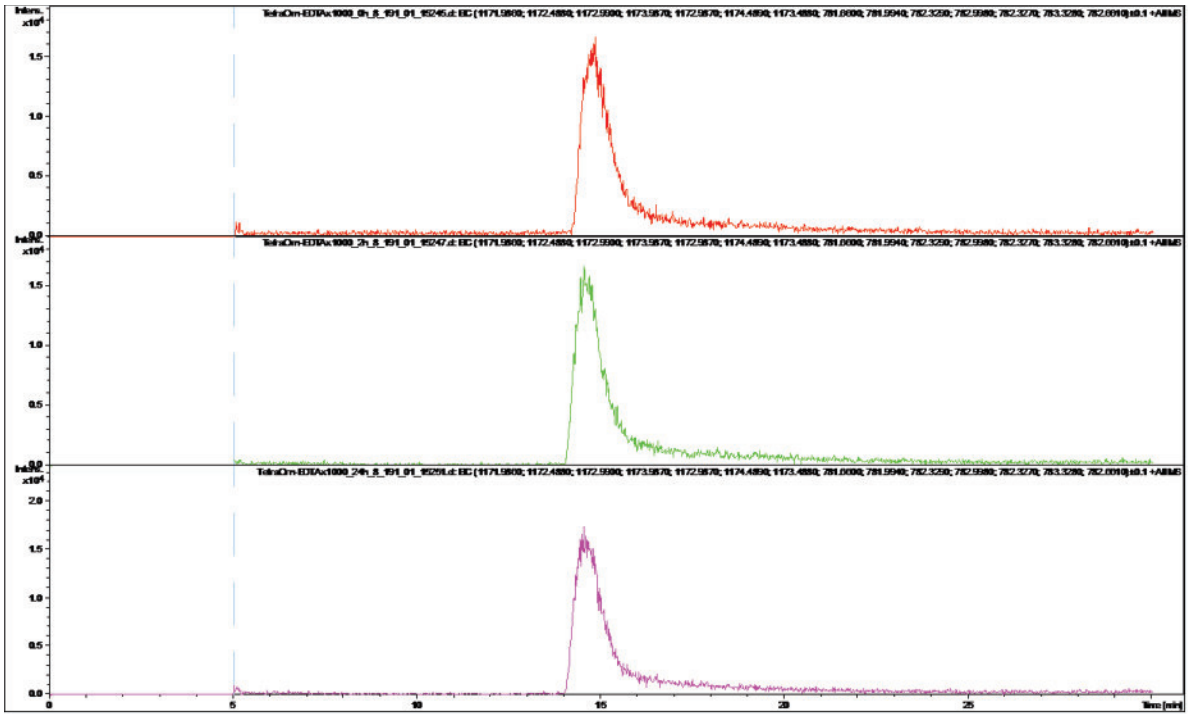
Der Farbcode entspricht folgendem Schema:

Rot:	Chromatogramm der 0 h Messung
Grün:	Chromatogramm der 2 h Messung
Blau:	Chromatogramm der 8 h Messung (in wenigen Fällen 11 h)
Pink:	Chromatogramm der 24 h Messung (in wenigen Fällen 33 h)

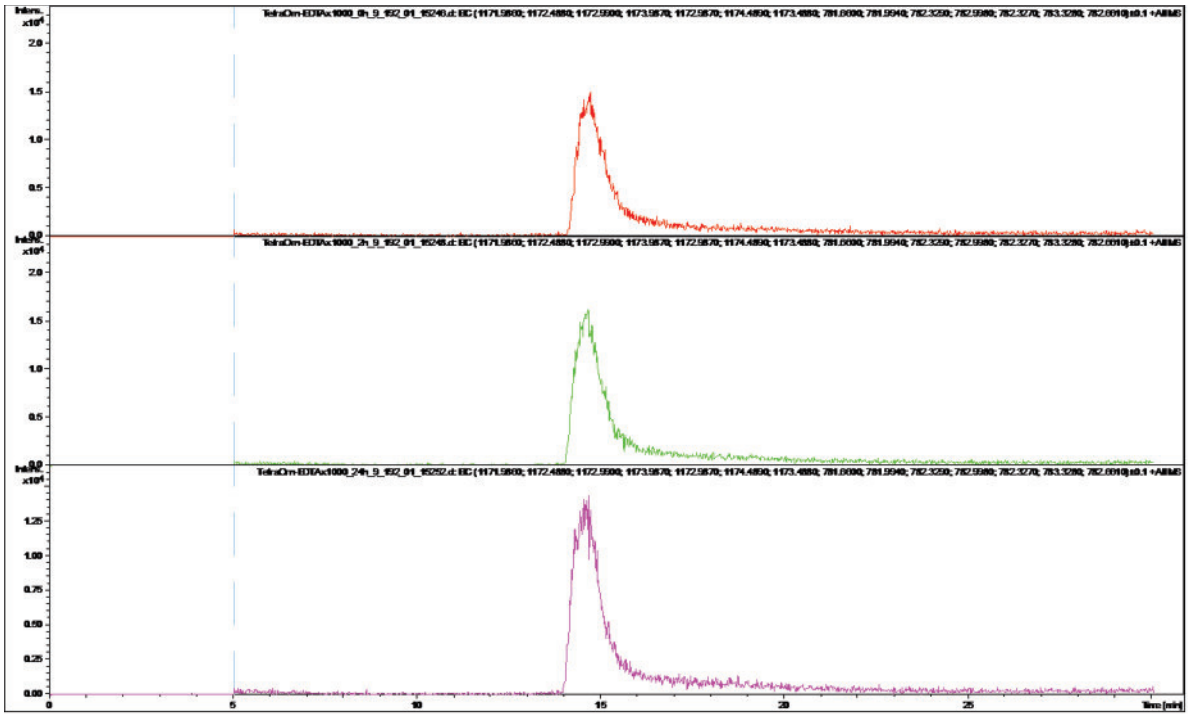
LC-MS (EIC) **TetraOrn-Zr vs 1000x EDTA 1**



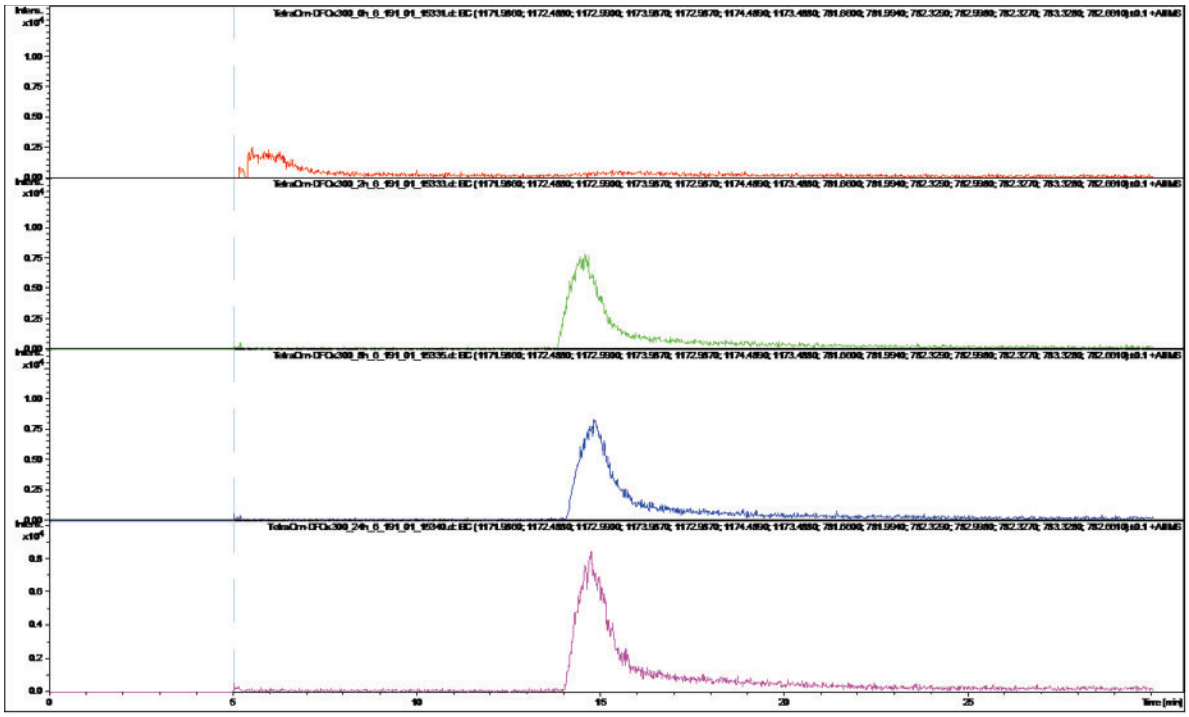
LC-MS (EIC) **TetraOrn-Zr vs 1000x EDTA 2**



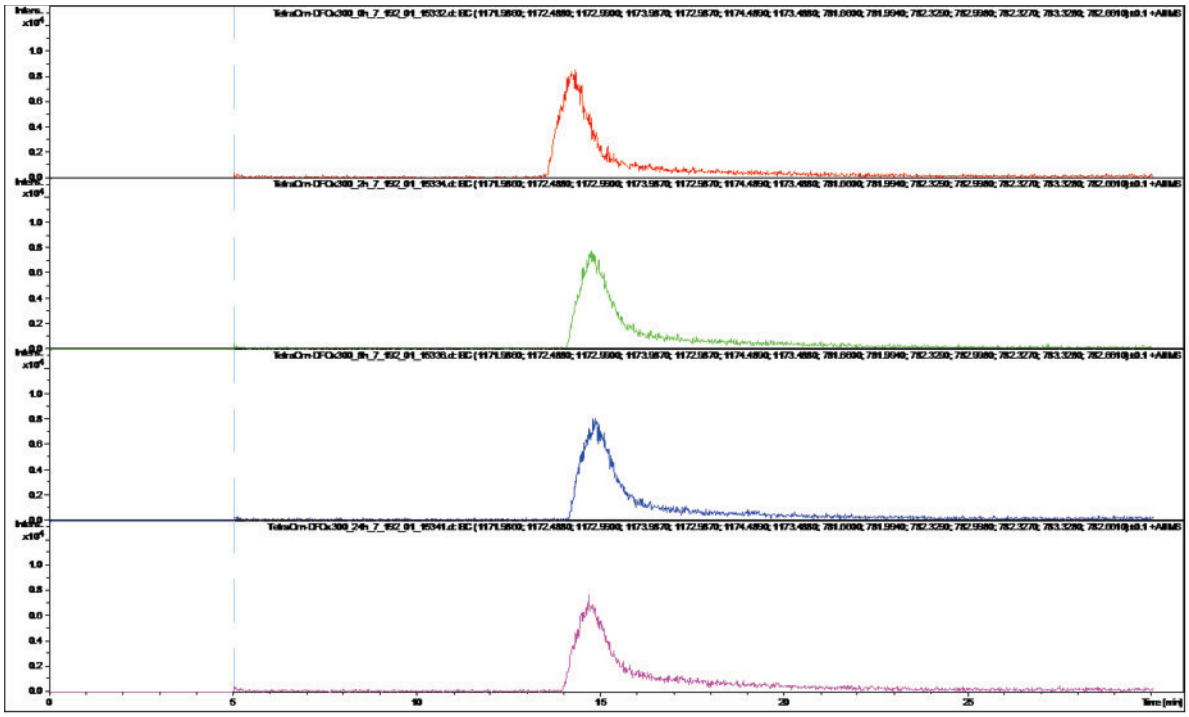
LC-MS (EIC) **TetraOrn-Zr vs 1000x EDTA 3**



LC-MS (EIC) **TetraOrn-Zr vs 300x DFO 1**



LC-MS (EIC) **TetraOrn-Zr vs 300x DFO 2**



8.3. Gefahrstoffverzeichnis

Tabelle 8-1: Verwendete Gefahrtstoffe und ihre Einstufung und Kennzeichnung nach GHS gemäß CLP-Verordnung (Piktogramme, H-Sätze, P-Sätze). Einstufung und Kennzeichnung stammen aus der GESTIS-Stoffdatenbank des Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA) oder sind den vom Hersteller bereitgestellten Sicherheitsdatenblättern entnommen.

Gefahrstoff	GHS Symbol	H-Sätze	P-Sätze
Aceton	Gefahr 02, 07	225-319-336	210-261-305+351+338
Acetonitril	Gefahr 02, 07	225-302+312+319-332	210-280-305+351+338
Ameisensäure	Gefahr 02, 05	226-314	280-305+351+338-310
Ammoniumheptamolybdat	Achtung 07	302-315-319-335	261-305+351+338-302+352-321-405-501
Benzoylperoxid	Gefahr 01, 02, 07, 09	241-317-319-410	210-261-273-280-305+351+338-333+313-420-501
Benzylbromid	Warnung 07	315-319-335	261-305+351+338
Benzylchlorformiat	Gefahr 05, 07, 08, 09	314-335-350-410	201-261-273-280-305+351+338-310
tert-Butanol	Gefahr 02, 07	225-319-332-335	210-261-305+351+338
Celite	Achtung 07	319-335	261-305+351+338
1,8-Diazabicyclo-(5.4.0)undec-7-en	Gefahr 05, 06	301-314-412-290	273-280-301+310-305+351+338-310
Dichlormethan	Achtung 07, 08	315-319-335-336-351-373	261-281-305+351+338
Dicyclohexylcarbodiimid	Gefahr 05, 06	302-311-317-318	280-301+312+330-302+352+312-305+351+338+310
Diethylether	Gefahr 02, 07	224-302-336	210-261
N,N-Diisopropylcarbodiimid	Gefahr 02, 05, 06, 08	226-315-317-318-330-334-335	260-280-284-305+351+338-310
N,N-Diisopropyl-ethylamin	Gefahr 02, 05, 06	225-302-318-331-335	210-261-280-305-+351+338-311
3-Dimethylamino-1-propin	Gefahr 02, 05, 06	225-302-311-314	210-280-305+351+338-310

N,*N*-Dimethylamino-pyridin	Gefahr 06	301-310-315-319-335	261-280-301+310-302+350-305+351+338-310
N,*N*-Dimethyl-formamid	Gefahr 02, 07, 08	226-312+332-319-360D	201-280-305+351+338-308+313
1,4-Dioxan	Gefahr 02, 07, 08	225-319-335-351	210-261-281-305+351+338
DOTA	Achtung 07	315-319-335	261-305+351+338
EDC • Hydrochlorid	Gefahr 05	314	280-305+351+338-310
Essigsäure	Gefahr 02, 05	226-314	280-305+351+338-310
Ethanol	Gefahr 02	225	210
Ethylacetat	Gefahr 02, 07	225-319-336	210-261-305+351+338
9-Fluorenylmethyl *N*-succinimidyl carbonat	Achtung 07, 09	302-317-411	273-280
HATU	Gefahr 02, 07	228-315-319-335	210-261-305+351+338
n-Hexan	Gefahr 02, 07, 08, 09	225-304-315-336-361f-373-411	210-261-273-281-301+310-331
HBTU	Warnung 07	315-319-335	261-305+351+338
HOBt	Gefahr 02	228	210
Kaliumcarbonat	Achtung 07	302-315-319-335	261-305+351+338
Kaliumcyanid	Gefahr 05, 06, 08, 09	290-300+310+330-370-372-410-EUH032	260-264-273-280-284-301+310
Kaliumhydroxid	Gefahr 05, 07	290-302-314	280-301+312+330-303+361+353-304+340+310-305+351+338
Kupfer(I)-chlorid	Gefahr 05, 07, 09	302-315-318-410	273-280-305+351+338-501
Kupfer(I)-iodid	Warnung 07, 09	302-315-319-335-410	261-273-305+351+338-501
Kupfer(II)-sulfat Pentahydrat	Warnung 07, 09	302-315-319-410	273-302+352-305+351+338

Methanol	Gefahr 02, 06, 08	225-301+311+331-370	210-260-280-301+310-311
4-Methylmorpholin	Gefahr 02, 05, 07	225-302-314	210-280-305+351+338-310
Molybdatophosphor-säure	Gefahr 03, 05	272-314	220-280-305+351+338-310
Natriumazid	Gefahr 06, 09	300-410	264-273-301+310-501
Natriumcarbonat	Achtung 07	319	305+351+338
Natriumhydroxid	Gefahr 05	290-314	280-305+351+338-310
Ninhydrin	Achtung 07	302-315-319-335	261-305+351+338
Palladium auf Kohle	Gefahr 02	228	210
Palladiumhydroxid auf Kohle	Achtung 07	315-319-335	261-305+351+338
n-Pentan	Gefahr 02, 07, 08, 09	225-336-304-411-EUH066	273-301+310-331-403+235
Petrolether 50-70	Gefahr 02, 07, 08, 09	225-304-315-336-361f-373-411	210-261-273-281-301+310-331
Phenol	Gefahr 05, 06, 08, 09	301+311+331-314-341-373-411	261-273-280-301+310-305+351+338-310
Piperidin	Gefahr 02, 05, 06	225-302-311+331-314-412	210-261-280-303+361+353-305+351+338-370+378
2-Propanol	Gefahr 02, 07	225-319-336	210-261-305+351+338
1,3-Propansulton	Gefahr 07, 08	302+312-319-350	201-280-301+312+330-305+351+338-308+313
Pyridin	Gefahr 02, 07	225-302+312+332-315-319	210-280-305+351+338
Salpetersäure > 90%	Gefahr 03, 05, 06	272-311 + 331-314	220-261-280-305+351+338-310
Salzsäure	Gefahr 05, 07	290-314-335	261-280-305+351+338-310

Schwefelsäure	Gefahr 05	290-310	280-305+351+338-310
Tetrahydrofuran	Gefahr 02, 07, 08	225-319-335-351	210-261-281-305+351+338
Thionylchlorid	Gefahr 05, 06	302-314-331	261-280-303+361+353-304+340+310-305+351+338-403+233
Toluol	Gefahr 02, 07, 08	225-304-315-336-361d-373	210-261-281-301+310-331
Trichlormethan	Achtung 06, 08	302-331-315-319-351-361d-336-372	261-281-305+351+338-311
Triethylamin	Gefahr 02, 05, 06	225-302-311+331-314-335	210-261-280-305+351+338-310
Triethylsilan	Gefahr 02	225-412	210-273
Trifluoressigsäure	Gefahr 05, 07	314-332-412	273-280-305+351+338-310
Triisopropylsilan	Warnung 02, 07	226-315-319-335	261-305+351+338
Vanillin	Achtung 07	302-315-319-335	261-305+351+338
Wasserstoff	Gefahr 02, 04	220-280	210-377-381-403
Zirconium(IV)-chlorid	Gefahr 05	290-314	280-305+351+338-310

Legende

	GHS 01	Unstabil Explosionsgefahr		GHS 06	Giftig Kat. 1-3
	GHS 02	Entzündlich		GHS 07	Achtung
	GHS 03	Brandfördernd		GHS 08	Systemische Gesundheitsgefährdung
	GHS 04	Komprimierte Gase		GHS 09	Umweltgefährlich
	GHS 05	Ätzend etc. Kat. 1			

9. Literaturverzeichnis

[1] J. J. Vaquero, P. Kinahan, Positron Emission Tomography: Current Challenges and Opportunities for Technological Advances in Clinical and Preclinical Imaging Systems, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2015**, *17*, 385-414.

[2] S. S. Gambhir, Molecular imaging of cancer with positron emission tomography, *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 683-693.

[3] S. V. Smith, Molecular imaging with copper-64, *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98*, 1874-1901.

[4] P. Blower, Towards molecular imaging and treatment of disease with radionuclides: the role of inorganic chemistry, *Dalton Trans.* **2006**, 1705-1711.

[5] M. E. Phelps, Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes, *PNAS* **2000**, *97*, 9226-9233.

[6] T. Hosny, E. Al-Anezi, M. M. Khalil, "Positron Emitter Radionuclides" in *Basic Science of PET Imaging*, 1. Edition, M. M. Khalil, Springer Intenational Publishing, Schweiz, **2017**, 26-27.

[7] R. H. Storey, A. J. Zimmermann, Radioisotopes in Pharmacy and Medicine, *J. Am. Pharm. Assoc.* **1967**, *7*, 140-144.

[8] M. E. Phelphs *et al.*, Application of Annihilation Coincidence Detection to Transaxial Reconstruction Tomography, *J. Nucl. Med.* **1975**, *16*, 210-224.

[9] S. Krishnamoorthy, J. P. Schmall, S. Surti, "PET Physics and Instrumentation" in *Basic Science of PET Imaging*, 1. Edition, M. M. Khalil, Springer Intenational Publishing, Schweiz, **2017**, 173-197.

[10] A. Granov, L. Tiutin, T. Schwarz, *Positron Emission Tomography (engl. Ed.)*, Foliant (engl. Ed. Springer Verlag), St. Petersburg (engl. Ed. Berlin Heidelberg), **2008**.

[11] B. K. Das, "Positron Emission Tomography: An Overview" in *Positron Emission Tomography - A Guide for Clinicans*, B. K. Das, Springer India, Neu Delhi, **2015**, 1-6.

[12] J. L. Humm, A. Rosenfeld, A. Del Guerra, From PET detectors to PET scanners, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2003**, *30*, 1574-1597.

[13] I. Verel, G. W. Visser, G. A. Van Dongen, The promise of immuno-PET in radioimmunotherapy, *J. Nucl. Med.* **2005**, *46(Suppl. 1)*, 164S-171S.

[14] H. Schicha, O. Schober, *Nuklearmedizin - Basiswissen und klinische Anwendung*, 7. Auflage, Schattauer, Stuttgart, **2017**.

[15] A. Studen, "Physics of Imaging in Nuclear Medicine" in *Imaging in Nuclear Medicine*, 1. Edition, A. Giussani, C. Hoeschen, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, **2013**, 19-41.

[16] S. Vallabhajosula, *Molecular Imaging - Radiopharmaceuticals for PET and SPECT*, 1. Edition, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, **2009**.

[17] A. Rahmim, H. Zaidi, PET versus SPECT: strengths, limitations and challenges, *Nucl. Med. Commun.* **2008**, *29*, 193-207.

[18] M. T. Madsen, Recent Advances in SPECT Imaging, *J. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 661-673.

[19] K. C. Schmidt, F. E. Turkheimer, Kinetic modeling in positron emission tomography, *Q. J. Nucl. Med.* **2002**, *46*, 70-85.

[20] P. K. Thanos, G. Wang, N. D. Volkow, Positron Emission Tomography as a Tool for Studying Alcohol Abuse, *Alcohol Res. Health* **2008**, *31*, 233-237.

[21] W. W. Moses, Fundamental Limits of Spatial Resolution in PET, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. A* **2011**, *648 Supplement 1*, S236-S240.

[22] A. J. Reader, H. Zaidi, Advances in PET Image Reconstruction, *PET Clin.* **2007**, *2*, 173-190.

[23] S. Vallabhajosula, "Radopharmaceuticals for PET" in *Clin. Nucl. Med.*, 1. Edition, H. J. Biersack, L. M. Freeman, L. S. Zuckier, F. Grünwald, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New Your, **2007**, 50-76.

[24] E. O. Lawrence, M. S. Livingston, The Production of High Speed Protons Without the Use of High Voltages, *Physical Review* **1931**, *38*, 834-834.

[25] D. J. Silvester, "Radiopharmaceuticals and Labelled Compounds", Konferenzbeitrag zu *Symposium on New Developments in Radiopharmaceuticals and Labelled Compounds*, Copenhagen, **1973**, 197-223.

[26] M. Hiltzik, *Big Science - Ernest Lawrence and the Invention That Launche the Military-Industrial Complex*, Simon & Schuster Paperbacks, New York, NY, **2015**.

[27] S. M. Qaim, J. C. Clark, C. Crouzel, "PET radionuclide production" in *Radiopharmaceuticals for Positron Emission Tomography*, G. Stocklin, V. W. Pike, Springer Verlag, New York, NY, **1993**, 1-43.

[28] B. M. Zeglis, J. S. Lewis, A practical guide to the construction of radiometallated bioconjugates for positron emission tomography, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6168-6195.

[29] M. J. Welch, M. R. Kilbourn, M. A. Green, Radiopharmaceuticals labeled with short-lived positron-emitting radionuclides, *Radioisotopes* **1985**, *34*, 170-179.

[30] V. Pichler *et al.*, An Overview of PET Radiochemistry, Part 1: The Covalent Labels 18F, 11C, and 13N, *J. Nucl. Med.* **2018**, *59*, 1350-1354.

[31] C. Nanni *et al.*, 18F-Fluciclovine PET/CT for the Detection of Prostate Cancer Relapse: A Comparison to 11C-Choline PET/CT, *Clin. Nucl. Med.* **2015**, *40*, e386-e391.

[32] P. Som *et al.*, A Fluorinated Glucose Analog, 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (F-18): Nontoxic Tracer for Rapid Tumor Detection, *J. Nucl. Med.* **1980**, *21*, 670-675.

[33] V. F. C. Raczkowski, *Review of F-18 Fluoro-2-Deoxyglucose (F-18 FDG) Positron Emission Tomography in the Evaluation of Malignancy - August 4, 1999*, veröffentlicht auf https://www.fda.gov, Zugriff am **05.09.2019**.

[34] L. Zanoni, A. S. Al-Sugair, S. Fanti, Clinical application of 18F fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) position emission tomography-computed tomography (PET/CT), *Nuclear Medicine Review* **2012**, *15 Suppl. C*, C48-C51.

[35] T. Derlin *et al.*, Molekulare Bildgebung in der Onkologie mittels Positronenemissionstomographie, *Dtsch. Arztebl. International* **2018**, *115*, 175-181.

[36] O. Warburg, K. Posener, E. Negelein, Übern den Stoffwechsel der Carcinomzelle, *Biochemische Zeitschrift* **1924**, *152*, 309-335.

[37] G. J. Kelloff *et al.*, Progress and Promise of FDG-PET Imaging for Cancer Patient Management and Oncologic Drug Development, *Clinical Cancer Research* **2005**, *11*, 2785-2808.

[38] N. Lubezky *et al.*, The role and limitations of 18-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography (FDG-PET) scan and computerized tomography (CT) in restaging patients with hepatic colorectal metastases following neoadjuvant chemotherapy: comparison with operative and pathological findings, *J. Gastrointest. Surg.* **2007**, *11*, 472-478.

[39] E. M. Marom *et al.*, T1 lung cancers: sensitivity of diagnosis with fluorodeoxyglucose PET, *Radiology* **2002**, *223*, 453-459.

[40] T. J. Ruers *et al.*, Value of positron emission tomography with [F-18]fluorodeoxyglucose in patients with colorectal liver metastases: a prospective study, *J. Clin. Oncol.* **2002**, *20*, 388-395.

[41] A. Almuhaideb, N. Papathanasiou, J. Bomanji, 18F-FDG PET/CT imaging in oncology, *Ann. Saudi Med.* **2011**, *31*, 3-13.

[42] K. Strebhardt, A. Ullrich, Paul Ehrlich's magic bullet concept: 100 years of progress, *Nat. Rev. Cancer* **2008**, *8*, 473-480.

[43] R. S. Schwartz, Paul Ehrlich's magic bullets, *N. Engl. J. Med.* **2004**, *350*, 1079-1080.

[44] Y. H. Bae, K. Park, Targeted drug delivery to tumors: myths, reality and possibility, *J. Controlled Release* **2011**, *153*, 198-205.

[45] M. Mitterhauser, W. Wadsak, Imaging biomarkers or biomarker imaging?, *Pharmaceuticals (Basel)* **2014**, *7*, 765-778.

[46] A. M. Wu, P. D. Senter, Arming antibodies: prospects and challenges for immunoconjugates, *Nat. Biotechnol.* **2005**, *23*, 1137-1146.

[47] E. W. Price, C. Orvig, Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 260-290.

[48] J. P. Holland, M. J. Williamson, J. S. Lewis, Unconventional Nuclides for Radiopharmaceuticals, *Mol. Imaging* **2010**, *9*, 1-20.

[49] C. Champion, C. Le Loirec, Positron follow-up in liquid water: II. Spatial and energetic study for the most important radioisotopes used in PET, *Phys. Med. Biol.* **2007**, *52*, 6605-6625.
[50] M. Conti, L. Eriksson, Physics of pure and non-pure positron emitters for PET: a review and a discussion, *EJNMMI Physics* **2016**, *3*, 1-17.
[51] C. J. Anderson, R. Ferdani, Copper-64 radiopharmaceuticals for PET imaging of cancer: advances in preclinical and clinical research, *Cancer Biother. Radiopharm.* **2009**, *24*, 379-393.
[52] C. J. Anderson *et al.*, Copper-64-Labeled Antibodies for PET Imaging, *J. Nucl. Med.* **1992**, *33*, 1685-1690.
[53] W. Cai *et al.*, Quantitative PET of EGFR expression in xenograft-bearing mice using 64Cu-labeled cetuximab, a chimeric anti-EGFR monoclonal antibody, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2007**, *34*, 850-858.
[54] G. Niu *et al.*, Monitoring therapeutic response of human ovarian cancer to 17-DMAG by noninvasive PET imaging with (64)Cu-DOTA-trastuzumab, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2009**, *36*, 1510-1519.
[55] S. V. Smith, Molecular Imaging with Copper-64, *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98*, 1874-1901.
[56] T. K. Nayak, M. W. Brechbiel, 86Y Based PET Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Biological Applications, *Med. Chem.* **2011**, *7*, 380-388.
[57] P. McQuade *et al.*, Imaging of melanoma using 64Cu- and 86Y-DOTA-ReCCMSH(Arg11), a cyclized peptide analogue of alpha-MSH, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2985-2992.
[58] J. J. Parry, R. Andrews, B. E. Rogers, MicroPET imaging of breast cancer using radiolabeled bombesin analogs targeting the gastrin-releasing peptide receptor, *Breast Cancer Res. Treat.* **2007**, *101*, 175-183.
[59] G. B. Biddlecombe *et al.*, Molecular imaging of gastrin-releasing peptide receptor-positive tumors in mice using 64Cu- and 86Y-DOTA-(Pro1,Tyr4)-bombesin(1-14), *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 724-730.
[60] G. L. Cascini *et al.*, 124 Iodine: a longer-life positron emitter isotope-new opportunities in molecular imaging, *BioMed Res. Int.* **2014**, *2014*, 1-7.
[61] H. T. Phan *et al.*, The diagnostic value of 124I-PET in patients with differentiated thyroid cancer, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2008**, *35*, 958-965.
[62] L. Koehler *et al.*, Iodine-124: a promising positron emitter for organic PET chemistry, *Molecules* **2010**, *15*, 2686-2718.
[63] A. M. Braghirolli *et al.*, Production of Iodine-124 and its Applications in Nuclear Medicine, *Appl. Radiat. Isot.* **2014**, *90*, 138-148.
[64] W. E. Meijs *et al.*, Zirconium-labeled monoclonal antibodies and their distribution in tumor-bearing nude mice., *J. Nucl. Med.* **1997**, *38*, 112-118.
[65] P. K. Borjesson *et al.*, Performance of immuno-positron emission tomography with zirconium-89-labeled chimeric monoclonal antibody U36 in the detection of lymph node metastases in head and neck cancer patients, *Clinical Cancer Research* **2006**, *12*, 2133-2140.
[66] S. Heskamp *et al.*, 89Zr-Immuno-Positron Emission Tomography in Oncology: State-of-the-Art 89Zr Radiochemistry, *Bioconjugate Chem.* **2017**, *28*, 2211-2223.
[67] M. A. Deri *et al.*, PET Imaging with (89)Zr: From Radiochemistry to the Clinic, *Nucl. Med. Biol.* **2013**, *40*, 3-14.
[68] J. P. Holland, Y. Sheh, J. S. Lewis, Standardized methods for the production of high specific-activity zirconium-89, *Nucl. Med. Biol.* **2009**, *36*, 729-739.
[69] J. R. Dilworth, S. I. Pascu, The chemistry of PET imaging with zirconium-89, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 2554-2571.
[70] P. F. Hinrichsen, Decay of 78.4 h 89Zr, *Nucl. Phys. A* **1968**, *118*, 538-544.
[71] F. J. Shore *et al.*, Radiations from Zr89, *Physical Review* **1953**, *91*, 1203-1211.
[72] S. Vandenberghe, Three-dimensional positron emission tomography imaging with 124I and 86Y, *Nucl. Med. Commun.* **2006**, *27*, 237-245.
[73] O. T. Dejesus, R. J. Nickles, Production and purification of 89Zr, a potential PET antibody label, *Int. J. Radiat. Appl. Instrum. Part A: Appl. Radiat. Isot.* **1990**, *41*, 789-790.

[74] M. Taghilo *et al.*, Cyclotron production of 89Zr: A potent radionuclide for positron emission tomography, *Int. J. Phys. Sci.* **2012**, *7*, 1321-1325.
[75] United States Environmental Protection Agency, United States Department of Defense, United States Department of Energy, United States Department of Homeland Security, United States Nuclear Regulatory Commission, United States Food and Drug Administration, United States Geological Survey, National Institute of Standards and Technology, *Multi-Agency Radiological Laboratory Analytical Protocols Manual (Vol. II: Chapters 10-17 and Appendix F)*, Erschienen auf www.nrc.gov/reading-rm.html, **2004**, 1-603.
[76] R. D. Shannon, Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides, *Acta Crystallogr. Sect. A: Found. Crystallogr.* **1976**, *32*, 751-767.
[77] C. Ekberg *et al.*, Studies on the Hydrolytic Behavior of Zirconium(IV), *J. Solution Chem.* **2004**, *33*, 47-79.
[78] A. Clearfield, P. A. Vaughan, The crystal structure of zirconyl chloride octahydrate and zirconyl bromide octahydrate, *Acta Cryst.* **1956**, *9*, 555-558.
[79] C. F. Baes, R. S. Mesmer, "Kapitel 8.2 Zr4+ und Hf4+" in *The Hydrolysis of Cations, Vol. 1*, John Wiley & Sons, New York, London, Sidney, Toronto, **1976**, 152-157.
[80] https://www.chemie.de/lexikon/Zirconium.html, Zugriff am **19.09.2019**.
[81] Z.-H. Zhang, T.-S. Li, Applications of Zirconium (IV) Compounds in Organic Synthesis, *Curr. Org. Chem.* **2009**, *13*, 1-30.
[82] D. W. Stephan, Zirconium-Phosphor Chemie: Synthesestrategien, Reaktivität, Katalyse und Nutzen, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 322-338.
[83] D. W. Stephan, Zirconium - Phosphorus Chemistry: Strategies in Syntheses, Reactivity, Catalysis, and Utility, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 314-329.
[84] D. B. Lee *et al.*, Zirconium: biomedical and nephrological applications, *ASAIO J.* **2010**, *56*, 550-556.
[85] H. A. Schroeder, J. J. Balassa, Abnormal Trace Metals in Man: Zirconium, *J. Chron. Dis.* **1966**, *19*, 573-586.
[86] D. S. Abou, T. Ku, P. M. Smith-Jones, In vivo biodistribution and accumulation of 89Zr in mice, *Nucl. Med. Biol.* **2011**, *38*, 675-681.
[87] C. R. Fletcher, The Radiological Hazards of Zirconium-95 and Niobium-95, *Health Phys.* **1969**, *16*, 209-220.
[88] Y. Shiraishi, R. Ichikawa, Absorption and Retention of 144Ce and 95Zr-95Nb in Newborn, Juvenile and Adult Rats, *Health Phys.* **1972**, *22*, 373-378.
[89] J. Mealey, Turn-over of Carrier-free Zirconium-89 in Man, *Nature* **1957**, *179*, 673-674.
[90] B. V. Rama Sastry, L. K. Owens, C. O. T. Ball, Differences in the Distribution of Zirconium-95 and Niobium-95 in the Rat, *Nature* **1964**, *201*, 410-411.
[91] R. Saha *et al.*, Microbial siderophores: a mini review, *J. Basic Microbiol.* **2013**, *53*, 303-317.
[92] J. E. Cassat, E. P. Skaar, Iron in infection and immunity, *Cell Host Microbe* **2013**, *13*, 509-519.
[93] J. B. Neilands, Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 26723-26726.
[94] R. C. Hider, X. Kong, Chemistry and biology of siderophores, *Natural Product Reports* **2010**, *27*, 637-657.
[95] A. Khan, P. Singh, A. Srivastava, Synthesis, nature and utility of universal iron chelator - Siderophore: A review, *Microbiol. Res.* **2018**, *212-213*, 103-111.
[96] J. Behnsen, M. Raffatellu, Siderophores: More than Stealing Iron, *mBio* **2016**, *7*, e01906-01916.
[97] R. Golonka, B. S. Yeoh, M. Vijay-Kumar, The Iron Tug-of-War between Bacterial Siderophores and Innate Immunity, *J. Innate Immun.* **2019**, *11*, 249-262.
[98] J. M. Vraspir, A. Butler, Chemistry of marine ligands and siderophores, *Annu. Rev. Mar. Sci.* **2009**, *1*, 43-63.
[99] B. R. Wilson *et al.*, Siderophores in Iron Metabolism: From Mechanism to Therapy Potential, *Trends Mol. Med.* **2016**, *22*, 1077-1090.
[100] H. Bickel *et al.*, Stoffwechselprodukte von Actinomyceten. 27. Mitteilung. Über die Konstitution von Ferrioxamin B, *Helv. Chim. Acta* **1960**, *43*, 2129-2138.

[101] E. Poggiali *et al.*, An update on iron chelation therapy, *Blood Transfusion* **2012**, *10*, 411-422.
[102] J. P. Holland *et al.*, (89)Zr-DFO-J591 for immunoPET imaging of prostate-specific membrane antigen (PSMA) expression in vivo, *J. Nucl. Med.* **2010**, *51*, 1293-1300.
[103] E. W. Price, C. Orvig, in *The Chemistry of Molecular Imaging, Vol. 1* (Eds.: N. Long, W. Wong), John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey, **2014**, pp. 105-136.
[104] https://clinicaltrials.gov/ "Suche nach Studien mit 89Zr", Zugriff am **21.09.2019**.
[105] E. C. Dijkers *et al.*, Development and characterization of clinical-grade 89Zr-trastuzumab for HER2/neu immunoPET imaging, *J. Nucl. Med.* **2009**, *50*, 974-981.
[106] S. Heskamp *et al.*, ImmunoSPECT and immunoPET of IGF-1R expression with the radiolabeled antibody R1507 in a triple-negative breast cancer model, *J. Nucl. Med.* **2010**, *51*, 1565-1572.
[107] P. Laverman *et al.*, Immuno-PET and Immuno-SPECT of Rheumatoid Arthritis with Radiolabeled Anti-Fibroblast Activation Protein Antibody Correlates with Severity of Arthritis, *J. Nucl. Med.* **2015**, *56*, 778-783.
[108] M. Patra *et al.*, An octadentate bifunctional chelating agent for the development of stable zirconium-89 based molecular imaging probes, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 11523-11525.
[109] D. J. Vugts, G. A. M. S. van Dongen, 89Zr-labeled compounds for PET imaging guided personalized therapy, *Drug Discovery Today: Technologies* **2011**, *8*, e53-e61.
[110] D. J. Vugts *et al.*, Comparison of the octadentate bifunctional chelator DFO*-pPhe-NCS and the clinically used hexadentate bifunctional chelator DFO-pPhe-NCS for (89)Zr-immuno-PET, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2017**, *44*, 286-295.
[111] T. Richardson-Sanchez *et al.*, Exploiting the biosynthetic machinery of Streptomyces pilosus to engineer a water-soluble zirconium(iv) chelator, *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 5719-5730.
[112] M. Briand *et al.*, A solid phase-assisted approach for the facile synthesis of a highly water-soluble zirconium-89 chelator for radiopharmaceutical development, *Dalton Trans.* **2017**, *46*, 16387-16389.
[113] R. Codd *et al.*, Advances in the Chemical Biology of Desferrioxamine B, *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13*, 11-25.
[114] L. Allott *et al.*, Evaluation of DFO-HOPO as an octadentate chelator for zirconium-89, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 8529-8532.
[115] R. Raave *et al.*, Direct comparison of the in vitro and in vivo stability of DFO, DFO* and DFOcyclo* for (89)Zr-immunoPET, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, 1966–1977.
[116] S. E. Rudd *et al.*, A desferrioxamine B squaramide ester for the incorporation of zirconium-89 into antibodies, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 11889-11892.
[117] C. Zhai *et al.*, Novel Bifunctional Cyclic Chelator for (89)Zr Labeling-Radiolabeling and Targeting Properties of RGD Conjugates, *Mol. Pharm.* **2015**, *12*, 2142-2150.
[118] M. Nieberler *et al.*, Exploring the Role of RGD-Recognizing Integrins in Cancer, *Cancers* **2017**, *9*.
[119] S. Liu, Radiolabeled Cyclic RGD Peptide Bioconjugates as Radiotracers Targeting Multiple Integrins, *Bioconjugate Chem.* **2015**, *26*, 1413-1438.
[120] M. Schottelius *et al.*, Ligands for mapping alphavbeta3-integrin expression in vivo, *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 969-980.
[121] C. Zhai *et al.*, Rational Design, Synthesis and Preliminary Evaluation of Novel Fusarinine C-Based Chelators for Radiolabeling with Zirconium-89, *Biomolecules* **2019**, *9 (91)*, 1-14.
[122] C. J. Adams, J. J. Wilson, E. Boros, Multifunctional Desferrichrome Analogues as Versatile (89)Zr(IV) Chelators for ImmunoPET Probe Development, *Mol. Pharm.* **2017**, *14*, 2831-2842.
[123] P. Caravan *et al.*, Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2293-2352.
[124] N. B. Bhatt, D. N. Pandya, T. J. Wadas, Recent Advances in Zirconium-89 Chelator Development, *Molecules* **2018**, *23*, 638-661.
[125] D. N. Pandya *et al.*, Zirconium tetraazamacrocycle complexes display extraordinary stability and provide a new strategy for zirconium-89-based radiopharmaceutical development, *Chemical Science* **2017**, *8*, 2309-2314.
[126] M. Holzapfel, unpublished results, **2018**.

[127] E. Kriemen *et al.*, Synthesis of 1,4,7,10-tetra-azacyclododecan-1,4,7,10-tetra-azidoethylacetic acid (DOTAZA) and related "clickable" DOTA derivatives, *Chem. Asian J.* **2014**, *9*, 2197-2204.
[128] E. Kriemen, *Synthese modularer DOTA-Derivate für die zielgerichtete Tumordiagnostik*, Dissertation, Universität Hamburg (Hamburg), **2015**.
[129] E. Boros *et al.*, Macrocycle-Based Hydroxamate Ligands for Complexation and Immunoconjugation of 89Zirconium for Positron Emission Tomography (PET) Imaging, *ChemPlusChem* **2016**, *81*, 274-281.
[130] M. T. Ma *et al.*, Tripodal tris(hydroxypyridinone) ligands for immunoconjugate PET imaging with (89)Zr(4+): comparison with desferrioxamine-B, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 4884-4900.
[131] M. A. Deri *et al.*, Alternative Chelator for 89Zr Radiopharmaceuticals: Radiolabeling and Evaluation of 3,4,3-(LI-1,2-HOPO), *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 4849-4860.
[132] H. S. Choi *et al.*, Targeted zwitterionic near-infrared fluorophores for improved optical imaging, *Nat. Biotechnol.* **2013**, *31*, 148-153.
[133] H. S. Choi *et al.*, Synthesis and In Vivo Fate of Zwitterionic Near-Infrared Fluorophores, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 6258-6263.
[134] F. Guerard *et al.*, Investigation of Zr(iv) and 89Zr(iv) complexation with hydroxamates: progress towards designing a better chelator than desferrioxamine B for immuno-PET imaging, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1002-1004.
[135] A. Heydari, S. Aslanzadeh, Oxidation of Primary Amines to N-Monoalkylhydroxylamines using Sodium Tungstate and Hydrogen Peroxide-Urea Complex, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1223-1225.
[136] M. D. Wittman, R. L. Halcomb, S. J. Danishefsky, On the conversion of biologically interesting amines to hydroxylamines, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1981-1983.
[137] P. M. Wovkulich, M. R. Uskoković, Total synthesis of acosamine and daunosamine utilizing a diastereoselective intramolecular [3+2] cycloaddition, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 3455-3462.
[138] D. A. Tickell *et al.*, A Simple Protocol for NMR Analysis of the Enantiomeric Purity of Chiral Hydroxylamines, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 860-863.
[139] D. Geffken, Direkte O-Acylierung von Hydroxylamin und N-monosubstituierten Hydroxylaminen mit 1-Benzoylimidazol, *Chem. Ber.* **1986**, *119*, 744-746.
[140] G. Zinner, Über eine allgemeine Synthese N-monosubstituierter O-Benzoylhydroxylamine. 13. Mitt. über Hydroxylamin-Derivate, *Arch. Pharm.* **1963**, *296*, 57-60.
[141] F. Rüping, *Synthese modularer Folsäure-Mimetika und funktionalisierter DFO-Derivate zur Anwendung in der Tumordiagnostik*, Dissertation, Universität Hamburg (Hamburg), **2017**.
[142] B. Neises, W. Steglich, Einfaches Verfahren zur Veresterung von Carbonsäuren, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 556-557.
[143] B. Neises, W. Steglich, Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1978**, *17*, 522-524.
[144] L. J. Mathias, Esterification and Alkylation Reactions Employing Isoureas, *Synthesis* **1979**, *1979*, 561-576.
[145] A. J. Rosenberg, D. A. Clark, Total Synthesis of Pentosidine, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4678-4681.
[146] J. C. Hodges, W. Wang, F. Riley, Synthesis of a Spirocyclic Indoline Lactone, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2504-2508.
[147] A. Colomer *et al.*, Cationic Surfactants Derived from Lysine: Effects of Their Structure and Charge Type on Antimicrobial and Hemolytic Activities, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 989-1002.
[148] M. Wathier *et al.*, Dendritic Macromers as in Situ Polymerizing Biomaterials for Securing Cataract Incisions, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12744-12745.
[149] T. Usuki *et al.*, Biomimetic Chichibabin Pyridine Synthesis of the COPD Biomarkers and Elastin Cross-Linkers Isodesmosine and Desmosine, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1672-1675.
[150] Q. X. Wang, J. King, Phanstiel, An Improved Synthesis of O-Benzoyl Protected Hydroxamates, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8104-8108.
[151] A. J. Biloski, B. Ganem, Improved Oxidation of Amines with Dibenzoyl Peroxide, *Synthesis* **1983**, *1983*, 537-538.

[152] J. R. Heemstra, C. T. Walsh, E. S. Sattely, Enzymatic Tailoring of Ornithine in the Biosynthesis of the Rhizobium Cyclic Trihydroxamate Siderophore Vicibactin, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15317-15329.

[153] C. A. DeForest, D. A. Tirrell, A photoreversible protein-patterning approach for guiding stem cell fate in three-dimensional gels, *Nat. Mater.* **2015**, *14*, 523-531.

[154] M. L. Bender, Mechanisms of Catalysis of Nucleophilic Reactions of Carboxylic Acid Derivatives, *Chem. Rev.* **1960**, *60*, 53-113.

[155] L. A. Carpino, G. Y. Han, 9-Fluorenylmethoxycarbonyl amino-protecting group, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3404-3409.

[156] S. Yotphan, D. Beukeaw, V. Reutrakul, Synthesis of 2-aminobenzoxazoles via copper-catalyzed electrophilic amination of benzoxazoles with O-benzoyl hydroxylamines, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 6627-6633.

[157] M. Stawikowski, G. B. Fields, Introduction to peptide synthesis, *Curr. Protoc. Protein Sci.* **2002**, *Chapter 18*, 18.11.11-18.11.19.

[158] U. Seibold, B. Wangler, C. Wangler, Rational Design, Development, and Stability Assessment of a Macrocyclic Four-Hydroxamate-Bearing Bifunctional Chelating Agent for (89) Zr, *ChemMedChem* **2017**, *12*, 1555-1571.

[159] Z.-H. Peng *et al.*, Spacer length impacts the efficacy of targeted docetaxel conjugates in prostate-specific membrane antigen expressing prostate cancer, *Journal of Drug Targeting* **2013**, *21*, 968-980.

[160] K. Barlos *et al.*, Darstellung geschützter Peptid-Fragmente unter Einsatz substituierter Triphenylmethyl-Harze, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3943-3946.

[161] K. Barlos *et al.*, Veresterung von partiell geschützten Peptid-Fragmenten mit Harzen. Einsatz von 2-Chlortritylchlorid zur Synthese von Leu15-Gastrin I, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3947-3950.

[162] Y. Kira *et al.*, Amphiphilic molecular gels from ω-aminoalkylated l-glutamic acid derivatives with unique chiroptical properties, *Amino Acids* **2010**, *39*, 587-597.

[163] D. Mustafa *et al.*, Novel No-Wash Luminogenic Probes for the Detection of Transporter Uptake Activity, *Bioconjugate Chem.* **2016**, *27*, 87-101.

[164] C. De Cola *et al.*, Carboxyalkyl peptoid PNAs: synthesis and hybridization properties, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 499-506.

[165] D. J. Vugts *et al.*, Comparison of the octadentate bifunctional chelator DFO*-pPhe-NCS and the clinically used hexadentate bifunctional chelator DFO-pPhe-NCS for 89Zr-immuno-PET, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2017**, *44*, 286-295.

[166] J. J. Stewart, Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of NDDO approximations and application to 70 elements, *J. Mol. Model.* **2007**, *13*, 1173-1213.

[167] F. G. Banting *et al.*, Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus, *Can. Med. Assoc. J.* **1922**, *12*, 141-146.

[168] J. L. Lau, M. K. Dunn, Therapeutic peptides: Historical perspectives, current development trends, and future directions, *Biorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 2700-2707.

[169] EvaluatePharma®, *World Preview 2018, Outlook to 2024, Vol. 11th Edition*, Evaluate Ltd., London, **2018**.

[170] A. A. Kaspar, J. M. Reichert, Future directions for peptide therapeutics development, *Drug Discovery Today* **2013**, *18*, 807-817.

[171] F. M. Veronese, G. Pasut, PEGylation, successful approach to drug delivery, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 1451-1458.

[172] H. K. Makadia, S. J. Siegel, Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier, *Polymers (Basel)* **2011**, *3*, 1377-1397.

[173] K. Jain *et al.*, Dendrimer toxicity: Let's meet the challenge, *Int. J. Pharm.* **2010**, *394*, 122-142.

[174] V. V. Rostovtsev *et al.*, A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2708-2711.

[175] V. V. Rostovtsev *et al.*, A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.

[176] T. R. Chan *et al.*, Polytriazoles as Copper(I)-Stabilizing Ligands in Catalysis, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2853-2855.

[177] V. Castro, H. Rodríguez, F. Albericio, CuAAC: An Efficient Click Chemistry Reaction on Solid Phase, *ACS Comb. Sci.* **2016**, *18*, 1-14.

[178] M. Pretze *et al.*, Radiofluorination and first radiopharmacological characterization of a SWLAY peptide-based ligand targeting EphA2, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2014**, *57*, 660-665.

[179] U. Sirion *et al.*, Azide/Alkyne Resins for Quick Preparation of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazoles, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2010**, *31*, 1843-1847.

[180] J. Rose, "3" in *Trace Elements in Health*, 1, J. Rose, Butterworth & Co Ltd., Cambridge, **1983**, 44-73.

[181] Committee for Human Medicinal Products, *ICH guideline Q3D (R1) on elemental impurities*, European Medicines Agency, London, **2018**, 1-85.

[182] S. Wolfe *et al.*, 5-Hydroxy[1,2]oxazinan-3-ones as potential carbapenem and D-ala-D-ala surrogates, *Can. J. Chem.* **2003**, *81*, 915-936.

[183] G. San Jose *et al.*, Structure–Activity Relationships of the MEPicides: N-Acyl and O-Linked Analogs of FR900098 as Inhibitors of Dxr from Mycobacterium tuberculosis and Yersinia pestis, *ACS Infectious Diseases* **2016**, *2*, 923-935.

[184] F.-C. Huang *et al.*, Differential Effects of a Series of Hydroxamic Acid Derivatives on 5-Lipoxygenase and Cyclooxygenase from Neutrophils and 12-Lipoxygenase from Platelets and Their in Vivo Effects on Inflammation and Anaphylaxis, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1836-1842.

[185] A. Nordqvist *et al.*, Synthesis of Functionalized Cinnamaldehyde Derivatives by an Oxidative Heck Reaction and Their Use as Starting Materials for Preparation of Mycobacterium tuberculosis 1-Deoxy-d-xylulose-5-phosphate Reductoisomerase Inhibitors, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 8986-8998.

[186] J. Tang *et al.*, Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of 2-Hydroxyisoquinoline-1,3-dione analogues as inhibitors of HIV reverse transcriptase associated ribonuclease H and polymerase, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *133*, 85-96.

[187] M. Billamboz *et al.*, Design, Synthesis, and Biological Evaluation of a Series of 2-Hydroxyisoquinoline-1,3(2H,4H)-diones as Dual Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase and the Reverse Transcriptase RNase H Domain, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 7717-7730.

[188] R. Baltzly, The Preparation and Properties of a Platinized Charcoal Catalyst with Some Observations on the Behavior of Inhibitors1, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 4586-4589.

[189] R. Baltzly, Catalytic hydrogenation. I. Influence on reaction rates of the metal-carrier ratio of solvents and acidity, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 920-928.

[190] R. Baltzly, Catalytic hydrogenation. II. Poisoning by nucleophiles, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 928-933.

[191] E. B. Maxted, "1" in *Advances in Catalysis and Related Subjects, Vol. 3*, 1, W. G. Frankenburg, V. I. Komarewsky, E. K. Rideal, Academic Press Inc. Publishers, New York, **1951**, 129-176.

[192] https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=89-zr, Zugriff am **25.11.2019**.

[193] M. Gude, J. Ryf, P. D. White, An accurate method for the quantitation of Fmoc-derivatized solid phase supports, *Lett. Pept. Sci.* **2002**, *9*, 203-206.

[194] Novabiochem®, *Peptide Synthesis: Anniversary Edition 2014/15 - 30 Years of Innovation*, Merck KGaA, Darmstadt, **2014**.

[195] J. D Fontenot *et al.*, *A survey of potential problems and quality control in peptide synthesis by fluorenylmethoxycarbonyl procedure, Vol. 4*, **1991**.

[196] L. A. Carpino, 1-Hydroxy-7-azabenzotriazole. An efficient peptide coupling additive, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.

[197] D. Pearson *et al.*, *Trialkylsilanes as for the trifluoroacetic acid deblocking of protecting groups in peptide synthesis, Vol. 30*, **1989**.

[198] E. Kaiser *et al.*, Color test for detection of free terminal amino groups in the solid-phase synthesis of peptides, *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.

[199] H. Sun, X. Peng, Template-Directed Fluorogenic Oligonucleotide Ligation Using "Click" Chemistry: Detection of Single Nucleotide Polymorphism in the Human p53 Tumor Suppressor Gene, *Bioconjugate Chem.* **2013**, *24*, 1226-1234.

[200] J. L. Suh *et al.*, Quantitative Characterization of Bivalent Probes for a Dual Bromodomain Protein, Transcription Initiation Factor TFIID Subunit 1, *Biochemistry* **2018**, *57*, 2140-2149.

[201] Y. Shi *et al.*, Design of Phosphoramidite Monomer for Optimal Incorporation of Functional Intercalator to Main Chain of Oligonucleotide, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 306-311.