Synthesen von ^{13}C- und ^{14}C-markiertem *trans*-2-Amino-2-methyl-*N*-(4-nitroxycyclohexyl)-propionsäureamid (BM 12.1179)

Richard Neidlein[a]*, Klaus Strein[b], Friedburg Preßmar[a], Walter Kramer[a] und Helmut Michel[b]

[a] Pharmazeutisch-Chemisches Institut der Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 364, Postfach 105760, D-6900 Heidelberg

[b] Forschungslaboratorien der Firma Boehringer Mannheim GmbH, Sandhofer Straße 116, D-6800 Mannheim

Eingegangen am 11. November 1991

Von dem gefäßwirksamen Salpetersäureester *trans*-2-Amino-2-methyl-*N*-(4-nitroxycyclohexyl)-propionsäureamid (BM 12.1179) (**1**) sind, ausgehend von der sterisch gehinderten α-Aminoisobuttersäure (**2**), die ^{13}C- und ^{14}C-markierten Verbindungen synthetisiert worden. Verschiedene Amino-Schutzgruppen sowie Methoden zur Aktivierung der Carboxylfunktion werden verglichen.

Syntheses of ^{13}C- and ^{14}C-labelled *trans*-2-Amino-2-methyl-*N*-(4-nitroxycyclohexyl)-propionamide (BM 12.1179)

The ^{13}C- and ^{14}C-labelled derivatives of the vasodilating nitric acid ester *trans*-2-amino-2-methyl-*N*-(4-nitroxycyclohexyl)-propionamide (BM 12.1179) (**1**) have been synthesized starting from the sterically hindered α-amino-isobutyric acid (**2**) *via* the oxazolone (synthesis of ^{13}C-BM 12.1179) and the acid chloride (synthesis of ^{14}C-BM 12.1179). Various amine-protecting groups and methods for activating the carboxy-function are compared.

Organische Salpetersäureester ("Nitrate") erweitern Koronararterien und venöse Kapazitätsgefäße; sie verringern vor allem durch Vorlast-Senkung die Herzarbeit und senken den Sauerstoffbedarf des Herzens.

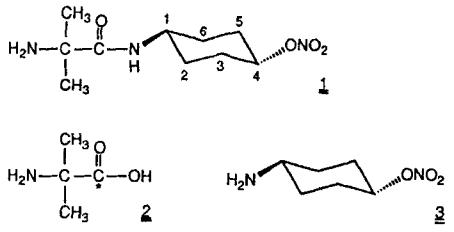
Für Biotransformationsuntersuchungen bietet sich die radioaktive ^{14}C-Markierung der betreffenden Substanz an, bedingt durch die sehr empfindlichen Detektionsmöglichkeiten. Die gemeinsame Applikation von ^{14}C- und zusätzlich von ^{13}C-isotopenmarkierter Verbindung besitzt den Vorteil, daß sich bei GC-MS-Untersuchungen der Metabolitenfraktionen die Metaboliten durch charakteristische Doppelpeaks vom Untergrund deutlich abheben.

Die herkömmliche Synthese des Salpetersäureesters BM 12.1179 (**1**) verläuft ausgehend von Acetamidophenol (Paracetamol) über sechs Stufen mit ca. 20proz. Ausbeute[1]. Für die Darstellung der Substanz in ^{13}C- und ^{14}C-markierter Form mußte ein neuer Syntheseweg[2] entwickelt werden, da als Edukt die [1-^{13}C]- bzw. [1-^{14}C]-α-Aminoisobuttersäure (**2**) (α-Methylalanin, Aib) zur Verfügung stand. Es handelt sich hierbei um eine in der Natur selten (u.a. in Casein[3]) sowie in Hydrolysaten verschiedener Antibiotika[4,5]) vorkommende Aminosäure. Die Synthese war entsprechend folgendem Procedere zu entwickeln: *trans*-Nitroxy-2cyclohexylamin (**3**) sollte mit **2** reproduzierbar und möglichst quantitativ zum gewünschten Produkt **1** acyliert werden, um eine optimale radiochemische Ausbeute zu erzielen. Dies erforderte zunächst das Schützen der Aminogruppe und anschließend die Aktivierung der Carboxylfunktion von **2**. Nach anschließender Acylierung von **3** mit *N*-geschützter sowie *C*-aktivierter Aminosäure mußte die Amino-Schutzgruppe selektiv abgespalten werden.

Über Schwierigkeiten bei der Peptidsynthese mit α,α-disubstituierten Aminosäuren wurde mehrfach berichtet[6,7]. Aufgrund sterischer Hinderung durch beide Methylgruppen am α-C-Atom mußte mit Ausbeuteeinbußen gerechnet werden. Eine Übersicht der geprüften Schutzgruppen in Tab. 1 zeigt, daß die im Normalfall problemlos einzuführende Boc- sowie die Fmoc-Schutzgruppe nur in 50proz. Ausb. reagieren, eine Einführung der Triphenylmethylgruppe in die Aminosäure gelingt nicht. Die sehr glatt verlaufende reduktive Abspaltung der Z- und Tosylschutzgruppen mit Pd/C kann bei *N*-geschütztem **1** nicht durchgeführt werden, da hierbei auch die Salpetersäureestergruppe zum entspr. Alkohol reduziert wird. Unter den relativ drastischen Bedingungen HBr/Eisessig wird nicht nur die Schutzgruppe, sondern auch die Säureamidbindung angegriffen. Die Trifluoracetyl-Schutzgruppe hingegen erwies sich hinsichtlich der guten Ausbeuten und milden Reaktionsbedingungen als prädestiniert für die Umsetzung mit **2**.

Die Aktivierung der Carboxylfunktion mit klassischen Methoden der Peptidsynthese verläuft nahezu ohne Erfolg infolge sterischer Hinderung der achiralen α-Aminoisobuttersäure **2**: Die Ausb. bei Aktivierung über das symmetrische Anhydrid liegen unter 5%, eine Aktivierung von **2** über das gemischte Anhydrid (mixed-anhydride-Verfahren) kann bei der darauffolgenden Acylierung von **3** zum "falschen" Acylierungsprodukt führen, wenn nämlich die Aminokomponente an der "falschen" Carboxylgruppe des gemischten Anhydrids angreift. Diese Nebenreaktion ist

 ©VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-6940 Weinheim, 1992 0365-6233/92/1111-0727 $ 3.50+.25/0

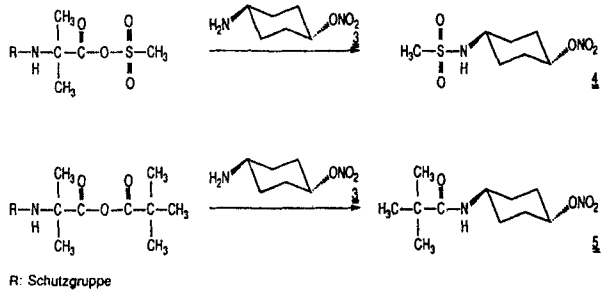


* ^{13}C- bzw. ^{14}C-markierte Position

Tab. 1: Zusammenstellung der Ausbeuten bei Einführung und Abspaltung der geprüften Schutzgruppen

Schutzgruppen:	Einführung in 2; Ausbeuten an derivatisierter Aminosäure 2a-2g:	Abspaltung aus *N*-geschütztem 1 (1a-1g); Ausbeuten an Endprodukt 1:
Boc (tert.Butoxycarbonyl-)	2a: 45 %	(1a) >90 %
Z (Benzyloxycarbonyl-)	2b: 80 %	(1b) 20 %
Triphenylmethyl-	2c: 0 %	(1c) 0 %
Fmoc (9-Fluorenyl-methoxycarbonyl-)	2d: 50 %	(1d) 80 %
Formyl-	2e: 70 %	(1e) >90 %
Tosyl-	2f: 65 %	(1f) 15-20 %
Trifluoracetyl-	2g: >90 %	(1g) >90 %

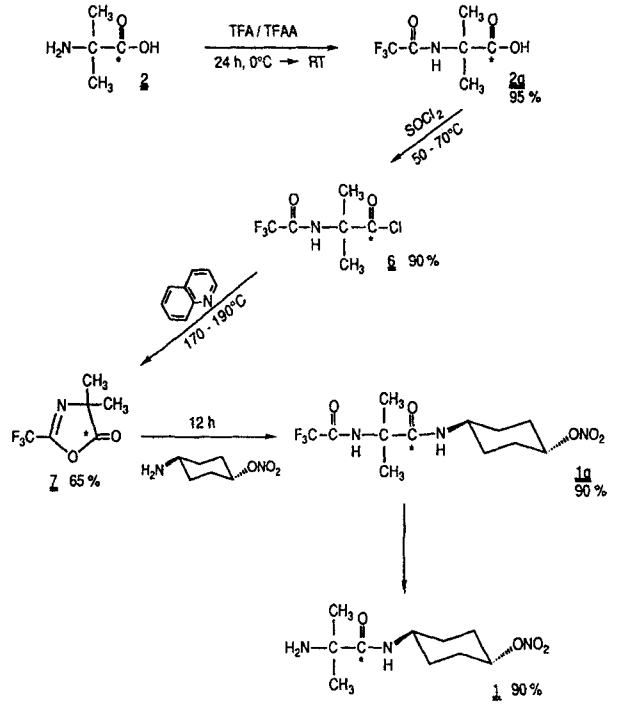
typisch für sterisch gehinderte Aminosäuren[8]. Im vorliegenden Fall führte sowohl das gemischte Anhydrid von *N*-geschütztem **2** mit Methansulfonylchlorid als auch mit Pivaloylchlorid im Gegensatz zu Lit.[9] unabhängig von den gewählten Reaktionsbedingungen fast ausschließlich zum unerwünschten Nebenprodukt **4** bzw. **5** (Abb. 1). Die Zielsubstanz **1** ließ sich in beiden Fällen nicht isolieren.



R: Schutzgruppe

Abb. 1: Nebenreaktionen beim mixed-anhydride-Verfahren

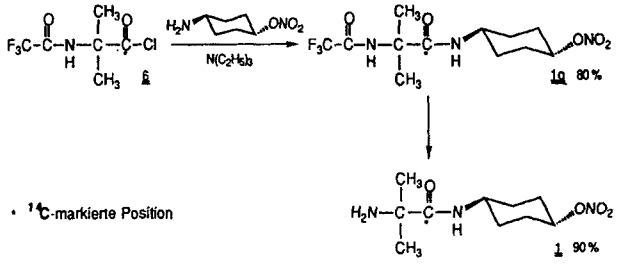
Während die sterische Hinderung von **2** zum Versagen der klassischen Methoden der Peptidchemie führte, wurden mit der Oxazolonmethode äußerst zufriedenstellende Ausbeuten erzielt. Dieses Verfahren wird an sich relativ selten eingesetzt, da bei fehlender Substitution am α-C-Atom Racemisierung eintritt und nicht alle Aminosäuren stabile Oxazolone bilden. Die *N*-trifluoracetylgeschützte, (α,α-disubstituierte) Aminoisobuttersäure **2g** (Abb. 2) läßt sich jedoch problemlos in das 4,4-Dimethyl-2-trifluormethyl-oxazolon **7** überführen, welches nach Destillation direkt mit **3** zum *N*-trifluoracetylgeschützten BM 12.1179 **1g** reagiert; im Falle der ^{13}C-Synthese beträgt die Ausb. 36%.



* ^{13}C-markierte Position

Abb. 2: Synthese von ^{13}C-markiertem **1**

Bei der Synthese von ^{14}C-markiertem **1** (Abb. 3) konnte nicht, wie die soeben beschriebene ^{13}C-Synthese im Gramm-Maßstab, sondern lediglich im Milligramm-Maßstab gearbeitet werden, die Destillation des Oxazolons mußte daher unterbleiben. Für die radioaktive Markierungssynthese wurde statt dessen mit gutem Erfolg die Säurechlorid-Methode eingesetzt, die in der Peptidsynthese an Bedeutung verloren hat. Das Säurechlorid **6** wird dabei mit Triethylamin und **3** zu **1g** umgesetzt, die radiochemische Ausb. belief sich auf 50%.



* ^{14}C-markierte Position

Abb. 3: Synthese von ^{14}C-markiertem **1**

Wir danken der Fa. BOEHRINGER MANNHEIM GmbH, Mannheim, insbesondere Herrn Dr. *W. Bartsch* für die Durchführung der Tierversuche mit nichtmarkierten Substanzen, Herrn Dr. *J.-P. Hoelck* für die Durchführung der Tierversuche mit der radioaktiv markierten Verbindung, Herrn Dr. *R. Endele* für seine Unterstützung bei den Massenspektren, Herrn *H. Michel* für wertvolle Diskussionsbeiträge, Frau *I. Bauer* für die Messungen der GC-MS-Spektren. - Weiterhin gilt unser Dank der BASF AG, Ludwigshafen/Rh., dem Verband der Chemischen Industrie - Fonds der Chemie -, der BAYER AG, Leverkusen und der HOECHST AG, Frankfurt für die Lieferung von Chemikalien sowie der ICN BIOMEDICALS GmbH, Eschwege, für die Bereitstellung von Kieselgel. Es sei gedankt den Damen und Herren *A. Schormann, H. Rudy* und *P. Weyrich* für die Messungen der NMR- und Massenspektren sowie den Damen des Organisch-Chemischen Instituts *K. Rumpf* und *E. Weiß* für die CHN-Elementaranalysen.

Experimenteller Teil

Schmp.: Schmelzpunktmikroskop Fa. Reichert, Wien; automatisches Schmelzpunktgerät FP 61 Fa. Mettler, Gießen. Die Schmp. sind nicht korrigiert.- UV-VIS-Spektren: registrierendes Spektralphotometer DMR 10 Fa. Carl Zeiss, Oberkochen.- *IR-Spektren*: Gitterspektrometer 325 Fa. Perkin Elmer, Überlingen.- Elementaranalysen: CHNO-Rapid-Analysator Fa. Heraeus, Hanau.- Massenspektren: MAT 311 A Fa. Varian, Bremen (Ionisationsenergie 100 eV), für EI-Spektren; Liquid-SIMS-Einrichtung (Secondary Ion Mass Spectrometry, Caesium-Ionenquelle) Fa. AMD Intectra GmbH, Beckeln, für CI-Spektren.- ^{1}H-NMR- und ^{13}C-NMR-Spektren: WM-250 (250.13 MHz-^{1}H und 62.89 MHz-^{13}C) FT-NMR-Spektrometer Fa. Bruker, Rheinstetten. TMS als interner Standard. Chem. Verschiebungen in δ [ppm], Kopplungskonstanten J in Hz. $CDCl_3$, Deuterierungsgrad 99.5%, DMSO-d_6, Deuterierungsgrad ≥ 90%.- GC-MS: *Gaschromatograph HP 5890 (Serie II)* Fa. Hewlett Packard, Böblingen, gekoppelt mit dem massenselektiven Detektor MSD HP 5971 A derselben Firma. Säule: HP-1 fused silica Kapillarsäule, Filmdicke: 0.33 µm, Innendurchmesser: 200 µm, Länge: 12.5 m, Trägergas: Helium reinst, Flow: 0.5 ml/min, Transferlinetemp.: 220 °C, Injektortemp.: 190 °C.- GC: Gaschromatograph HP 5710 A mit capillary column control HP 18740 B und electron capture detector (10 mCi ^{63}Ni-ECD) HP 18713 A unter Verwendung eines GC-Terminals HP 3396 A zur Integration über Fläche bzw. Höhe, es sind Geräte der Fa. Hewlett Packard, Böblingen. HP-1 fused silica Kapillarsäule, Beschichtung: crosslinked methyl-silicone, Innendurchmesser: 530 µm, Länge: 10 m, Filmdicke: 2.65 µm, phase ratio: 50.- HPLC: Liquid Chromatograph Fa. Milton Roy, Hasselroth mit Consta-Metric 3000 solvent delivery system, GM 4000 Gradient Programmer und Consta-Metric III-metering pump, ebenfalls Fa. Milton Roy. Detektion mittels Berthold LB 5026 Radioaktivitätsmonitor, verbunden mit Ratemeter und Integrator BF 2304/2305, jeweils von Fa. Berthold, Wildbad.- Dünnschichtscanner zur Aufnahme von Radio-DCs: DC-Scanner Modell II LB 2723 Fa. Berthold, Wildbad, sowie ISOMESS 3000 linear analyzer Fa. Isomess Isotopenmeßgeräte GmbH, Straubenhardt, und laboratory data processing system HP 3000/64 Fa. Hewlett Packard, Böblingen.- Flüssigszintillationsmessung: Isocap/300 liquid scintillation system Fa. Searle Nederland B.V. Nuclear Chicago Division, Uithoorn (Holland). Die Quenchkorrekturkurve erfolgte nach der Kanalverhältnismethode mit [^{14}C]-Toluol-Standards.- Flüssigszintillationscocktail: Instagel® Fa. Packard Instruments, Downers Grove (USA). Polyethylen-vials (20 ml): Fa. Packard Instruments, Downers Grove (USA).- SC: Kieselgel 60 (0.063-0.200 mm; 70-230 mesh) Fa. Merck, Darmstadt.- DC: SiO_2 60 F_{254} DC-Alufolien, Schichtdicke 0.20 mm, Fa. Merck, Darmstadt.- *Elutionsmittel*: 1) Methylenchlorid/Methanol 9 + 1; 2) Methylenchlorid/Methanol 1 + 1; 3) Methanol; 4) Methylenchlorid/Methanol + NH_3 25% 8 + 1 + 1: 5) Ethylacetat/2-Propanol/Essigsäure/Wasser/Methanol 5 + 2 + 1 + 1 + 1; 6) 2-Propanol/Butylacetat/Wasser/Essigsäure 5 + 3 + 1.5 + 0.5.

A) Spektroskopische Daten der nicht markierten Verbindungen

trans-2-Amino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-propionsäureamid BM 12.1179 (1)

Schmp. 105 °C.- $C_{10}H_{19}N_3O_4$ (245.3) Ber. C 49.0 H 7.81 N 17.1 Gef. C 49.2 H 7.84 N 17.1.- IR (KBr): 3360 cm^{-1}, 3320 (NH_2), 2990-2880 (CH), 1650 (monosubst. Amid), 1275 (ONO_2).- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.60 (s, NH), 5.00-4.80 (m, 1H, 4-H), 3.80-3.60 (m, 1H, 1-H), 2.20-2.00 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[a], 1.70-1.51 (m, 2H, 3a/5a-H)[a], 1.50 (s, 2H, NH_2, H/D-Tausch), 1.45-1.27 (m, 2H, 2a/6a-H)[a], 1.33 (s, 6H, $C(CH_3)_2$).- [a] Die Zuordnung bezüglich axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- ^{13}C-NMR (62.89 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 176.74 (C=O), 81.19 (C-4), 54.33 ($\underline{C}(CH_3)_2$), 46.16 (C-1), 29.67, 27.92 (C-3/5; C-2/6), 28.84 ($C(\underline{C}H_3)_2$).- ^{1}H,^{1}H-COSY-2D-NMR-Spektrum (250.13 MHz, $CDCl_3$): Pulssequenz: D1-π/2-t_1-π/4-FID (t_2); 90 ° Puls: 10.6 µs, Relaxationszeit D1 = 2 s, Spectral Width: 1754.386 Hz (F2), 877.193 Hz (F1), 2048 x 1024 Datenpunkte, Zero Filling in F1, 256 Inkremente, 16 Scans pro Inkrement, 2 Dummy Scans, Sine-Bell-Multiplikation in beiden Dimensionen.- ^{1}H,^{13}H-COSY-2D-NMR-Spektrum (62.89 MHz, $CDCl_3$): Pulssequenz: ^{1}H: D1 - π/2 - $t_{1/2}$ - - $t_{1/2}$ - D3 - π/2 - D4

^{13}C: π - π/2 - FID (BB, ^{1}H, t_2).-

90 ° Puls (^{13}C): 7 µs, 90 ° Puls (^{1}H): 10.5 µs, Relaxationszeit D1: 1 s, Polarisationszeit D3: 3.848 ms (0.5 · J_{CH}), Refokussierungszeit D4: 1.923 ms (0.25 · J_{CH}), Spectral Width: 3968.254 Hz (F2), 518.672 Hz (F1), 4096 x 512 Datenpunkte, Zero Filling in F1, 256 Inkremente, 64 Scans pro Inkrement, 2 Dummy Scans, Lorentz-Gauß-Multiplikation (LB = -3, GB = 0.3 in F1), exponentielle Multiplikation (LB = 1 in F2).- MS (EI, 100 eV, 81 °C): m/z (%) = 230 (0.03), 184 (0.3), 183 (1), 98 (0.4), 58 (100), 41 (5).- MS (CI-FAB, Beschleunigungsenergie der Caesium-Ionen: 5 kV; Matrix: Thioglycerin): m/z (%) = 246 (35), 199 (4), 58 (100).- GC-MS (CI/CH_4): Temperaturprogramm: Ofen 80 °C → 20 °C/min → 200 °C.- Retentionszeit: 5.67-5.41 min m/z (%) = 286 (4), 274 (3), 246 (22), 229 (7), 201 (51), 199 (32), 183 (100), 98 (34), 86 (9).- Alle nachstehend aufgeführten Verbindungen sind Zwischenprodukte bei den verschiedenen untersuchten Synthesewegen zur Darstellung von **1**. Die differierenden Ausbeuten von **1** werden bei den jeweiligen Synthesen angegeben.

trans-2-tert. Butoxycarbonylamino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-propionsäureamid (1a)

Eine Lösung von 325 mg (1.6 mmol) Boc-α-Aminoisobuttersäure in 8 ml wasserfreiem Dichlormethan wird unter Eiskühlung und Rühren mit 720 mg (1.7 mmol) *N*-Cyclohexyl-*N'*-(2-morpholinoethyl)-carbodiimid-methyl-*p*-toluolsulfonsäure versetzt. Man rührt 15 min bei 0 °C und versetzt dann mit einer Lösung von 272 mg (1.7 mmol) **3** in 2 ml Dichlormethan. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemp. wird die org. Phase je zweimal mit 4 ml N NaOH, N HCl und Wasser extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und i.Vac. eingeengt. Der Rückstand wird durch Zugabe von Ether und Petrolether kristallisiert, farblose Kristalle. Ausb. 17 mg (5.2%).- Schmp. 160 °C.- $C_{15}H_{27}N_3O_6$ (345.4) Ber. C 52.2 H 7.88 N 12.2 Gef. C 52.3 H 7.89 N 12.3.- IR (KBr): 3370-3350 cm^{-1}, 1640 (monosubst. Amid), 1700-1690 (Urethan), 1280 (ONO_2), 2950-2870 (CH).- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 6.52 (s, N$\underline{H}$-C_6H_{10}), 4.95-4.82 (m, 2H, 4-H, N$\underline{H}$-C_3H_6), 4.85-3.70 (m, 1H, 1-H), 2.27-2.00 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[a], 1.70-1.55 (m, 2H, 3a/5a-H)[a], 1.47 (s, 6H, $C(CH_3)_2$), 1.45 (s, 9H, O-$C(CH_3)_3$), 1.40-1.25 (m, 2H, 2a/6a-H)[a].- [a] Die Zuordnung axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- ^{13}C-NMR (62.89 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 174.06 (C=O), 154.92 (O-CO-NH), 81.28 (C-4), 80.36 (O-$\underline{C}(CH_3)_3$), 56.87 ($\underline{C}(CH_3)_2$), 46.81 (C-1), 28.32 ($C(\underline{C}H_3)_2$), 29.75, 28.01 (C-3/5; C-2/6), 25.75 (O-$C(\underline{C}H_3)_3$).- MS (EI, 100 eV, 114 °C): m/z (%) = 345 (0.02), 272 (3), 183 (1), 158 (35), 102 (100), 58 (98), 57 (76).-

*trans-2-Benzyloxycarbonylamino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-propionsäureamid (**1b**)*

Eine Lösung von 403 mg (1.6 mmol) Z-α-Aminoisobuttersäure in 10 ml wasserfreiem Dichlormethan wird unter Eiskühlung und Rühren mit 720 mg (1.7 mmol) *N*-Cyclohexyl-*N'*-(2-morpholinoethyl)-carbodiimid-methyl-*p*-toluolsulfonsäure versetzt. Nach 15 min Rühren bei 0 °C wird eine Lösung von 272 mg (1.7 mmol) **3** in 2 ml Dichlormethan zugetropft. Rühren über Nacht bei Raumtemp. Anschließend Aufarbeitung analog **1a**; farblose Kristalle. Ausb. 30-60 mg (5-10%).- Schmp. 150-151 °C.- $C_{18}H_{25}O_6N_3$ (379.4) Ber. C 57.0 H 6.64 N 11.1 Gef. C 57.0 H 6.62 N 11.1.- IR (KBr): 3330-3280 cm^{-1}, 1680 (monosubst. Amid), 2960-2880 (CH), 1700 (Urethan), 3100-3000 (Aryl-H), 1280 (ONO_2), 770-730, 700 (monosubst. Aromat).- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.50-7.35 (m, 5H, aromat. H), 6.40-6.25 (s, N<u>H</u>-C_6H_{10}), 5.25 (s, 1H, N<u>H</u>-C_3H_6), 5.11 (s, 2H, C_6H_5-C<u>H</u>$_2$-O), 4.80-4.68 (m, 1H, 4-H), 3.82-3.67 (m, 1H, 1-H), 2.95-2.10 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[a], 1.65-1.52 (m, 2H, 3a/5a-H)[a], 1.49 (s, 6H, $C(CH_3)_2$), 1.30-1.12 (m, 2H, 2a/6a-H)[a].- [a] Die Zuordnung axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- ^{13}C-NMR (62.89 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 173.61 (C=O), 155.18 (O-CO-NH), 136.20 (<u>C</u>-CH_2-O), 129.00 (aromat. C, ortho), 128.56 (aromat. C, meta), 128.32 (aromat. C, para), 81.17 (C-4), 66.86 (C_6H_5-<u>C</u>H_2-O), 57.01 (<u>C</u>$(CH_3)_2$), 46.88 (C-1), 29.55, 27.92 (C-3/5; C-2/6), 25.62 (C(<u>C</u>$H_3)_2$).- MS (EI, 100 eV, 145 °C): m/z (%) = 379 (0.07), 317 (0.7), 192 (32), 91 (100).

*trans-N-(4-Nitroxycyclohexyl)-methansulfonamid (**4**)*

Zu einer Lösung von 1.6 mmol *N*-geschützter α-Aminoisobuttersäure (403 mg Z-Aib, 325 mg Boc-Aib) werden bei 0 °C in 8 ml wasserfreiem Dichlormethan 183 mg (1.6 mmol) Methansulfonylchlorid und 162 mg (1.6 mmol) *N*-Methylmorpholin getropft. Man läßt 15 min bei 0 °C rühren, sodann versetzt man mit einer Lösung von 1.6 mmol (256 mg) **3** in 2 ml Dichlormethan und rührt über Nacht bei Raumtemp. Aufarbeitung analog **1a**; farblose Kristalle. Ausb. 152 mg (40%).- Schmp. 153 °C.- $C_7H_{14}N_2O_5S$ (238.3) Ber. C 35.3 H 5.92 N 11.8 S 13.5 Gef. C 35.6 H 5.98 N 11.7 S 13.5.- IR (KBr): 3300 cm^{-1} (NH), 2960-2870 (CH), 1280 (ONO_2), 1310 (Sulfonamide).- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 4.95-4.85 (m, 1H, H-4), 6.65-4.55 (s, NH), 3.45-3.30 (m, 1H, H-1), 3.00 (s, 3H, CH_3), 2.20-2.07 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[a], 1.70-1.40 (m, 4H, 2a/3a/5a/6a-H)[a].- [a] Die Zuordnung bezüglich axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- ^{13}C-NMR (62.89 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 80.35 (C-4), 51.18 (CH_3), 41.96 (C-1), 31.07, 27.80 (C-3/5; C-2/6).- MS (EI, 100 eV, 98 °C): m/z (%) = 238 (0.1), 176 (3), 79 (19), 134 (100), 81 (39), 56 (81), 41 (29).

*trans-2,2-Dimethyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-propionsäureamid (**5**)*

Zur eisgekühlten Lösung von 1.6 mmol *N*-geschützter α-Aminoisobuttersäure (403 mg Z-Aib, 325 mg Boc-Aib) in 5 ml wasserfreiem Toluol gibt man 162 mg Triethylamin (1.6 mmol) und 193 mg (1.6 mmol) Pivaloylchlorid. Man läßt 2 h bei -15 °C und 1 h bei Raumtemp. rühren, filtriert und versetzt das Filtrat mit 256 mg (1.6 mmol) **3**. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemp. wird der Ansatz i.Vac. eingeengt und über SC (Kieselgel 60, Dichlormethan/Methanol = 9/1) aufgearbeitet; farblose Kristalle aus Ether/Petrolether. Ausb. 195-313 mg (50-80%).- Schmp. 143-145 °C.- $C_{11}H_{20}N_2O_4$ (244.3) Ber. C 54.1 H 8.25 N 11.5 Gef. C 54.0 H 8.13 N 11.4.- IR (KBr): 3360-3310 cm^{-1}, 1650 (monosubst. Amid), 2960-2870 (CH), 1630, 1276 (ONO_2).- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 5.48-5.37 (s, NH), 4.95-4.80 (m, 1H, 4-H), 3.88-3.70 (m, 1H, 1-H), 2.19-2.05 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[a], 1.68-1.50 (m, 2H, 3a/5a-H)[a], 1.40-1.22 (m, 2H, 2a/6a-H)[a], 1.15 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).- [a] Die Zuordnung axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- ^{13}C-NMR (62.89 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 177.91 (C=O), 81.41 (C-4), 46.84 (C-1), 38.60 (<u>C</u>$(CH_3)_3$), 30.26, 28.36 (C-3/5; C-2/6), 27.56 (C(<u>C</u>$H_3)_3$).- MS (EI, 100 eV, 66 °C): m/z (%) = 244 (7), 198 (6), 182 (7), 85 (13), 57 (100), 41 (24).

*trans-2-Fluorenyl-methoxycarbonylamino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-propionsäureamid (**1d**)*

Eine Lösung von 521 mg (1.6 mmol) Fmoc-Aib in 10 ml wasserfreiem Dichlormethan wird unter Eiskühlung und Rühren mit 720 mg (1.7 mmol) *N*-Cyclohexyl-*N'*-(2-morpholinoethyl)-carbodiimid-methyl-*p*-toluolsulfonsäure versetzt. Nach 15 min Rühren bei 0 °C wird eine Lösung von 272 mg (1.7 mmol) **3** zugetropft. Die Reaktionslösung läßt man über Nacht bei Raumtemp. rühren und arbeitet auf wie unter **1a** beschrieben. Der Rückstand wird aus Petrolether/Ethylacetat = 1/1 umkristallisiert, hellgelbe Kristalle. Ausb. 67 mg (9%).- Schmp. 153 °C.- UV (Acetonitril): λ max (log ε) = 260 nm (4.3), 205 (4.7).- $C_{25}H_{29}N_3O_6$ (467.5) Ber. C 64.2 H 6.25 N 9.0 Gef. C 64.4 H 6.39 N 8.9.- IR (KBr): 3310 cm^{-1}, 1640 (monosubst. Amid), 3100-3000 (Aryl-H), 2960-2870 (CH), 1700 (C=O).- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.75 (d, ^{3}J = 12.5 Hz, 2H, 5'/8'-H)[a], 7.58 (d, ^{3}J = 12.5 Hz, 2H, 2'/11'-H)[a], 7.45-7.25 (m, 4H, aromat. H, 3'/4'/9'/10'-H), 6.28-6.18 (s, N<u>H</u>-C_6H_{10}), 5.25 (s, N<u>H</u>-C_3H_6), 5.92-4.78 (m, 1H, 4-H), 4.42 (d, ^{3}J = 15 Hz, 2H, C<u>H</u>$_2$-O), 4.20 (t, ^{3}J = 7.5 Hz, 1H, 13'-H), 3.82-3.65 (m, 1H, 1-H), 2.15-1.97 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[b], 1.65-1.45 (m, 2H, 3a/5a-H)[b], 1.48 (s, 6H, $C(CH_3)_2$), 1.36-1.18 (m, 2H, 2a/6a-H)[b].- [a] Die Zuordnung der Signalgruppen ist vertauschbar.- [b] Die Zuordnung axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- ^{13}C-NMR (62.89 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 173.61 ($C(CH_3)_2$-<u>C</u>O-NH), 155.26 (NH-<u>C</u>O-O), 143.67 (C-1'/12')[a], 141.37 (C-6'/7')[a], 127.78 (C-2'/11')[b], 127.06 (C-5'/8')[b], 124.87 (C-3'/10')[c], 120.07 (C-4'/9')[c], 81.18 (C-4), 66.56 (<u>C</u>H_2-O), 56.91 (<u>C</u>-$(CH_3)_2$), 47.18 (C-13')[d], 47.03 (C-1)[d], 29.74, 28.06 (C-3/5; C-2/6), 25.55 (C-(<u>C</u>$H_3)_2$).- [a-d] Die Zuordnung der Signalgruppen ist jeweils austauschbar.- MS (EI, 100 eV, 166 °C): m/z (%) = 467 (0.1), 405 (0.7), 280 (10), 178 (100), 179 (64), 165 (7), 102 (6), 58 (11). -

*trans-2-Formylamino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-propionsäureamid (**1e**)*

Eine Suspension von 210 mg (1.6 mmol) Formyl-Aib in 10 ml Dichlormethan wird mit 324 mg (3.2 mmol) Triethylamin versetzt. Die Mischung wird bis zum Klarpunkt erwärmt, anschließend auf 0 °C gekühlt und unter Schütteln mit 190 mg (1.6 mmol) $SOCl_2$ und 2 ml Dichlormethan versetzt. Nach fünfmin. Schütteln bei Raumtemp. werden bei 0 °C 256 mg (1.6 mmol) **3** zugefügt; aus Ethylacetat farblose Kristalle. Ausb. 254 mg (58%).- Schmp. 161-162 °C.- $C_{11}H_{19}N_3O_5$ (273.3) Ber. C 48.3 H 7.01 N 15.4 Gef. C 48.3 H 6.93 N 15.2.- IR (KBr): 3300 cm^{-1}, 1670 (monosubst. Amid), 2970-2880 (CH), 1630, 1280 (ONO_2).- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.11 (s, 1H, HC=O), 6.60-6.53 (s, N<u>H</u>-C_6H_{10}), 6.27-6.22 (s, N<u>H</u>-C_3H_6), 4.97-4.85 (m, 1H, 4-H), 3.88-3.70 (m, 1H, 1-H), 2.20-2.03 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[a], 1.70-1.51 (m, 2H, 3a/5a-H)[a], 1.57 (s, 6H, $C(CH_3)_2$), 1.46-1.28 (m, 2H, 2a/6a-H)[a].- [a] Die Zuordnung axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- ^{13}C-NMR (62.89 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 173.23 (C=O), 161.08 (HC=O), 81.00 (C-4), 57.42 (<u>C</u>$(CH_3)_2$), 47.11 (C-1), 29.52, 27.88 (C-3/5; C-2/6), 25.22 (C(<u>C</u>$H_3)_2$).- MS (EI, 100 eV, 129 °C): m/z (%) = 274 (0.5), 273 (0.1), 211 (1), 183 (0.6), 87 (66), 86 (100), 58 (25), 41 (6). -

*trans-2-Tosylamino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-propionsäureamid (**1f**)*

Eine Lösung von 412 mg (1.6 mmol) Tosyl-Aib in 1 ml $SOCl_2$ wird bei 10-18 °C 4 h gerührt, anschließend i.Vac. eingeengt. Man versetzt bei 0 °C mit 1 ml wasserfreiem Aceton und tropft diese Lösung langsam in eine auf 0 °C gekühlte und gerührte Suspension aus 256 mg (1.6 mmol) **3**, 1 ml Aceton und 100 mg MgO. Man schüttelt 2 h bei Raumtemp. und verdünnt mit 2 ml Wasser. Nach Ansäuern mit 6 N HCl wird mit Ethylacetat extra-

hiert: hellgelbe Kristalle. Ausb. 208 mg (52%).- Schmp. 125 °C.- UV (Acetonitril): λ max (log ε) = 225 nm (4.0).- $C_{17}H_{25}N_3O_6S$ (399.5) Ber. C 51.1 H 6.31 N 10.5 S 8.0 Gef. C 51.3 H 6.36 N 10.4 S 7.9.- IR (KBr): 3380 cm^{-1}, 1650 (monosubst. Amid), 3100-3000 (Aryl-H), 2960-2880 (CH), 1635, 1280 (ONO_2), 1340, 1160 (Sulfonamid).- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.80-7.70 (d, ^3J = 25 Hz, 2H, aromat. H, *ortho*), 7.35-7.25 (d, ^3J = 25 Hz, 2H, aromat. H, *para*), 6.55-6.48 (s, CO-NH), 5.35 (s, SO_2-NH), 4.98-4.83 (m, 1H, 4-H), 3.72-3.67 (m, 1H, 1-H), 2.43 (s, 3H, $C\underline{H}_3$-C_6H_5), 2.20-2.00 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[a], 1.70-1.55 (m, 2H, 3a/5a-H)[a], 1.50-1.30 (m, 2H, 2a/6a-H)[a], 1.36 (s, 6H, $C(C\underline{H}_3)_2$).- [a] Die Zuordnung axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- ^{13}C-NMR (62.89 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 173.55 (C=O), 143.73 (C-SO_2), 139.42 (C-CH_3), 129.78 (C aromat., *ortho*), 126.88 (C aromat., *para*), 81.12 (C-4), 59.99 ($\underline{C}(CH_3)_2$), 47.27 (C-1), 29.51, 27.97 (C-3/5; C-2/6), 25.85 ($C(\underline{C}H_3)_2$), 21.50 ($\underline{C}H_3$-C_6H_5).- MS (EI, 100 eV, 160 °C): m/z (%) = 212 (100), 155 (37), 91 (39), 81 (1), 58 (10), 42 (3), 41 (3). -

*trans-2-Trifluoracetylamino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-propionsäureamid (**1g**)*

Trifluoracetyl-Aib (1.6 mmol, 319 mg), bei 80 °C getrocknet, wird in 1 ml $SOCl_2$ sorgfältig bei 50-70 °C gelöst. Nach Beendigung der Gasentwicklung zieht man überschüssiges $SOCl_2$ ab, löst den Rückstand in 5 ml wasserfreiem Toluol und versetzt unter Eiskühlung mit 202 mg (2 mmol) Triethylamin und 256 mg (1.6 mmol) **3**. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemp. wird i.Vac. eingeengt und analog **5** aufgearbeitet. Aus Diethylether/Petrolether = 2/1 farblose Kristalle. Ausb. 393 mg (72%).- Schmp. 130 °C.- $C_{12}H_{18}N_3O_5F_3$ (341.3) Ber. C 42.2 H 5.32 N 12.3 Gef. C 42.3 H 5.52 N 12.5.- IR (KBr): 3340-3300 cm^{-1}, 1670-1650 (monosubst. Amid), 2960-2880 (CH), 1700 (Urethan), 1640-1630, 1280 (ONO_2), 1220-1180 (Alkyl-F).- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.23-7.17 (s, N$\underline{H}$-C_6H_{10}), 5.85-5.78 (s, N$\underline{H}$-C_3H_6), 4.97-4.82 (m, 1H, 4-H), 3.90-3.75 (m, 1H, 1-H), 2.13-2.07 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[a], 1.75-1.53 (m, 2H, 3a/5a-H)[a], 1.65 (s, 6H, $C(CH_3)_2$), 1.48-1.29 (m, 2H, 2a/6a-H)[a].- [a] Die Zuordnung axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- ^{13}C-NMR (62.89 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 172.69 (C=O), 156.51, 155.93 (d, ^2J (C,F) = 37 Hz, $\underline{C}O$-CF_3), 117.79, 113.20 (d, ^1J (C,F) = 289 Hz, CO-$\underline{C}F_3$), 80.86 (C-4), 57.51 ($\underline{C}(CH_3)_2$), 47.79 (C-1), 29.76, 28.09 (C-3/5; C-2/6), 23.98 ($C(\underline{C}H_3)_2$).- MS (EI, 100 eV, 111 °C): m/z (%) = 341 (0.4), 278 (3), 155 (100), 69 (7), 59 (18), 42 (8), 41 (11). -

B) Synthesen markierter Verbindungen

*trans-2-Amino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl-[1-^{14}C]-propionsäureamid ([1-^{14}C]-**1**)*

*a) N-Trifluoracetyl-2-amino-2-methyl-[1-^{14}C]-propionsäure ([1-^{14}C]-**2g**)*

Eine Mischung aus 2-Amino-2-methyl-[1-^{14}C]-propionsäure (69.3 mg, 0.67 mmol, 1295 MBq, 35 mCi, spezifische Aktivität 52 mCi/mmol) und nicht markierte 2-Amino-2-methylpropionsäure (81 mg, 0.79 mmol) werden unter Eiskühlung in 460 µl Trifluoressigsäure und 240 µl Trifluoracetanhydrid gelöst. Man läßt über Nacht bei Raumtemp. stehen, engt i.Vac. zur Trockne ein und löst den Rückstand in Ether. Anschließend versetzt man mit Petrolether und engt die Lösung bis zur beginnenden Trübung ein. Nach abgeschlossener Fällung wird die Flüssigkeit abgesaugt, das Produkt bei 80 °C getrocknet und ohne weitere Reinigung in der nächsten Synthesestufe eingesetzt.

*b) trans-2-Trifluoracetylamino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-[1-^{14}C]-propionsäureamid ([1-^{14}C]-**1g**)*

Die in Stufe a) erhaltene *N*-Trifluoracetyl-2-amino-2-methyl-[1-^{14}C]-propionsäure wird in 1 ml $SOCl_2$ bei 50-70 °C gelöst; nach 20 min Rühren und beendeter Gasentwicklung wird überschüssiges $SOCl_2$ bei Raumtemp. i.Vac. abgezogen. Das entstandene äußerst feuchtigkeitsempfindliche Säurechlorid wird in Toluol gelöst und im Eisbad mit 300 µl Triethylamin und 234 mg (1.46 mmol) **3** versetzt. Der Reaktionsansatz wird 15 min bei 0 °C und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Entfernen des Lösungsmittels und Aufarbeitung analog **5**.

*c) trans-2-Amino-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-[1-^{14}C]-propionsäureamid ([1-^{14}C]-**1**)*

Das Reaktionsprodukt aus Stufe b) versetzt man mit 2 ml 2 N NaOH und läßt 3 h bei Raumtemp. rühren. Anschließend wird viermal mit jeweils 5 ml Dichlormethan extrahiert, die org. Phasen werden vereinigt und i.Vac. eingeengt. Das Rohprodukt wird zunächst sc gereinigt (Kieselgel 60, Dichlormethan/Methanol = 9/1), zweimal mit jeweils 1 ml Ether gewaschen und getrocknet.- $C_{10}H_{19}N_3O_4$ (247.3).- Ausb. 179 mg (50.3%), bezogen auf die eingesetzte 2-Amino-2-methyl-[1-^{14}C]-propionsäure, dies entspricht der radiochemischen Ausb.- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.58-7.50 (s, 1H, NH), 4.95-4.82 (m, 1H, 4-H), 3.80-3.63 (m, 1H, 1-H), 2.19-2.01 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[a], 1.70-1.50 (m, 2H, 3a/5a-H)[a], 1.57 (s, 2H, NH_2, H/D-Tausch), 1.53-1.25 (m, 2H, 2a/6a-H)[a], 1.36 (s, 6H, $C(CH_3)_2$).- [a] Die Zuordnung axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- MS (EI, 100 eV, 99 °C): m/z (%) = 185 (0.4), 183 (0.6), 98 (0.4), 81 (0.6), 58 (100), 42 (7), 41 (7).- Reinheit: I) GC-ECD: Detektortemp.: 250 °C, Injektortemp.: 150 °C, Ofentemperaturprogramm: 120 °C (6 min) → 30 °C/min → 250 °C, Einspritzvolumen: 1 µl (0.1 µg in Acetonitril), Reinheit: 98.7%.- II) Radio-HPLC: Säule: Spherisorb® Si-5 µm, 250 mm x 4.0 mm, Fa. Latek, Heidelberg; Elutionsmittel: Dichlormethan/2-Propanol = 2/8; Einspritzvolumen: 15 µl (0.5 µg), Flow: 0.5 ml/min.- III) Radio-DC: Fließmittel 5): 97.8%, Fließmittel 6): 98.1%.- Bestimmung der spezifischen Aktivität: 0.500 mg der ^{14}C-markierten Verbindung werden in einem 10 ml-Kolben in 10 ml Toluol (Methanolzusatz: 5%) gelöst. Von dieser Lösung werden 100 µl in einen weiteren 10 ml-Meßkolben pipettiert und mit Toluol verdünnt (Faktor: 1/100). Davon pipettiert man in drei Szintillationsfläschchen jeweils 50 µl, 100 µl und 250 µl und füllt mit 10 ml Instagel® und 4 ml Wasser auf. Gemessene spezifische Aktivität: 24.60 mCi/mmol, 9.102 x 10^5 kBq/mmol. -

*trans-2-Amino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-[1-^{13}C]-propionsäureamid ([1-^{13}C]-**1**)*

*a) N-Trifluoracetyl-2-amino-2-methyl-[1-^{13}C]-propionsäure ([1-^{13}C]-**2g**)*

Eine unter Eiskühlung hergestellte Lösung von 2-Amino-2-methyl-[1-^{13}C]-propionsäure (2 g, 19.4 mmol) in 6 ml Trifluoressigsäure sowie 3 ml Trifluoracetanhydrid wird analog der ^{14}C-Synthese in Stufe a) behandelt.

*b) 4,4-Dimethyl-2-trifluoromethyl-[5-^{13}C]-oxazolon (**7**)*

Das in Stufe a) erhaltene Reaktionsprodukt wird in 6 ml $SOCl_2$ bei 50-70 °C gelöst. Nach 20 min Rühren und beendeter Gasentwicklung wird der Überschuß an $SOCl_2$ bei Raumtemp. i.Vac. abgezogen. Das entstandene hygroskopische Säurechlorid wird mit 3.6 ml Chinolin für 10 min auf 120 °C erhitzt und das erwünschte Oxazolon bei 170-190 °C im Ölbad als klare Flüssigkeit überdestilliert und direkt für die nächste Synthesestufe eingesetzt.

*c) trans-2-Trifluoracetylamino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-[1-^{13}C]-propionsäureamid ([1-^{13}C]-**1g**)*

Das in Stufe b) synthetisierte Oxazolon **7** wird in 15 ml trockenem Toluol gelöst. Danach tropft man bei 0 °C 2.4 g (15 mmol) **3** zu. Man läßt 15 min bei 0 °C und über Nacht bei Raumtemp. rühren. Aufarbeitung analog [1-^{14}C]-**1**.

d) trans-2-Amino-2-methyl-N-(4-nitroxycyclohexyl)-[1-^{13}C]-propionsäureamid ([1-^{13}C]-1)

Die Substanz [1-^{13}C]-**1g** rührt man 3 h lang in 15 ml 2 N NaOH, extrahiert viermal mit jeweils 20 ml Dichlormethan und engt die vereinigten Extrakte i.Vac. ein. Aufarbeitung analog [1-^{14}C]-**1**. Ausb. 1.7 g (36%).- Schmp. 105 °C.- $C_{10}H_{19}N_3O_4$ (246.3) Ber. C 49.2 H 7.78 N 17.1 Gef. C 48.9 H 7.65 N 17.2.- ^{1}H-NMR (250.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.65-7.55 (s, NH), 4.95-4.85 (m, 1H, 4-H), 3.80-3.65 (m, 1H, 1-H), 2.20-2.00 (m, 4H, 2e/3e/5e/6e-H)[a], 1.70-1.50 (m, 2H, 3a/5a-H)[a], 1.45 (s, 2H, NH_2, H/D-Tausch), 1.45-1.25 (m, 2H, 2a/6a-H)[a], 1.35-1.30 (d, 6H, $C(C\underline{H}_3)_2$, ^{13}C/H-Kupplung).- [a] Die Zuordnung axial (a) und equatorial (e) ist vertauschbar.- ^{13}C-NMR (62.89 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 176.94 (C=O), 81.41 (C-4), 55.06, 54.25 (d, ^{1}J (^{13}C,^{12}C) = 51 Hz, $\underline{C}(CH_3)_2$), 46.43 (C-1), 29.23 ($C(\underline{C}H_3)_2$), 30.07, 28.23 (C-3/5; C-2/6).- MS (EI, 100 eV, 75 °C): m/z (%) = 184 (1), 98 (0.3), 58 (100), 42 (4), 41 (5).- Reinheit: GC-ECD: Detektortemp.: 250 °C, Injektortemp.: 220 °C, Ofentemperaturprogramm: 120 °C (6 min) → 30 °C/min → 250 °C, Einspritzvolumen: 1 µl (0.1 µg in Acetonitril), Reinheit: 99.6%.

Literatur

1 Boehringer Mannheim GmbH (H. Simon, H. Michel, M. Schultz und W. Bartsch), DE 3836021 (3. Mai 1990); C.A. *114*, P 5814 a (1991).
2 F. Preßmar, Dissertation, Heidelberg 1991.
3 H. Brückner, W.A. König, M. Greiner und G. Jung, Angew. Chem. *91*, 508 (1979); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. *18*, 476 (1979).
4 P. Meyer und F. Reusser, Experientia *23*, 85 (1967).
5 J.L. Flippen und I.L. Karle, Biopolymers *15*, 1081 (1976).
6 M. Bodanszky in "The Peptides", S. 143, Hrsg. E. Gross und J. Meienhofer, Academic Press, London 1979.
7 P. Wipf und H. Heimgartner, Helv. Chim. Acta *69*, 1153 (1986).
8 P. Wipf und H. Heimgartner, Helv. Chim. Acta *71*, 140 (1988).
9 D.S. Jones, G.W. Kenner, J. Preston und R.C. Sheppard, J. Chem. Soc. *1965*, 6227. [Ph 2]