



Frank Sicherl (Autor)

Synthese und Anwendung orthogonal geschützter Zuckerdiaminosäuren

Ein kombinatorischer Ansatz zum Finden von potenziellen RNA-Liganden



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/2064>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGEN	IX
1 EINLEITUNG	1
1.1 TUBERKULOSE – EIN BEISPIEL	1
1.2 AMINOGLYCOSIDE, STRUKTUR UND FUNKTION	2
1.3 MODEN DER BINDUNG AN RNA	4
1.4 RNA ALS DRUG-TARGET, ENTWICKLUNG VON AMINOGLYCOSID-MIMETIKA	10
1.5 ZUCKERAMINOSÄUREN ALS BAUSTEINE FÜR DIE KOMBINATORISCHE SYNTHESE	14
2 KONZEPTION UND AUFGABENSTELLUNG	20
3 SYNTHESE DER BAUSTEINE	25
3.1 SYNTHESESTRATEGIE UND SCHUTZGRUPPENDESIGN	25
3.2 SYNTHESE DES ZUCKERDIAMINOSÄURE-BAUSTEINS 29	27
3.3 SYNTHESE DER ZUCKERDIAMINOSÄURE-BAUSTEINE 30 UND 31	32
3.4 EINSATZMÖGLICHKEITEN VON 29 , 30 UND 31 – MÖGLICHE VERKNÜPFUNGSMUSTER	35
4 OLIGOMERSYNTHESEN IN LÖSUNG UNTER VERWENDUNG VON 29, 30 UND 31	37
4.1 SYNTHESE EINES DIMERS	37
4.2 OLIGOMERSYNTHESEN UNTER VERWENDUNG VON β -ALANINDERIVATEN	38
5 ENTSCHÜTZUNG UND ISOLIERUNG DER OLIGOMERE	43
5.1 METHODEN DER FINALEN ENTSCHÜTZUNG	43
5.2 ENTSCHÜTZUNG UND ISOLIERUNG DER OLIGOMERE	47

6	OLIGOMERSYNTHESEN AN FESTER PHASE UNTER VERWENDUNG VON 29, 30 UND 31	51
6.1	AUSWAHL DES POLYMEREN TRÄGERS UND ERSTE PEPTIDKUPPLUNGEN	51
6.2	KUPPLUNGEN AM SYNTHESIZER	55
7	STRUKTURELLE EIGENSCHAFTEN DER OLIGOMERE	65
7.1	CHARAKTERISIERUNG MITTELS NMR-SPEKTROSKOPIE AM BEISPIEL VON 84	65
7.2	BESTIMMUNG DER pK_S -WERTE DER AMINOGRUPPEN MITTELS NMR- SPEKTROSKOPISCHEN METHODEN	69
7.3	STRUKTURANALYSE DER OLIGOMERE MITTELS CD-SPEKTROSKOPIE	76
8	RNA-BINDUNGSSTUDIEN MIT DEN OLIGOMEREN	79
8.1	HEMMUNG DER VIRALEN REPLIKATION VON HIV-1	79
8.2	BINDUNG AN DAS HAMMERHEAD-RIBOZYM	81
8.3	BINDUNG AN RNA-TRANSKRIPTE AUS <i>TRYPANOSOMA BRUCEI</i>	83
9	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	88
10	EXPERIMENTELLER TEIL	94
10.1	ALLGEMEINE ANGABEN	94
10.2	ALLGEMEINE ARBEITSVORSCHRIFTEN	96
10.2.1	<i>AAV1: Abspalten der Fmoc-Gruppe in Lösung</i>	96
10.2.2	<i>AAV2: Peptidkupplung in Lösung</i>	96
10.2.3	<i>AAV3: Entschützen in Lösung</i>	96
10.2.4	<i>AAV4: Peptidkupplung an fester Phase</i>	97
10.2.5	<i>AAV5: Kaisertest</i>	97
10.2.6	<i>AAV6: Capping</i>	98
10.2.7	<i>AAV7: Abspaltung vom Harz und Entfernen der Schutzgruppen</i>	98
10.2.8	<i>AAV8: Synthese am Peptidsynthesizer ABI 433A</i>	99
10.2.9	<i>AAV9: Staudinger-Reduktion an fester Phase</i>	99
10.3	SYNTHESE DER BAUSTEINE	100
10.3.1	<i>2-Acetamido-2-desoxy-3,4,6-tri-O-acetyl-β-D-glucoopyranosylcyanid 32</i>	100
10.3.2	<i>2-Acetamido-2-desoxy-β-D-glucoopyranosylcyanid 33</i>	100

10.3.3	2-Acetamido-2-desoxy-6-O-(p-toluolsulfonyl)- β -D-glucopyranosylcyanid 34	101
10.3.4	2-Acetamido-6-azido-2,6-didesoxy- β -D-glucopyranosylcyanid 35	102
10.3.5	2-Amino-6-azido-2,6-didesoxy- β -D-glucopyranosylcarbonsäure-Hydrochlorid 36	103
10.3.6	2-Amino-6-azido-2,6-didesoxy- β -D-glucopyranosylcarbonsäuremethylester-Hydrochlorid 37	103
10.3.7	6-Azido-2-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,6-didesoxy- β -D-glucopyranosylcarbonsäure 38	104
10.3.8	6-Azido-2-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,6-didesoxy-3,4-di-O-methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbonsäuremethoxymethylester 39	105
10.3.9	6-Azido-2-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,6-didesoxy-3,4-di-O-methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbonsäure 40	106
10.3.10	6-Amino-2-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,6-didesoxy-3,4-di-O-methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbonsäure	107
10.3.11	2-(tert-Butyloxycarbonylamino)-2,6-didesoxy-6-(9-fluorenylmethoxycarbonylamino)-3,4-di-O-methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbonsäure 29	108
10.3.12	2-Acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose	109
10.3.13	2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-D-glucopyranosylchlorid 41	109
10.3.14	2-Azido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-desoxy-D-glucopyranose 45	110
10.3.15	2-Azido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-D-glucopyranosylcyanid 46	110
10.3.16	2-Azido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid 47	111
10.3.17	6-Azido-2,6-didesoxy-2-(9-fluorenylmethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosylcarbonsäure 51	111
10.3.18	6-Azido-2,6-didesoxy-2-(9-fluorenylmethoxycarbonylamino)-3,4-di-O-methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbonsäuremethoxymethylester 52	112
10.3.19	2-Amino-6-azido-2,6-didesoxy-3,4-di-O-methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbonsäure 50	113
10.3.20	6-Azido-2,6-didesoxy-2-(9-fluorenylmethoxycarbonylamino)-3,4-di-O-methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbonsäure 30	114
10.3.21	6-Amino-2,6-didesoxy-2-(9-fluorenylmethoxycarbonylamino)-3,4-di-O-methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbonsäure 53	115

10.3.22	6-(<i>tert</i> -Butyloxycarbonylamino)-2,6-didesoxy-2-(9-fluorenylmethoxycarbonylamino)-3,4-di- <i>O</i> -methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbonsäure 31	115
10.4	PEPTIDKUPPLUNGEN IN LÖSUNG	117
10.4.1	6-[6-Azido-2-(<i>tert</i> -butyloxycarbonylamino)-2,6-didesoxy-3,4-di- <i>O</i> -methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbamido]-2-(<i>tert</i> -butyloxycarbonylamino)-2,6-didesoxy-3,4-di- <i>O</i> -methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbonsäuremethoxymethylester 55	117
10.4.2	3-[6-Azido-2,6-didesoxy-2-(9-fluorenylmethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosylcarbamido]-propansäure- <i>tert</i> -butylester 57	118
10.4.3	3-[6-Azido-2,6-didesoxy-2-(9-fluorenylmethoxycarbonylamino)-3,4-di- <i>O</i> -methoxymethyl- β -D-glucopyranosylcarbamido]-propansäure- <i>tert</i> -butylester 58	119
10.4.4	3-(9-Fluorenylmethoxycarbonylamino)-propansäurediphenylmethylamid [FmocHN- β -Ala-NHCHPh ₂] 59	120
10.4.5	6-FmocHN-DAGC(Boc)- β -Ala-NHCHPh ₂ 60	121
10.4.6	6-FmocHN-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 6)-DAGC(Boc)- β -Ala-NHCHPh ₂ 61	122
10.4.7	3-(9-Fluorenylmethoxycarbonylamino)-propansäurebenzylamid [FmocHN- β -Ala-NHBn] 62	123
10.4.8	6-FmocHN-DAGC(Boc)- β -Ala-NHBn 63	124
10.4.9	6-FmocHN-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 6)-DAGC(Boc)- β -Ala-NHBn 64	125
10.4.10	6-FmocHN-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 6)-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 6)-DAGC(Boc)- β -Ala-NHBn 65	126
10.4.11	2-FmocHN-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 6)-DAGC(Boc)- β -Ala-NHBn 66	127
10.4.12	6-FmocHN-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 2)-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 6)-DAGC(Boc)- β -Ala-NHBn 67	128
10.4.13	2-FmocHN-DAGC(Boc)- β -Ala-NHBn 68	129
10.4.14	2-FmocHN-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 2)-DAGC(Boc)- β -Ala-NHBn 69	130
10.4.15	6-FmocHN-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 2)-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 2)-DAGC(Boc)- β -Ala-NHBn 70	131
10.4.16	6-FmocHN-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 2)-DAGC(Boc)- β -Ala-NHBn 71	132
10.4.17	6-FmocHN-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 6)-DAGC(Boc)-(1 \rightarrow 2)-DAGC(Boc)- β -Ala-NHBn 72	133

10.4.18	<i>2-FmocHN-DAGC(N₃)-β-Ala-NHBn</i>	134
10.4.19	<i>6-FmocHN-DAGC(Boc)-(1→2)-DAGC(N₃)-β-Ala-NHBn</i>	135
10.4.20	<i>2,6-bis-[6-FmocHN-DAGC(Boc)]-DAGC-β-Ala-NHBn</i>	136
10.4.21	<i>H₂N-DAGC(Boc)-β-Ala-NHBn</i>	137
10.4.22	<i>H₂N-DAGC(NH₂)-β-Ala-NHBn</i>	137
10.4.23	<i>H₂N-DAGC(NH₂)-(1→6)-DAGC(NH₂)-(1→6)-DAGC(NH₂)-β-Ala-NHBn</i>	138
10.4.24	<i>H₂N-DAGC(NH₂)-(1→2)-DAGC(NH₂)-(1→6)-DAGC(NH₂)-β-Ala-NHBn</i>	139
10.4.25	<i>H₂N-DAGC(NH₂)-(1→2)-DAGC(NH₂)-(1→2)-DAGC(NH₂)-β-Ala-NHBn</i>	140
10.4.26	<i>H₂N-DAGC(NH₂)-(1→6)-DAGC(NH₂)-(1→2)-DAGC(NH₂)-β-Ala-NHBn</i>	141
10.4.27	<i>2,6-bis-[H₂N-DAGC(NH₂)]-DAGC-β-Ala-NHBn</i>	142
10.5	PEPTIDKUPPLUNGEN AN FESTER PHASE	144
10.5.1	<i>6-FmocHN-DAGC(Boc)-Rinkamid-AM-Polystyrol-Harz</i>	144
10.5.2	<i>2-Amino-6-[2,6-diamino-2,6-didesoxy-β-D-glucopyranosylcarbamido]-2,6-didesoxy-β-D-glucopyranosylcarbonsäureamid</i>	144
10.5.3	<i>2-FmocHN-DAGC(N₃)-Rinkamid-AM-Polystyrol-Harz</i>	145
10.5.4	<i>2-FmocHN-DAGC(Boc)-Rinkamid-AM-Polystyrol-Harz</i>	146
10.5.5	<i>2,6-Diamino-2,6-didesoxy-β-D-glucopyranosylcarbonsäureamid [DAGC-Amid]</i>	146
10.5.6	<i>H₂N-DAGC(NH₂)-(1→6)-DAGC(NH₂)-(1→6)-DAGC(NH₂)-(1→6)-DAGC(NH₂)-CONH₂</i>	147
10.5.8	<i>H₂N-DAGC(NH₂)-(1→2)-DAGC(NH₂)-(1→2)-DAGC(NH₂)-(1→2)-DAGC(NH₂)-CONH₂</i>	148
10.5.9	<i>H₂N-DAGC(NH₂)-(1→2)-DAGC(NH₂)-(1→6)-DAGC(NH₂)-(1→2)-DAGC(NH₂)-CONH₂</i>	149
10.5.10	<i>6-[H₂N-DAGC(NH₂)]-2-[H₂N-DAGC(NH₂)-(1→2)-DAGC(NH₂)]-DAGC-CONH₂</i>	150
10.5.11	<i>2-{2,6-bis-[H₂N-DAGC(NH₂)]-DAGC(NH₂)}-DAGC(NH₂)-CONH₂</i>	151
10.6	CYTOTOXIZITÄT AN HE _L A-P4-ZELLEN	152
10.7	HEMMUNG DER VIRALEN REPLIKATION VON HIV-1	152

10.8	BINDUNG AN DAS HAMMERHEAD-RIBOZYM	153
10.9	BINDUNGSTESTS AN mRNA-TRANSKRIPTEN AUS <i>TRYPANOSOMA BRUCEI</i>	154
10.9.1	<i>Fluoreszenz Verdrängungs-Assay</i>	154
10.9.2	<i>Precleaved-RNA-Deletions-Assay</i>	154
10.10	BESTIMMUNG DER pK_S -WERTE DER AMINOGRUPPEN	155
11	LITERATURVERZEICHNIS	159
12	ANHANG	167