

# **Studien zur chemoenzymatischen Synthese und Biosynthese von Maytansinoid-Analoga**

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Universität Hannover

zur Erlangung des Grades  
**Doktor der Naturwissenschaften**  
**- Dr. rer. nat. -**

genehmigte Dissertation

von

Diplom-Chemiker Marco Brünjes  
geboren am 21.10.1976 in Osterode am Harz

**2006**

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von August 2002 bis Januar 2006 unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Andreas Kirschning am Institut für Organische Chemie der Universität Hannover angefertigt.

Hierdurch versichere ich an Eides Statt, dass ich diese Dissertation selbständig verfasst und alle benutzten Hilfsmittel sowie eventuell zur Hilfeleistung herangezogene Institutionen vollständig angegeben habe. Ebenso wurde diese Dissertation nicht schon als Diplom- oder ähnliche Prüfungsarbeit verwendet.

Hannover, den 19.01.2006

Referent: Prof. Dr. A. Kirschning

Korreferent: Prof. Dr. M. Kalesse

Tag der Promotion: 09.03.2006



# Zusammenfassung

Marco Brünjes

## Studien zur chemoenzymatischen Synthese und Biosynthese von Maytansinoid-Analoga

Stichworte: Ansamitocin – *Actinosynnema pretiosum* – Mutasyntese – Naturstoffanaloga

Die Maytansinoide stellen eine Familie 19-gliedriger Makrolactame pflanzlichen (Maytansine) und mikrobiellen (Ansamitocine) Ursprungs dar und wurden erstmals 1972 von KUPCHAN am NCI isoliert. Strukturell gehören sie zu den Ansamycin-Antibiotika und weisen ein enormes cytotoxisches Potenzial auf. Trotz vielversprechender Tests zur Toxizität in verschiedenen Tiermodellen wurden erste klinische Studien schließlich in Phase II aufgrund starker Nebenwirkungen eingestellt.

Die vorliegende Dissertation behandelt die chemoenzymatische Generierung neuer Maytansinoid-Analoga. Die erfolgreich durchgeführte Totalsynthese von 20-Deshydroxy-*seco*-Proansamitocin, einem Derivat des natürlichen Oktaketids eröffnet nun die Möglichkeit zur *in vitro* enzymatischen Cyclisierung mittels der Thioesterase *Asm9*. Auf diesem Wege sollen Erkenntnisse über die Substratspezifität dieses Enzyms erhalten und dessen Anwendbarkeit als „Werkzeug“ in der organischen Synthese untersucht werden.

Weiterhin wurden die ersten drei natürlichen Ketide der Biosynthese in der Form ihrer zellpermeablen *N*-Acetylcysteamin-thioester synthetisiert. Durch entsprechende Fütterungsstudien konnte die bislang unbekannte Stereokonfiguration des Diketid-Intermediats an C-14 aufgeklärt werden. Hierfür wurde eine Blockmutante (*HGF073*) von *Actinosynnema pretiosum*, dem natürlichen Ansamitocin-Produzenten eingesetzt, welche durch Ausschaltung des AHBA-Synthase-Gens die Startereinheit 3,5-Aminohydroxybenzoesäure (AHBA) und somit den Naturstoff nicht mehr produziert. Mit dem chemischen Zugang zu fortgeschrittenen Intermediaten konnten ferner wichtige Grundlagen zur Bestimmung des Zeitpunkts der in der Biosynthese auftretenden Doppelbindungs-Isomerisierung gelegt werden.

Im letzten Abschnitt dieser Arbeit erfolgte die Synthese modifizierter Startereinheiten. Durch Verfütterung dieser Substanzen an *HGF073* konnte in einer Vorläufer-dirigierten Biosynthese (Mutasyntese) die Produktion neuer Ansamitocine erreicht werden. Mit der Isolierung des 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 wurde erstmals ein chemoenzymatisch produziertes Ansamitocin-Derivat gewonnen. In ersten Aktivitätstests an der GBF Braunschweig wies dieses Ansamitocin-Derivat, mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 90 ng/ml, eine sehr gute cytotoxische Wirksamkeit auf.



# Abstract

Marco Brünjes

## Studies on the chemoenzymatic synthesis and biosynthesis of maytansinoid antibiotics

Key words:

Ansamitocin – *Actinosynnema pretiosum* – Mutasynthesis – Natural Product Analogues

The maytansinoids represent a class of 19-membered macrocyclic lactames produced by higher plants or microorganisms and were first isolated by KUPCHAN at the NCI in 1972. Being structurally related to ansamycin antibiotics, they exhibit high antitumor activity. Despite promising toxicity tests in different animal models, the clinical development had to be stopped in phase II due to substantial side-effects.

This thesis deals with the chemoenzymatic generation of new maytansinoid analogues. The main achievement was the total synthesis of 20-deshydroxy-*seco*-proansamitocin, which will serve as an analogue for the naturally occurring octaketide in *in vitro* studies for the enzymatic macrolactamization. As cyclizing enzyme, the thioesterase *Asm9* will be employed giving a deeper insight into the substrate specificity and synthetic ability of this enzyme.

Additionally, the first ketides, namely the di-, tri- and tetraketides, occurring in biosynthesis, were prepared as the cognate *N*-acetylcysteamine thioesters. By utilizing these naturally intermediates in feeding studies, determination of the so far unknown cryptic stereo-configuration of the diketide at C-14 was possible. For this purpose a mutant strain (*HGF073*) of *actinosynnema pretiosum*, the microbial ansamitocin producer, was employed. Due to a deletion of the gene coding for the biosynthesis of aminohydroxybenzoic acid (AHBA), this mutant is unable to provide the essential starter unit, with the consequence that no ansamitocin is produced any longer. Beyond these findings, the results collected from the synthetic work as well as from the microbiological work, give a premium basis for the elucidation of the diene migration, which occurs during biosynthesis of ansamitocin.

The final part of this work dealt with the synthesis of modified starter units and their subsequent transformation in precursor directed biosynthesis (mutasynthesis). Consequently, these feeding studies, again being conducted with *HGF073*, allowed the production of new ansamitocins. For the first time, a chemoenzymatically formed ansamitocin derivative, 19-deschloro-ansamitocin P-3, was isolated. Primary investigations on animal tumor systems were carried out at the GBF Braunschweig, showing strong cytotoxic activity with an  $IC_{50}$  value of 90ng/ml.



# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1. Die Maytansinoide	1
1.2. Biosynthese von Ansamitocin P-3	4
1.3. Struktur-Aktivitäts-Beziehungen	7
1.4. Totalsynthesen der Maytansinoide	9
1.5. Chemoenzymatische Synthese / Vorläufer-dirigierte Biosynthese	10
<b>2. Zielsetzungen</b>	<b>13</b>
2.1. Chemisch-synthetischer Abschnitt	13
2.2. Biologischen Arbeiten mit <i>Actinosynnema pretiosum</i>	15
<b>3. Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>17</b>
<b>3.1. Synthese von <i>seco</i>-Proansamitocin und Analoga</b>	<b>17</b>
3.1.1. Synthese der Benzylhalogenide	18
3.1.2. Einführung des Acetylids	21
3.1.3. Die finalen Stufen zum <i>seco</i> -Proansamitocin	25
3.1.4. Synthese von 20-Deshydroxy- <i>seco</i> -Proansamitocin	28
3.1.5. Versuche zur Darstellung des 20-Deshydroxy-Proansamitocin	32
<b>3.2. Darstellung fortgeschrittener Biosynthese-Intermediate</b>	<b>35</b>
3.2.1. Synthese der Diketide	35
3.2.2. Synthese des Triketids	39
3.2.3. Synthese des Tetraketids	44
<b>3.3. Synthese modifizierter Startereinheiten</b>	<b>49</b>
3.3.1. Synthese von 3-(D <sub>3</sub> )-Methoxy-5-aminobenzoessäure	49
3.3.2. Synthese weiterer O-alkylierter AHBA	52
3.3.3. Synthese verschiedener Derivate der 3-Aminobenzoessäure	53
3.3.4. Synthese eines modifizierten Diketids	55
3.3.5. Protonenaustausch an Amino-hydroxy-substituierten Aromaten	56
<b>3.4. Studien zur Verfütterung der synthetisierten Substanzen</b>	<b>59</b>
3.4.1. Studien und Ergebnisse der Arbeitsgruppe FLOSS	59
3.4.2. Studien mit <i>Actinosynnema pretiosum</i> HGF073	62
3.4.3. Studien mit <i>Actinosynnema pretiosum</i> HGF051	65
3.4.4. 19-Deschloro-Ansamitocin P-3: Chemoenzymatische Produktion und <i>in vitro</i> Aktivitätsuntersuchungen	68

## **Inhaltsverzeichnis**

---

<b>4. Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>72</b>
4.1. Zusammenfassung der Ergebnisse	72
4.2. Ausblick	75
<b>5. Experimenteller Teil</b>	<b>78</b>
5.1. Allgemeine Hinweise	78
5.2. Verbindungen aus Kapitel 3.1.	81
5.3. Verbindungen aus Kapitel 3.2.	107
5.4. Verbindungen aus Kapitel 3.3.	134
5.5. Verbindungen und Vorgehensweisen zu Kapitel 3.4.	152
<b>6. Spektrenanhang</b>	<b>155</b>

### Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACP	Acyl Carrier Protein
AHBA	3-Amino-5-hydroxybenzoesäure
AIBN	Azobisisobutyronitril
aq.	wässrig
Äq.	Äquivalente
Ar	Aryl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
CoA	Coenzym A
DBU	Diazobicyclo-[5.4.0]-undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid
4-DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMP	Dess-Martin-Periodinan
DMPU	1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydropyrimidinon
dr	Diastereomerenverhältnis
<i>E/Z</i>	entgegen/zusammen (Doppelbindungskonfiguration)
EE	Ethylacetat
ESI	Elektronenspray-Ionisation
GBF	Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (Braunschweig)
GC	Gaschromatographie
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	Heteronuclear multiple quantum coherence
HPLC	High performance liquid chromatography
HRMS	Hochaufgelöste Massenspektrometrie
Hsp90	Hitzeschockprotein 90
HWE	Horner-Wadsworth-Emmons
IC	Inhibitory concentration
kat.	katalytisch
KHMDS	Kaliumhexamethyldisilazid
konz.	konzentriert
LDA	Lithiumdiisopropylamid
mM	Millimolar
M	Molar
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
NCI	National Cancer Institute
NMR	nuclear magnetic resonance
NOE	nuclear Overhauser enhancement
PCR	Polymerase Chain Reaction / Polymerase-Kettenreaktion
PDB	Precursor Directed Biosynthesis
PE	Petrolether
PKS	Polyketidsynthase
quant.	quantitativ

## Abkürzungsverzeichnis

---

rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
Smp.	Schmelzpunkt
SNAC	<i>N</i> -Acetylcysteaminyl
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl
TEMPO	Tetramethyl-piperidin- <i>N</i> -oxyl
Teoc	2-(Trimethylsilyl)ethoxycarbonyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl / Tetramethylsilan (NMR-Spektroskopie)
Troc	2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl
YMG	Yeast, Malt, Glucose







## 1. Einleitung

Mit der vorliegenden Arbeit wurde eine Verknüpfung zweier naturwissenschaftlicher Gebiete aufgegriffen, welche in den letzten Jahren zunehmende Bedeutung erlangte und den Begriff der „chemoenzymatischen Synthese“ prägte. Die Kombination aus organischer Synthese (Chemie) und der Arbeit mit Mikroorganismen oder Enzymen (Biologie), erzielte gerade im Bereich der Gewinnung neuer Naturstoff-Derivate großes Interesse. Die folgenden Abschnitte sollen einen kurzen Überblick über bisherige Arbeiten auf dem Gebiet der Maytansinoide geben und dem Leser weitere erforderliche Grundlagen für das Verständnis der vorliegenden Zusammenschrift vermitteln.

### 1.1. Die Maytansinoide

Im Rahmen eines Screening-Programms nach pflanzlichen, antitumoral wirkenden Substanzen am National Cancer Institute (NCI) wurde im Jahr 1972 von KUPCHAN über die Isolierung eines hochwirksamen, cytotoxischen Naturstoffs berichtet – Maytansin **1**.<sup>1</sup> Der erste Vertreter und somit Namensgeber dieser Gruppe von Makroliden konnte aus dem äthiopischen Strauch *Maytenus serrata* gewonnen werden. Aufgrund des äußerst geringen Vorkommens in der Pflanze ( $2 \times 10^{-5}$  % des Trockengewichts) wäre es ohne seine extrem hohe Aktivität ( $ED_{50} = 10^{-4} - 10^{-5} \mu\text{g/ml}$ )<sup>2</sup> möglicherweise nicht entdeckt worden.

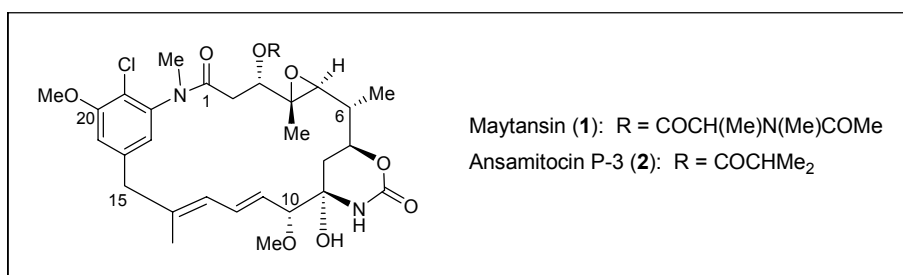


Abbildung 1: Maytansin (**1**) und Ansamitocin P-3 (**2**)

<sup>1</sup> S. M. Kupchan, Y. Komoda, W. A. Court, G. J. Thomas, R. M. Smith, A. Karim, C. J. Gilmore, R. C. Haltiwanger, R. F. Bryan, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 1354-1356.

<sup>2</sup> B. F. Issell, S. T. Crooke, *Cancer Treatment Revs.* **1978**, *5*, 199-207.

Somit entstand aber ein starkes Interesse an dieser Verbindungsklasse und nur einige Zeit darauf konnte die genaue Struktur des 19-gliedrigen Makrolactams letztendlich durch Röntgenstrukturanalyse des 9-(3-Brompropyl)-Derivats aufgeklärt werden.<sup>3</sup>

Weitere strukturell ganz ähnliche Substanzen wurden unter anderem aus *Colubrina texensis*, *Trewia nudiflora*<sup>4</sup> (allesamt den Gattungen *Maytenus* und *Putterlickia* angehörig) und zwei japanischen Moosarten isoliert,<sup>5</sup> womit allein die aus Pflanzen gewonnenen Vertreter der Maytansinoide 27 unterschiedliche Strukturen aufweisen.

Die verwandten Ansamitocine wurden 1977 schließlich aus *Actinosynnema pretiosum*, einem Mikroorganismus isoliert,<sup>6</sup> wobei sich die in den Actinomyceten gefundenen Strukturen nur leicht, meistens in der Ester-Seitenkette, von den pflanzlichen Maytansinen unterschieden.<sup>7</sup> Mit Ansamitocin P-0 und P-1 traten sogar zwei identische Substanzen auf, die bereits als Maytansinol und Maytanacin bekannt waren. Für eine Auflistung sämtlicher Maytansinoide sei auf einen Review-Artikel von CASSADY, CHAN, FLOSS und LEISTNER hingewiesen, welcher einen umfassenden Überblick über die in Kapitel 1.1. - 1.3. besprochenen Punkte vermittelt.<sup>8</sup> Ob sich das parallele Vorkommen in Pflanzen und Mikroorganismen letztlich auf einen horizontalen Gentransfer oder ein symbiotisches Verhältnis zurückzuführen lässt, ist Gegenstand andauernder Untersuchungen.<sup>9</sup>

Charakteristisch für die Maytansinoide ist das 19-gliedrige Makrolactam, welches sich durch die Integration eines aromatischen Systems in den aliphatischen Ring auszeichnet und gewissermaßen einen „Henkel“ bildet (*lat.* *ansa*). Strukturell gehören sie in die Klasse der Ansamycin-Antibiotika und stehen damit in einer Reihe so bekannter und pharmakologisch bedeutender Substanzen wie Geldanamycin **3**,<sup>10</sup> Rifamycin **4**,<sup>11</sup> Ansatrienin **5**,<sup>12</sup> Mitomycin

<sup>3</sup> a) S. M. Kupchan, Y. Komoda, A. R. Branfman, A. T. Sneden, W. A. Court, G. J. Thomas, H. P. J. Hintz, R. M. Smith, A. Karim, A. K. Verma, Y. Nagao, R. G. Dailey Jr., V. A. Zimmerly, W. C. Sumner Jr., *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 2349-2357; b) R. F. Bryan, C. J. Gilmore, R. C. Haltiwanger, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1973**, 897-901.

<sup>4</sup> M. W. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall, *Chem. Commun.* **1973**, 390.

<sup>5</sup> K. Sakai, T. Ichikawa, K. Yamada, M. Yamashita, M. Tanimoto, A. Hikita, Y. Ijuin, K. Kondo, *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 845-850.

<sup>6</sup> E. Higashide, M. Asai, K. Ootsu, S. Tanida, Y. Kozai, T. Hasegawa, T. Kishi, Y. Sugino, M. Yoneda, *Nature* **1977**, *270*, 721-722.

<sup>7</sup> M. Asai, E. Mizuta, M. Izawa, K. Haibara, T. Kishi, *Tetrahedron* **1979**, *35*, 1079-1085.

<sup>8</sup> J. M. Cassady, K. K. Chan, H. G. Floss, E. Leistner, *Chem. Pharm. Bull.* **2004**, *52*, 1-26 und darin angegebene Literaturstellen.

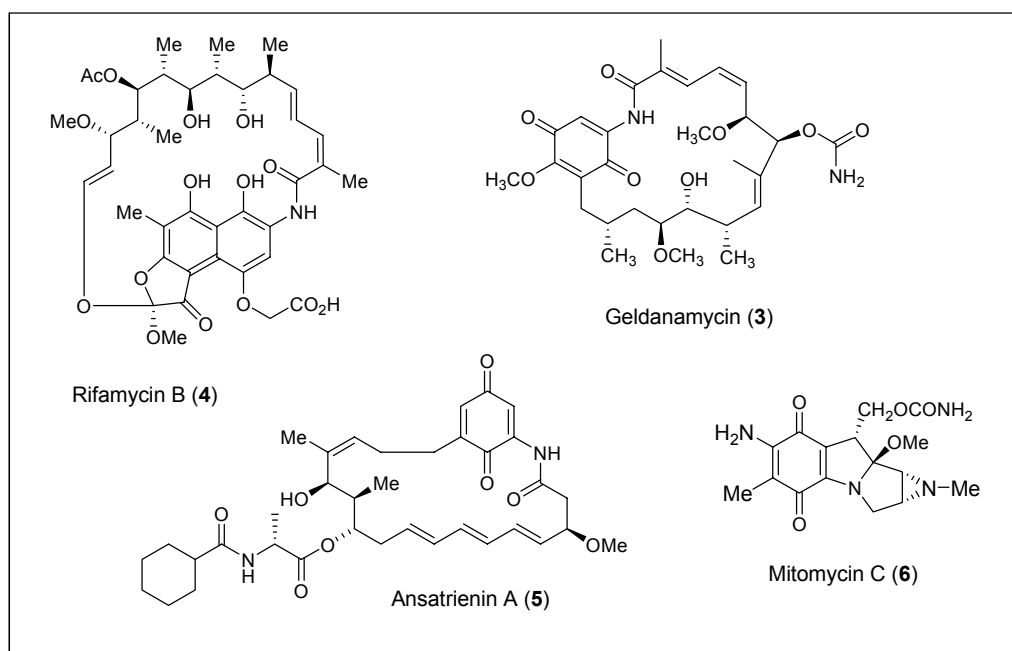
<sup>9</sup> Als ein Beispiel sei nur folgende Literatur genannt: C. B. Pullen, P. Schmitz, D. Hoffmann, K. Meurer, T. Boetcher, D. von Bamberg, A. M. Pereira, S. de Castro Franca, M. Hauser, H. Geertsema, A. van Wyk, T. Mahmud, H. G. Floss, E. Leistner, *Phytochemistry* **2003**, *62*, 377-387.

<sup>10</sup> C. DeBoer, P. A. Meulman, R. J. Wnuk, D. H. Peterson, *J. Antibiot.* **1970**, *23*, 440-447.

<sup>11</sup> H. G. Floss, T.-W. Yu, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 621-632.

<sup>12</sup> a) C. Coronelli, R. C. Pasqualucci, J. E. Thiemann, G. Tamoni, *J. Antibiot.* **1967**, *20*, 329-333; b) W. Weber, H. Zähler, M. Damberg, P. Russ, A. Zeeck, *Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. C* **1981**, *2*, 122-139.

6<sup>13</sup> oder Naphthomycin.<sup>14</sup> Das Wirkspektrum besagter Verbindungen ist sehr umfangreich und gerade deshalb, trotz ihres verwandten Aufbaus, sind die eigentlichen Wirkorte auch sehr verschieden. Geldanamycin bindet z. B. an die aminoternale Domäne des Hsp90 als ein kompetitiver Inhibitor von ATP,<sup>15</sup> die Maytansinoide erfahren ihre Wirksamkeit durch Destabilisierung der Mikrotubuli (siehe hierzu Kapitel 1.3.). Die naphthenischen Vertreter der Ansamycine wie Rifamycin zeigen aufgrund ihrer Interaktion mit der RNA-Polymerase<sup>11</sup> vielmehr eine starke Aktivität gegen Prokaryonten, insbesondere Gram-positive Erreger und *Mycobacterium tuberculosis*.<sup>16</sup>



**Abbildung 2:** Ausgewählte Vertreter der Ansamycin-Antibiotika

Gemeinsames Merkmal der Ansamycine ist jedoch die Startereinheit, von welcher ausgehend das jeweilige Polyketid aufgebaut wird. Alle basieren auf einer *mC*<sub>7</sub>*N*-Einheit – der 3-Amino-5-hydroxybenzoesäure. Deren Biosynthese und der weitere Ablauf zum vollständigen Naturstoff seien im nächsten Unterkapitel beschrieben.

Aufgrund der hohen Aktivität der Maytansine wurden die Bemühungen zur Entwicklung eines neuen Krebstherapeutikums intensiviert und erste präklinische Studien schienen sehr verheißungsvoll. Nach erfolgreichen Toxizitätsstudien an diversen Tiermodellen und dem

<sup>13</sup> T. Hata, Y. Sano, R. Sugawara, A. Matsumae, K. Kanamori, T. Shima, T. Hoshi, *J. Antibiot.* **1956**, *9*, 141-146.

<sup>14</sup> T. H. Williams, *J. Antibiot.* **1975**, *28*, 85-86.

<sup>15</sup> Y. Miyata, *Curr. Pharm. Des.* **2005**, *11*, 1131-1138.

<sup>16</sup> B. S. Moore, C. Hertweck, *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 70-99.

positiven ansprechen einiger Teilnehmer der ersten klinische Phase,<sup>17</sup> wurden über 800 Patienten in der Phase II mit Maytansin behandelt.<sup>18</sup> Sehr schnell stellten sich jedoch starke Nebenwirkungen heraus (u. a. Magen-Darm- und Neurotoxizität), so dass aufgrund der Dosis-limitierenden Toxizität von 1-2 mg/m<sup>2</sup> nur ein an Inselzell-Carcinoma leidender Proband vollständig geheilt werden konnte. Auf diesen Ergebnissen basierend wurden die Studien vom NCI schließlich vollständig eingestellt.<sup>8</sup>

Mittlerweile beschäftigen sich aber wieder diverse Pharma-Unternehmen (SMITHKLINE BEECHAM, IMMUNOGEN INC.) mit den Maytansinoiden, genauer gesagt dem Ansamitocin P-3. Das erneute Interesse beruht auf verschiedenen Entwicklungen der letzten Jahre. So sollen die Wirkstoffe an spezifisch bindende Antikörper gekoppelt und letztlich nur im Zielgebiet (dem Tumor) freigesetzt werden. Die eingesetzten Wirkstoffmengen könnten dadurch drastisch reduziert und Nebenwirkungen stark vermindert werden. Ein weiterer Ansatz ist das gezielte Design neuer Ansamitocine mit vergleichbarem antineoplastischen Effekt bei eingeschränkter Toxizität. Weitere Erkenntnisse zum Metabolismus vermögen hier aussichtsreiche Kandidaten für neue klinische Studien zu liefern. Im Fall des Geldanamycin zeigte ein derartiges Vorgehen bereits erste Erfolge. Nach Generierung zweier semi-synthetischer Analoga, 17-DMAG und 17-AAG,<sup>19</sup> zeigten erste Untersuchungen schon deutlich reduzierte Nebenwirkungen und ein verbessertes Wirkspektrum.<sup>20</sup> Derzeit laufen in den U.S.A. mit diesen Substanzen bereits 25 Studien (klinische Phase I und II) an unterschiedlichen Standorten, vier davon (mit 17-AAG) sind bereits abgeschlossen.<sup>18</sup>

## 1.2. Biosynthese von Ansamitocin P-3

Im Folgenden sei die Biosynthese von Ansamitocin P-3 stellvertretend für die Maytansinoide geschildert, welche von FLOSS und Mitarbeitern aufgeklärt werden konnte.<sup>21</sup> Wie alle Polyketide wird auch das Ansamitocin in Analogie zur Fettsäure-Biosynthese über repetitive

---

<sup>17</sup> Y. Komoda, T. Kishi, *Anticancer agents based on natural product models*, ed. by J. Douros, J. M. Cassady, Academic Press, New York **1980**, 353-389.

<sup>18</sup> Weitere Informationen zu den verschiedenen klinischen Phasen und aktuellen Studien finden sich unter <http://www.clinicaltrials.gov> (Stand: 05.01.2006).

<sup>19</sup> 17-DMAG = 17-Dimethylaminoethylamino-17-demethoxygeldanamycin;  
17-AAG = 17-Allylamino-17-demethoxygeldanamycin

<sup>20</sup> E. E. A. Bull, H. Dote, K. J. Brady, W. E. Burgan, D. J. Carter, M. A. Cerra, K. A. Oswald, M. G. Hollingshead, K. Camphausen, P. J. Tofilon, *Clin. Canc. Res.* **2004**, *10*, 8077-8084.

<sup>21</sup> T.-W. Yu, L. Bai, D. Clade, D. Hoffmann, S. Toelzer, K. Q. Trinh, J. Xu, S. J. Moss, E. Leistner, H. G. Floss, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 7968-7973.

CLAISEN-Kondensationen mit Verlängerungseinheiten auf einer Polyketidsynthase (PKS) aufgebaut, welche sich vom Malonyl-Coenzym A ableiten.<sup>22, 23</sup>

Eine bakterielle PKS (Typ I) wie im vorliegenden Fall, ist dabei aus multifunktionalen Enzymen aufgebaut, welche sich in Modulen organisiert haben und die aktivierten Carbonsäuren miteinander verknüpfen.<sup>24</sup> Jedes Modul enthält eine Reihe nicht-iterativ eingesetzter katalytischer Domänen, welche die unterschiedlichen Schritte jedes Verlängerungszyklus vermitteln.<sup>25</sup>

In Abbildung 3 sind die für den Aufbau des Ansamitocin verantwortlichen Gene (*asm*) dargestellt, stellvertretend für das jeweilig gebildete Polypeptid (*Asm*). Der gesamte Multienzymcluster besteht aus vier separaten Proteinen, welche die insgesamt sieben Module zur Kettenverlängerung umfassen. Die in den einzelnen Modulen enthaltenen und für die jeweilige Modifikation verantwortlichen Domänen werden folgendermaßen abgekürzt: ADE = Adenylase, ACP = Acyl-Carrier-Protein; KS = Ketosynthase;<sup>26</sup> AT = Acyltransferase; DH = Dehydratase; ER = Enoylreduktase; KR = Ketoreduktase.

Während ein Teil der natürlichen Polyketide mit Acetat initiiert wird, verwenden zahlreiche Polyketidsynthasen abweichende Startereinheiten, welche die Diversität der produzierten Substanzen signifikant erhöhen und dem Molekül weitere strukturelle und biologisch wichtige Eigenschaften geben können. Wie schon in Kapitel 1.1. angedeutet wurde, ist dies in der Klasse der Ansamycine die 3-Amino-5-hydroxybenzoesäure (AHBA). Ausgehend von UDP-Glucose<sup>27</sup> wird zunächst über mehrere Schritte (u.a. Kanosamin)<sup>28</sup> das AminoDAHP<sup>29</sup> gebildet, weitere Abwandlungen führen letztlich zur AHBA. In der folgenden Abbildung ist dieser sehr umfangreiche Ablauf nur durch eine separate Kassette der entsprechenden Gene gekennzeichnet (*asm47* → *asm22*). Auf eine erschöpfende Darstellung der Biosynthese von AHBA sei hier verzichtet und auf die umfassende Literatur verwiesen.<sup>8</sup> Nach dem Bestücken der Lade-Domäne mit AHBA umfasst der erste Abschnitt die Einführung einer Propionat-Einheit (II). Auf dieser Stufe weist die Biosynthese eines ihrer letzten Rätsel auf. Aufgrund einer nachträglich ablaufenden Wanderung der konjugierten Doppelbindungen (IV), wird das zunächst aufgebaute Stereozentrum an C-14 wieder beseitigt.

<sup>22</sup> J. Staunton, K. J. Weissman, *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 380-416.

<sup>23</sup> C. W. Carreras, R. Pieper, C. Khosla, *The chemistry and biology of fatty acid, polyketide, and nonribosomal peptide biosynthesis*, In *Topics in Current Chemistry*, Vol. 188, Springer-Verlag, Heidelberg **1997**, 86-126.

<sup>24</sup> H. B. Bode, R. Müller, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 6988-7007.

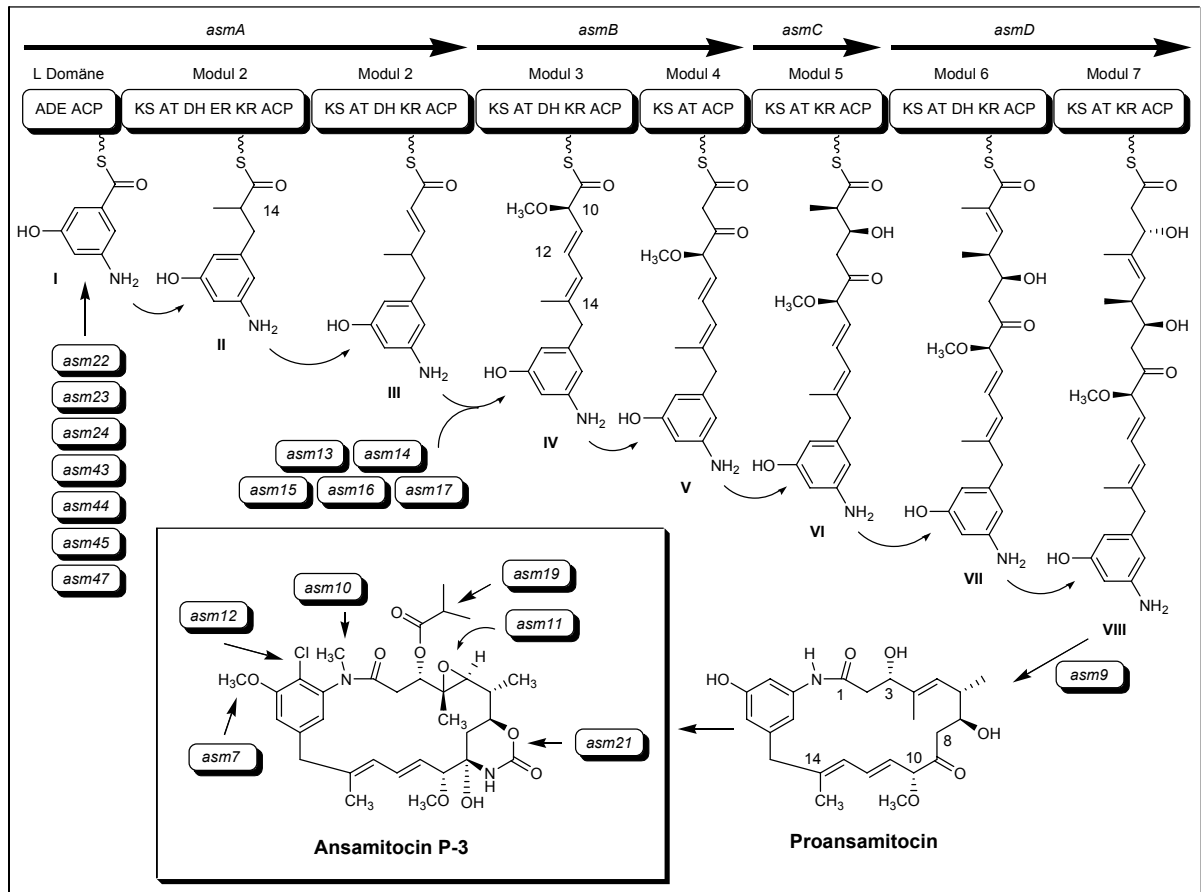
<sup>25</sup> D. A. Hopwood, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2465-2497.

<sup>26</sup> Für KS wird auch manchmal der Ausdruck  $\beta$ -Ketoacylsynthase benutzt.

<sup>27</sup> UDP-Glucose = Uridin-diphosphat-Glucose

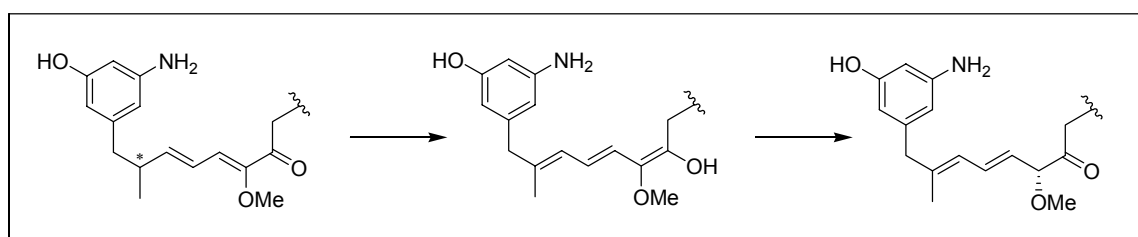
<sup>28</sup> Kanosamin = 3-Amino-3-desoxyglucose

<sup>29</sup> AminoDAHP = 3,4-Didesoxy-4-amino-D-arabino-heptulosonsäure-7-phosphat



**Abbildung 3:** Zusammenfassung der Biosynthese von Ansamitocin P-3 (2). Gezeigt sind die im Aufbau involvierten Gene (*asm*).

Welche Konfiguration an dieser Position zwischenzeitlich Auftritt ist daher nicht bekannt. Der Aufbau des gesamten Rückgrats erfolgt im Anschluss durch drei Acetat-, zwei weitere Propionat- und einer ungewöhnlichen „Glycolat“-Einheit in Modul 3 (IV). Auf welcher Stufe die Verschiebung der Doppelbindungen genau stattfindet, ist bis heute nicht vollständig geklärt. Weitere Untersuchungen legen jedoch nahe, dass sich dieser Schritt noch auf der PKS vollzieht.<sup>30</sup> Ein denkbarer Mechanismus ist in Abbildung 4 dargestellt. Dieser geht von einer



**Abbildung 4:** Hypothetischer Mechanismus der Doppelbindungs-Verschiebung

<sup>30</sup> P. Spittler, L. Bai, G. Shang, B. J. Carroll, T.-W. Yu, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14236-14237.

vinylogene Keto-Enol-Tautomerie aus, durch welche im ersten Schritt ein Trien-System ausgebildet wird. Durch die Rückbildung zum Keton wird schließlich die im Naturstoff vorliegende Struktur erhalten. Interessant ist hierbei die Tatsache, dass diese Isomerisierung enantioselektiv ablaufen muss, sofern der gezeigte Mechanismus zutrifft.

Sobald das acyclische *seco*-Proansamitocin (VIII) fertig gestellt ist, erfolgt die Abspaltung von der PKS, sowie die Makrolactamisierung durch *Asm9*, einer Amid-Synthase (bzw. Thioesterase). Alle nun folgenden Modifizierungen des Proansamitocin werden post-PKS-enzymatisch durchgeführt, d.h. das Molekül ist (vermutlich) nicht mehr an den Multienzymcluster gebunden. Erwähnenswert ist darin noch die Chlorierung der C-19 Position im Aromaten durch die Halogenase *Asm12*.<sup>31</sup> Die Größe der an der Synthese beteiligten Proteine beträgt zwischen 67 (*Asm32*) und 4684 Aminosäuren (*AsmA*). Für eine weitaus detailliertere Ausführung der Biosynthese sei erneut auf den schon zitierten Review-Artikel verwiesen.<sup>8</sup>

### 1.3. Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

Wie zuvor schon kurz erwähnt, ist das hohe zytostatische Potential der Maytansinoide auf die Inhibition der Tubulin-Polymerisation zurückzuführen.<sup>32</sup> Ähnlich wie bei den Vinca-Alkaloiden<sup>33</sup> binden die Maytansinoide an die  $\beta$ -Untereinheit des Tubulins,<sup>34</sup> was in einer Destabilisierung der Mikrotubuli und Hemmung der Mitose in der Metaphase resultiert. Untersuchungen mit P388-Zellen zeigten dabei deutliche Veränderungen der Zellstruktur – die Vergrößerung der gesamten Zelle, eine weit verstreute Anordnung der Chromosomen und die Bildung mehrerer Zellkerne.<sup>35</sup>

Eine Zusammenfassung der bis dato ermittelten Struktur-Wirkungs-Beziehungen ist in Abbildung 4 gegeben. Die meisten der darin aufgeführten Beziehungen konnten durch die große Vielfalt natürlicher Maytansinoide, sowie 29 semi-synthetisch dargestellte Maytansinderivate untersucht werden.<sup>36</sup> Dabei stellte sich heraus, dass zwei funktionelle Gruppen

<sup>31</sup> Weiterführende Literatur zu Halogenasen: a) K.-H. van Pée, *Arch. Microbiol.* **2001**, *175*, 250-258.

b) C. D. Murphy, *J. Appl. Microbiol.* **2003**, *94*, 539-548.

<sup>32</sup> S. Remillard, L. I. Rebhun, G. A. Howie, S. M. Kupchan, *Science* **1975**, *189*, 1002-1005.

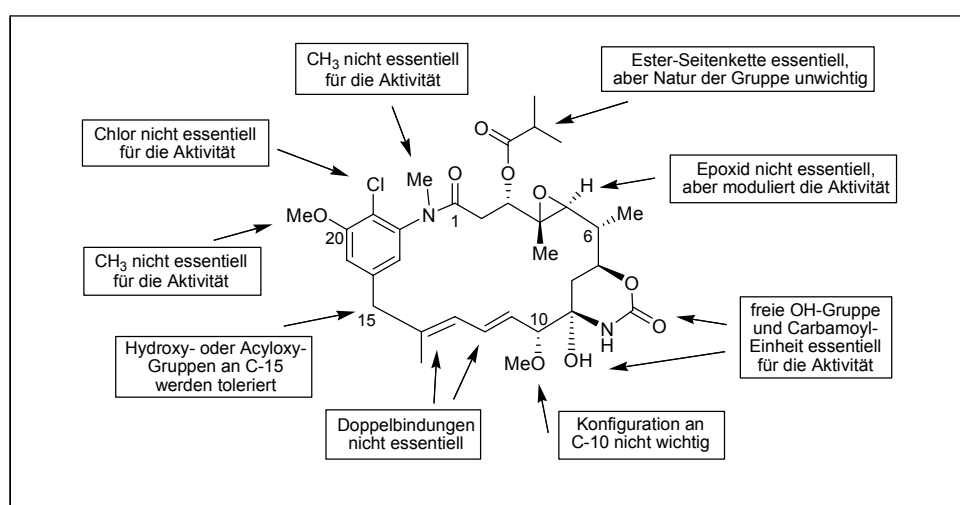
<sup>33</sup> S. S. Rai, J. Wolff, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 14707-14711.

<sup>34</sup> E. Hamel, *Pharmacol. Therap.* **1992**, *55*, 31-51.

<sup>35</sup> K. Ootsu, Y. Kozai, S. Takeuchi, S. Ikeyama, K. Igarashi, K. Tsukamoto, Y. Sugino, K. Tashiro, S. Tsukagoshi, Y. Sakurai, *Cancer Res.* **1980**, *40*, 1707-1717.

<sup>36</sup> A. Kawai, H. Akimoto, Y. Kozai, K. Ootsu, S. Tanida, N. Hashimoto, H. Nomura, *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 3441-3451.

grundlegenden Einfluss auf die Antitumor-Aktivität besitzen – die Ester-Seitenkette und das Carbinol-Amid. Letzterer wird eine entscheidende, alkylierende Aufgabe zugeschrieben. Das Fehlen dieser Einheit wurde in einer stark reduzierten Zytotoxizität deutlich.<sup>37</sup> Ebenso wurde bei einem Verlust der Ester-Seitenkette oder Bildung des Epimers ein drastischer Einbruch der antileukämischen Wirkung beobachtet. Maytansinol mit seinem freien Alkohol an C-3, oder Maysine (mit einem 2,3-ungesättigtem System) zeigten nur noch 1/100.000 der Zytotoxizität vergleichbarer Maytansinol-Ester. Auf die weitere Aufzählung der bislang nicht genannten funktionellen Gruppen sei hier verzichtet, da ihnen in diesem Kontext keine so entscheidende Bedeutung zukommt.



**Abbildung 5:** Zusammenfassung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der Maytansine

Dass mit den natürlichen Maytansinoiden die schon sehr hohe Wirksamkeit noch nicht ausgeschöpft ist, konnte mit dem homologen C-3-Phenylglycinat des Maytansins gezeigt werden. Dieses halbsynthetisch erzeugte Analogon wies sogar eine zwei- bis vierfach höhere Aktivität als sein natürliches Pendant auf.<sup>36</sup>

Auf ebenfalls erfolgte Studien zum Metabolismus an tierischen und menschlichen Leberzellen soll nicht weiter eingegangen werden, der interessierte Leser sei hier auf die entsprechende Literatur verwiesen.<sup>8</sup>

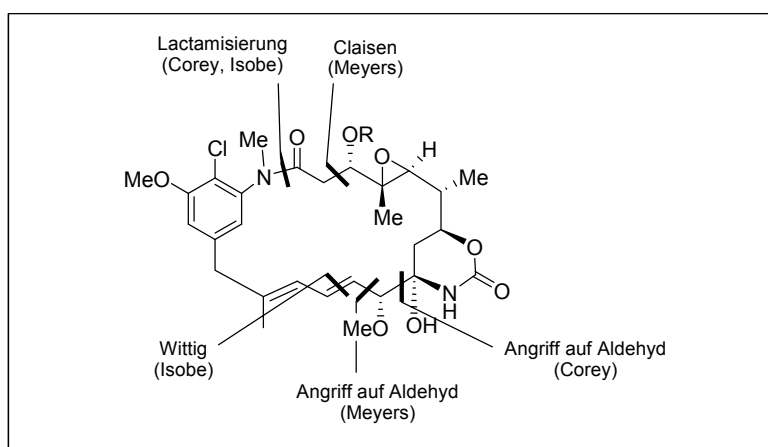
<sup>37</sup> S. M. Kupchan, A. T. Sneden, A. R. Branfman, G. A. Howie, L. I. Rebhun, W. E. McIvor, R. W. Wang, T. C. Schnaitman, *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 31-37.



### 1.4. Totalsynthesen der Maytansinoide

Das Auffinden einer so potenten Struktur wie der des Maytansin (**1**) weckte selbstverständlich auch das Interesse der organisch-chemischen Gemeinde und das nur geringe Vorkommen des Wirkstoffs in *Maytenus serrata* lieferte ein weiteres Argument für einen synthetischen Zugang zu diesen Antibiotika.

So wurde besonders in den 80er Jahren eine Reihe von Totalsynthesen publiziert, teilweise racemisch, in anderen Ansätzen enantiomerenrein. Dabei wurden verschiedenste Ansätze zur Bildung des Makrolactams verfolgt, wobei MEYERS über die erste erfolgreiche Totalsynthese berichtete.<sup>38</sup> Die bis 1985 erfolgten Totalsynthesen der Maytansinoide, Ansamycine und weiterer Macrolid-Antibiotika wurden schließlich von PATERSON in einem aufschlussreichen



**Abbildung 6:** Hauptschnitte in Totalsynthesen von COREY,<sup>39</sup> MEYERS<sup>40</sup> und ISOBE.<sup>41</sup>

Artikel zusammengefasst.<sup>42</sup> Die Schnitte der wichtigsten Zugänge seien in Abbildung 5 aufgezeigt. Andere Wege zu den Maytansinen, sowie zu wichtigen Fragmenten, wurden in der Folge von PETRAKIS,<sup>43</sup> HO,<sup>44</sup> HODGSON<sup>45</sup> und GOODWIN<sup>46</sup> erarbeitet.

<sup>38</sup> A. I. Meyers, *Chimia* **1980**, *34*, 281-282.

<sup>39</sup> E. J. Corey, L. O. Weigel, A. R. Chamberlin, H. Cho, D. H. Hua, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6613-6615.

<sup>40</sup> A. I. Meyers, P. J. Reider, A. L. Campbell, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6597-6598.

<sup>41</sup> M. Isobe, M. Kitamura, T. Goto, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4997-4999.

<sup>42</sup> I. Paterson, M. M. Mansuri, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 3569-3624.

<sup>43</sup> K. S. Petrakis, J. Fried, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 3065-3066.

<sup>44</sup> a) P.-T. Ho, *Can. J. Chem.* **1980**, *58*, 858-860; b) P.-T. Ho, *Can. J. Chem.* **1980**, *58*, 861-863.

<sup>45</sup> D. M. Hodgson, P. J. Parsons, P. A. Stones, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 4133-4142.

<sup>46</sup> A) T. E. Goodwin, S. G. Orlicek, N. R. Adams, L. A. Covey-Morrison, J. S. Jenkins, G. L. Templeton, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5889-5892; b) T. E. Goodwin, K. R. Cousins, H. M. Crane, P. O. Eason, T. E. Freyaldenhoven, C. C. Harmon, B. K. King, C. D. LaRocca, R. L. Lile, S. G. Orlicek, R. W. Pelton, O. L. Shedd, J. S. Swanson, J. W. Thompson, *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, *17*, 323-339.

Wie so häufig konnten sämtliche Ansätze jedoch nicht die für klinische Tests erforderlichen Mengen erbringen und nachdem mit Entdeckung der Ansamitocine schließlich ein mikrobieller Zugang gefunden wurde, verringerte sich das Interesse an weiteren vollsynthetischen Arbeiten.

### ***1.5. Chemoenzymatische Synthese / Vorläufer-dirigierte Biosynthese***

In der pharmazeutischen Forschung finden sich heutzutage verschiedene Ausgangspunkte zur Optimierung bereits vorhandener bzw. potentiell neuer Wirkstoffe. Im Fall von relativ kleinen, vollsynthetischen Substanzen ist es, z.B. durch einfachen Wechsel verwendeter Reagenzien, verhältnismäßig leicht an entsprechende Derivate gelangen. Bei komplexen Naturstoffen sind chemische Modifikationen einzelner Strukturmerkmale jedoch oftmals nur mit großen Schwierigkeiten zu erreichen.

Neben dem Ansatz der Kombination unterschiedlicher Gen-Cluster mit anschließender heterologer Expression<sup>47</sup> oder direkter Abänderung der PKS-Gene,<sup>48, 49</sup> kann hier die Verfütterung neuer oder modifizierter Startereinheiten als alternativer Zugang zur „kombinatorischen Biosynthese“ gesehen werden. Diese sogenannte Vorläufer-dirigierte Biosynthese [*engl.* precursor directed biosynthesis (PDB)] erlaubt einen verhältnismäßig einfachen Zugang zu pharmakologisch wertvollen Naturstoff-Analoga.

Beispiele für Vorläufer-dirigierte Biosynthesen finden sich in jüngster Zeit immer häufiger.<sup>50, 51, 52</sup> Verschiedene Gruppen, darunter KHOSLA und LEADLAY, nutzten diese Kombination aus Chemie und Biologie um zu neuen Derivaten von Epothilon<sup>53</sup> und Rapamycin<sup>54</sup> zu gelangen. Damit die „fremden“ Startsubstanzen nicht mit dem ursprünglichen Original um die Lade-Domäne konkurrieren müssen, bedient man sich der sogenannten „Mutasyntese“.<sup>55</sup> Hierbei werden die Gene, welche für die Biosynthese der Startereinheit codieren ausgeschaltet. Demzufolge wird die Startereinheit und somit auch der Naturstoff nicht mehr produziert. Man spricht in diesen Fällen auch von „Blockmutanten“ der ursprünglichen Mikroorganismen. Mit

<sup>47</sup> J. Staunton, B. Wilkinson, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, *5*, 159-164.

<sup>48</sup> L. Katz, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2557-2575.

<sup>49</sup> K. T. Watts, B. N. Mijts, C. Schmidt-Dannert, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 927-940.

<sup>50</sup> A. M. Hill, B. L. Thompson, *Chem. Commun.* **2003**, 1360-1361.

<sup>51</sup> J. Garcia-Bernardo, L. Xiang, H. Hong, B. S. Moore, P. F. Leadlay, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 1129-1131.

<sup>52</sup> E. I. Graziani, F. V. Ritacco, M. Y. Summers, T. M. Zabriskie, K. Yu, V. S. Bernan, M. Greenstein, G. T. Carter, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2385-2388.

<sup>53</sup> C. N. Boddy, K. Hotta, M. Lovato Tse, R. E. Watts, C. Khosla, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7436-7437.

<sup>54</sup> P. A. S. Lowden, G. A. Böhm, S. Metcalfe, J. Staunton, P. F. Leadlay, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 535-538.

<sup>55</sup> W. Wohlleben, S. Pelzer, *Chem. Biol.* **2002**, *10*, 1163-1164 und darin zitierte Literatur.

dieser Methode konnten schon einige neue Wirkstoffe gewonnen werden,<sup>56, 57, 58</sup> was besonders eindrucksvoll an einer angepassten Biosynthese eines Avermectin<sup>59</sup>-Derivats gezeigt wurde.<sup>60</sup>

In diesem Zusammenhang sei auch noch auf eine interessante Publikation der KHOSLA-Gruppe hingewiesen, welche zunächst eine heterologe Expression der ersten Polyketidsynthase-Domäne des Erythromycin-Produzenten *Saccharopolyspora erythraea*, durchführte. Bei anschließender Fütterung verschiedener unnatürlicher Vorläufer konnten neue 16-gliedrige Makrolactone erhalten werden.<sup>61</sup>

Wie an diesen Beispielen zu sehen ist, können auf diese Weise gezielte Veränderungen am Naturstoff erhalten werden, welche auf anderen Wegen nur schwer durchzuführen sind. Voraussetzung hierfür ist natürlich, dass eine entsprechend modifizierte Startereinheit erkannt und auf die Lade-Domäne aufgebracht wird. Die Substratspezifität der beteiligten Enzyme sollte demnach möglichst gering sein.

Um eine effektive Beladung zu begünstigen, bietet es sich in den meisten Fällen an, die synthetischen Startereinheiten als Thioester zu aktivieren. Dafür wird in den meisten Fällen der vergleichsweise günstige *N*-Acetylcysteamin-thioester (SNAC-Ester) aus der jeweiligen Säure gebildet (Abbildung 6). Diese Gruppe täuscht den natürlichen vorliegenden Acylgruppen-Überträger Coenzym A (CoA) vor und wird entweder direkt in die Biosynthese eingebunden oder in einer vorangehenden Umesterung durch Übertragung auf CoA aktiviert. Erfahrungsgemäß besteht eine hohe Akzeptanz der SNAC-Ester, sowohl *in vitro* als auch *in vivo*. Weiterhin wird eine verbesserte Membrangängigkeit dieses Mimetikums gegenüber seinem korrespondierenden CoA-Ester diskutiert.<sup>62, 63</sup>

---

<sup>56</sup> M. A. Gregory, H. Petkovic, R. E. Lill, S. J. Moss, B. Wilkinson, S. Gaisser, P. F. Leadlay, R. M. Sheridan, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4835-4838.

<sup>57</sup> J. A. Kalaitzis, M. Izumikawa, L. Xiang, C. Hertweck, B. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9290-9291.

<sup>58</sup> M. Ziehl, J. He, H.-M. Dahse, C. Hertweck, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1226-1230.

<sup>59</sup> Avermectin ist ein überwiegend in der Veterinärmedizin eingesetzter, anthelmintischer Wirkstoff.

<sup>60</sup> T. A. Cropp, D. J. Wilson, K. A. Reynolds, *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, 980-983.

<sup>61</sup> a) K. Kinoshita, P. G. Willard, C. Khosla, D. E. Cane, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2495-2502;

b) K. Kinoshita, C. Khosla, D. E. Cane, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 3889-3907.

<sup>62</sup> a) S. Yue, J. S. Duncan, Y. Yamamoto, C. R. Hutchinson, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 1253-1255;

b) N. L. Pohl, R. S. Gokhale, D. E. Cane, C. Khosla, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11206-11207

<sup>63</sup> C. Khosla, D. E. Cane, F. Kudo, K. Kinoshita, *Chem. Biol.* **2003**, *9*, 131-142.

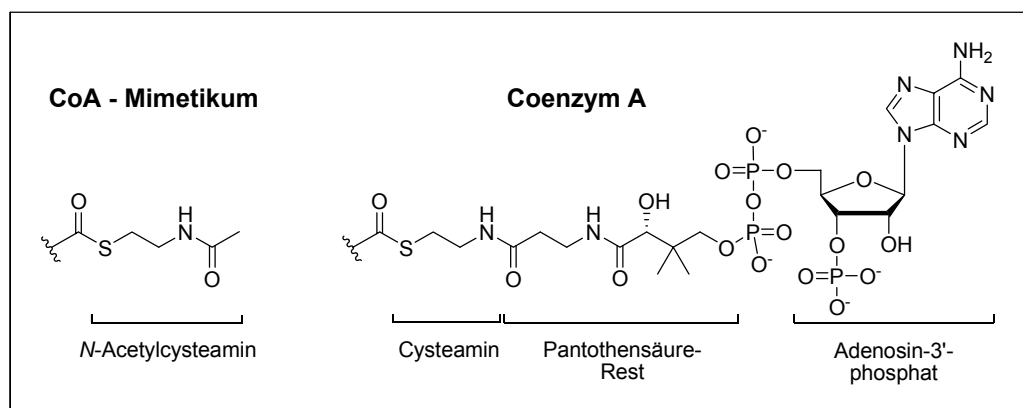


Abbildung 7: Thioester von *N*-Acetylcysteamin und Coenzym A

Ein weiterer an dieser Stelle zu betrachtender Aspekt stellt die im Rahmen dieser Dissertation geplante Nutzung der schon in Kapitel 1.2. vorgestellten Thioesterase *Asm9* dar. Solche von Thioesterasen / Amidasen katalysierte Makrozyklisierungen finden sich in vielen PKS- und NRPS-<sup>64</sup> Systemen wieder.<sup>65, 66</sup> Vor einiger Zeit gelang WALSH und KHOSLA schließlich die Expression der Thioesterase-Domäne des Epothilon-Produzenten *Sorangium cellulosum*, womit ein semi-synthetisch dargestelltes, offenkettiges Epothilon in die makrozyklische Form überführt werden konnte.<sup>67</sup> Im Fall des Pikromycin-PKS-Systems von *Streptomyces venezuelae* ATCC15439 wurde neben kinetischen Studien auch die Substratspezifität der Thioesterase untersucht.<sup>68</sup> Diese zeigte eine noch weitaus größere Toleranz als z. B. die von CANE für 6-Deoxyerythronolid-B-Synthase (DEBS) ermittelte.<sup>69</sup> An linearen Peptiden konnten schon früher ähnliche Untersuchungen erfolgreich durchgeführt werden.<sup>70</sup> Die unmittelbare Nutzung solcher Enzyme als „chemische Werkzeuge“ für anspruchsvolle Makrolactamierungen wird in nächster Zeit zweifellos weitere Beachtung finden, ganz unabhängig vom Verlauf des vorliegenden Projektes.

<sup>64</sup> NRPS = nichtribosomale Peptidsynthase

<sup>65</sup> C. Khosla, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2577-2590.

<sup>66</sup> M. A. Marahiel, T. Stachelhaus, H. D. Mootz, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2651-2673.

<sup>67</sup> C. Boddy, T. L. Schneider, K. Hotta, C. T. Walsh, C. Khosla, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3428-3429.

<sup>68</sup> C. C. Aldrich, L. Venkatraman, D. H. Sherman, R. A. Fecik, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8910-8911.

<sup>69</sup> H. Lu, S. C. Tsai, C. Khosla, D. E. Cane, *Biochemistry* **2002**, *41*, 12590-12597.

<sup>70</sup> a) R. M. Kohli, C. T. Walsh, M. D. Burkart, *Nature* **2002**, *418*, 658-661; b) R. M. Kohli, J. W. Trauger, D. Schwarzer, M. A. Marahiel, C. T. Walsh, *Biochemistry* **2001**, *40*, 7099-7108.

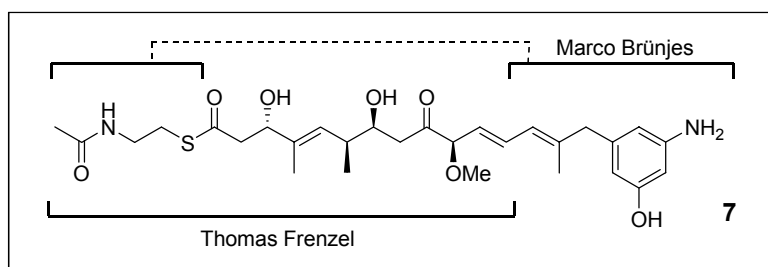
## 2. Zielsetzungen

Das hier beschriebene Projekt umfasst im Wesentlichen zwei Bereiche. Zum einen ist die Generierung und biologische Erprobung neuer Maytansinoid-Analoga vorgesehen, welche überdies neue Erkenntnisse zu den Struktur-Aktivitäts-Beziehungen zulassen und ein eventuell verbessertes pharmakologisches Potential aufweisen. Hierfür soll sich der Vorläufer-dirigierten Biosynthese bedient werden, d.h. der chemischen Synthese modifizierter Startereinheiten und fortgeschrittener Intermediate, sowie deren anschließende Fermentation mit einer Blockmutante des natürlichen Ansamitocin-Produzenten. Das *seco*-Proansamitocin stellt dabei den bis heute umfangreichsten, vollsynthetisch dargestellten und als Vorläufer genutzten Aktivester dar. In verschiedenen anderen Ansätzen wurde zwar schon mit ähnlich großen SNAC-Estern gearbeitet, jedoch wurden diese überwiegend semi-synthetisch aus den jeweiligen Naturstoffen erhalten.

Als weiteres Ziel wird die vollständige Aufklärung der Ansamitocin-Biosynthese verfolgt. Dies umfasst sowohl das intermediär auftretende Stereozentrum an C-14, wie auch den Zeitpunkt der Doppelbindungs-Isomerisierung (siehe hierzu Kapitel 1.2.). Dafür ist die Darstellung und Verfütterung entsprechender Vorläufer beabsichtigt.

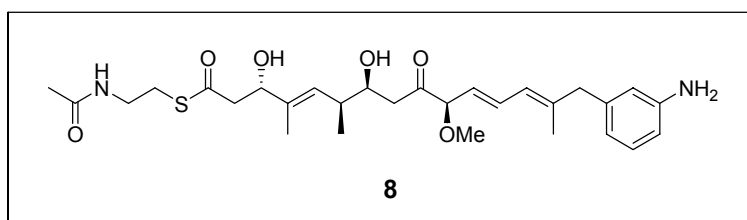
### 2.1. Chemisch-synthetischer Abschnitt

Dieser Abschnitt befasst sich mit der Darstellung verschiedener natürlicher und unnatürlicher Vorläufer der Ansamitocin-Biosynthese. An erster Stelle stehen dabei die Untersuchungen zur Synthese des *seco*-Proansamitocin **7**, welche in Zusammenarbeit mit THOMAS FRENZEL begonnen wurden. Die Aufteilung des Zielmoleküls sieht für diese Arbeit die Darstellung des aromatischen Abschnitts, sowie die Gewinnung erster Erkenntnisse zur geeigneten Einführung des Thioesters vor.



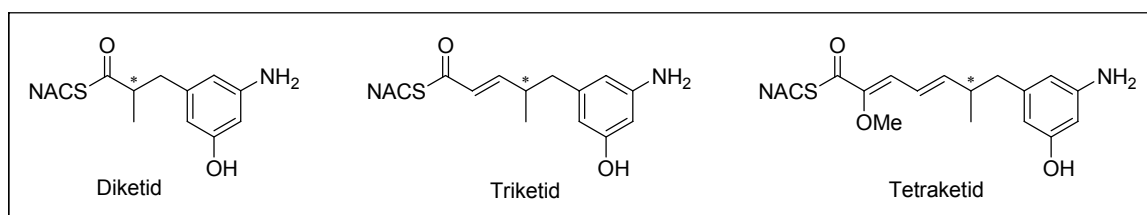
**Abbildung 8:** Aufteilung der synthetischen Arbeiten zum SNAC-Ester von *seco*-Proansamitocin **7**.

Eine differenziertere retrosynthetische Analyse von **7** erfolgt im anschließenden Kapitel 3.1. Weiterhin soll ein Analogon des natürlichen Oktaketids mit einer leichten Variation der aromatischen Seite geschaffen werden. Eine einfache Modifikation stellt hier z.B. die Entfernung der phenolischen Einheit dar. Für den aliphatischen Abschnitt kann hier auf Vorarbeiten von THOMAS FRENZEL zurückgegriffen werden. Zusätzlich sollen erste Grundlagen zur chemischen Zyklisierung der Proansamitocine erarbeitet werden.



**Abbildung 9:** Geplantes Derivat des natürlichen *seco*-Proansamitocin

Ein weiterer Teil dieser Arbeit sieht die Präparierung der ersten natürlichen, in der Biosynthese vorkommenden Ketide vor (Abbildung 10). Die Diketide stellen hierfür die Grundlage zur Aufklärung der bereits erwähnten, unbekanntenen Konfiguration des intermediär vorliegenden Stereozentrums an C-14 dar. Hierfür ist eine Generierung beider Enantiomere unabdingbar. Mit der Synthese fortgeschrittener Vorläufer soll schließlich weitere Erkenntnis über den Zeitpunkt der Doppelbindungs-Isomerisierung gewonnen werden. In diesem Rahmen soll sich auch mit der Etablierung geeigneter Methoden zu Darstellung der ungesättigten Aktivester beschäftigt werden.



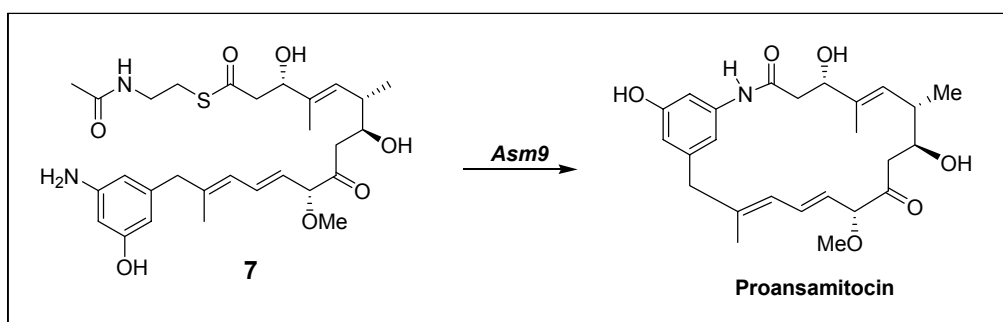
**Abbildung 10:** Natürliche Vorläufer in der Biosynthese des Ansamitocin P-3.

Der dritte Abschnitt sieht die Darstellung diverser aromatischer Vorläufer vor, welche in der Biosynthese die natürliche Startereinheit AHBA ersetzen sollen. Ziel dieses Vorgehens ist zum einen die Generierung neuer Ansamitocine, welche für weitere Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen eingesetzt werden sollen. Andererseits kann auf diese Weise weiteres Wissen über die Substratspezifität der Lade-Domäne gewonnen werden. Die jeweiligen

Abänderungen der  $mC_7N$ -Einheit (3-Aminobenzoessäure) sollen dabei auf bereits erfolgten Arbeiten und der so genannten Bioisosterie basieren. Dieser im deutschen Sprachgebrauch selten benutzte Ausdruck steht für ein rationales Design neuer oder verbesserter Wirkstoffe, welche auf schon vorhandenen Strukturen basieren.<sup>71</sup> Nun ist es sicherlich nicht einfach, biologische Aktivität (Wechselwirkungen mit Rezeptoren oder Enzymen) in mathematische Terme zu fassen. Einige Arbeiten setzten sich jedoch schon mit den Grundlagen zur Quantifizierung sterischer und elektronischer Effekte auseinander.<sup>72</sup> Einzelne funktionelle Gruppen wurden darin durch verschiedene Ausdrücke bzw. Indizes für das Volumen, die Polarität, den „elektrotopologischen Charakter“ und andere physikalische Eigenschaften definiert. Für eine umfassende, tabellarische Darstellung dieser Zusammenhänge sei auf die einschlägige Literatur verwiesen.<sup>73</sup>

## 2.2. Biologische Arbeiten mit *Actinosynnema pretiosum*

Der zweite Hauptabschnitt dieser Arbeit befasst sich mit den Fermentationen der synthetisch gewonnenen, natürlichen und unnatürlichen Vorläufer. Das primäre Ziel stellt dabei der enzymatische Ringschluss des *seco*-Proansamitocin **7** mit der Cyclase *Asm9* dar, welche zeitgleich in einem Projekt der Göttinger Arbeitsgruppe GROND gewonnen werden soll.



**Abbildung 11:** Geplante enzymatische Makrolactamisierung mit *Asm9*.

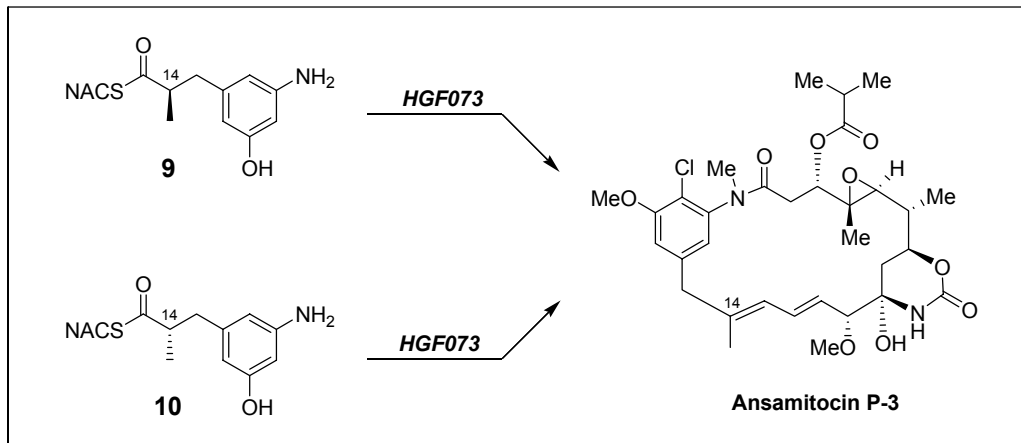
Mit der in der Arbeitsgruppe FLOSS vorhandenen AHBA-Blockmutante des Stammes *Actinosynnema pretiosum* (*HGF073*), dem eigentlichen Produzenten von Ansamitocin P-3, sind weitere Fütterungsexperimente geplant. So könnten Studien mit beiden Enantiomeren

<sup>71</sup> L. M. Lima, E. J. Barreiro, *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 23-49.

<sup>72</sup> G. A. Patani, E. J. LaVoie, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 3147-3176.

<sup>73</sup> L. B. Kier, L. H. Hall, *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*, 138-151.

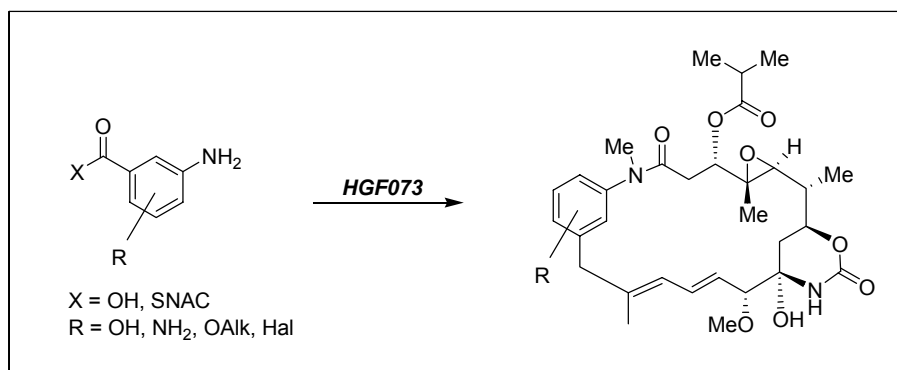
des Diketids Aufschluss über das temporäre chirale Zentrum (C-14) geben. Die Konfiguration der im Geldanamycin sichtbaren Methylgruppe (siehe Abbildung 2) könnte aufgrund der verwandten Biosynthese zwar schon als ein Indiz gewertet werden, doch ein endgültiger Beweis steht hierfür noch aus.



**Abbildung 12:** Substratspezifität der ersten PKS-Domäne und Aufklärung der Konfiguration von C-14 während der Biosynthese

Weiterhin ist beabsichtigt, mit den synthetisierten Tri- und Tetraketiden umfassendere Informationen über Zeitpunkt der Doppelbindungs-Isomerisierung zu erhalten.

Im Bereich der Vorläufer-dirigierten Biosynthese sollen die unterschiedlichen, im chemischen Teil dieser Arbeit präparierten Substanzen als unnatürliche Startereinheit der Blockmutante *HGF073* dienen. Vorläufiges Ziel dieser Vorgehensweise ist die Erzeugung neuer Maytansinoide, welche zusätzliche Erkenntnisse im Bereich der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen liefern können.



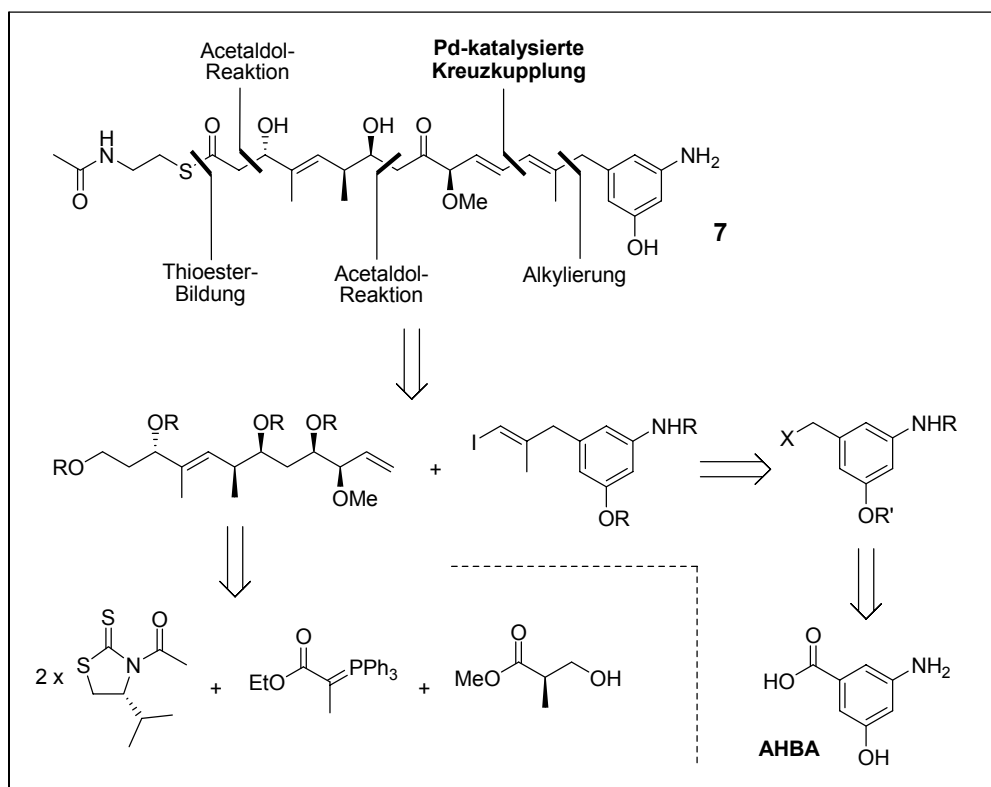
**Abbildung 13:** Vorläufer-dirigierte Biosynthese mit der AHBA-Blockmutante *HGF073*



### 3. Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

#### 3.1. Synthese von *seco*-Proansamitocin<sup>74</sup> und Analoga

Betrachtet man das *seco*-Proansamitocin retrosynthetisch, so ergeben sich aus dem in Abbildung 14 gezeigten Hauptschnitt (Fett gedruckt) zwei Fragmente, welche über eine Palladium-katalysierte Reaktion (bevorzugt HECK-Kupplung) zusammengeführt werden sollten. Da der hier aufgezeigte linke Abschnitt des Moleküls THOMAS FRENZEL vorbehalten war, soll an dieser Stelle nicht weiter darauf eingegangen werden. Die wichtigsten Schritte und entsprechenden Vorläufer seien hier nur schematisch aufgeführt. Detailliertere Informationen finden sich hierzu in seiner Dissertation<sup>75</sup> und in der angegebenen Publikation. Das in dieser Dissertation bearbeitete Vinyljodid liefert bei weiterer Rückführung das Grundgerüst des Aromaten, mit geeigneter Fluchtgruppe in benzylicher Position. Zusätzliche Vereinfachungen lassen letztlich die 3-Amino-5-hydroxybenzoesäure, den natürlichen Vorläufer der Maytansine erkennen.



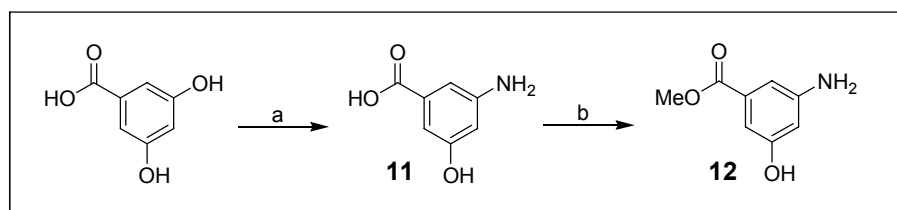
**Abbildung 14:** Retrosynthetische Analyse des *seco*-Proansamitocin (7).  
(R = Schutzgruppe, X = Abgangsgruppe)

<sup>74</sup> T. Frenzel, M. Brünjes, M. Quitschalle, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 135-138.

<sup>75</sup> T. Frenzel, Dissertation: *Studien zur chemoenzymatischen Synthese von Maytansinoid-Analoga – Synthese von seco-Proansamitocin*, Hannover **2005**.

### 3.1.1. Synthese der Benzylhalogenide

Wie bereits in der Einleitung erwähnt wurde, stellen die Maytansine nicht die einzigen Naturstoffe dar, welche aus der 3-Amino-5-hydroxybenzoesäure biosynthetisch aufgebaut werden. Daher war es nicht weiter erstaunlich, entsprechende Stellen in der Literatur zu finden, welche sich ebenfalls schon mit der Darstellung dieser ungewöhnlichen Aminosäure beschäftigten. Im Zusammenhang mit ihren biologischen Arbeiten an verschiedenen AHBA verarbeitenden *Streptomyceten*, veröffentlichte die Gruppe des Australiers R. W. RICKARDS bereits 1983 die entsprechende Synthese, ausgehend von 3,5-Dihydroxybenzoesäure.<sup>76</sup> Diese wurde dafür in einer Stahlbombe bei 180°C für 40 Stunden mit konzentriertem Ammoniak und Ammoniumchlorid umgesetzt. Nach einer leichten Abwandlung der Vorschrift für die folgende Veresterung konnte der Methylester **12** in 75% Ausbeute über beide Stufen erhalten werden.



**Schema 1:** a) konz. NH<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, 180°C, 40 h; b) AcCl, MeOH, 65°C, 36 h, 75% (2 Stufen)

Ein zweiter Zugang, ausgehend von 3,5-Dinitrobenzoesäure, durch Umsetzung mit Lithiummethanolat und HMPA sollte nicht zum Einsatz kommen.<sup>77</sup>

Für die Schützung der phenolischen Funktion kam sehr schnell die TBDPS-Gruppe als Silylether in Betracht. Dem Anilin wurde zunächst eine für primäre Amine recht ungewöhnlich Schutzgruppe zugewiesen, welche bis heute noch keine große Anwendung fand – Dimethylpyrrol.<sup>78</sup> Diese konnte recht einfach und in guter Ausbeute, säurekatalysiert aus 2,5-Hexandion durch azeotrope Destillation eingeführt werden.<sup>79</sup> Die anschließende Bildung des Silylethers unter Standardbedingungen<sup>80</sup> bereitete ebenfalls keine Probleme.

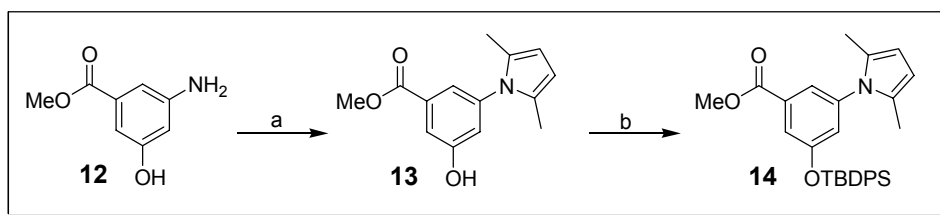
<sup>76</sup> A. M. Becker, R. W. Rickards, R. F. C. Brown, *Tetrahedron* **1983**, *39*, 4189-4192.

<sup>77</sup> A. J. Herlt, J. J. Kibby, R. W. Rickards, *Aust. J. Chem.* **1981**, *34*, 1319-1324.

<sup>78</sup> W. S. Bishop, *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67*, 2261-2262.

<sup>79</sup> S. P. Brueckelmann, S. E. Leach, G. D. Meakins, M. D. Tirel, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1984**, 2801-2807.

<sup>80</sup> E. J. Corey, A. Venkateswarlu, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190-6191.



**Schema 2:** a) 2,5-Hexandion, AcOH, Toluol, 90°C, 90%; b) TBDPS-Cl, Imidazol, 4-DMAP, DMF, RT, 12 h, 96%.

Da sich schon im Laufe der parallel durchgeführten Diketidsynthese (siehe Kapitel 3.2) bemerkbar machte, dass das Pyrrol als „Schutzgruppe“ nur bedingt geeignet ist und für das *seco*-Proansamitocin eine Freisetzung unter den doch recht drastischen Bedingungen wohl nicht möglich wäre, wurde auf die etablierten Methoden der Peptidchemie zurückgegriffen. Das Anilin sollte durch die wohl gebräuchlichste Stickstoffschutzgruppe, als entsprechendes *tert*-Butylcarbammat blockiert werden. Diese Strategie bereitete jedoch weitaus mehr Schwierigkeiten, als es die Synthesepaltung zunächst vermuten ließ. Als nahezu einzige Arbeitsgruppe berichtete bis dato BARRIÈRE in einer Publikation über eine Schutzgruppe bei der Verwendung von AHBA.<sup>81</sup> Hier wurden jedoch beide Heteroatome und nur kurzfristig mit einer Chloracetyl-Einheit versehen.<sup>82</sup> Mit den üblichen Verfahren (Boc<sub>2</sub>O/THF, mit und ohne Zusatz einer organischen Base)<sup>83, 84</sup> konnte, vermutlich durch die deutlich höhere Nucleophilie des phenolischen Sauerstoffs, einzig der Kohensäurediester **15** erhalten werden. Auch bei Einsatz mehrerer Äquivalente Boc<sub>2</sub>O erfolgte der Angriff auf das Anilin nur äußerst langsam. Erst unter den leicht basischen, durch Hydrogencarbonat gepufferten<sup>85</sup> Bedingungen zur Fmoc-Einführung nach WATSON,<sup>86</sup> konnte die selektive Blockierung des Anilins erreicht werden. Die Bildung des phenolischen Silylethers **17** lief dagegen wieder unter Standardbedingungen und ohne Probleme in nahezu quantitativer Ausbeute.

<sup>81</sup> J.-C. Barrière, E. Bacqué, G. Puchault, Y. Quenet, C. Molherat, J. Cassayre, J.-M. Paris, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 12859-12886.

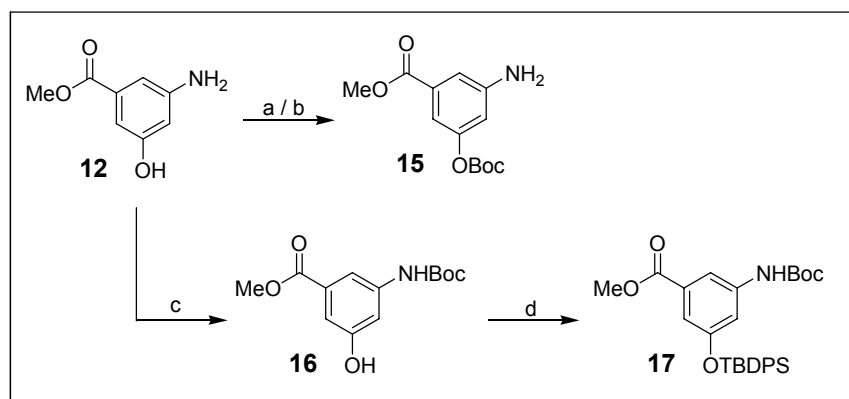
<sup>82</sup> Die Arbeit beschreibt Versuche zur Derivatisierung von Pristinamycin, welches als Synercid<sup>®</sup> gegen Ende der 90er Jahre von Rhone-Poulenc Rorer gegen Infektionen (gram-positive Erreger) auf den Markt gebracht wurde.

<sup>83</sup> a) A. M. Echavarren, N. Tamayo, D. J. Cárdenas, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6075-6083; b) S. J. Gould, R. L. Eisenberg, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6666-6671; c) E. Ponnusamy, U. Fotadar, A. Spisni, D. Fiat, *Synthesis* **1986**, 48-49; d) H. Ishida, Z. Qi, M. Sokabe, K. Donowaki, Y. Inoue, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2978-2989; e) C.-B. Xue, X. He, J. Roderick, R. L. Corbett, J. J.-W. Duan, R.-Q. Liu, M. B. Covington, R. C. Newton, J. M. Trzaskos, R. L. Magolda, R. R. Wexler, C. P. Decicco, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 4293-4297.

<sup>84</sup> Zur Boc-Schutzung des Anilins der 5-Aminosalicylsäure: F. Mu, S. L. Coffing, D. J. Riese II, R. L. Geahlen, P. Verdier-Pinard, E. Hamel, J. Johnson, M. Cushman, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 441-452.

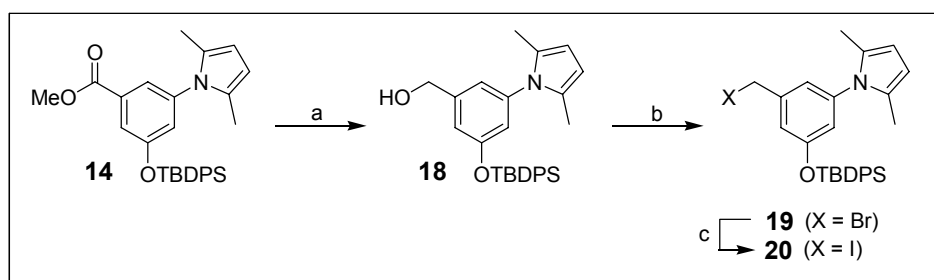
<sup>85</sup> J. Einhorn, C. Einhorn, J. L. Luche, *Synlett* **1991**, 37-38.

<sup>86</sup> T. J. N. Watson, G. A. Flynn, R. S. Shah, *Synth. Commun.* **1999**, *29*, 1379-1382.



**Schema 3:** a)  $\text{Boc}_2\text{O}$ , THF,  $65^\circ\text{C}$ , 4 h, 80%; b)  $\text{Boc}_2\text{O}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ , THF, RT  $\rightarrow$   $65^\circ\text{C}$ , 12 h; c)  $\text{Boc}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$  aq. / THF 4:1, RT, 36 h, 83%; d) TBDPS-Cl, Imidazol, 4-DMAP,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $30^\circ\text{C}$ , 12 h, 99%.

Der weitere Weg zum Vinyljodid erforderte nun für die spätere Alkylierung die Einführung einer geeigneten Fluchtgruppe in benzyllischer Position. Dafür wurde der Ester mit DIBAL-H in den homologen Alkohol **18** überführt<sup>87</sup> und anschließend durch die APPEL-Reaktion zum Benzylbromid **19** konvertiert (Schema 4).<sup>88</sup> Für den Fall einer nicht ausreichenden Reaktivität dieses Bromids, wurde für folgende Untersuchungen ferner das Benzyljodid **20** via FINKELSTEIN-Reaktion dargestellt.<sup>89</sup> Dieses tiefrote, klebrige Öl stellte sich als recht empfindlich gegenüber Säure heraus, vermutlich aufgrund des elektronenreichen Stickstoffs, welcher sehr leicht zu protonieren ist (z. B. schon durch Säurespuren bei NMR-Messungen in  $\text{CDCl}_3$ ).



**Schema 4:** a) DIBAL-H, THF,  $-78^\circ\text{C}$   $\rightarrow$   $0^\circ\text{C}$ , 90%; b)  $\text{PPh}_3$ ,  $\text{CBr}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 30 min, 98%; c)  $\text{NaI}$ , Aceton, RT, 20 min, quant.

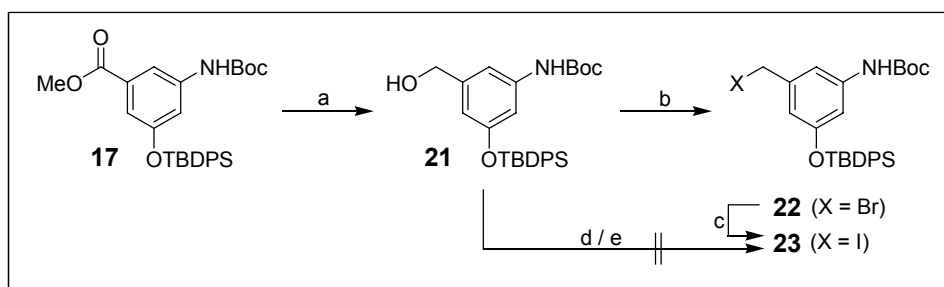
Die gleichen Reaktionsbedingungen konnten auch in der Synthese des analogen, Boc-geschützten Aromaten **17** angewendet werden. Insgesamt verlief die Sequenz zwar mit leicht

<sup>87</sup> E. Winterfeldt, *Synthesis* **1975**, 617-630.

<sup>88</sup> a) R. Appel, *Angew. Chem.* **1975**, 87, 863-874; b) T. W. Baughman, J. C. Sworen, K. B. Wagener, *Tetrahedron* **2004**, 60, 10943-10948.

<sup>89</sup> a) H. Finkelstein, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1910**, 43, 1528-1535; b) A. Roedig, *Methoden Org. Chem.* (Houben-Weyl) **1960**, Bd. 5/4, 595-605.

verringerten Ausbeuten, jedoch war das letztlich erhaltene Produkt **23** ein gut handhabbarer, nur leicht hygroskopischer Schaum. Der Versuch, das Iodid direkt aus seinem Alkohol **21** zu generieren, scheiterte sowohl nach der Methode von SAMUELSSON,<sup>90</sup> wie auch der Einsatz von Cer(III)-chlorid / Natriumiodid.<sup>91</sup> Zwei weitere Arbeiten, welche unter Verwendung weiterer Lewis-Säuren besonders bei Benzylalkoholen exzellente Ausbeuten versprechen, wurden nicht mehr erprobt, jedoch soll an dieser Stelle kurz auf diese hingewiesen werden.<sup>92, 93</sup>



**Schema 5:** a) DIBAL-H, THF, -78°C → 0°C, 99%; b) PPh<sub>3</sub>, CBr<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 30 min, 89%;  
c) NaI, Aceton, RT, 15 min, 94%; d) I<sub>2</sub>, PPh<sub>3</sub>, Imidazol, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> oder Toluol, RT bis 110°C, 0%;  
e) CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O, NaI, CH<sub>3</sub>CN, RT → 80°C, 0%.

### 3.1.2. Einführung des Acetylids

Der nun folgende Schritt, die Alkinylierung, sollte sich im Nachhinein als die wohl größte synthetische Herausforderung dieser Dissertation erweisen. In der Literatur als Standardreaktion beschrieben, stellten sich nahezu alle Methoden als nicht brauchbar für die elektronenreichen Benzylhalogenide (**19**, **20** und **23**) dar.

Die ersten Versuche mittels kommerziell erhältlichem Ethynylmagnesiumbromid / -chlorid die Dreifachbindung einzubringen scheiterten.<sup>94</sup> Auch die eher bekannte, Cu(I)-katalysierte Variante<sup>95</sup> blieb ohne den gewünschten Erfolg, in allen Fällen konnte keinerlei Umsatz verzeichnet werden. Der Einsatz von Lithiumacetylid, als entsprechender Ethylendiamin-

<sup>90</sup> P. J. Garegg, B. Samuelsson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1980**, 2866-2869.

<sup>91</sup> M. Di Deo, E. Marcantoni, E. Torregiani, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2830-2833.

<sup>92</sup> Der Einsatz von ZrCl<sub>4</sub>/NaI in CH<sub>3</sub>CN wird beschrieben in: H. Firouzabadi, N. Iranpoor, M. Jafarpour, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7451-7457.

<sup>93</sup> Der Einsatz von KI/BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O in Dioxan wird beschrieben in: B. P. Bandgar, V. S. Sadavarte, L. S. Uppalla, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 951-953.

<sup>94</sup> Beispiele für die nicht katalysierte Benzylierung dieser Grignardverbindungen: a) P. D. Jones, T. E. Glass, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11057-11066; b) K. Schulze, M. Mühlstädt, *J. Prakt. Chem.* **1966**, *33*, 84-95.

<sup>95</sup> M. Ramming, R. Gleiter, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5821-5829 und darin zitierte Literatur.

Komplex,<sup>96</sup> führte dagegen in sämtlichen Reaktion zur Zersetzung des Startmaterials. Weitere Ansätze, wie in Tabelle 1 aufgeführt, z. B. die Verwendung von *in situ* hergestellten Lithiumacetylenen, erbrachten auch unter verschiedensten Bedingungen<sup>97</sup> keinerlei Fortschritt. Auf den dabei meist üblichen Einsatz von HMPA<sup>98</sup> sollte aufgrund seiner unangenehmen (hoch krebserregenden) Eigenschaften erst bei Versagen aller anderen Möglichkeiten zurückgegriffen werden. Die Verwendung von DMPU, als HMPA-Ersatz allgemein bekannt, führte ebenfalls zu keiner Verbesserung.

Rkt.-Nr.	Benzyl-halogenid(e)	Reagenz	Katalysator	Bedingungen	Ergebnis
1	19, 20	$\equiv\text{MgBr}$	$\pm \text{CuCl}$	THF, RT $\rightarrow$ 65°C, 24 h	kein Umsatz
2	19, 20	$\equiv\text{MgCl}$	$\pm \text{CuCl}, \pm \text{NaI}$	THF, 65°C, 7 d	kein Umsatz
3	19, 20	$\equiv\text{Li}^*(\text{CHNH}_2)_2$	-	DMSO, 15°C	Zersetzung
4	19, 20	$\equiv\text{Li}^*(\text{CHNH}_2)_2$	-	THF / DMSO 5:1, -78°C $\rightarrow$ RT	Zersetzung
5	19, 20	TMS- $\equiv\text{Li}$	$\pm \text{CuCl}, \pm \text{NaI}$	THF, -78°C $\rightarrow$ RT, 2 d	kein Umsatz
6	19, 20	TMS- $\equiv\text{Li}$	$\pm \text{CuCl}$	THF / DMPU, -78°C $\rightarrow$ RT, 24 h	kein Umsatz
7	19, 20	$\equiv\text{Li}^*(\text{CHNH}_2)_2$	-	NH <sub>3</sub> , -34°C	Zersetzung
8	19, 20	$\equiv\text{Na}$	-	NH <sub>3</sub> , -34°C	langsame Zersetzung
9	19, 20	TMS- $\equiv$ / EtMgBr	CuCl	THF, 65°C, 36 h	Edukt / Produkt 1:4 Gemisch
10	60 *	$\equiv\text{MgBr}$	CuCl	THF, 0°C	Zersetzung
11	60 *	$\equiv\text{Li}^*(\text{CHNH}_2)_2$	-	THF / DMSO 1:1, 0°C	Zersetzung
12	22, 23	TMS- $\equiv\text{Li}$	CuCl / CuI	THF, -40°C $\rightarrow$ RT, 4 h	kein Umsatz
13	23	TMS- $\equiv\text{Li}$	CuCN, $\pm \text{LiCl}$	THF, -40°C $\rightarrow$ RT, 4 h	Dimerisierung
14	23	TMS- $\equiv$ / EtMgBr	$\pm \text{CuCl}$	THF, 65°C	Langsame Zersetzung

**Tabelle 1:** Ansätze zur Alkinylierung der Benzylhalogenide; \* Zur Synthese von **60** siehe Kapitel 3.2.1.

Ein eher selten verwendeter Baustein ist das Natriumacetylid,<sup>99</sup> welches kommerziell als Suspension in Xylol erhältlich ist, und in Substitutionsreaktionen meist in flüssigem Ammoniak eingesetzt wird.<sup>100</sup> Wie schon zuvor wurde mehr oder minder schnelle Zersetzung der Edukte beobachtet.

<sup>96</sup> W. N. Smith, O. F. Beumel Jr., *Synthesis* **1974**, 441-442.

<sup>97</sup> R. Friary, V. Seidl, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3214-3215.

<sup>98</sup> H. A. Stefani, P. H. Menezes, I. M. Costa, D. O. Silva, N. Petraghani, *Synlett* **2002**, 1335-1337.

<sup>99</sup> R. J. Tedeschi, G. L. Moore, *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 435-438.

<sup>100</sup> S. Chattopadhyay, V. R. Mamdapur, M. S. Chadha, *Synth. Commun.* **1990**, *20*, 825-837.

Letztlich scheiterte auch die Umsetzung mit so genannten KNOCHEL-Cupraten.<sup>101</sup> Hierbei wurde im Falle des Benzyljodids **23** jedoch die ungewöhnliche Bildung eines Dimers beobachtet.<sup>102</sup> Einzig mit dem frisch präparierten Grignard-Reagenz (Reaktion 9), unter den Bedingungen von ROSSI,<sup>103</sup> wurde schließlich ein langsamer Umsatz erkannt. Der dabei stets auftretende unvollständige Umsatz führte jedoch immer zu einem Edukt/Produkt-Gemisch (etwa 1:4), welches durch Chromatographie nicht getrennt werden konnte.

Daher sollten weitere Wege etabliert werden, wofür die Darstellung von Zinkorganyleen und GRIGNARD-Reagenzien aus den aufgeführten Benzylhalogeniden untersucht wurde. Im Allgemeinen lassen sich die erhaltenen Organometallverbindungen anschließend mit 1-Halogenalkinen umsetzen.<sup>104</sup> Da diese Ansätze allerdings nicht sehr intensiv untersucht wurden und sonst ausnahmslos scheiterten, sei auf eine ausführlichere Darstellung in einem Schema oder Tabellen verzichtet.

Neben der direkten Einführung des Acetyls wurde die „indirekte“ Variante, durch Addition an den homologen Benzaldehyd **24** erprobt. Dieser lies sich ohne weiteres präparieren und die folgende Umsetzung mit Ethynylmagnesiumbromid verlief ebenfalls sehr schnell und mit guter Ausbeute zu **25**. Allerdings konnte die nun erforderliche Dehydroxylierung auf zwei unterschiedlichen Wegen nicht erfolgreich abgeschlossen werden. Sowohl die einfache Entfernung der Hydroxy-Gruppe mit  $\text{Et}_3\text{SiH} / \text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ,<sup>105</sup> wie auch der Umweg über das homologe Iodid (für eine Spaltung mit Tributylzinnhydrid / AIBN)<sup>106</sup> scheiterten. In letzterem Fall bildete sich anstelle des benötigten sekundären Benzyljodids durch Umlagerung das 1-Iodallen **27**.

Da sich aber zeitgleich ein Erfolg mit der im nächsten Absatz besprochenen Strategie abzeichnete, konnte diese Route schließlich verworfen werden und auch eine vielversprechende, kürzlich publizierte Deacetoxylierung von Propargylacetaten wurde daher nicht mehr untersucht.<sup>107</sup>

---

<sup>101</sup> a) P. Knochel, R. D. Singer, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2117-2188; b) C. Jubert, P. Knochel, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 5425-5431; c) H. G. Chen, C. Hoehstetter, P. Knochel, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 4795-4798.

<sup>102</sup> Bei einer später im Arbeitskreis KIRSCHNING untersuchten, Indium(III)-vermittelten Vinylierung des Benzyljodids **23** konnte diese Dimerisierung ebenfalls beobachtet werden: A. Meyer, unveröffentlichte Ergebnisse / persönliche Mitteilung.

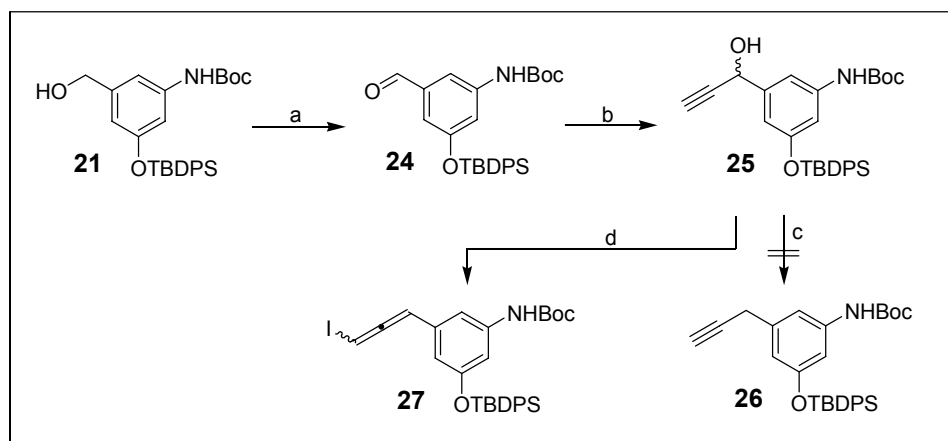
<sup>103</sup> R. Rossi, A. Carpita, V. Lippolis, M. Benetti, *Gazz. Chim. Ital.* **1990**, *120*, 783-791.

<sup>104</sup> a) M. C. P. Yeh, P. Knochel, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 4799-4802; b) E. J. Corey, C. J. Helal, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7511-7514.

<sup>105</sup> F. Orsini, E. Di Teodoro, *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 2521-2528.

<sup>106</sup> K. Tatsuta, K. Fujimoto, M. Kinoshita, S. Umezawa, *Carbohydr. Res.* **1977**, *54*, 85-104.

<sup>107</sup> N. Sakai, M. Hirasawa, T. Konakahara, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 6407-6409.



**Scheme 6:** a) DMP, NaHCO<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 30 min, 87%; b) Ethynylmagnesiumbromid, THF, 0°C, 15 min, 89%; c) Et<sub>3</sub>SiH, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0°C → RT, 0%; d) PPh<sub>3</sub>, I<sub>2</sub>, Imidazol, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0°C, 30 min, 50%.

Bei der Suche nach weiteren Methoden, nun im Bereich der Übergangsmetall-Katalyse, wurden neben den bekannten NEGISHI-Kupplungen<sup>108</sup> schließlich zwei weitere interessante Publikationen aufgetan. Die von RIZZACASA beschriebene Totalsynthese von Salicylhalamid A/B beinhaltete eine vielversprechende STILLE Kupplung<sup>109</sup> mit einem Benzylbromid.<sup>110, 111</sup> Eine von SARANDESES veröffentlichte Arbeit beschäftigte sich unter anderem mit der Einführung der TMS-Acetylid-Gruppe an Benzylbromid durch eine neuartige, Pd-katalysierte Reaktion mit einem Indium(III)-Reagenz.<sup>112</sup> Aufgrund der hierin beschriebenen höheren Ausbeuten und einer in der Literatur beschriebenen Nebenreaktion in der STILLE-Reaktion von Alkynyl-Stannanen mit Benzylhalogeniden,<sup>113</sup> wurde daraufhin entschieden, zunächst die Variante nach SARANDESES auszutesten.

Bei einer Überprüfung der gegebenen Ergebnisse stellten sich die beschriebenen Reaktionsbedingungen als gut durchführbar heraus. Eine daraufhin angesetzte Testreaktion mit dem Benzylbromid **22** verlief, ganz im Gegensatz zu den vorher erprobten Methoden, äußerst erfolgreich (Schema 7). Gleich die erste Durchführung erbrachte das gewünschte Alkin **28** mit einer Ausbeute von mehr als 90%.<sup>114</sup>

<sup>108</sup> M. Qian, E.-i. Negishi, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2927-2930.

<sup>109</sup> a) J. K. Stille, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 504-519; b) J. K. Stille, B. L. Groh, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 813-817; c) P. Espinet, A. M. Echavarren, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4704-4734.

<sup>110</sup> G. A. Holloway, H. M. Hügel, M. A. Rizzacasa, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 2200-2204.

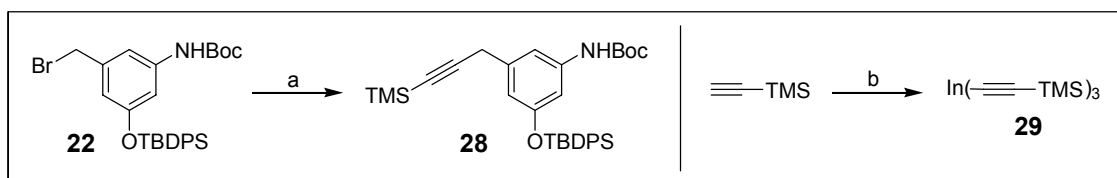
<sup>111</sup> Eine methodische Arbeit zur STILLE-Kupplung mit Benzylbromiden: C. M. Crawforth, S. Burling, I. J. S. Fairlamb, A. R. Kapdi, R. J. K. Taylor, A. C. Whitwood, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 9736-9751.

<sup>112</sup> I. Pérez, J. Pérez Sestelo, L. A. Sarandeses, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 4155-4160.

<sup>113</sup> Eine Tandem-STILLE-Carbopalladierung-STILLE-Sequenz ist beschrieben, die zur Bildung von hochsubstituierten Eninen führt: L. R. Pottier, J.-F. Peyrat, M. Alami, J.-D. Brion, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4035-4038.

<sup>114</sup> Einen Vergleich der Methoden nach ROSSI (GRIGNARD-Variante) und SARANDESES (Indium-Organyl) findet sich in: V. Gopalsamuthiram, W. D. Wulff, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13936-13937.





**Schema 7:** a) kat. Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>, THF, dann **29**, 65°C, 5 h, 96%; b) i. *n*-BuLi, THF, -78°C, 1 h, ii. InCl<sub>3</sub>, THF, 30 min, → RT, quant.

Erwähnenswert hierbei ist, dass für einen vollständigen Umsatz nur 0.33 Äquivalente vom Indium(III)-organyl **29** benötigt werden, da alle drei Reste übertragen werden können. Zur Sicherheit sollten jedoch mindestens 0.4 Äquivalente **29** werden, um eventuellen Unsicherheiten bei der Darstellung dieses Reagenz (z. B. Konzentration des verwendeten *n*-BuLi, Qualität des InCl<sub>3</sub>) und somit einem nicht vollständigen Umsatz entgegenzuwirken. Es sollte nicht unerwähnt bleiben, dass in der erwähnten Publikation<sup>112</sup> eine Reihe weiterer Kreuzkupplungen mit diversen Elektrophilen beschrieben sind, welche sicherlich eine interessante Alternative zu bisherigen Verfahren darstellt, da auch der organische Rest am Indium(III) stark variiert werden kann.<sup>115</sup>

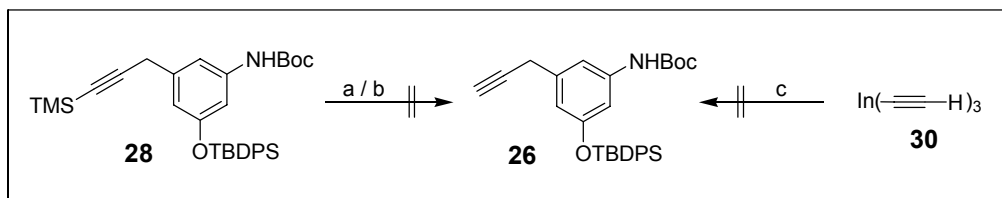
Somit wurde letztlich ein eleganter Zugang zum benötigten Alkin gefunden. Weitere Methoden wie z.B. die NEGISHI-Kupplung mussten demzufolge nicht mehr in Betracht gezogen werden.

### 3.1.3. Die finalen Stufen zum *seco*-Proansamitocin

Die nun anstehenden Experimente zur selektiven Freisetzung des Alkins scheiterten zunächst ebenso wie der Versuch, das ungeschützte Alkin durch die entsprechende Indium(III)-Verbindung **30** (hergestellt aus dem kommerziell erhältlichen Ethynylmagnesiumbromid) mit dem Benzylbromid **22** umzusetzen. Ob dabei letztlich die Pd-katalysierte Kupplung oder schon die Synthese der Verbindung **30** fehlschlug, wurde nicht weiter untersucht. Das Benzylbromid **22** konnte in diesem Fall größtenteils reisoliert werden.

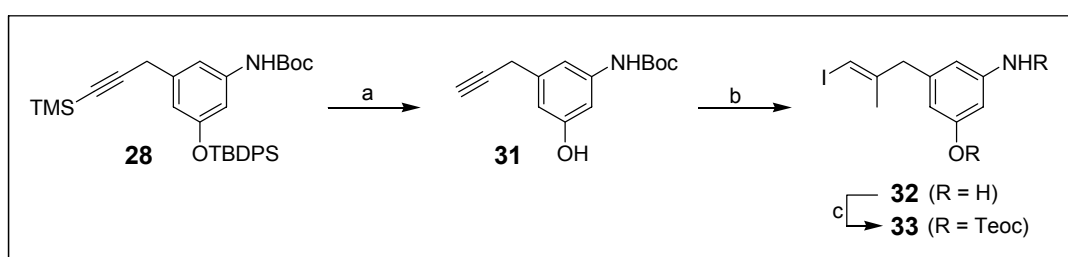
<sup>115</sup> Siehe hierzu auch: a) I. Pérez, J. Pérez Sestelo, L. A. Sarandeses, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1267-1269; b) M. A. Pena, J. Pérez Sestelo, L. A. Sarandeses, *Synthesis* **2005**, 485-492.

Sowohl bei der Verwendung methanolischer Kaliumcarbonat-Lösung,<sup>116</sup> wie auch bei der Fluorid-induzierten Entschützung wurde stets zuerst die Spaltung des Silylethers beobachtet, wogegen die Silicium-Kohlenstoffbindung sehr viel längere Reaktionszeiten benötigte.



**Schema 8:** a)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeOH,  $-20^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ ; b) TBAF $\cdot$ 3H $_2$ O, THF,  $-20^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ ; c) **22**, kat. Pd(dppf)Cl $_2$ , THF, dann **30**, RT  $\rightarrow 65^\circ\text{C}$ , 10 h.

Daher wurde die Spaltung der TBDPS-Gruppe in kauf genommen. Ein freies Phenol sollte bei der anschließenden Zirkonium-katalysierten Carboaluminierung<sup>117</sup> nicht störend wirken. Die Freisetzung verlief rasch und in guter Ausbeute, wobei die Temperatur deutlich unter  $0^\circ\text{C}$  gehalten werden sollte, um die Bildung des entsprechenden Allens als Nebenreaktion zu unterbinden. Der folgende Schritt zum Vinyljodid **32** konnte nur unter Verlust der Boc-Schutzgruppe vollzogen werden. Das dabei im Überschuss eingesetzte, stark Lewis-saure Trimethylaluminium, sorgt für die vollständige Abspaltung des *tert*-Butylcarbamates. Einige Versuche zur Erhöhung der Ausbeute wurden auch parallel von THOMAS FRENZEL unternommen. Doch auch durch verschiedene Variationen der Reaktionsführung<sup>118</sup> (Temperatur, Addition von Wasser) konnte **32** nur in mäßiger Ausbeute erhalten werden.



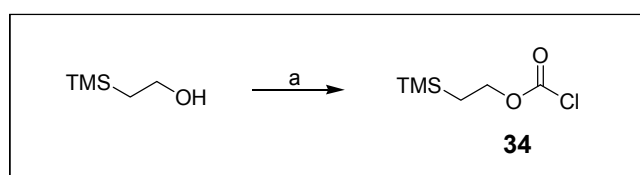
**Schema 9:** a) TBAF $\cdot$ 3H $_2$ O, THF,  $-10^\circ\text{C}$ , 1 h, 88%; b) i. Cp $_2$ ZrCl $_2$ , AlMe $_3$ , 1,2-Dichlorethan, RT, 60 min, dann **31**, RT, 72 h; ii. I $_2$ , THF,  $-30^\circ\text{C}$ , 30 min,  $\rightarrow 0^\circ\text{C}$ , 58%; c) Teoc-Cl, Pyridin, CH $_2$ Cl $_2$ , RT, 4 h, 89%

<sup>116</sup> P. A. Wender, J. A. McKinney, C. Mukai, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5369-5370.

<sup>117</sup> a) E.-i. Negishi, D. E. Van Horn, T. Yoshida, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 6639-6647; b) E.-i. Negishi, D. Y. Kondakov, D. Choueiry, K. Kasai, T. Takahashi, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9577-9588.

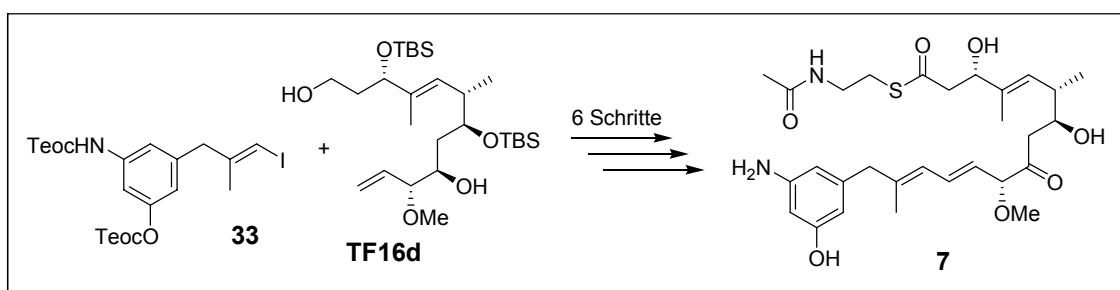
<sup>118</sup> a) P. Wipf, S. Lim, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1993**, *32*, 1068-1071; b) P. Wipf, S. Lim, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1095-1097 und darin zitierte Arbeiten.

Wie sich in der Dissertation von T. FRENZEL herausstellte, entstand durch das Einbüßen der Boc-Gruppe kein Nachteil. Im weiteren Ablauf der Synthese wurde diese nämlich zum Hauptproblem der finalen Entschützungssequenz. Verschiedenste Bedingungen, die den Rest des *seco*-Proansamitocins intakt lassen mussten, blieben dabei erfolglos. So wurden in beiden Arbeiten parallel mehrere etablierte Stickstoff-Blockierungen getestet (z.B. „Troc“)<sup>119</sup>, die sich zum Teil aber wiederum mit der HECK-Kupplung nicht kompatibel zeigten. Schließlich brachte das Einbringen der Teoc-Gruppe<sup>120</sup> den entscheidenden Durchbruch – Verträglichkeit mit den HECK-Bedingungen und letztlich eine Spaltung unter LEWIS-saurer Katalyse. Das entsprechende Carbamat, sowie der Kohlensäurediester am Phenol, wurden in einem Schritt aus dem frisch präparierten Teoc-Chlorid **34** dargestellt.<sup>121</sup> Dieses kommerziell nicht erhältliche Reagenz konnte aus 2-Trimethylsilyl-ethanol und Phosgen als etwa 8%ige Lösung in Toluol erhalten werden.



**Schema 10:** a)  $\text{COCl}_2$  (20% in Toluol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $-10^\circ\text{C}$ , 30 min,  $\rightarrow$  RT, 60 min.

Das so erhaltene Substrat konnte von THOMAS FRENZEL mit dem von ihm präparierten Polyol **TF16d** gekuppelt und der *N*-Acetylcysteamin-thioester des *seco*-Proansamitocin **7** schließlich in sechs Stufen erhalten werden. Diese sollen später in Kapitel 3.1.2., bei der Synthese des 20-Deshydroxy-Analogons, ausführlicher beschrieben werden. Für den Zugang zum „original“ *seco*-Proansamitocin sei erneut auf die entsprechende Literatur verwiesen.<sup>74, 75</sup>



**Abbildung 15:** FRENZEL's Zugang zum SNAC-Ester des *seco*-Proansamitocin (**7**)

<sup>119</sup> T. B. Windholz, D. B. R. Johnston, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 27, 2555-2557.

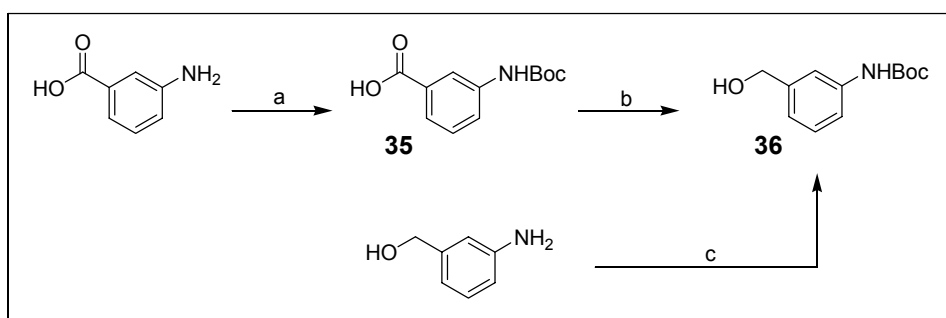
<sup>120</sup> Teoc = 2-Trimethylsilylethoxycarbonyl

<sup>121</sup> a) R. E. Shute, D. H. Rich, *Synthesis* **1987**, 346-349; b) L. A. Carpino, J.-H. Tsao, H. Ringsdorf, E. Fell, G. Hettrich, *Chem. Commun.* **1978**, 358-359.

### 3.1.4. Synthese von 20-Deshydroxy-*seco*-Proansamitocin

In diesem Kapitel wird die Darstellung eines analogen *seco*-Proansamitocins bzw. seines entsprechenden SNAC-Esters beschrieben. Wie in Kapitel 2 schon angedeutet, wurde sich aus den dort genannten Gründen für das 20-Deshydroxy-Derivat **8** entschieden. Abgesehen von dem abweichenden Startmaterial liefert dieses Molekül, retrosynthetisch betrachtet, keine Neuerungen, infolgedessen auf den von FRENZEL und QUITSCHALLE präparierten Baustein<sup>75</sup> **TF16d** zurückgegriffen werden konnte.

Die Synthese startete zunächst mit 3-Aminobenzoesäure, um nach Schützung der Aminofunktion<sup>122</sup> und anschließender Reduktion mit Boran-THF-Komplex<sup>123</sup> den primären Alkohol **36** als farblosen Feststoff zu erhalten. Alternativ konnte der 3-Aminobenzylalkohol auch kommerziell erworben und in die Stickstoff-geschützte Variante überführt werden.<sup>124</sup> Diese Ausgangssubstanz ist zwar in der Anschaffung zunächst etwas teurer, doch werden keine Reagenzien (BH<sub>3</sub>\*THF) und Lösungsmittel für die Reduktion der Säure benötigt, welche ohnehin nur mit bescheidener Ausbeute erfolgte.



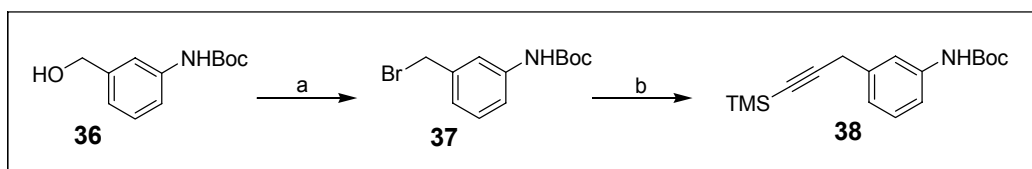
**Schema 11:** a) Boc<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N, Dioxan / H<sub>2</sub>O 2:1, RT, 24 h, 98%; b) BH<sub>3</sub>\*THF, THF, RT, 24h, 45%; c) Boc<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N, Dioxan / H<sub>2</sub>O 2.5:1; RT, 12 h, 82%.

Es folgte die bekannte APPEL-Reaktion zum Benzylbromid **37**, welches durch die in Kapitel 3.1.1.2. etablierte, Pd-katalysierte Substitution mit dem Indium(III)-Reagenz **29** zum TMS-geschützten Alkin **38** in exzellenter Ausbeute umgesetzt werden konnte.

<sup>122</sup> F. Mu, S. L. Coffing, D. J. Riese II, R. L. Geahlen, P. Verdier-Pinard, E. Hamel, J. Johnson, M. Cushman, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 441-452.

<sup>123</sup> R. M. Adlington, J. E. Baldwin, G. W. Becker, B. Chen, L. Cheng, S. L. Cooper, R. B. Hermann, T. J. Howe, W. McCoull, A. M. McNulty, B. L. Neubauer, G. J. Pritchard, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1491-1508.

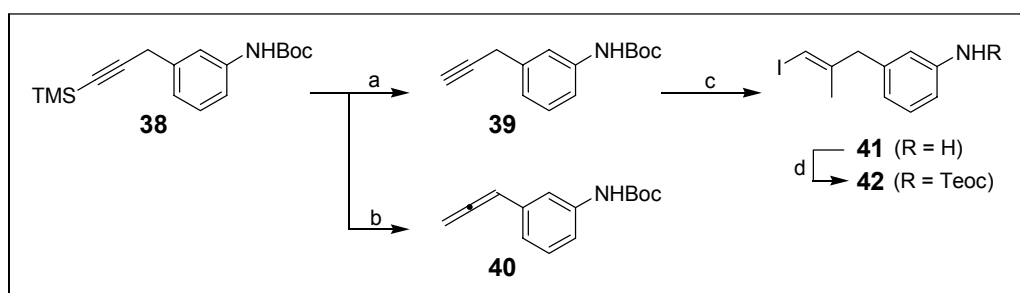
<sup>124</sup> Abgewandelte Vorschrift aus: a) Z.-X. Guo, A. N. Cammidge, D. C. Horwell, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 5169-5175; b) F. J. Brown, P. R. Bernstein, L. A. Cronk, D. L. Dosset, K. C. Hebbel, T. P. Maduskuie Jr., H. S. Shapiro, E. P. Vacek, Y. K. Yee, A. K. Willard, R. D. Krell, D. W. Snyder, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 807-826.



**Schema 12:** a)  $\text{PPh}_3$ ,  $\text{CBr}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 60 min, 82%; b) kat.  $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ , THF, dann **29**,  $65^\circ\text{C}$ , 4 h, 98%.

Die Freisetzung des terminalen Alkins **38** erfolgte wiederum mit TBAF als Fluoridquelle. Hierbei musste die Temperatur nochmals weiter abgesenkt werden, um die Bildung des Allens **40** zu verhindern, welches sich ab etwa  $-10^\circ\text{C}$  als Nebenprodukt bildete.<sup>125</sup> Eine Durchführung bei Raumtemperatur brachte die kumulierte Doppelbindung sogar zu 95% (isolierte Ausbeute) hervor.

Unter den im vorigen Kapitel beschriebenen Bedingungen ließ sich **39** zum Vinyljodid **41** umsetzen, was erneut eine lange Reaktionszeit erforderte und nur zu mäßigen Ausbeuten führte. Bei der abschließenden Blockierung des Amins zu **42** wurden nochmals verschiedene Reaktionsbedingungen getestet. Anstelle des bis dahin gebräuchlichen Pyridins als Base, konnte durch Verwendung von festem Natriumhydrogencarbonat die Reaktionszeit auf nur zehn Minuten reduziert und die Aufarbeitung durch einfache Filtration der festen Rückstände vereinfacht werden.

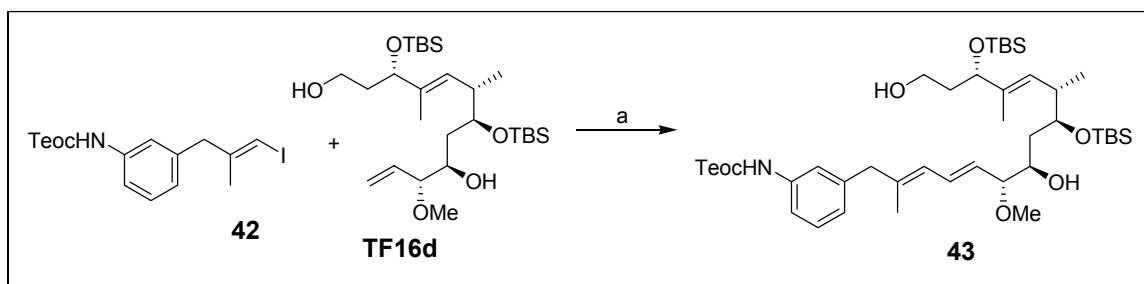


**Schema 13:** a)  $\text{TBAF}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , THF,  $-20^\circ\text{C}$ , 1 h, 88%; b)  $\text{TBAF}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , THF,  $\geq -10^\circ\text{C}$ , 1 h, 95% (bei RT); c) i.  $\text{Cp}_2\text{ZrCl}_2$ ,  $\text{AlMe}_3$ , 1,2-Dichlorethan, RT, 60 min, dann **39**, RT, 72 h; ii.  $\text{I}_2$ , THF,  $-30^\circ\text{C}$ , 30 min,  $\rightarrow 0^\circ\text{C}$ , 53%; d)  $\text{Teoc-Cl}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 10 min, 91%.

Mit der fertig gestellten aromatischen Seite und dem von THOMAS FRENZEL und MONIKA QUITSCHALLE im größeren Maßstab präparierten aliphatischen Abschnitt konnte nun die Hauptverknüpfung vollzogen werden. Dafür wurde sich der ligandenfreien JEFFERY-Variante

<sup>125</sup> Zur Chemie von Allenen siehe: N. Krause, A. S. K. Hashmi, *Modern Allene Chemistry*, 1. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim 2004.

bedient.<sup>126, 127</sup> Der intermolekulare Zusammenschluss beider Fragmente lief hiermit in durchaus zufrieden stellender Ausbeute ab (Schema 14).



**Schema 14:** a) Pd(OAc)<sub>2</sub>, Et<sub>3</sub>N, CsCO<sub>3</sub>, TBAB, DMF, RT, 2 h, 68%.

Im Folgenden mussten nun die beiden freiliegenden Hydroxy-Gruppen zum Keton bzw. zur Säure **45** oxidiert werden. Mittels SWERN-Oxidation<sup>128</sup> gelang dies ohne Probleme, wobei sehr auf die Einhaltung der Temperatur geachtet werden musste, um eine vollständige Isomerisierung an C-10 zu vermeiden (Schema 15). Auch unter den angegebenen Bedingungen konnte dies nicht vollständig vermieden werden, so dass ein 10:1 Isomerengemisch erhalten wurde. Weitere Versuche, diese Nebenreaktion zu unterbinden, scheiterten. Der Einsatz einer sterisch gehinderten Base wie Diisopropylethylamin (HÜNIG-Base) führte nur zur Bildung des entsprechenden Aldehyds, eine Oxidation des weitaus abgeschirmters Alkohols an C-9 wurde so größtenteils unterbunden. Die daraufhin erfolgte Zugabe eines Äquivalents Triethylamin lieferte schließlich auch wieder das Keton **44**, jedoch erneut unter partieller Isomerisierung der Methoxy-Einheit.

Nach der erfolgreichen PINNICK-Oxidation<sup>129</sup> zur Säure **45**, sollte nur noch die Einführung der *N*-Acetylcysteamin-Einheit zur Vervollständigung des kompletten Rückgrats fehlen. Bei einigen Darstellungen von SNAC-Estern (wie auch bei **7**) traten, aufgrund des entstehenden Harnstoff-Derivats, Probleme bei den anschließenden Reinigungen auf, da dieses nicht immer vollständig abgetrennt werden konnte. Das bis dahin zur Bildung des Thioesters üblicherweise eingesetzte Dicyclohexylcarbodiimid (DCC),<sup>130</sup> wurde daher im folgenden Schritt durch das Diisopropyl-Analogon (DIC) ersetzt. Die Zugabe einer katalytischen Menge

<sup>126</sup> a) T. Jeffery, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 2667-2670; b) T. Jeffery, *Tetrahedron* **1996**, 52, 10113-10130.

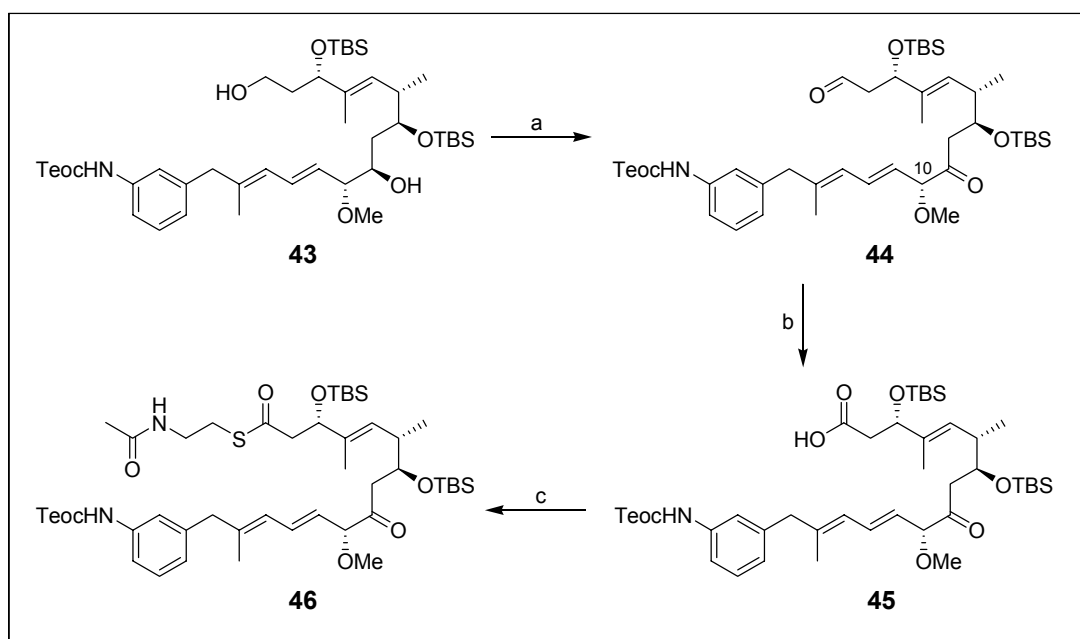
<sup>127</sup> a) U. Bhatt, M. Christmann, M. Quitschalle, E. Claus, M. Kalesse, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 1885-1893; b) M. Christmann, U. Bhatt, M. Quitschalle, E. Claus, M. Kalesse, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 4364-4366.

<sup>128</sup> T. T. Tidwell, *Synthesis* **1990**, 857-870 und darin aufgeführte Literaturstellen.

<sup>129</sup> B. S. Bal, W. E. Childers Jr., H. W. Pinnick, *Tetrahedron* **1981**, 37, 2091-2096.

<sup>130</sup> Y. S. Tsanztrizos, X. Yang, A. McClory, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 6609-6614.

4-DMAP<sup>131</sup> sorgte dabei für eine deutliche Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit. Der saubere Aktivester **46** konnte demgemäß in zufrieden stellender Ausbeute erhalten werden.



**Schema 15:** a) i. DMSO, (COCl)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -60°C, 30 min, ii. **43**, -60°C, 1 h, iii. Et<sub>3</sub>N, → -40°C, 90%;  
 b) NaClO<sub>2</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, *t*BuOH, 2-Methyl-2-buten, 0°C → RT, 30 min, 85%;  
 c) *N*-Acetylcysteamin, DIC, 4-DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 2 h, 56%.

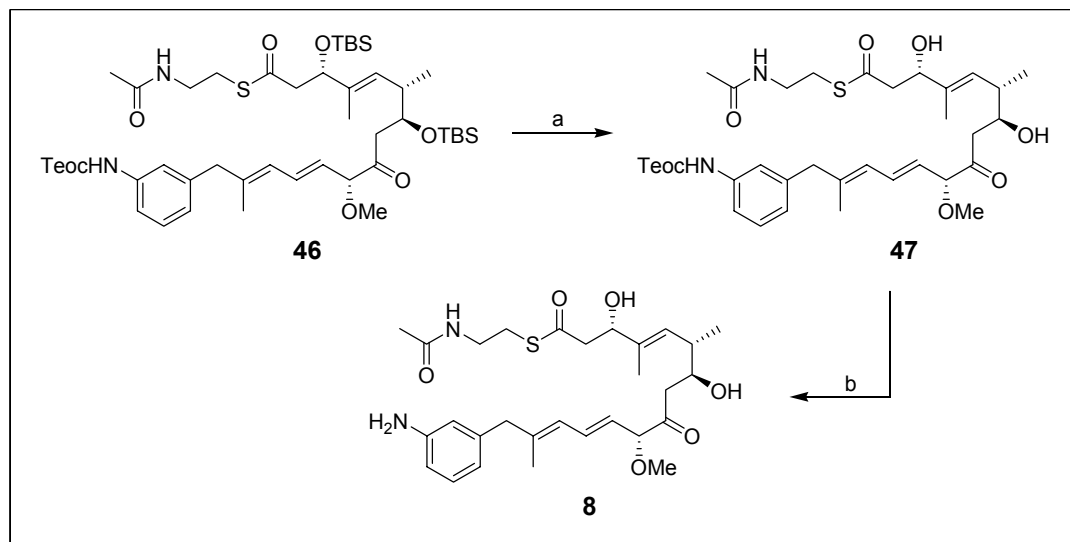
Für die Vollendung dieses Analogons konnte sich abermals auf die Zusammenschrift von THOMAS FRENZEL berufen werden, welcher bei der Fertigstellung des *seco*-Proansamitocins exzellente Vorarbeiten zu den Entschützungen geleistet hatte. Für alle nicht kompatiblen Reagenzien sei daher an dieser Stelle erneut auf seine Arbeiten verwiesen.

Die Spaltung der beiden verbliebenen Silylether erfolgte unter mäßig sauren Bedingungen mit HF\*Pyridin. Der letzte Schritt der Synthese konnte schließlich unter LEWIS-Säure katalysierten Bedingungen mit ZnCl<sub>2</sub> in wasserfreien Nitromethan vollzogen werden.<sup>132</sup> Die Nutzung von Ultraschall erwies sich aufgrund der geringen Löslichkeit des Salzes dabei als essentielle Bedingung für einen schnellen und vollständigen Umsatz zu **8**. Leider konnte der Reaktionsfortschritt nur schlecht überwacht werden, da das freigelegte Amin vollkommen unlöslich ist und sich als entsprechendes Zinkat niederschlägt. Eine Mindestreaktionszeit von 60 Minuten wird daher vor der Hydrolyse angeraten.

<sup>131</sup> W. Steglich, G. Höfle, *Angew. Chem.* **1969**, *81*, 1001.

<sup>132</sup> C. Gioeli, N. Balgobin, S. Josephson, J. B. Chattopadhyaya, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 969-972.

Aufgrund der hohen Polarität der Substanz war eine Reinigung über RP-18 Kieselgel oder durch HPLC (ebenfalls RP-18) unabdingbar, wobei beide Methoden das Produkt in vergleichbaren Reinheiten und Ausbeuten lieferten.



**Schema 16:** a) HF\*Pyridin (70% HF), THF, RT, 24 h, 62%; b) ZnCl<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>, Ultraschall, RT, 80 min, 63%.

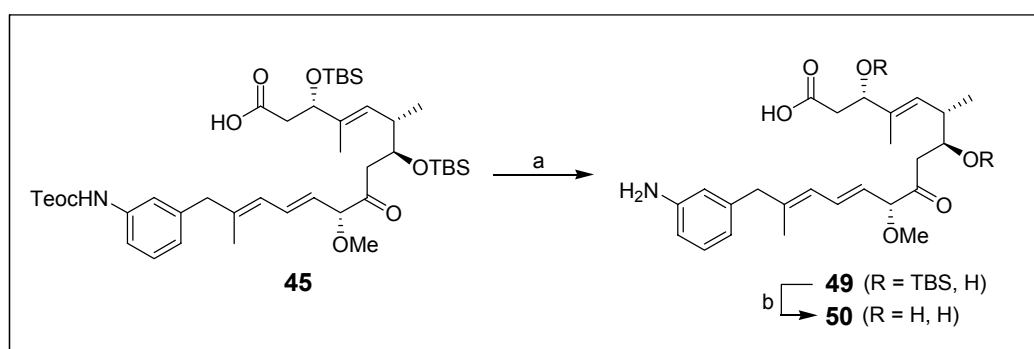
### 3.1.3. Versuche zur Darstellung des 20-Deshydroxy-Proansamitocin

Da nach Fertigstellung des Analogons **8** noch geringe Mengen der geschützten Vorläufer vorhanden waren, sollte noch einige Wege zur Makrolactamisierung erprobt werden. Bei der Freisetzung des dafür notwendigen Anilins mittels ZnCl<sub>2</sub> war vorab über die gleichzeitige Entschützung der Silylether spekuliert worden. Trotz einer vollständigen Deblockierung könnten auch hiermit spätere Lactamisierungen in Betracht gezogen werden. Zyklisierungsprodukte der Alkohole wären demnach ein Vierring-Lacton bzw. ein achtegliedriges Lacton mit *trans*-ständiger Doppelbindung – in beiden Fällen keine Verbindung, die sich auf diesem Wege bilden ließe.

Nach einer ersten Durchführung stellte sich heraus, dass das Carbamat wie erwartet entfernt wurde, allerdings auch eine der TBS-Gruppen. Selbst stark verlängerte Reaktionszeiten und eine Steigerung auf 50 Äquivalente Zinkchlorid beließen die zweite TBS-Gruppe an ihrem Platz. Welcher der beiden Silylether sich nun dermaßen widerstandsfähig zeigte, wurde (auch aufgrund der nur in geringen Mengen vorliegenden Substanz) nicht weiter untersucht. Letztlich war es für den weiteren Fortgang auch unerheblich. Eine nachfolgende Behandlung HF\*Pyridin setzte den Alkohol wie gewohnt frei, das Entstehen von **50** konnte aber letztlich

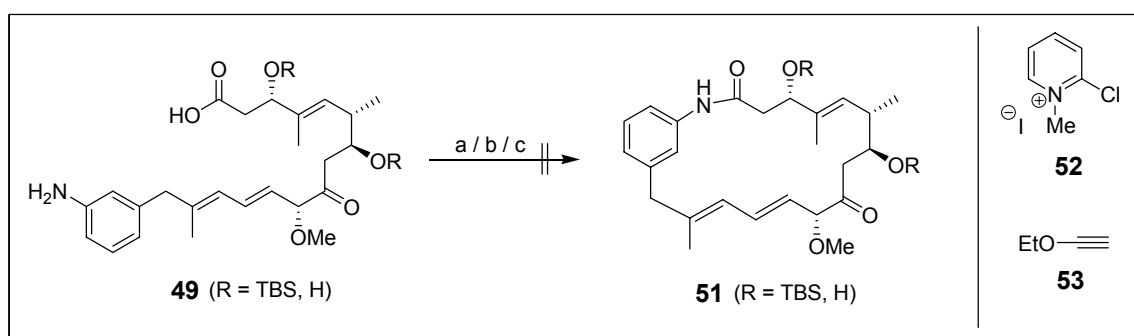


nur durch HRMS belegt werden. Die Ausbeuten der gezeigten Amin-Entschützung dürfen zu Recht als äußerst schlecht bezeichnet werden. Dieses resultierte vermutlich aus der bevorzugten Bildung eines Zinksalzes der Säurefunktion. Die Freisetzung wäre nur durch wässrige Säuren denkbar – Bedingungen, welche der übrige Teil des Moleküls nicht unbeschadet überstehen würde.



**Schema 17:** a)  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{NO}_2$ , Ultraschall, RT, 90 min, 11%; b)  $\text{HF}\cdot\text{Pyridin}$  (70% HF), THF, RT, 12 h.

Daher wurden erste Versuche zur Bildung des Makrolids mit dem Mono-TBS-geschützten Substrat **49** durchgeführt. Aufgrund der im Kleinstmaßstab eingesetzten Mengen erfolgte die Analytik ausschließlich über HRMS. Alle Versuche der Makrolactamisierung scheiterten jedoch. Die hierfür gewählten Methoden variierten in den gewählten Reaktionsbedingungen stark (Carbodiimid-Kupplung, MUKAIYAMA-Variante<sup>133, 134</sup> und TROST-Prozedur<sup>135</sup>), doch sollten die hier gezeigten Möglichkeiten aufgrund der negativen Ergebnisse nicht generell für die Zyklisierung ausgeschlossen werden.



**Schema 18:** a) DIC, 4-DMAP,  $\text{CH}_3\text{CN}$ , RT, 24 h; b) **52**,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ , RT; c) **53**,  $\text{RuCl}_2(p\text{-Cymen})$ , Toluol, RT, 30 min, dann CSA, 60 min.

<sup>133</sup> K. Saigo, M. Usui, K. Kikuchi, E. Shimada, T. Mukaiyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, *50*, 1863-1866.

<sup>134</sup> W. R. Roush, D. S. Coffey, D. J. Madar, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11331-11332.

<sup>135</sup> B. M. Trost, J. D. Chisholm, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3743-3745.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass „Teoc“ eine denkbar schlechte Schutzgruppe in der Zinkchlorid-katalysierten Entschützung bei parallel vorliegender freier Säure darstellt. Sofern dieser Weg zum Erhalt möglicher Makrolactame weiterverfolgt werden sollte, wäre eine alternative Blockierungs-Strategie notwendig.<sup>136</sup>

---

<sup>136</sup> Der Ringschluss durch Kreuz-Metathese und intramolekularer HECK-Reaktion ist Gegenstand derzeitiger Untersuchungen der KIRSCHNING-Gruppe.

### 3.2. Darstellung fortgeschrittener Biosynthese-Intermediate

Wie in der Einleitung und der Zielsetzung bereits ausführlich erwähnt wurde, sollte im Rahmen der vorliegenden Dissertation, in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von HEINZ G. FLOSS, die Frage nach der Stereochemie im natürlich auftretenden Diketid der Ansamitocin Biosynthese geklärt werden. Für die entsprechenden Fütterungsexperimente mussten demnach ausreichende Mengen beider Stereoisomere erzeugt werden. Weiterhin war die Synthese von weiter fortgeschrittenen Biosynthese-Intermediaten vorgesehen. Der Zugang zu diesen Di-, Tri- und Tetraketiden (siehe Abbildung 16), jeweils in der Form des SNAC-Esters, soll in den folgenden Kapiteln ausführlich beschrieben und diskutiert werden.

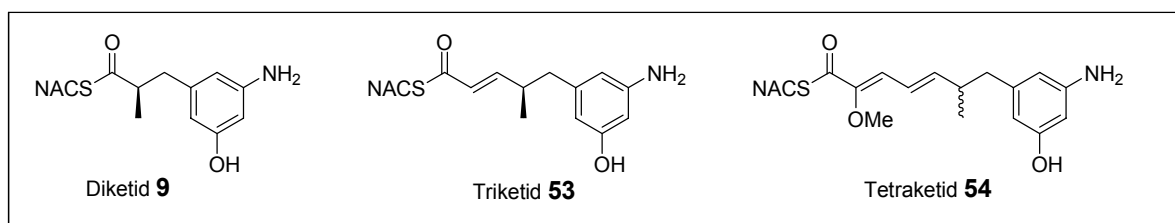
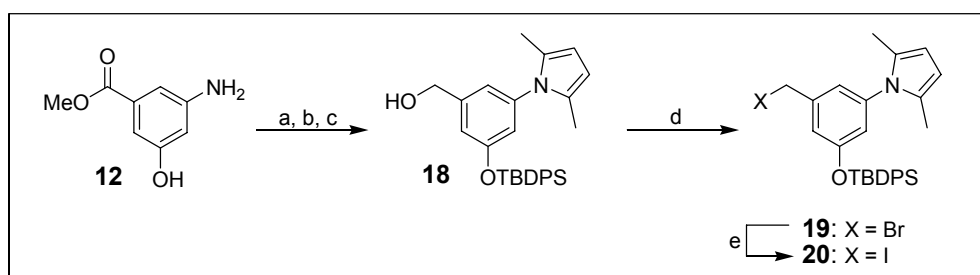


Abbildung 16: Zielstrukturen dieses Kapitels

#### 3.2.1. Synthese der Diketide<sup>137</sup>

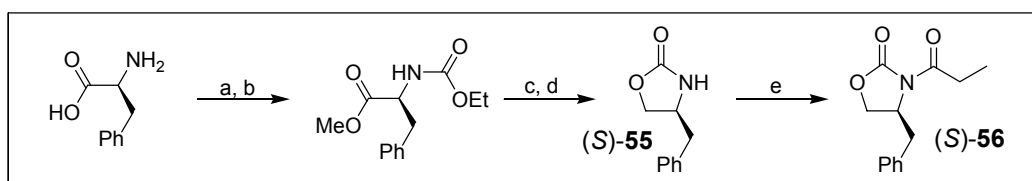
Als Ausgangssubstanz für die Darstellung der Diketide diene das bereits im Kapitel 3.1.1. gezeigte Benzyljodid **20**. Der Vollständigkeit halber sei der Syntheseweg, von dem Benzo Säuremethylester **12** ausgehend, noch einmal schematisch dargestellt (Schema 19).



Schema 19: a) 2,5-Hexandion, AcOH, Toluol, 90°C, 5 h, 90%; b) TBDPS-Cl, Imidazol, 4-DMAP, DMF, RT, 12 h, 96%; c) DIBAL-H, THF, -78°C → 0°C, 90%; d) CBr<sub>4</sub>, PPh<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 30 min, 98%; e) NaI, Aceton, RT, 15 min, quant.

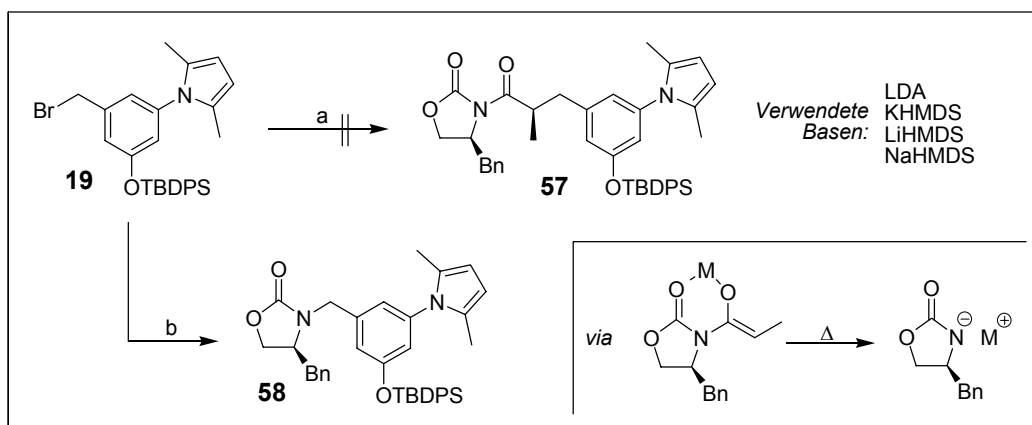
<sup>137</sup> Während der Zusammenschrift dieser Dissertation wurde die Synthese der Diketide zur Veröffentlichung in der Zeitschrift *ChemBioChem* eingereicht.

Für den folgenden Aufbau der chiralen Methylgruppe sollte die bewährte EVANS-Alkylierung<sup>138</sup> genutzt werden. Die hierfür benötigten Oxazolidinone (*R*)-**56** und (*S*)-**56**, auf verschiedenen Wegen aus Phenylalanin zugänglich,<sup>139</sup> konnten über den von WATSON publizierte Zugang erhalten werden.<sup>140</sup> Der Einfachheit halber sei im folgenden Schema nur die Synthese des (*S*)-Enantiomers (*S*)-**56** gezeigt.



**Schema 20:** a) AcCl, MeOH, RT, 12 h; b) NaHCO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, dann ClCOOEt, RT, 4 h; c) NaBH<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, THF/EtOH 1:2, RT, 12 h; d) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 90°C, 50 mbar, 4 h, 79% über 4 Schritte; e) *n*-BuLi, Propionylchlorid, THF, -78°C -30°C, 96%.

Für die stereoselektive Einführung der C<sub>3</sub>-Einheit wurde sich zunächst an der Geldanamycin-Synthese von ANDRUS *et al.* orientiert, welcher einen noch höher substituierten, ähnlich elektronenreichen Aromaten in einer EVANS-Alkylierung einsetzte.<sup>141</sup> Im Gegensatz zu den beschriebenen Ergebnissen konnte bei Reaktionstemperaturen von -78°C, auch bei einem Wechsel der eingesetzten Base keinerlei Umsatz des Benzylbromids **19** zum gewünschten Produkt **57** verzeichnet werden. Das Edukt konnte in sämtlichen Fällen wieder reisoliert werden.



**Schema 21:** a) (*S*)-X, Base, THF, -78°C, dann **19**, -78°C, bis zu 12 h;  
b) (*S*)-X, LDA, THF, -78°C, dann **19**, -78°C → RT, 12 h.

<sup>138</sup> D. A. Evans, M. D. Ennis, D. J. Mathre, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1737-1739.

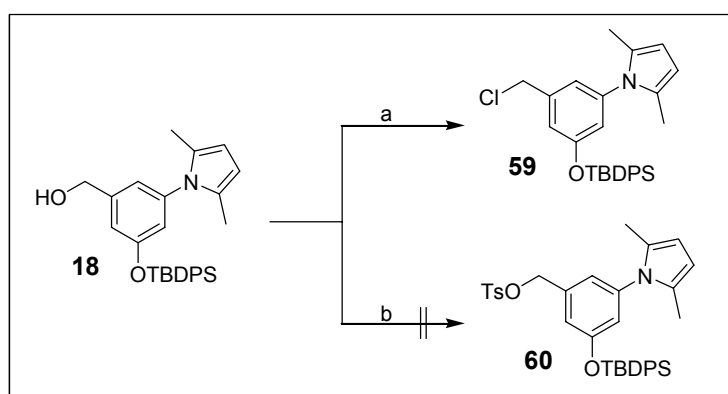
<sup>139</sup> a) J. R. Gage, D. A. Evans, *Org. Synth.* **1989**, *68*, 77; b) M. G. Organ, Y. V. Bilokin, S. Bratovanov, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5176-5183; c) Y. Wu, X. Shen, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 4359-4364.

<sup>140</sup> N. Lewis, A. McKillop, R. J. K. Taylor, R. J. Watson, *Synth. Commun.* **1995**, *25*, 561-568.

<sup>141</sup> M. B. Andrus, E. L. Meredith, B. B. V. Soma Sekhar, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 259-262.

Bei weiterer Erhöhung der Temperatur konnte nun zwar ein Umsatz beobachtet werden, jedoch war dieser auf die Zersetzung des gebildeten Enolats zurückzuführen, was zur Entstehung des *N*-benzylierten Produkts **58** in geringer Ausbeute (14%) führte.

Auf die Probleme bei der Benzylierung der vorliegenden Enolate machte auch schon SEEBACH aufmerksam.<sup>142</sup> Besonders bei der Verwendung von LDA als Base verzeichnete er nur langsamen Umsatz, bei Temperaturen von 0°C wurde schließlich überwiegend das *N*-benzylierte Produkt erhalten. Dieses führte er auf die Zersetzung des Enolats zum *N*-lithiierten Oxazolidinon und dem entsprechenden Keten bei höheren Temperaturen zurück. Durch die vorliegenden Ergebnisse wurde schließlich eine Änderung der Abgangsgruppe angedacht. Hierfür stand zum einen schon das in Kapitel 3.1.1. präparierte Benzyljodid **20** zur Verfügung. Als weitere Alternative wurde die Überführung in das Tosylat in Erwägung gezogen, jedoch scheiterte die vorgesehene Darstellung an der extrem hohen Reaktivität des Benzyltosylats. Die Verwendung von *p*-TsCl und 4-DMAP zur Erzeugung von **60** lieferte ausschließlich das Benzylchlorid **59** durch sofortige *in situ* Substitution des entsprechenden Tosylats. Durch Variation der Base nach TANABE<sup>143</sup> konnte zwar die Chlorierung vermieden werden, doch schon die Erwärmung der erhaltenen Lösung auf 5°C führte zur vollständigen Zersetzung des gewünschten Produkts.



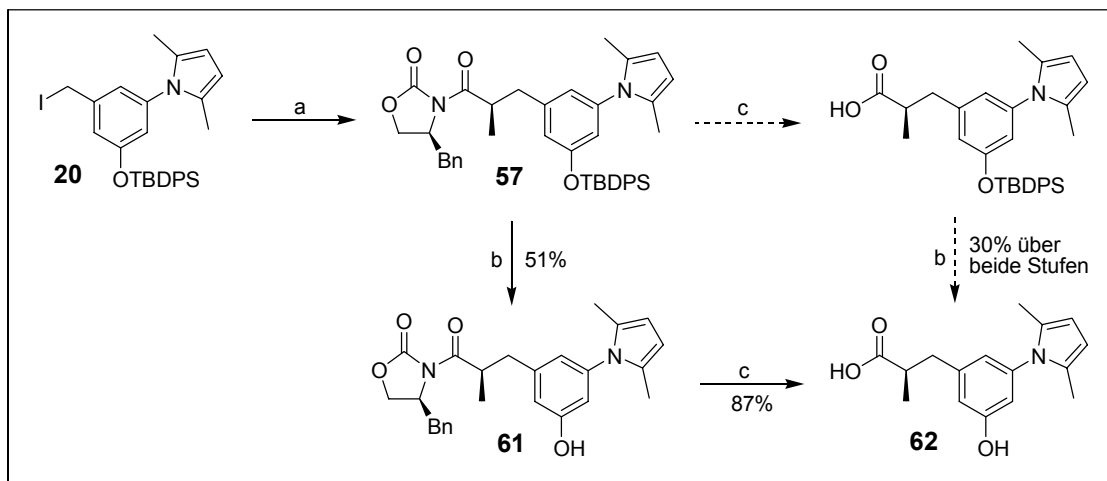
**Schema 22:** a) TsCl, 4-DMAP, 0°C → RT, 1 h, 60%; b) TsCl, Et<sub>3</sub>N, Me<sub>3</sub>N·HCl, 0°C.

So wurde zunächst nur das Benzyljodid in der Alkylierung des Oxazolidinons getestet. Erneut konnte bei tiefen Temperaturen kein Umsatz verzeichnet werden. Die Reaktionskontrolle zeigte bei langsamer Erwärmung ab etwa -40°C schließlich die Bildung des gewünschten Produkts **57** an. Um das Problem der Fragmentierung des Enolats zu umgehen wurde dabei nicht über -35°C erwärmt.

<sup>142</sup> T. Hintermann, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 2093-2126.

<sup>143</sup> Y. Yoshida, Y. Sakakura, N. Aso, S. Okada, Y. Tanabe, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 2183-2192.

Nach drei weiteren Stunden war kein Startmaterial mehr vorhanden und es wurde in der Kälte hydrolysiert. Nach chromatographischer Reinigung konnten so immerhin 52% des reinen Diastereomers **57** gewonnen werden.



**Schema 23:** a) (*S*)-X, LDA, THF, -78°C, dann **20**, -40°C, 3 h, 52%; b) TBAF\*3H<sub>2</sub>O, THF, 0°C; c) LiOH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, THF/H<sub>2</sub>O 3:1, 0°C, 90 min.

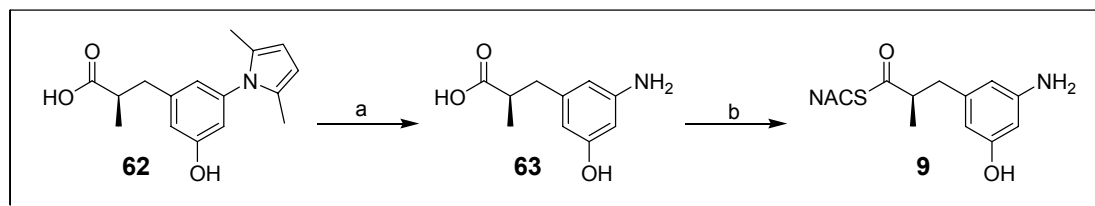
Die folgende Freisetzung<sup>144</sup> zur Carbonsäure **62** lieferte leider eine nicht zufriedenstellende Ausbeute, da sich unter den basischen Bedingungen ebenfalls der TBDPS-Ether teilweise abspaltete. Eine sofortige Umsetzung des Gemisches erbrachte schließlich indiskutable 30% über zwei Stufen. Daher sollte zunächst der Silylether gespalten werden, um sich anschließend dem Auxiliar zu entledigen und so ein zwischenzeitliches Produktgemisch zu umgehen. Auch in diesem Fall erfolgte die Entschützung zum Phenol **61** mit einer nur mäßigen Ausbeute, jedoch wurde durch dieses Vorgehen ein deutlich besseres Gesamtergebnis erzielt.

Bei den von MEAKINS beschriebenen Freisetzungen der Aniline<sup>145</sup> stellte sich die im folgenden Schema 24 beschriebene Methode als die Erfolgreichste heraus. Diese wurde zuvor schon von FINDLAY beschrieben, welcher bereits 1956 genauere Untersuchungen zum Reaktionsmechanismus veröffentlichte.<sup>146</sup> Nachdem bereits im Vorfeld mit der komplett ungeschützten AHBA **8** die Bildung des SNAC-Esters erfolgreich getestet wurde, konnte ebenso das (*R*)-Enantiomer **63** des Diketids durch eine Carbodiimid-vermittelte Veresterung in die benötigte Aktivesterform **9** überführt werden.

<sup>144</sup> S. G. Davies, H. J. Sanganee, *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 671-674.

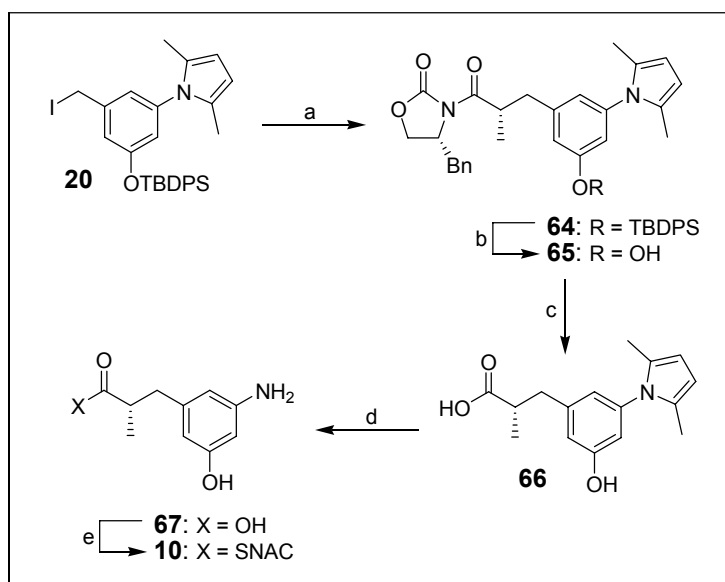
<sup>145</sup> S. P. Brueckelmann, S. E. Leach, G. D. Meakins, M. D. Tirel, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1984**, 2801-2807.

<sup>146</sup> S. Findlay, *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 644-647.



**Schema 24:** a)  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{KOH}$ ,  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  3:1,  $60^\circ\text{C}$ , 60 h, 63%; b) *N*-Acetylcysteamin, DCC, 4-DMAP,  $\text{MeCN}$ , RT, 12 h, 65%.

Die Synthese des für die ersten Fütterungsexperimente benötigten (*S*)-Enantiomers **10** wurde dementsprechend analog durchgeführt. Ausgehend vom Benzylidiodid **20** sei das Vorgehen hier nur noch einmal kurz und übersichtlich im folgenden Schema dargestellt.



**Schema 25:** a) (*R*)-X, LDA, THF,  $-78^\circ\text{C}$ , dann **20**,  $-40^\circ\text{C}$ , 3 h, 51%; b) TBAF $\cdot$ 3 $\text{H}_2\text{O}$ , THF,  $0^\circ\text{C}$ , 53%; c)  $\text{LiOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , THF/ $\text{H}_2\text{O}$  3:1,  $0^\circ\text{C}$ , 90 min, 84%; d)  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{KOH}$ ,  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  3:1,  $60^\circ\text{C}$ , 60 h, 63%; e) *N*-Acetylcysteamin, DCC, 4-DMAP,  $\text{MeCN}$ , RT, 12 h, 58%

### 3.2.2. Synthese des Triketids

Nach erfolgter Zufütterung beider Enantiomere des natürlichen Diketids an die Blockmutante *HGF073* konnte in der Arbeitsgruppe FLOSS in Seattle ausschließlich die Umsetzung des (*R*)-Enantiomers zum Ansamitocin P-3 beobachtet werden (siehe hierzu auch Kapitel 3.4.). Aufgrund dieser Tatsache wurde beschlossen, zunächst nur das entsprechende (*R*)-Triketid **53** zu synthetisieren. Führt man eine retrosynthetische Analyse dieses Zielmoleküls durch, so erhält man im Wesentlichen die Vorläufer, welche schon in der Synthese der Diketide

benötigt wurden. Für den zusätzlichen Aufbau des ungesättigten Systems käme eine WITTIG-Olefinierung in Frage, welche, mit einem stabilen Ylid durchgeführt, die benötigte *trans*-Doppelbindung liefern würde.<sup>147</sup> Da sich in Kapitel 3.2.1. zeigte, dass das Pyrrol-System nicht mit den etablierten Schutzgruppen konkurrieren kann, sollte nun erneut die entsprechende Boc-Variante **23** des Aromaten zum Einsatz kommen.

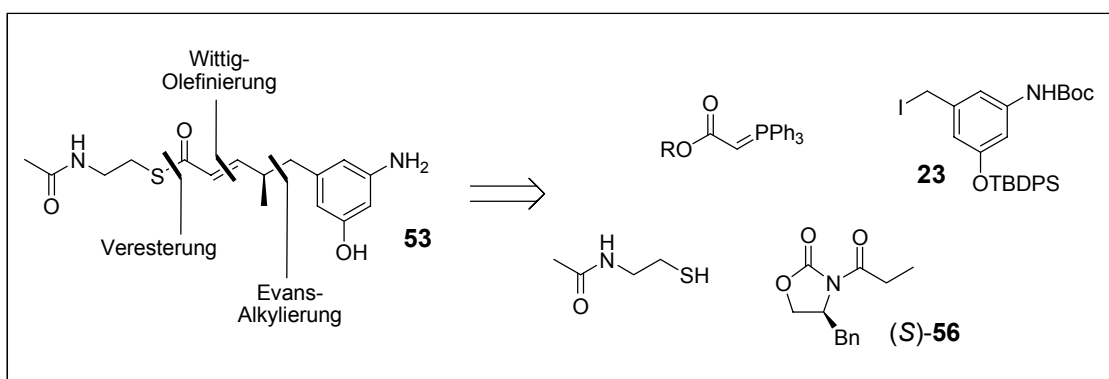
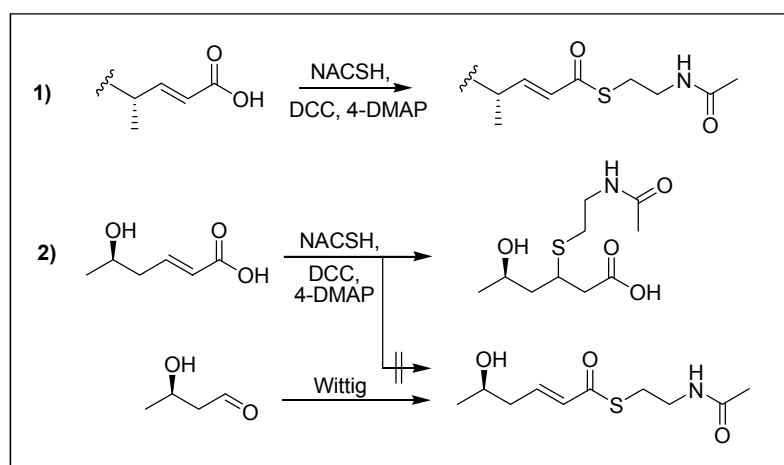


Abbildung 17: Retrosynthese des Triketids **53**

Bei der folgenden Recherche zum Aufbau ungesättigter SNAC-Ester-Systeme wurden in der Literatur widersprüchliche Aussagen gefunden. So berichteten z. B. LEY und STAUNTON<sup>148</sup> über den erfolgreichen linearen Aufbau dieser Einheit, SIMPSON *et al.*<sup>149</sup> fanden in ihrem Fall jedoch das Produkt einer MICHAEL-Addition bei der Veresterung (Schema 26).



Schema 26: 1) Veresterung nach LEY / STAUNTON und 2) Strategie nach SIMPSON

<sup>147</sup> B. E. Maryanoff, A. B. Reitz, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 863-927.

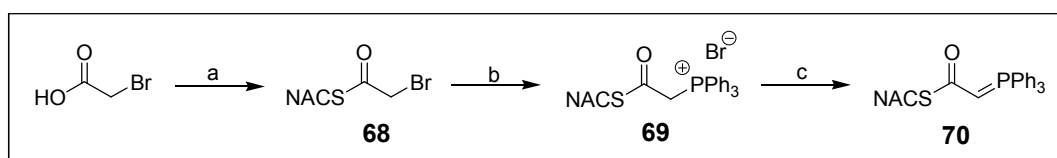
<sup>148</sup> G.-J. Boons, J. A. Clase, I. C. Lennon, S. V. Ley, J. Staunton, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 5417-5446.

<sup>149</sup> I. H. Gilbert, M. Ginty, J. A. O'Neill, T. J. Simpson, J. Staunton, C. L. Willis, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 1587-1590.



Um diese Schwierigkeiten zu umgehen, wurde daraufhin der Thioester schon vorher in den WITTIG-Baustein inkorporiert.<sup>150</sup> Diese Vorgehensweise stellte außerdem eine deutliche Verkürzung der Syntheseroute dar. Das hierfür benötigte Ylid **70** wurde neben dem analogen HORNER-WADSWORTH-EMMONS Baustein zwar noch in einer zweiten Publikation von STAUNTON genutzt,<sup>151</sup> eine genaue experimentelle Beschreibung für dessen Herstellung, sowie spektroskopische Daten fehlten jedoch gänzlich.

Ausgehend von Bromessigsäure wurde daraufhin zunächst der eigentliche Aktivester **68** durch die übliche DCC-Kupplung hergestellt<sup>152</sup> und anschließend mit Triphenylphosphin zum WITTIG-Salz **69** umgesetzt. Eine Erhitzung auf über 80°C sollte dabei vermieden werden. Die folgende Eliminierung erfolgte im wässrigen Milieu bei maximal pH = 10 wodurch das Ylid **70** als farbloser Feststoff quantitativ erhalten wurde.<sup>153</sup>



**Schema 27:** a) *N*-Acetylcysteamin, DCC, 4-DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 24 h, 74%; b) PPh<sub>3</sub>, Toluol, 80°C, 12 h, 88%; c) NaOH aq., 10 min, quant.

In einer ersten racemischen Synthese wurde das Benzyljodid **23** mit dem aus *tert*-Butylpropionat und LDA gebildeten Enolat umgesetzt. Der daraus erhaltene Ester **71** wurde im Folgenden mit DIBAL-H in THF zum primären Alkohol **72** reduziert und gleich darauf in den homologen Aldehyd **73** überführt. Eine direkte Reduktion zum Aldehyd, mit einem Äquivalent DIBAL-H in unpolaren Lösungsmitteln wie Toluol oder Dichlormethan, war nicht möglich.<sup>154</sup> Hierbei wurde, wie in zahlreichen Fällen, ein Gemisch aus dem Ester, dem Aldehyd und dem primären Alkohol erhalten. Die von der KIRSCHNING-Gruppe in 2003 publizierte TEMPO-Oxidation mit einem festphasengebundenem Co-Oxidans<sup>155</sup> lieferte einige, nicht weiter aufgeklärte Nebenprodukte, so dass auf dieser Stufe die DESS-MARTIN-

<sup>150</sup> Der Einsatz von Thioester-Yliden wurde schon früher publiziert: a) G. E. Keck, J. A. Murry, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6606-6611; b) G. E. Keck, E. P. Boden, S. A. Mabury, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 709-710; c) G. Emmer, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 7165-7172.

<sup>151</sup> S. L. Less, S. Handa, K. Millburn, P. F. Leadlay, C. J. Dutton, J. Staunton, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3515-3518.

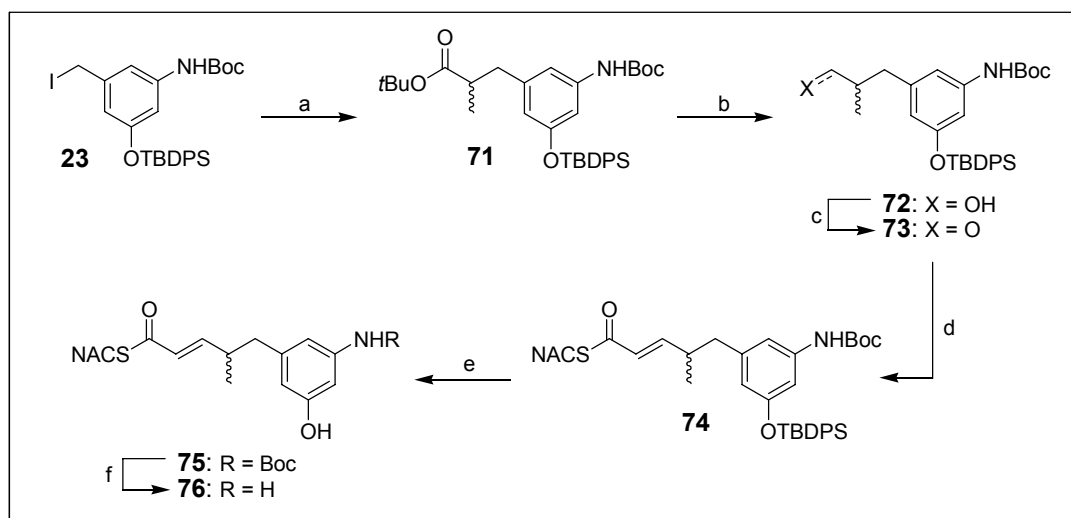
<sup>152</sup> Spektroskopische Daten zu **68** wurden gefunden in: a) G. Roblot, R. Wylde, A. Martin, J. Parello, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 6381-6398; b) G. M. Helmkamp Jr., K. Bloch, *J. Biol. Chem.* **1969**, *244*, 6014-6022.

<sup>153</sup> Ab etwa pH = 11 wurde die Verseifung des Thioesters beobachtet. Das Ylid stellte sich als sehr stabil heraus und kann bei Raumtemperatur gelagert werden.

<sup>154</sup> a) T. R. Kelly, P. N. Kaul, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2775-2777; b) R. Brückner, *Reaktionsmechanismen*, 2. Auflage, Spektrum Akad. Verl., Heidelberg **2003**, 788-789.

<sup>155</sup> M. Brünjes, G. Sourkouni-Argirusi, A. Kirschning, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 635-642.

Methode<sup>156</sup> zum Einsatz kam. Bei der anschließenden Einführung der Doppelbindung mittels WITTIG-Reaktion wurde sich zunächst an den recht knapp beschriebenen Reaktionsbedingungen der Originalliteratur orientiert. Leider konnte unter den dort angegebenen Bedingungen (Lösungsmittel: THF) überhaupt kein Umsatz verzeichnet werden. Doch schon der Wechsel zu Dichlormethan erzielte den gewünschten Erfolg und lieferte nach 48 Stunden 79 % des geschützten Thioesters **74**, ausschließlich als *E*-Isomer.



**Schema 28:** a) *tert*-Butylpropionat, LDA, THF, -78°C, dann **23**, -78°C, 10 min, 90%; b) DIBAL-H, THF, -30°C → 0°C, 2 h, 75%; c) DMP, NaHCO<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 30 min, 92%; d) **70**, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 40°C, 48 h, 79%; e) TBAF\*3H<sub>2</sub>O, THF, 0°C, 5 min, 93%; f) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 3 h, 96%.

Unerlässlich für einen hohen Umsatz war dabei die Verwendung von sehr wenig Lösungsmittel. Die abschließenden Entschützungen verliefen äußerst erfolgreich mit hohen Ausbeuten. Die vollständige Freisetzung des Phenols erfolgte hierbei schon nach Zugabe von nur 0.3 Äquivalenten TBAF, was auf die basischen Bedingungen zurückzuführen ist, unter welchen phenolische TBDPS-Ether schon leicht gespalten werden können. Schließlich wurde das *tert*-Butylcarbamat sauer katalysiert mit TFA abgespalten.<sup>157</sup>

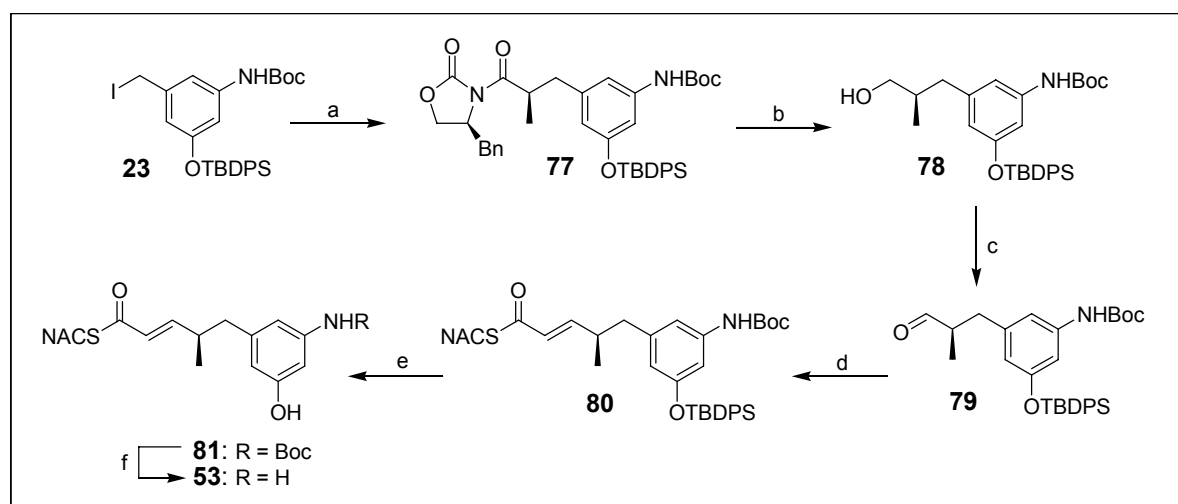
Nach erfolgreich absolvierter Synthese des racemischen Triketids **76** folgte die Etablierung des reinen (*R*)-Enantiomers. Die Darstellung unterschied sich im Wesentlichen nur durch die asymmetrische Einführung des Propionats durch EVANS-Alkylierung, welche in Kapitel 3.2.1. bereits beschrieben wurde. In diesem Fall verlief die Reaktion unter gleichen Reaktionsbedingungen mit einer leicht verbesserten Ausbeute (59%). Erneut konnte nach

<sup>156</sup> D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155-4156.

<sup>157</sup> a) R. A. Houghten, A. Beckman, J. M. Ostresh, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1986**, *27*, 653-658;

b) D. M. Shendage, R. Fröhlich, G. Haufe, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3675-3678.

erfolgter Isolierung NMR-spektroskopisch nur ein einziges Diastereomer nachgewiesen werden.<sup>158</sup> Die Freisetzung von Oxazolidinonen mittels diverser Hydridquellen findet sich in vielen Publikationen.<sup>159</sup> und erfolgte in diesem Fall mit aktiviertem Lithiumborhydrid in Diethylether. Der so erhaltene primäre Alkohol **78** wurde *via* DESS-MARTIN-Oxidation in den entsprechenden  $\alpha$ -chiralen Aldehyd **79** überführt. Um die folgende WITTIG-Reaktion etwas zu beschleunigen, wurde Chloroform anstelle des vorher verwendeten Dichlormethans eingesetzt. Die Reaktion konnte nun, aufgrund des höheren Siedepunkts, bei 60°C durchgeführt werden und bereits innerhalb von 24 Stunden wurde vollständiger Umsatz des Startmaterials verzeichnet. Vom ungesättigten Thioester **80** wurden nach chromatographischer Reinigung 81% als reines *E*-Isomer erhalten. Um die Integrität des chiralen Zentrums unter diesen Reaktionsbedingungen zu gewährleisten, wurde ein zweiter Ansatz nach 12 Stunden abgebrochen und nicht umgesetzter Aldehyd reisoliert. Eine Messung der optischen Rotation hiervon ergab einen im Vergleich zum frisch präparierten Aldehyd unveränderten Wert.



**Schema 29:** a) (S)-**56**, LDA, THF, -78°C, dann **23**, -40°C, 3 h, 59%; b) LiBH<sub>4</sub>, Et<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O, 0°C, 90 min, 90%; c) DMP, NaHCO<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 30 min, 78%; d) **70**, CHCl<sub>3</sub>, 60°C, 24 h, 81%; e) TBAF\*3H<sub>2</sub>O, THF, 0°C, 5 min, 73%; f) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 12 h, 89%.

Die beiden letzten Schritte erfolgten auf die schon beschriebene Weise mit TBAF und TFA und lieferten in guten Ausbeuten das enantiomerenreine Triketid **53**.

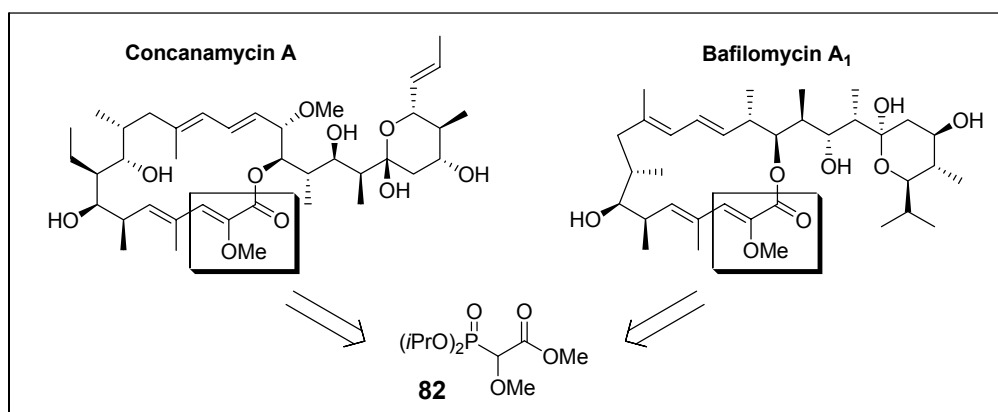
<sup>158</sup> Da ein Überschuss des Oxazolidinons **56** in der Reaktion eingesetzt wurde, konnten die NMR-Spektren des Rohprodukts aufgrund von überlagerten Signalen nicht zur Bestimmung der Diastereoselektivität herangezogen werden.

<sup>159</sup> a) K. Chibale, S. Warren, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1995**, 2411-2419; b) L. A. Paquette, I. Efremov, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 4492-4501; c) D. A. Evans, R. L. Dow, T. L. Shih, J. M. Takacs, R. Zahler, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5290-5313.

### 3.2.3. Synthese des Tetraketids

Um weitere Erkenntnisse zur Wanderung des Dien-Systems in der Ansamitocin Biosynthese zu erhalten, sollte für spätere Experimente ein Zugang zum Tetraketid erarbeitet werden. Wohlgermerkt beschäftigte sich die vorliegende Arbeit dabei ausschließlich mit der  $\Delta^{10,11}$ - $\Delta^{12,13}$  Doppelbindungs-Geometrie,<sup>160</sup> welche im fertigen Naturstoff nicht mehr vorliegt. Eine Synthese zum isomeren System sollte in einer Diplomarbeit von FLORIAN TAFT während der letzten Phase dieser Dissertation entwickelt werden.<sup>161</sup>

Auf der Suche nach literaturbekannten Substanzen mit einer vergleichbaren, ungesättigten  $\alpha$ -Methoxyester-Gruppe, stößt man unweigerlich auf zwei bekannte Vertreter der Makrolide: Concanamycin<sup>162</sup> und Bafilomycin.<sup>163</sup> Der Aufbau dieses recht ungewöhnlichen Strukturelements erfolgte dabei von mehreren Gruppen (PATERSON, ROUSH, MARSHALL) über HORNER-WADSWORTH-EMMONS-Methodik mit dem in Abbildung 18 dargestellten Phosphonat.<sup>164, 165</sup>



**Abbildung 18:** Vorläufer des ungesättigten Methoxymethylesters im Concanamycin und Bafilomycin

Durch eine retrosynthetische Analyse des vorliegenden Tetraketids käme man demnach zum gleichen Vorläufer, wie er schon in den gerade erwähnten Synthesen verwendet wurde. Als weitere Startsubstanzen der folgenden Synthese erhält man noch den bereits präparierten Aldehyd 73, sowie ein stabiles Phosphor-Ylid als C<sub>2</sub>-Synthon, welches später den mittleren

<sup>160</sup> Nomenklatur bezogen auf das vollständige *seco*-Proansamitocin (7).

<sup>161</sup> F. Taft, Diplomarbeit: *Vorläufer-dirigierte Biosynthese von Ansamitocin P-3 und Analoga*, Hannover 2006.

<sup>162</sup> H. Kinashi, K. Someno, K. Sakaguchi, *J. Antibiot.* **1984**, 37, 1333-1343.

<sup>163</sup> G. Werner, H. Hagenmaier, H. Drautz, A. Baumgartener, H. Zähler, *J. Antibiot.* **1984**, 37, 110-117.

<sup>164</sup> I. Paterson, V. A. Doughty, M. D. McLeod, T. Trieselmann, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 1364-1368.

<sup>165</sup> a) K. A. Scheidt, A. Tasaka, T. D. Bannister, M. D. Wendt, W. R. Roush, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 1760-1762; b) J. A. Marshall, N. D. Adams, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 733-740.

Molekülabschnitt ergibt. Nach den guten Ergebnissen aus Kapitel 3.2.2. – durch WITTIG-Methodik den SNAC-Ester bereits in das Molekül mit einzubringen – sollte auch in diesem Fall ein analoger HWE-Baustein, welcher das *N*-acetylierte Cysteamin bereits enthält (Abbildung 19), die spätere Veresterung überflüssig machen.

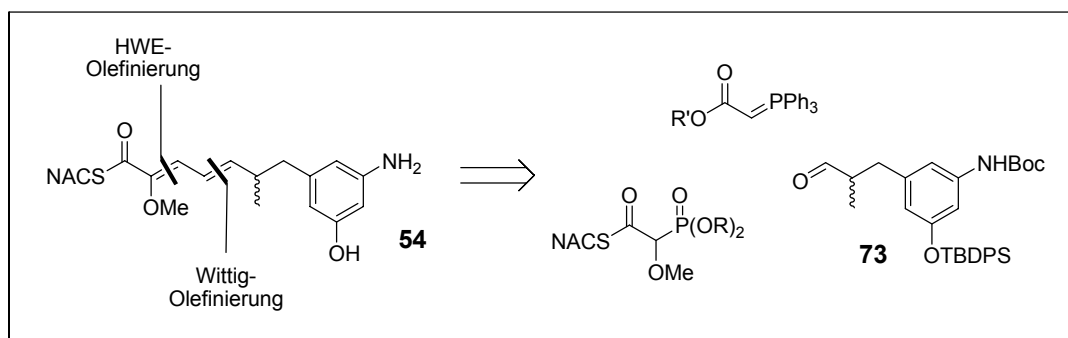
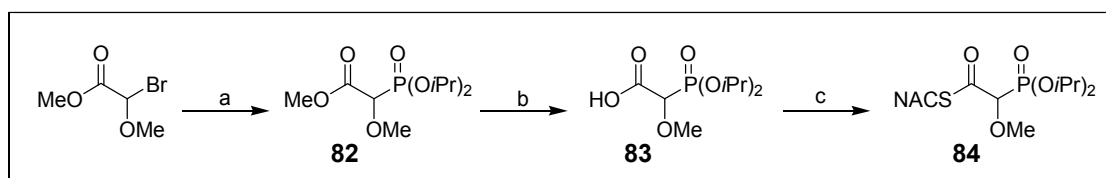


Abbildung 19: Retrosynthetische Analyse des Tetraketids **54**

Ausgehend vom Brom-methoxyessigsäuremethylester sollte das entsprechende Phosphonat in drei Schritten realisiert werden. Hierfür wurde zunächst in einer ARBUZOV-Reaktion<sup>166</sup> der notwendige Phosphonsäureester eingeführt. Die Verwendung der sterisch anspruchsvollen *iso*-Propylreste sollte dabei in der HWE-Olefinierung für die notwendige *Z*-Selektivität sorgen.<sup>167, 168</sup> Ein ebenso großer Einfluss wird der Esterfunktion zugeschrieben – eine starke räumliche Hinderung, welche in gewissem Maße auch der SNAC-Einheit zugeschrieben werden kann, verbessert im Allgemeinen die hier gewünschte Selektivität.

Die anschließende Verseifung des Methylesters **82**<sup>169</sup> lieferte die freie Säure **83** in hoher Ausbeute. Diese konnte in gewohnter Weise durch Carbodiimid-Kupplung in den Thioester **84** überführt werden.



Schema 30: a)  $P(OiPr)_3$ , 130°C, 5 h, 96%; b) 0.5N KOH, Dioxan, 80°C, 4 h, 95%; c) *N*-Acetylcysteamin, DCC, 4-DMAP,  $CH_2Cl_2$ , RT, 20 h, 85%.

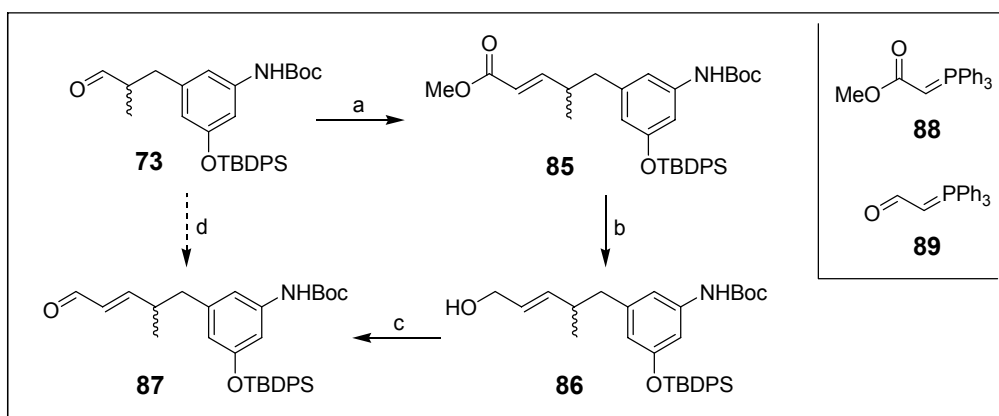
<sup>166</sup> B. A. Arbusov, *Pure Appl. Chem.* **1964**, *9*, 307-335.

<sup>167</sup> Aufgrund der höheren Priorität des Sauerstoffs muss hier die Bezeichnung der „*Z*-Selektivität“ gelten.

<sup>168</sup> I. Paterson, M. D. McLeod, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4183-4186.

<sup>169</sup> C. Grison, S. Genève, E. Halbin, P. Coutrot, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4903-4923.

Der Aufbau des Tetraketids durch iteratives Vorgehen *via* WITTIG-Methodik startete vom Aldehyd **73**, wobei zunächst das kommerziell erhältliche Ylid **88** zum Einsatz kam. Der erhaltene Methylester **85** wurde in einer Reduktions-Oxidations-Sequenz mit DIBAL-H und DESS-MARTIN-Reagenz in den ungesättigten Aldehyd überführt. Auch in diesem Fall war eine direkte Reduktion des Esters nicht möglich (vgl. Kapitel 3.2.2.). Eine vielversprechende und weitaus kürzere Variante zum Aufbau von **87** bot das ebenfalls käufliche Ylid **89**, welches mit unterschiedlichem Erfolg in mehreren Naturstoffsynthesen seinen Einsatz fand.<sup>170</sup> Der grundlegende Gedanke bei der Verwendung dieses stabilen Reagenz ist, dass der entstehende ungesättigte Aldehyd weitaus weniger reaktiv ist als sein gesättigter Vorläufer und somit eine mehrfache Olefinierung größtenteils unterbunden wird. In der Realität zeigte sich dann jedoch, dass nicht nur die Ausbeute des Aldehyds mit 40% sehr unbefriedigend war, auch wurde ein nicht trennbares Gemisch aus dem ein-, zwei- und dreifach olefinierten Produkt erhalten, was möglicherweise auf die essentiell lange Reaktionszeit, sowie die recht hohe Temperatur zurückzuführen ist.



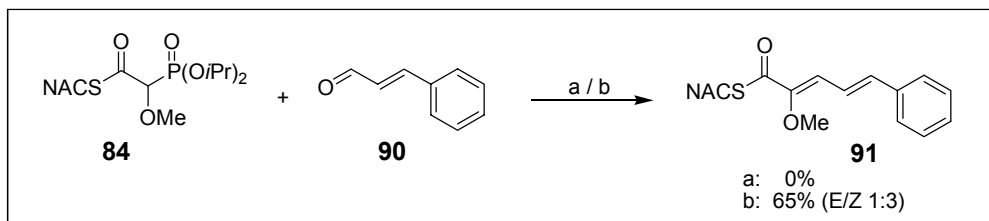
**Schema 31:** a) **88**, CHCl<sub>3</sub>, 55°C, 12 h, 97%; b) DIBAL-H, THF, -40°C, 30 min, → RT, 90 min, 97%; c) DMP, NaHCO<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 30 min, 72%; d) **89**, Toluol, 90°C, 70 h, 40%.

Vor dem Einsatz von **84** sollten unterschiedliche Reaktionsführungen mit Zimtaldehyd als Äquivalent zum eigentlichen Aldehyd **87** getestet werden. Dabei konnte sich an einer Arbeit von SENEICI orientiert werden, welcher sehr ausführlich die stereoselektive Darstellung von  $\alpha$ -Alkoxy- und  $\alpha$ -Aryloxyestern durch WITTIG-, HORNER- und HORNER-WADSWORTH-EMMONS-Chemie untersuchte.<sup>171</sup>

<sup>170</sup> a) G. W. J. Fleet, M. J. Gough, P. W. Smith, *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 1853-1856; b) W. C. Still, C. Gennari, J. A. Noguez, D. A. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 260-262.

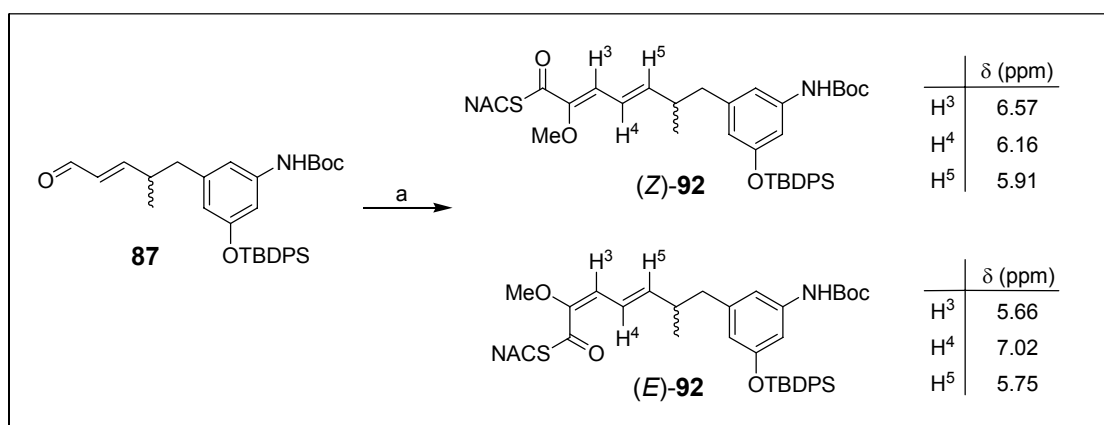
<sup>171</sup> P. Seneci, I. Leger, M. Souchet, G. Nadler, *Tetrahedron* **1997**, 53, 17097-17114.

So stellte sich sehr schnell heraus, dass die Deprotonierung von **84** mit KHMDS, wie bisher in sämtlichen Publikationen<sup>164, 165</sup> durchgeführt, zu keinem Umsatz des Startmaterials führte (Schema 32). Hingegen ergab die Verwendung von DBU als Base nach 20 Stunden einen nahezu vollständigen Umsatz. Nach chromatographischer Reinigung konnten immerhin 65% des Thioesters **91** als separierbares E/Z-Gemisch (1:3) erhalten werden, so dass weitere Testreaktionen als nicht notwendig erachtet wurden.



**Schema 32:** a) 2 eq KHMDS, THF, RT, 90 h, 0%; b) 4 eq DBU, THF, RT, 20 h, 65% (E/Z 1:3).

Auch die Reaktion mit dem Aldehyd **87** konnte schließlich in zufrieden stellender Ausbeute durchgeführt werden. Die recht moderate Stereoselektivität (E/Z 1:5.3) war dabei weniger von Bedeutung, da beide Isomere durch einfache Säulenchromatographie voneinander getrennt werden konnten und die gewünschte Z-Verbindung (Z)-**92** somit zu 58% in reiner Form vorlag.

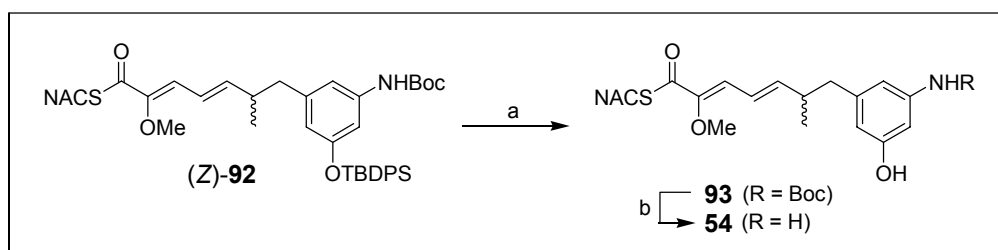


**Schema 33:** a) **84**, DBU, THF, 0°C, 30 min, dann **87**, THF,  $\rightarrow$  RT, 20 h, 69% (E/Z 1: 5.3)

Aufgrund der unterschiedlichen chemischen Verschiebung ( $^1\text{H-NMR}$ ) der Protonen des ungesättigten Systems, welche auf den Einfluss der Carbonylgruppe zurückzuführen ist, konnten die beiden Substanzen sehr einfach identifiziert werden (Schema 33).<sup>172, 173</sup> Eine Bestätigung dieser Ergebnisse konnte aus zusätzlich durchgeführten NOE-Experimenten erhalten werden.

Anzumerken sei noch, dass der verwendete Baustein **84** innerhalb eines Monats aufzubrauchen ist, da längere Lagerzeiten zur teilweisen Zersetzung und damit zu stark verminderten Ausbeuten bei dieser Reaktion führen.

Schlussendlich resultierte das Zielmolekül **54** aus der üblichen Entschützungssequenz von Phenol- und Aminogruppe mit TBAF und TFA. Da eine erste Fütterungsstudie mit dem Tetraketid **54** kein positives Ergebnis erbrachte und die weitere Vorgehensweise noch nicht feststand, sollte das doch recht wertvolle *E*-Isomer zunächst in der geschützten Form (**92**) gelagert und erst bei Bedarf freigesetzt werden.



**Schema 34:** a) TBAF\*3H<sub>2</sub>O, THF, RT, 30 min, 63%; b) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 4 h, 88%.

<sup>172</sup> M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart **1995**.

<sup>173</sup> H. Friebolin, *Ein- und Zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, 2. Aufl., VCH-Verlag, Weinheim **1992**.



### 3.3. *Synthese modifizierter Startereinheiten*

Wie in der Arbeitsgruppe GROND bereits gezeigt werden konnte, können modifizierte Startereinheiten, basierend auf einem Aminobenzoesäure-Grundgerüst, von *Actinosynnema pretiosum* erkannt und auf die erste Domäne der PKS geladen werden. In diesem Fall wurde 4-Chloro-3-aminobenzoesäure an die Mutante *HGF073* verfüttert und massenspektrometrisch die Produktion von 20-Desmethoxy-Ansamitocin P-3 nachgewiesen.<sup>174</sup> Die Isolation größerer Substanzmengen für weitere NMR-spektroskopische Untersuchungen und *in vitro* Tests an Tumorsystemen scheiterte jedoch bis zum heutigen Tag.

Die nachfolgend beschriebenen Synthesen von abgewandelten Startereinheiten basieren auf zwei Grundideen. Zunächst sollten an unterschiedlichen Stellen im aromatischen System Modifikation durchgeführt werden, um nach entsprechendem Verfüttern und Durchlaufen des Biosynthese-Apparates von *HGF073* zu Ansamitocin P-3 Derivaten zu gelangen. Die Abänderungen sollten dabei zunächst einmal rein willkürlich vorgenommen werden. In einem zweiten Ansatz sollte ein deuterierter AHBA-Vorläufer dargestellt werden, um ein isotopenmarkiertes Ansamitocin P-3 zu erhalten. Dieses sollte als „interner Standard“ bei der Quantifizierung vom (original) Ansamitocin P-3 in der hochauflösenden Massenspektroskopie dienen. So könnte aufgrund des vergleichbaren Ionisierungspotentials direkt und sehr exakt die Einbaurrate der verfütterten Di-, Tri- und Tetraketide aus dem Rohextrakt der entsprechenden Fermentation bestimmt werden.

#### 3.3.1. *Synthese von 3-(D<sub>3</sub>)-Methoxy-5-amino-benzoesäure*

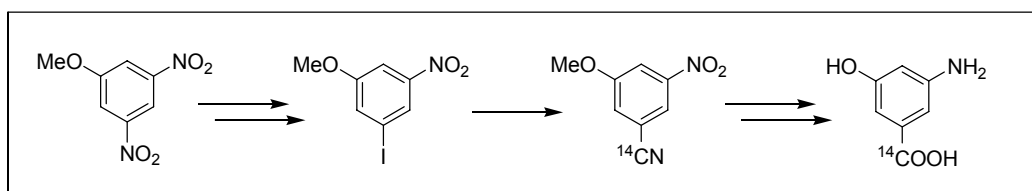
Für die Darstellung strahlungsstabiler, isotopenmarkierter organischer Verbindungen wird in der Regel auf zwei Isotopen zurückgegriffen, <sup>2</sup>H und <sup>13</sup>C.<sup>175</sup> Hierzu wird in dem entsprechenden Syntheseschritt ein ein- oder mehrfach markiertes Reagenz eingesetzt, um die gewünschte Stelle im Molekül zu kennzeichnen. Der Einsatz dieser Isotope wäre auch in diesem Fall denkbar. Wie sich bei der Darstellung der Diketide jedoch bereits andeutete, findet in protischen Lösungsmitteln ein zwar recht langsamer, aber nicht unerheblicher Austausch der aromatischen Protonen bei Substanzen mit einem 1-Alkyl-3-hydroxy-5-amino-Substitutionsmuster statt. Mit einer quantitativen Betrachtung dieses Phänomens soll sich

<sup>174</sup> Dr. Stephanie Grond, Universität Göttingen, persönliche Mitteilung, 2004

<sup>175</sup> Für radiochemische Zwecke sind auch <sup>14</sup>C-Markierungen gebräuchlich.

daher noch am Ende dieses Kapitels (3.3.5.) befasst werden. Das Einbringen von Deuterium an diesen Positionen wäre auch auf diesem Wege (z.B. durch Austausch in  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) daher zwar generell möglich, doch würde die Verfütterung im wässrigen Medium über einen Zeitraum von 4-5 Tagen einen erneuten Austausch ermöglichen und somit größtenteils wieder zum nicht deuterierten Baustein führen.

Bereits 1980 wurde von RICKARDS die Darstellung von Kohlenstoff-markierter AHBA beschrieben.<sup>176, 177</sup> Ausgehend von der 1-Methoxy-3,5-dinitrobenzol wurde zunächst partiell hydriert und in das entsprechende Iodid überführt. Die Carboxylgruppe wurde anschließend über eine Substitution mit  $^{13}\text{C}$ - bzw.  $^{14}\text{C}$ -markiertem Cyanid eingebracht. Eine abschließende Verseifung und Reduktion lieferte schließlich die isotopenmarkierte Benzoesäure.



**Schema 35:** RICKARDS Zugang zu  $^{14}\text{C}$ -markierter Amino-hydroxy-benzoesäure

Sicherlich wäre eine Nutzung dieses bereits erarbeiteten Zugangs möglich gewesen, jedoch sprach die Erhöhung der Masse um nur etwa ein oder zwei Dalton (bei  $^{13}\text{C}$ -/ $^{14}\text{C}$ -Markierung) dagegen. Durch das im Ansamitocin enthaltene Chlor verursachte Isotopenmuster<sup>178</sup> würde das  $^{13}\text{C}$ -/ $^{14}\text{C}$ -Referenz-Ansamitocin zu stark von den Signalen des natürlichen Makrolactams überlagert werden. Eine Erhöhung der Masse um mindestens drei Dalton wurde daher angedacht.

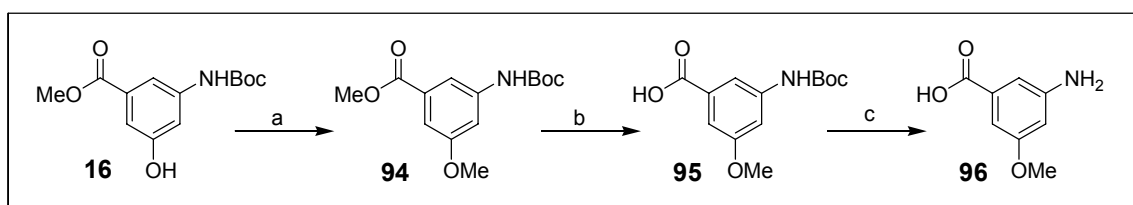
So wurde die Überlegung aufgeworfen, der Biosynthese in der Blockmutante von *Actinosynnema pretiosum* etwas „unter die Arme zu greifen“ und die im fertigen Naturstoff enthaltene  $\text{CH}_3$ -Einheit am phenolischen Sauerstoff auf chemischem Wege zu inkorporieren. Bei Erkennung und dem Aufladen auf die PKS könnte so, bei vollständigem Durchlaufen des Biosynthese-Apparates, eine Erhöhung der Masse um drei Dalton erreicht werden. Weiterhin lieferte dieses Experiment weitere Erkenntnisse über die Substratspezifität der Lade-Domäne dieses Multienzymclusters. Wie sich später herausstellte (Kapitel 3.4.), konnten durch dieses Vorgehen auch noch weitere Informationen über die post-PKS-enzymatischen Transformationen erhalten werden.

<sup>176</sup> J. J. Kibby, I. A. McDonald, R. W. Rickards, *Chem. Commun.* **1980**, 768.

<sup>177</sup> M. G. Anderson, J. J. Kibby, R. W. Rickards, J. M. Rothschild, *Chem. Commun.* **1980**, 1277-1278.

<sup>178</sup> Das natürlich vorkommende Isotop  $^{37}\text{Cl}$  liegt zu etwa 24.5% vor.

Für die Synthese der 3-Methoxy-5-amino-benzoesäure konnte als Startmaterial auf den bereits *N*-geschützten Benzoesäureester **16** zurückgegriffen werden. Mit diesem wurde zunächst die gesamte Sequenz als entsprechende <sup>1</sup>H-Variante durchgeführt. Im ersten Schritt wurde unter basischen Bedingungen der Methylether eingeführt.<sup>179</sup> Anschließend erfolgte die Verseifung des Esters, gefolgt von der säurekatalysierten Entschützung des Anilins.



**Schema 36:** a) MeI, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Aceton, 40°C, 24 h, 87%; b) 1N LiOH aq., MeOH, 45°C, 3 h, 98%; c) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 24 h, 68%.

Die Synthese des entsprechenden SNAC-Esters erfolgte auf der Stufe der Säure **96**. Hierfür wurde zunächst auf die bereits etablierte DCC-Kupplung zurückgegriffen. Wie in den meisten Fällen waren nach der ersten Aufreinigung jedoch noch Anteile des Harnstoffderivats zugegen. In einigen Publikation von SCHWAB wurde der Einsatz des Thallium-Salzes vom *N*-Acetylcysteamin als alternative Variante beschrieben.<sup>180</sup> Die Darstellung des Thalliumthiolats **99** erfolgte durch einfache Umsetzung von Thallium(I)-ethoxid mit *N*-Acetylcysteamin in wasserfreiem THF (Schema 37). Die entstandene, zitronengelbe Suspension sollte ungefähr eine 0.1M Konzentration aufweisen und konnte unter Luftausschluss bei 0°C gelagert werden.<sup>181</sup>

Die Säure **96** wurde durch Überführung in das gemischte Anhydrid mit Diethylchlorphosphonat entsprechend aktiviert.<sup>182</sup> Die nach Zugabe von **99** erhaltene gelbe Lösung entfärbte sich mit der Zeit, wodurch der Reaktionsfortschritt sehr gut zu beobachten war. Im Vergleich zur Standard-Carbodiimid-Kupplung wurde die Ausbeute so auf gute 73% gesteigert, Verunreinigungen konnten in diesem Fall nicht mehr nachgewiesen werden. Das Freisetzen des Anilins erfolgte, wie üblich, mit einem großen Überschuss Trifluoressigsäure.

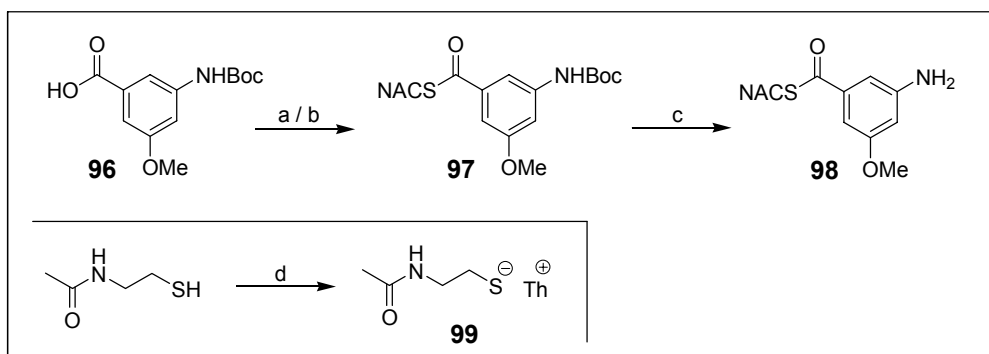
<sup>179</sup> W.-M. Dai, Y. K. Cheung, K. W. Tang, P. Y. Choi, S. L. Chung, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 12263-12276.

<sup>180</sup> a) J. M. Schwab, C.-K. Ho, W.-b. Li, C. A. Townsend, G. M. Salituro, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5309-5316; b) J. M. Schwab, J. B. Klassen, *Chem. Commun.* **1984**, 298-299.

<sup>181</sup> J. M. Schwab, J. B. Klassen, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 7217-7227.

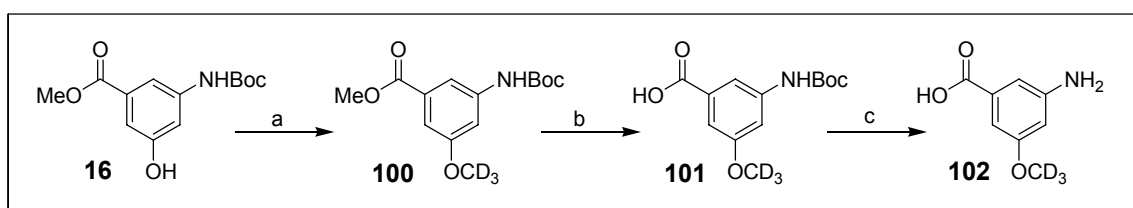
<sup>182</sup> a) D. E. Cane, R. H. Lambalot, P. C. Prabhakaran, W. R. Ott, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 522-526;

b) D. E. Cane, W. Tan, W. R. Ott, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 527-535.



**Schema 37:** a) *N*-Acetylcysteamin, DCC, 4-DMAP, MeCN, RT, 4 h, 59%; b) Cl(O)P(OEt)<sub>2</sub>, Et<sub>3</sub>N, THF, RT, 3 h, dann **99**, 2 h, 73%; c) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 4 h, 82%; d) Thallium(I)-ethoxid, THF, RT, 30 min.

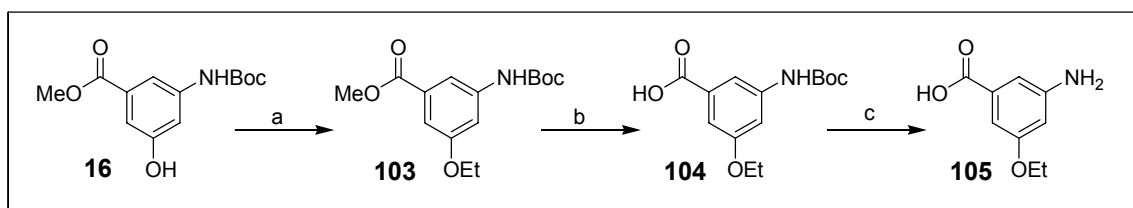
Nachdem sich die Darstellung der Säure **96** und Reinigung durch Umkristallisation bewährt hatte, wurde die Synthesesequenz mit (D<sub>3</sub>)-Methyliodid analog durchgeführt. Die dreifach deuterierte Methoxy-Aminobenzoesäure wurde über drei Stufen in einer Ausbeute von 53% erhalten. Da sich in den Fütterungsexperimenten zeigte, dass sowohl der SNAC-Ester wie auch die freie Säure ähnliche Einbauraten besitzen, wurde darauf verzichtet den analogen Aktivester von **102** herzustellen.



**Schema 38:** a) CD<sub>3</sub>I, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Aceton, 40°C, 24 h, 85%; b) 1N LiOH aq., MeOH, 45°C, 3 h, 93%  
c) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 24 h, 67%

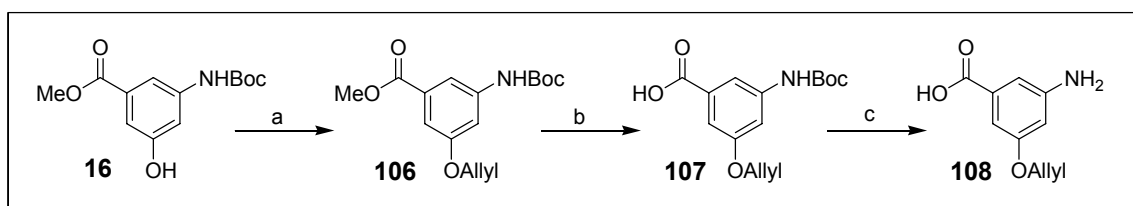
### 3.3.2. Synthese weiterer *O*-alkylierter AHBA

Nachdem sich in Kapitel 3.4.2. zeigte, dass die *O*-methylierten Vertreter der AHBA **96** und **102** recht gute Einbauraten in den Verfütterungsversuchen zeigten, sollten weitere Derivate erzeugt und schließlich an der Blockmutante *HGF073* getestet werden. Mit immer größeren Alkylresten sollte sich langsam an die Toleranzgrenze der Polyketid-Synthese herangetastet werden. So wurde sich zunächst für einen Ethyl- und einen Allylrest entschieden. Beide wurden auf dem schon bekannten Weg auf die phenolische Funktion übertragen.



**Schema 39:** a) Ethyliodid,  $K_2CO_3$ , Aceton,  $40^\circ C$ , 24 h, 76%; b) 1N LiOH aq., MeOH,  $45^\circ C$ , 3 h, 95%  
c) TFA,  $CH_2Cl_2$ , RT, 24 h, 94%

Mit einem Allylrest in entsprechender Position würden sich noch weitere Vorteile ergeben. Zum einen ließen sich auf einfachem Wege weitere, höher substituierte AHBA-Derivate durch die bekannte CLAISEN-Umlagerung darstellen.<sup>183</sup> In diesem Zusammenhang sei auf eine interessante Publikation von EBERLIN und MARSAIOLI<sup>184</sup> zur Synthese von Aryl-Allylethern, sowie Untersuchungen zu deren Regioselektivität in CLAISEN-Umlagerungen hingewiesen. Weiterhin bestünde die Möglichkeit, im Falle der Umsetzung zum 20-Allyloxy-Ansamitocin, am fertigen Naturstoffderivat diese ungesättigte Funktion für weitere Modifikationen (z. B. Kreuz-Metathese) zu nutzen.



**Schema 40:** a) Allylbromid,  $K_2CO_3$ , Aceton,  $40^\circ C$ , 24 h, 90%; b) 1N LiOH aq., MeOH,  $45^\circ C$ , 3 h, 99%  
c) TFA,  $CH_2Cl_2$ , RT, 24 h, 87%

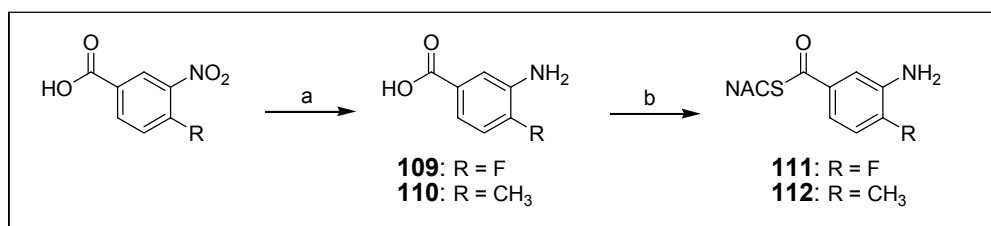
### 3.3.3. Synthese verschiedener Derivate der 3-Amino-benzoessäure

Von dem Ergebnis der GROND Gruppe inspiriert (Umsetzung der 4-Chloro-3-amino-benzoessäure), wurden bei den bekannten Chemikalienlieferanten verschiedene Substrate ähnlicher Struktur eruiert, welche bereits durch einfachste Modifikationen in den Fütterungsexperimenten eingesetzt werden konnten.

<sup>183</sup> F. E. Ziegler, *Chem. Rev.* **1988**, 88, 1423-1452.

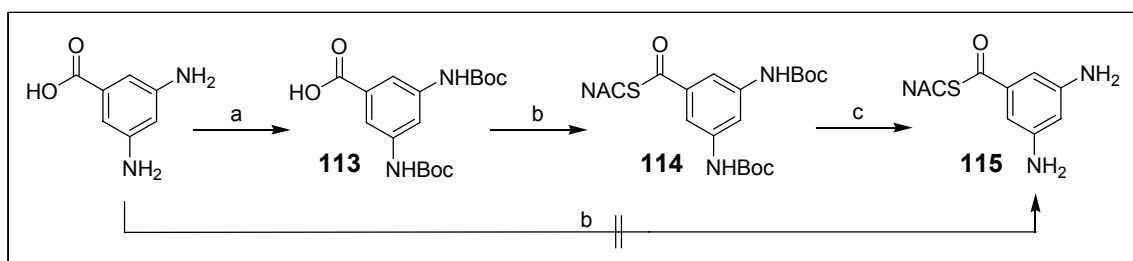
<sup>184</sup> F. C. Gozzo, S. A. Fernandes, D. C. Rodrigues, M. N. Eberlin, A. J. Marsaioli, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 5493-5499.

So wurden durch Hydrierung der jeweiligen Nitro-Gruppe die beiden Aminosäuren **109** und **110** in sehr guten Ausbeuten erhalten (Schema 41). Die Darstellung der entsprechenden SNAC-Derivate erfolgte anschließend durch die bereits etablierte Carbodiimid-Kupplung der freien Säuren. Besonders die Ausbeute des fluorierten Aromaten blieb dabei jedoch deutlich unter den Erwartungen. Aufgrund der Ansatzgröße wurden gleichwohl 75 mg erhalten, wodurch eine Wiederholung dieses Versuchs nicht zwingend erforderlich schien.



**Schema 41:** a) H<sub>2</sub>, Pd/C, MeOH, 3 h, **109** = 99%, **110** = 96%; b) *N*-Acetylcysteamin, DCC, 4-DMAP, MeCN, **111** = 37%, **112** = 52%.

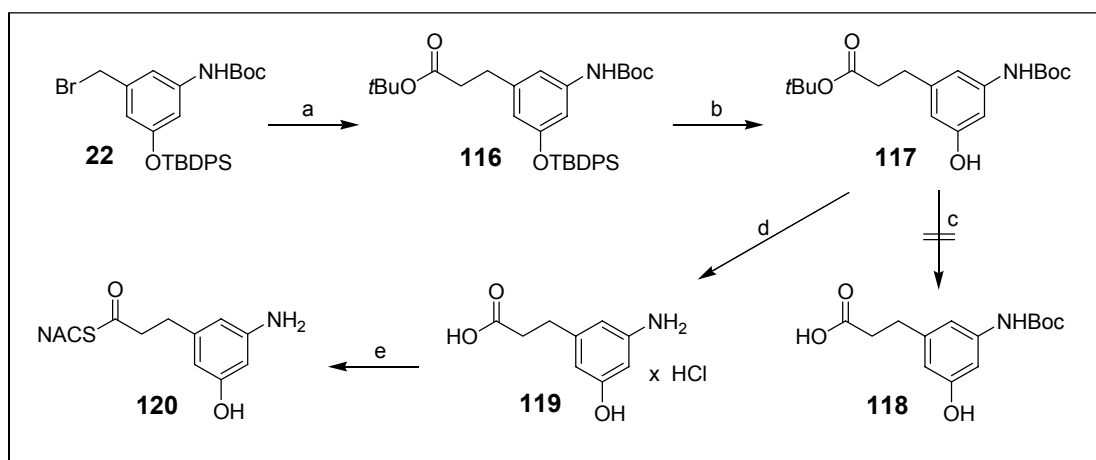
Weitere Substrate wie 3-Aminobenzoesäure und 3,5-Diaminobenzoesäure konnten direkt in Fütterungsexperimenten eingesetzt werden. Diese wurden vorher, zwecks besserer Löslichkeit, in die entsprechenden HCl-Salze überführt. Von der Diaminobenzoesäure wurde außerdem noch der Aktivester dargestellt. Die Synthese erfolgte hierbei über die zweifach geschützte Verbindung **113**. Für die Einführung der SNAC-Einheit wurde erneut auf das Thallium-Salz **99** zurückgegriffen, welches nach der schon in Kapitel 3.3.1. beschriebenen Überführung in das homologe Anhydrid, den Thioester **114** in guten 82% Ausbeute lieferte. Die abschließende Entschützung des Dicarbamats zu Diamin **115** mit Trifluoressigsäure war dabei abermals nur noch Formsache. Eine direkte Umsetzung, ohne den Gebrauch jeglicher Schutzgruppen, war auf diesem Wege leider nicht möglich.



**Schema 42:** a) Boc<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub>, THF/H<sub>2</sub>O, RT, 36 h, 53%; b) Cl(O)P(OEt)<sub>2</sub>, Et<sub>3</sub>N, THF, RT, 3 h, dann **99**, 3 h, 82%; c) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 24 h, 60%

### 3.3.4. Synthese eines modifizierten Diketids

Da sich aus den Arbeiten von H. G. FLOSS *et al.* bekannt war, dass bei Verfütterung an die Blockmutante *HGF073* nur ein Enantiomer des Diketids weiter prozessiert wurde, bestand die Überlegung, ein entsprechendes Diketid ohne Methylgruppe an der 2-Position herzustellen. Hierzu wurde von dem bereits dargestellten Benzylbromid **22** als Startmaterial ausgegangen. Die folgende C<sub>2</sub>-Verlängerung mit *tert*-Butylacetat<sup>185, 186</sup> führte zum Ester **116**, welcher zum freien Phenol **117** weiter umgesetzt wurde.



**Schema 43:** a) *t*BuOAc, LDA, THF, -78°C, 1 h, dann **22**, -35°C, 1 h, 93%; b) TBAF, THF, 0°C, 1 h, 86%; c) ZnBr<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 24 h oder CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O, NaI, MeCN, 80°C, 24 h; d) TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 24 h, 76%; e) *N*-Acetylcysteamin, DCC, 4-DMAP, MeCN, Ultraschall, 2 h, 27%.

Eine selektive Freisetzung der Säure **118** konnte in Anwesenheit des *tert*-Butylcarbammates jedoch nicht vollzogen werden, obwohl von WU die chemoselektive Verseifung von *tert*-Butylestern und -ethern, auch in Anwesenheit einer Boc-Schutzgruppe, publiziert wurde.<sup>187</sup> Stattdessen konnte primär die Entschützung des Anilins beobachtet werden (37% wurden in diesem Fall isoliert). Hierbei sollte auch auf eine Veröffentlichung von WERMUTH hingewiesen werden, in welcher Zink(II)-bromid ausschließlich zur Entfernung der Boc-Gruppe eingesetzt wurde.<sup>188</sup> In weiteren Versuchen mit Cer(III)-chlorid / Natriumiodid<sup>189</sup> konnte hingegen zu über 95% das Startmaterial reisoliert werden.

<sup>185</sup> Die Verwendung sterisch ungehinderter Ester (z.B. Methylacetat) führt unweigerlich zu geringen Ausbeuten, da diese mit ihren entsprechenden Enolaten ebenfalls umgesetzt werden.

<sup>186</sup> M. W. Rathke, A. Lindert, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2318-2320.

<sup>187</sup> Y.-q. Wu, D. C. Limburg, D. E. Wilkinson, M. J. Vaal, G. S. Hamilton, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2847-2849.

<sup>188</sup> S. C. Nigam, A. Mann, M. Taddei, C.-G. Wermuth, *Synth. Commun.* **1989**, *19*, 3139-3142.

<sup>189</sup> E. Marcantoni, M. Massaccesi, E. Torregiani, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4430-4432.

Daher wurde erneut auf bewährte Methoden zurückgegriffen, auch wenn dies die Einführung der SNAC-Einheit erschweren sollte. So folgte auf die Freisetzung des Phenols mit TBAF die zeitgleiche Entfernung von *tert*-Butylester und -carbamat mit Trifluoressigsäure und anschließender Aufreinigung über den Ionentauscher Amberlite® IRA-900, wodurch die Aminosäure **119** als Hydrochlorid erhalten wurde. Die anschließende NMR-spektroskopische Untersuchung dieser Substanz in deuteriertem Methanol offenbarte einen erheblichen Austausch der aromatischen Protonen. Diese Erscheinung soll im folgenden Kapitel näher betrachtet werden. Die finale Veresterung mit *N*-Acetylcysteamin wurde aufgrund von Löslichkeitsproblemen in diesem Fall im Ultraschallbad durchgeführt. Die Aufreinigung erfolgte danach durch präparative HPLC und lieferte den Aktivester der unnatürlichen Aminosäure **120** in einer bescheidenen Ausbeute von nur 27%. Für die folgenden Fütterungsstudien war die erhaltene Menge jedoch schon ausreichend.

### 3.3.5. Protonenaustausch an Amino-hydroxy-substituierten Aromaten

An einigen Substanzen der vergangenen Kapitel zeigte sich, bei Aufnahmen in protischen deuterierten Lösungsmitteln, ein mehr oder minder starker Austausch der aromatischen Protonen. Zwar bedient man sich auch gezielt bei der Herstellung von deuterierten Lösungsmitteln dieser H/D-Austauschreaktion (*engl.*: scrambling), doch ist dieses Verfahren nicht immer geeignet. In den meisten Fällen (z. B. Darstellung von D<sub>6</sub>-Benzol) wird mit gasförmigem D<sub>2</sub> in Gegenwart von Katalysatoren und / oder erhöhtem Druck auf die Substrate eingewirkt (WILZBACH-Technik).<sup>190</sup> Umso verwunderlicher war es zunächst, einen recht schnellen Austausch an den 3,5-Amino-hydroxy-substituierten Aromaten beobachten zu können. Dieses wurde besonders deutlich, nachdem eine in CD<sub>3</sub>OD gelöste Probe vor der <sup>13</sup>C-NMR-Messung noch 48 Stunden im Kühlschrank gelagert wurde und daraufhin in der DEPT-90-Aufnahme keine Signale der tertiären aromatischen Kohlenstoffe mehr sichtbar waren.

Daher wurde dieser Effekt an der 3-(3-Hydroxy-5-amino)-propionsäure **119** in einer kinetischen Studie näher untersucht. Hierfür wurden 8 mg der Verbindung in 0.75 ml D<sub>2</sub>O gelöst und in bestimmten Zeitabständen ein Protonen-NMR-Spektrum aufgenommen. Zwischen den einzelnen Messungen wurde die Probe bei Raumtemperatur gelagert.

---

<sup>190</sup> J. Falbe, M. Regitz, *Römpf Chemie Lexikon*, 9. erweiterte Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart **1995**, 913-914.



In der folgenden Abbildung wurden vier der angefertigten Spektren hintereinander gelegt. Sie verdeutlicht die Abnahme der aromatischen Protonensignale, die besonders stark an den Positionen 2 und 6 zu sehen sind. Die Zuordnung der einzelnen Protonen erfolgte durch entsprechende HMQC- und HMBC-Experimente, wobei eine Unterscheidung von 2-H und 6-H nicht möglich war.

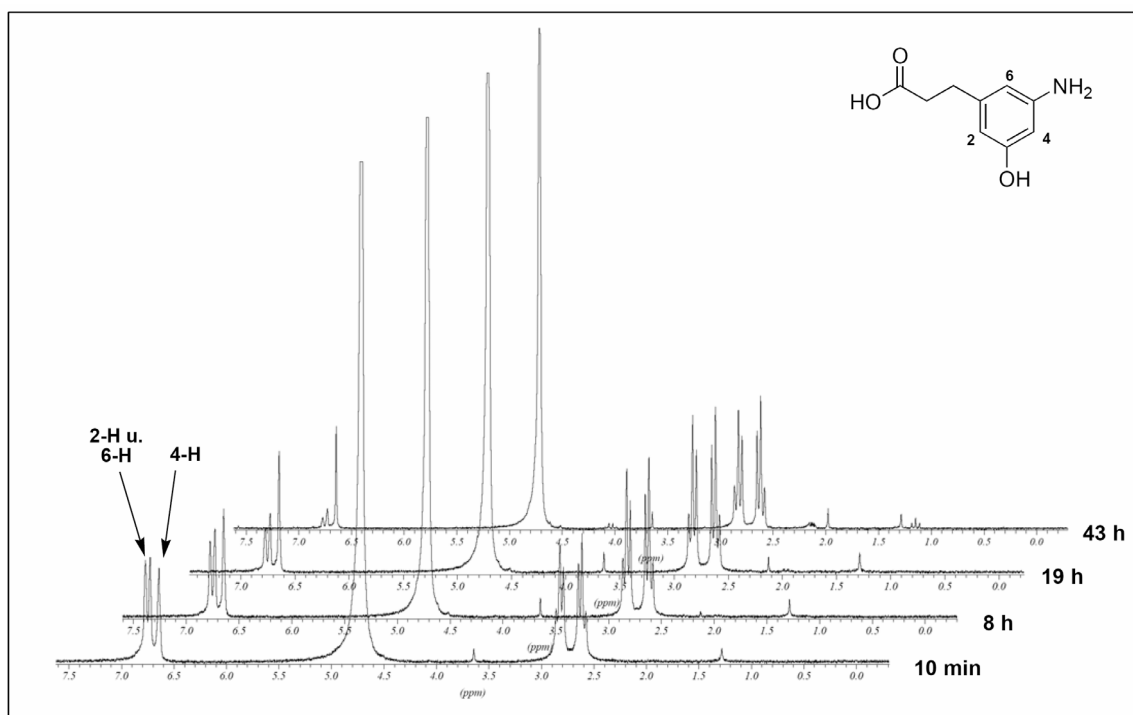
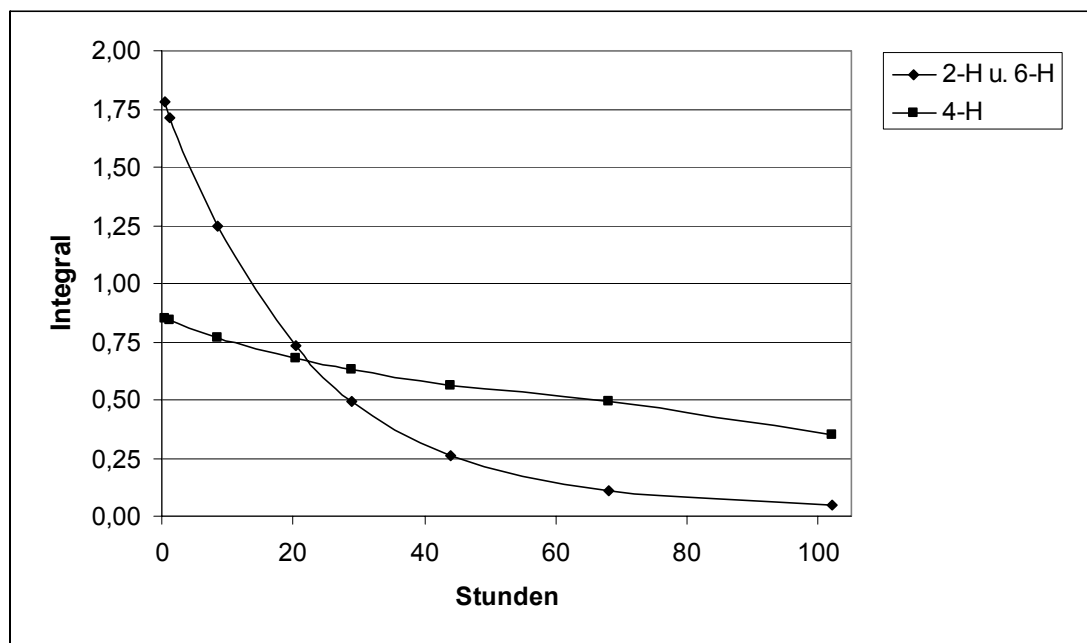


Abbildung 20:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren (200 MHz) von **119**, aufgenommen in  $\text{D}_2\text{O}$

Schließlich wurden alle acht Spektren ausgewertet<sup>191</sup> und die numerischen Werte der Integration gegen die Zeit<sup>192</sup> aufgetragen (Abbildung 21). Hierbei zeigte sich, dass der Wechsel an den Positionen 2 und 6 ungefähr vier Mal schneller abläuft, als in der *para*-Stellung der Seitenkette.

<sup>191</sup> Die Integrale der aliphatischen  $\text{CH}_2$ -Gruppen wurden dabei jeweils auf 2 kalibriert.

<sup>192</sup> Zeitpunkt der Aufnahme nach dem Lösen der Probe.



**Abbildung 21:** Lösung von **119** in  $D_2O$  bei Raumtemperatur. Integration der aromatischen Protonen, aufgetragen gegen die Zeit.

Die Probe wurde nach dem Ende der Messreihe im Vakuum eingeengt, mit Wasser ( $^1H_2O$ ) versetzt und für 15 Minuten auf  $50^\circ C$  erhitzt. Die nun folgende Messung zeigte wie erwartet, den erneuten Austausch der Protonen. Die Integrale beliefen sich nun bereits wieder auf 0.67 für 2-H und 6-H (zuletzt 0.05), sowie 0.47 für 4-H (letzte Messung 0.35). Diese Beobachtung stimmte mit der Langzeitmessung überein. In diesem Fall wurde etwa der Faktor drei für 2-H / 6-H bestimmt.

### 3.4. Studien zur Verfütterung der synthetisierten Substanzen

Dieses Kapitel widmet sich den biochemischen Aspekten des Ansamitocin-Projektes, d. h. der Verfütterung sämtlicher in Kapitel 3.1.-3.3. dargestellter Substanzen. Bis Ende 2004 wurden die entsprechenden Fütterungsstudien an der University of Washington, Department of Chemistry, in der Arbeitsgruppe von HEINZ FLOSS in Seattle durchgeführt. Das folgende Unterkapitel fasst die dabei erhaltenen Ergebnisse kurz zusammen.

#### 3.4.1. Studien und Ergebnisse der Arbeitsgruppe FLOSS<sup>193, 194</sup>

Um die in Seattle bearbeiteten Ketide kurz in Erinnerung zu rufen, seien diese in der nachfolgenden Abbildung nochmals zusammengefasst.

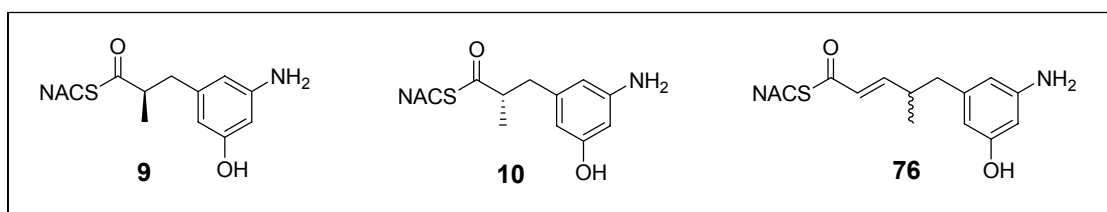


Abbildung 22: In der Arbeitsgruppe FLOSS umgesetzte Ketide

Alle drei Verbindungen wurden an die AHBA-Blockmutante von *Actinosynnema pretiosum*, im Folgenden nur noch als Stamm „HGF073“ bezeichnet, verfüttert.<sup>195</sup> Dabei wurden immer parallel der Wild-Typ *Actinosynnema pretiosum*, HGF073 ohne Zusatz, HGF073 mit AHBA, sowie HGF073 mit dem jeweiligen Di-/Triketid fermentiert. Alle Ansätze wurden anschließend mit direkter ESI-MS/MS auf Ansamitocin P-3 analysiert. Dabei produzierten der Wildstamm und die Mutante mit AHBA-Zufütterung etwa die gleiche Menge AP-3. Ohne entsprechende Fütterung von AHBA zeigte sich wie erwartet keine Produktion des Naturstoffs.

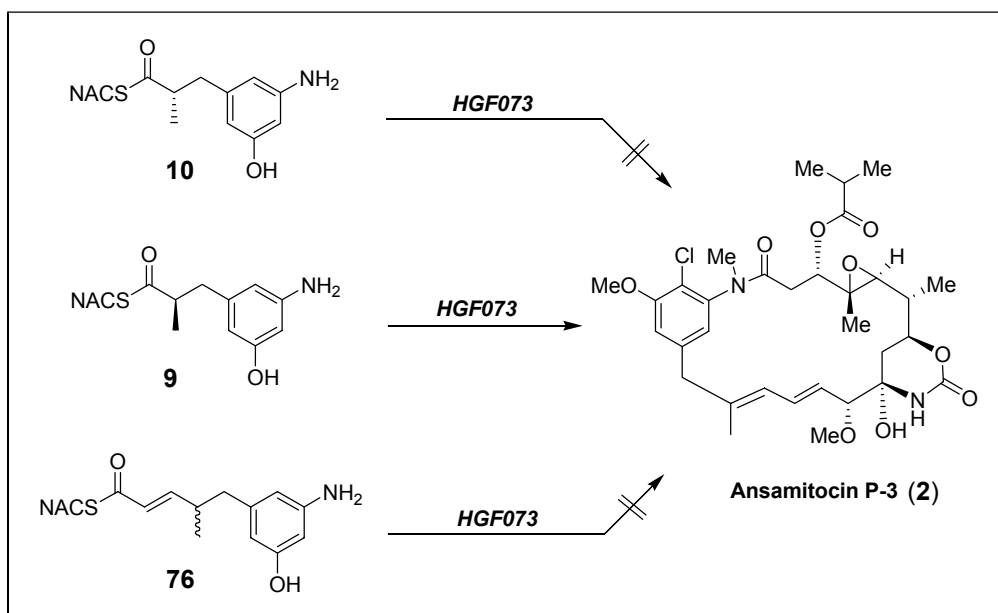
Das Resultat der Diketid-Fermentationen war in der Folge von großem Interesse. Ließ sich bei Zugabe des *S*-Enantiomers **10** kein AP-3 nachweisen, zeigte sich nach der Fütterung des entsprechenden *R*-Enantiomers **9** die Erzeugung von 1.4 - 10% AP-3, verglichen mit der

<sup>193</sup> Während der Zusammenschrift dieser Dissertation wurden die Ergebnisse dieser Studie zur Veröffentlichung in der Zeitschrift *ChemBioChem* eingereicht.

<sup>194</sup> Persönliche Mitteilungen von HEINZ G. FLOSS, via e-mail, 2004 und 2005

<sup>195</sup> Die genaue Vorgehensweise ist Kapitel 5.4. zu entnehmen.

Produktion des Wildstammes.<sup>196</sup> Die Identität des Ansamitocins konnte dabei durch das Auftreten der Fragmente  $m/z$  547 und  $m/z$  569, bei Abspaltung von Isobuttersäure (entspricht der Esterseitenkette) im MS/MS bestätigt werden.<sup>197</sup> Das auftretende Muster stimmte mit den aus dem Wildstamm erhaltenen Proben genau überein. Diese Befunde zeigten demnach genau die Stereokonfiguration, wie sie im verwandten Naturstoff Geldanamycin noch zu sehen ist – hier ist die entscheidende Methylgruppe ebenfalls *R*-konfiguriert.



**Schema 44:** Fütterungsexperimente mit der AHBA-Blockmutante von *Actinosynnema pretiosum* (HGF073).

Weiterhin zeigte sich, dass sowohl bei Fermentation der freien AHBA, wie auch mit dem homologen SNAC-Ester eine ähnliche Menge AP-3 gebildet wird. Ob letzterer dabei direkt eingebaut, oder erst nach Hydrolyse weiter umgesetzt wird, lässt sich aus den vorliegenden Ergebnissen jedoch nicht ableiten. Das racemische Triketid **76** wurde dagegen nicht prozessiert. Dies könnte ein Hinweis auf eine frühe Wanderung der Doppelbindung zum nicht konjugierten System sein, doch müssten zur Bestätigung weitergehende Experimente durchgeführt werden. Denn eine nochmalige Verringerung der Einbaurrate am zweiten Modul der PKS wäre hier ebenfalls in Betracht zu ziehen.

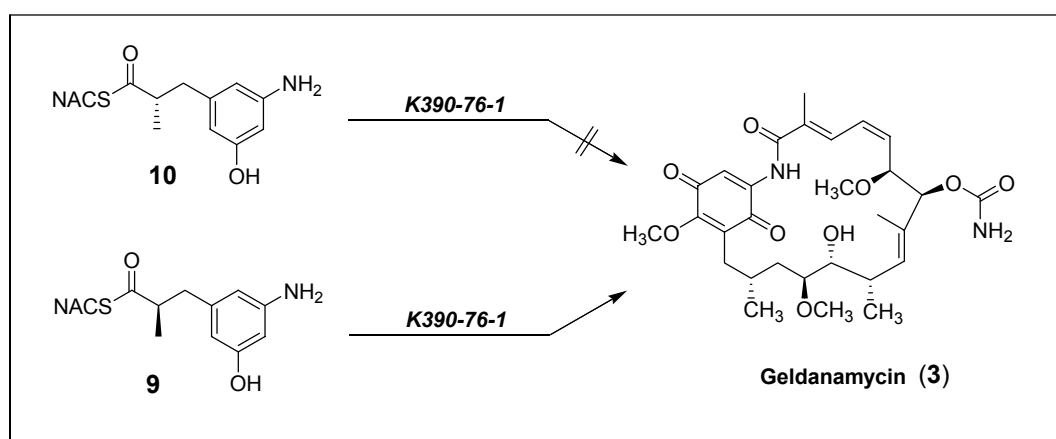
<sup>196</sup> Der relative Ertrag wurde nach Fragmentierung im MS/MS durch die Größe der erhaltenen Peaks abgeschätzt.

<sup>197</sup>  $m/z$  547 =  $[M+H-(CH_3)_2CHCO_2H]$ ;  $m/z$  569 =  $[M+Na-(CH_3)_2CHCO_2H]$ .

Die mit den Diketiden an *HGF073* erhaltenen Ergebnisse sollten noch durch Experimente mit dem Geldanamycin-Produzenten *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* abgesichert werden. Wie in der Einleitung bereits erwähnt, bleibt das entsprechende Stereozentrum des auftretenden Diketids über die Biosynthese hinaus im fertigen Makrolactam erhalten.

Für diese Versuchsreihe wurde eine sogenannte „single-crossover“ Blockmutante (*K390-76-1*) eingesetzt, welche von KOSAN BIOSCIENCES zur Verfügung gestellt wurde. In dieser Mutante wurde das AHBA-Synthase-Gen durch ein Neomycin-Resistenz-Gen ausgetauscht, welche demnach ebenfalls in der AHBA-Produktion geblockt ist.<sup>198</sup> Der Nachteil besteht allerdings darin, dass die Mutante immer in Gegenwart des Antibiotikums (Neomycin) fermentiert werden muss – ein Stressfaktor, welcher in der Regel zu niedrigeren Ausbeuten führt.

Die Kontrollexperimente zeigten wie erwartet die Produktion von Geldanamycin bei AHBA-Zufütterung und das Ausbleiben bei Abwesenheit der Startereinheit. Die Fermentationen mit den Diketiden sicherten dann die Ergebnisse der Studie mit *Actinosynnema pretiosum* ab. Auch hier wurde ausschließlich das *R*-Enantiomer **9** angenommen und zum vollständigen Geldanamycin prozessiert. Wie zuvor wurde auch dieses Resultat durch MS/MS abgesichert.<sup>199</sup>



**Schema 45:** Fütterungsexperimente mit der AHBA-Blockmutante von *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* (*K390-76-1*).

Abschließend sollten die Gründe für die verringerten Ausbeuten bei Fütterung der Diketide untersucht werden. Dazu wurden Kulturen mit *HGF073* zunächst für kurze Zeit mit **9** und **10** vorbehandelt, anschließend AHBA zugefüttert nach entsprechender Fermentation wie üblich

<sup>198</sup> A. Rascher, Z. Hu, G. O. Buchanan, R. Reid, C. R. Hutchinson, *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, *71*, 4862-4871.

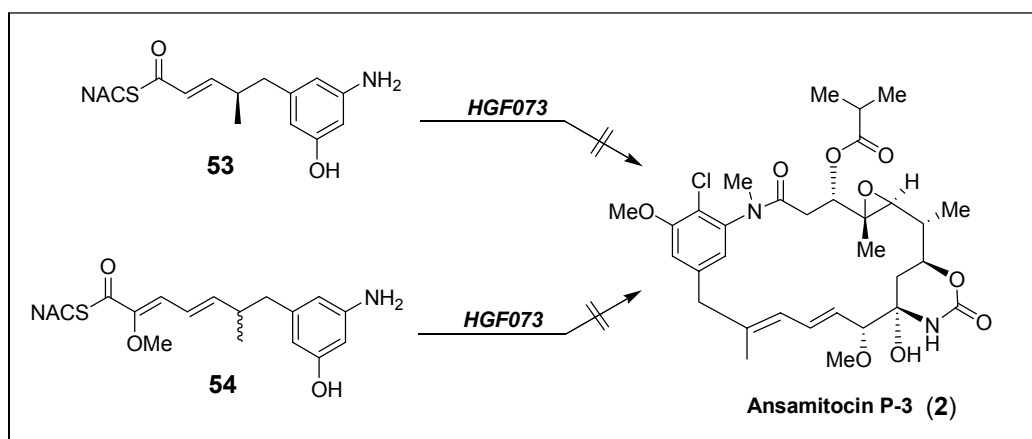
<sup>199</sup> Auftretende Fragmente:  $m/z$  522 =  $[M+Na-NH_2COOH]$ .

geerntet. Die Ausbeute an AP-3 entsprach nun wieder der des Wildstammes bzw. der von unbehandelter *HGF073* mit AHBA-Zufütterung. Dieses Ergebnis schließt demnach eine partielle Inaktivierung der PKS aus. Alles spricht für eine ineffiziente Beladung des ersten Moduls.

Kurz vor Fertigstellung dieser Arbeit berichtete KHOSLA über die Aufklärung der unbekanntenen Stereokonfiguration des in der Biosynthese von Rifamycin auftretenden Diketids.<sup>200</sup> Die Vorgehensweise entsprach dabei der in diesem Projekt und genauso wurden stark reduzierte Ausbeuten des Naturstoffs beobachtet. Das ungenügende Beladen des „richtigen“ Moduls scheint demnach ein generelles Phänomen darzustellen.

### 3.4.2. Studien mit *Actinosynnema pretiosum* HGF073

Seit Mai 2005 wurden die Fermentationen mit der *HGF073* Blockmutante am Institut für Organische Chemie in Hannover durchgeführt. Das mittlerweile synthetisierte, enantiomerenreine Triketid **53** und das bislang nur racemisch dargestellte Tetraketid **54** wurden in zwei unabhängigen Ansätzen nach übermittelter Vorschrift fermentiert.



**Schema 46:** Fütterungsexperimente mit der AHBA-Blockmutante von *Actinosynnema pretiosum* (*HGF073*).

Das Ergebnis lässt sich kurz zusammenfassen: Keiner der erhaltenen Rohextrakte enthielt Ansamitocin oder gab Hinweise auf ähnliche Substanzen oder Vorläufer der Biosynthese. Dieses Resultat spricht für die in Kapitel 3.4.1. aufgestellte Theorie, dass die Wanderung der Doppelbindung sehr früh stattfindet und die synthetischen Ketide daher nicht mehr erkannt

<sup>200</sup> I. V. Hartung, M. A. Rude, N. A. Schnarr, D. Hunziker, C. Khosla, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11202-11203.

werden. Ebenso ist aber auch eine äußerst eingeschränkte Beladung der entsprechenden Module in Betracht zu ziehen. Weitere Untersuchungen, wie die Fütterung des isomeren Tetraketids, werden dazu schon in nächster Zeit in der Arbeitsgruppe KIRSCHNING durchgeführt werden.

Bei den Versuchen zur Verfütterung modifizierter Startereinheiten ist anzumerken, dass sowohl bei Fermentationen mit freien Säuren, als auch den homologen SNAC-Estern immer gleiche Muster im ESI-MS zu beobachten waren. Daher seien in der auf der folgenden Seite aufgeführten Tabelle immer jeweils beide Substrate in einer Zeile zusammengefasst.

Der erste Versuch mit der natürlichen Startereinheit (AHBA) erfolgte immer parallel zu den weiteren Verfütterungen um sicherzustellen, dass der Stamm noch Aktivität zur Produktion der Ansamitocine aufweist. Leichte Abwandlungen, durch Entfernen der Hydroxygruppe oder entsprechende Substitution führten zunächst zu keiner Bildung abgeänderter Makrozyklen (Tabelle 2).

Ein erster Erfolg zeichnete sich jedoch bei Zuführung der 3-Amino-4-fluorobenzoessäure ab. Diese Substrat ist der in der GROND-Gruppe erfolgreich eingefügten 3-Amino-4-chlorobenzoessäure sehr ähnlich, und so war die wenn auch äußerst geringe Produktion nicht wirklich überraschend. Aufgrund dieser äußerst geringen Einbaurrate konnte bis jetzt noch kein hochaufgelöstes Massenspektrum erhalten werden. Weitere Untersuchungen (z. B. MS/MS) sollten in naher Zukunft den Beweis der postulierten Struktur erbringen können.<sup>201</sup> Eine Methylsubstitution an gleicher Stelle des Aromaten (Versuch 4) führte dagegen nicht zum Erfolg.

Wie schon in Kapitel 3.3.1. beschrieben wurde, war die in Versuch 7 verwendete Startereinheit ursprünglich zum biochemischen Aufbau eines dreifach deuterierten Ansamitocin P-3 synthetisiert worden. Wie jedoch schon mit dem nichtdeuterierten Analogon aus dem erhaltenen Isotopenmuster erkennbar war, wies das gebildete Hauptprodukt kein Chlor mehr auf. Die Signale ( $m/z = 601$  und  $623$ ) konnten recht schnell als Signale des 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 identifiziert werden. Auch die deuterierte Version lieferte in einem anschließenden Experiment wie erwartet das analoge, 19-Deschloro-20'-D<sub>3</sub>-Ansamitocin P-3 ( $m/z = 603$ ). Der eigentliche Sinn dieses Bausteins wurde damit zwar nicht erfüllt, doch konnte hiermit eindeutig belegt werden, dass in der post-PKS-Modifikation des Proansamitocin die Chlorierung des Aromaten vor der Methylierung des Phenols stattfindet.

---

<sup>201</sup> Der Einbau von 3-Amino-4-bromobenzoessäure konnte in der Diplomarbeit von TAFT gezeigt werden.<sup>161</sup>

	Zugefütterte Startereinheit*	Relevante Peaks m/z**	Produziertes Ansamitocin
1		635.2735 (M+H) <sup>+</sup> 657.2555 (M+Na) <sup>+</sup>	Ansamitocin P-3
2		---	---
3		---	---
4		611 (M+Na) <sup>+</sup>	19-Fluoro-20-deshydroxy- Ansamitocin P-3
5		---	---
6		601.3125 (M+H) <sup>+</sup> 623.2945 (M+Na) <sup>+</sup>	19-Deschloro- Ansamitocin P-3
7		604.3313 (M+H) <sup>+</sup>	19-Deschloro-20'-D3- Ansamitocin P-3
8		---	---
9		635 (M+H) <sup>+</sup>	Ansamitocin P-3
10		---	---

**Tabelle 2:** \* X = SNAC, OH; \*\* Dargestellt sind die Massen der berechneten Peaks.



Dieses Resultat steht demnach im völligen Einklang mit den von FLOSS publizierten Ergebnissen.<sup>202</sup> Die Zufütterung des daraufhin synthetisierten Ethoxy-Aromaten bzw. analogen Allylethers (Versuche 8 und 9) lieferte überraschenderweise dann keine modifizierten Deschloro-Ansamitocine, was demnach nur auf sterischen Hinderungen in der enzymatischen Umgebung liegen kann. Im Falle des Allylethers wurden im Massenspektrum jedoch Spuren vom Original Ansamitocin P-3 entdeckt. Ob dies auf eine unbemerkte Verunreinigungen des Substrates mit AHBA oder eine Hydrolyse während der Fermentation zurückzuführen ist sollte überprüft werden.

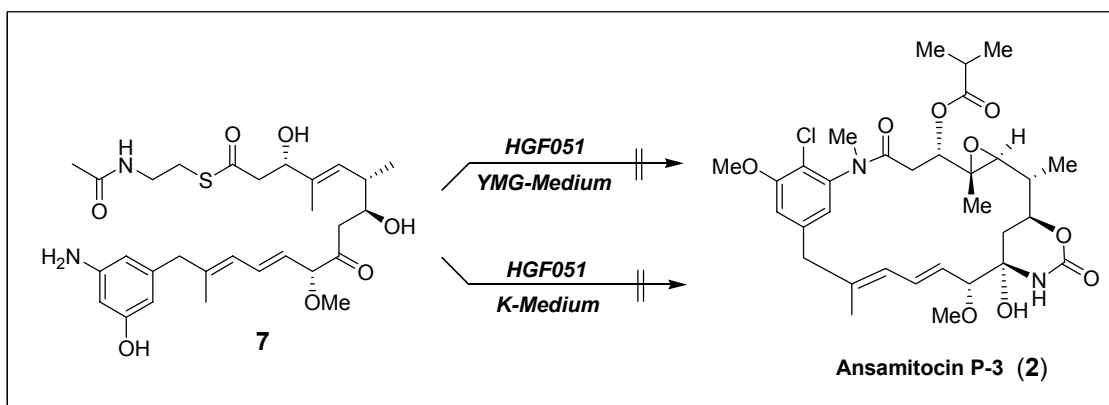
Der unter Punkt 10 aufgefasste Baustein stellt im eigentlichen Sinn keine Startereinheit mehr da, sondern ein modifiziertes Diketid. Die hohe Erwartungshaltung auf ein im Kohlenstoff-Rückgrat modifiziertes Ansamitocin konnte durch das einfache Entfernen der Methylgruppe nicht erfüllt werden. Diese scheint ein wesentliches Erkennungsmerkmal für die erste Domäne darzustellen, wie auch schon aus den Experimenten mit den beiden enantiomeren Diketiden **9** bzw. **10** hervorging.

### 3.4.3. Studien mit *Actinosynnema pretiosum* HGF051

Nachdem THOMAS FRENZEL die Synthese des *seco*-Proansamitocin (als SNAC-Ester) abgeschlossen hatte, sollten Versuche zum enzymatischen Ringschluss erfolgen. Leider scheiterte bis zu diesem Zeitpunkt die Expression von *Asm9*, weshalb zunächst die Mutante *HGF051* zur enzymatischen Vervollständigung genutzt werden sollte.<sup>203</sup> Der nach Literaturvorschrift<sup>202</sup> durchgeführte erste Versuch scheiterte jedoch. Es konnte keinerlei Modifikation von **7** durch den post-PKS-Apparat festgestellt werden. Das zugeführte Material konnte allerdings im Massenspektrum des Rohextrakts wieder gefunden werden – nicht hydrolysiert, sondern weiterhin als Aktivester **7**. Auch in einer zweiten Untersuchung, nach dem Wechsel zum K-Medium, wurde keine Transformation beobachtet. Auch hier lag der SNAC-Ester unverändert in der extrahierten Phase vor.

<sup>202</sup> P. Spiteller, L. Bai, G. Shang, B. J. Carroll, T.-W. Yu, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14236-14237.

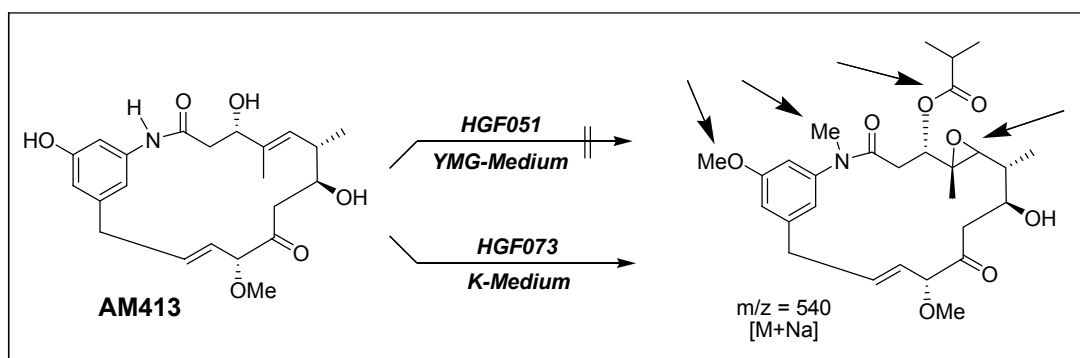
<sup>203</sup> Die *HGF051* Mutante wurde von Dr. TIN-WEIN YU (Louisiana State University) zur Verfügung gestellt.



**Schema 17:** Gescheiterte enzymatische Komplettierung von **7** mit *HGF051*

Wie schon in Kapitel 3.4.1. festgestellt wurde, kann eine extrem ineffiziente Beladung des siebten Moduls für dieses Ergebnis verantwortlich sein. Nicht auszuschließen ist auch, dass das recht komplexe Substrat die Zellmembran nur schlecht passieren kann oder der Stamm generell nicht mehr arbeitet. Daher wurden zunächst keine weiteren Untersuchungen durchgeführt, um die noch vorhandenen Reserven an *seco*-Proansamitocin **7** und dem Deshydroxy-Analogon **8** nicht unnötig zu dezimieren.

In einer weiteren Arbeit der KIRSCHNING-Gruppe wurde sich unter anderem mit der Synthese modifizierter Proansamitocine beschäftigt, welche auf enzymatischem Wege zu einem Ansamitocin-Derivat prozessiert werden sollten. Schema 48 zeigt das Analogon **AM413**, welches zwar ein um eine C<sub>2</sub>-Einheit verkürztes Rückgrat (17-gliedriges Makrolactam), sonst aber alle funktionellen Gruppen des Proansamitocin besitzt.<sup>204</sup>



**Schema 48:** Partielle post-PKS-enzymatische Transformationen des Proansamitocin-Analogon **AM413**

<sup>204</sup> Das modifizierte Proansamitocin **AM413** wurde von Dipl.-Chem. AXEL MEYER zur Verfügung gestellt.

Da die ersten Versuche des acyclischen Proansamitocins mit der *HGF051* Mutante fehlgeschlagen waren, wurde zur Absicherung ebenfalls die *HGF073* Blockmutante eingesetzt. Die gewonnenen Extrakte offenbarten dann in der HRMS-Analytik eine kleine Überraschung. Während unter den in der Literatur genutzten Bedingungen keinerlei Umsatz zu verzeichnen und nur das verfütterte Substrat eindeutig zu identifizieren war, konnte im Rohextrakt der zweiten Mutante (*HGF073*) die Transformation zu einem partiell enzymatisch modifizierten Ansamitocin beobachtet werden. Dieses zeigte sich durch das Auftreten des in der Null-Probe und im ersten Ansatz nicht enthaltenen Peaks  $m/z$  540[M+Na]. Das potentielle Produkt mit seinen enzymatischen Abänderungen ist im folgenden Schema dargestellt, doch müssen weitere Untersuchungen die vermutete Struktur eindeutig klären, wofür z. B. Fragmentierungsmuster im MS/MS oder NMR-spektroskopische Analytik genutzt werden sollte.

Auch in diesem Versuch traten erneut Signale des verfütterten, nicht umgesetzten Substrates mit  $m/z$  404 [M+H] und  $m/z$  426 [M+Na] deutlich auf. Ob dies nun auf die Kinetik der Enzyme zurückzuführen ist oder der Transport durch die Zellmembran nur eingeschränkt stattfindet, kann an dieser Stelle nicht gesagt werden. Weitere Untersuchungen durch längere Laufzeiten der Fermentation oder anschließende Zugabe von AHBA (um noch vorhandene Aktivität der Mutante zu belegen) sollten hier Klarheit schaffen.

Mit diesem Ergebnis erhärtete sich natürlich der Verdacht, dass die erhaltene Mutante *HGF051* generell nicht mehr zur post-PKS-Prozessierung fähig ist. Da sich dies nicht wie bei der *HGF073* Mutante über entsprechende AHBA (oder sonstige) Zufütterungen verifizieren lässt, sollte vor zukünftigen Experimenten eine molekularbiologische Überprüfung (Southern-Blotting oder PCR)<sup>205</sup> der gelöschten Region stattfinden.

---

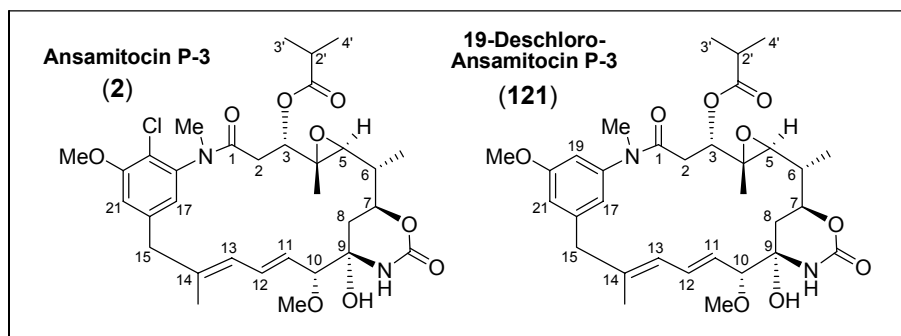
<sup>205</sup> Siehe: D. Voet, J. G. Voet, C. W. Pratt, *Lehrbuch der Biochemie*, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2002.

### 3.4.4. 19-Deschloro-Ansamitocin P-3: Chemoenzymatische Produktion und in-vitro Aktivitätsuntersuchungen

Das vorliegende 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 wurde bereits in einer Zusammenfassung der Versuche zur Derivatisierung von Maytansinen beschrieben.<sup>206</sup> Dennoch sind keine Publikationen mit spektroskopischen Daten oder genauere Angaben über Aktivitäten bekannt. Um für diesen Zweck „größere“ Substanzmengen isolieren zu können, wurde in fünf Schikanekolben à 50 ml K-Medium auf die in Kapitel 5.4. dokumentierte Weise fermentiert. Nach der Extraktion wurde der Rohextrakt zunächst über Kieselgel mit Ethylacetat vorgereinigt, um einen Großteil der aus dem Fermentationsmedium stammenden Bestandteile abzutrennen. Nach dem anschließenden Einengen konnte die jetzt in 0.5 ml Methanol gelöste Substanz durch semipräparative HPLC aufgereinigt und 1.5 mg des 19-Deschloro-Ansamitocin als farbloser Feststoff erhalten werden.

Vergleicht man diese Produktionsmenge mit den Ausbeuten des Wildstammes oder bei Zugabe von AHBA an die Mutante (bis zu 70 mg/L), so beläuft sich die Effektivität bei Zufütterung der 3-Amino-5-methoxybenzoesäure auf immerhin rund 9%, was etwa der Produktionsmenge an AP-3 im YMG-Medium entspricht. Mit dieser ausreichenden Substanzmenge konnte nun die Analytik, insbesondere NMR-Spektroskopie, durchgeführt werden.

Ein direkter Vergleich der <sup>1</sup>H-Signale von Ansamitocin P-3 und 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 ist in unten stehender Tabelle aufgeführt. Die Daten des Ansamitocin P-3 wurden dafür einer Publikation der SAKAI-Gruppe entnommen.<sup>5</sup>

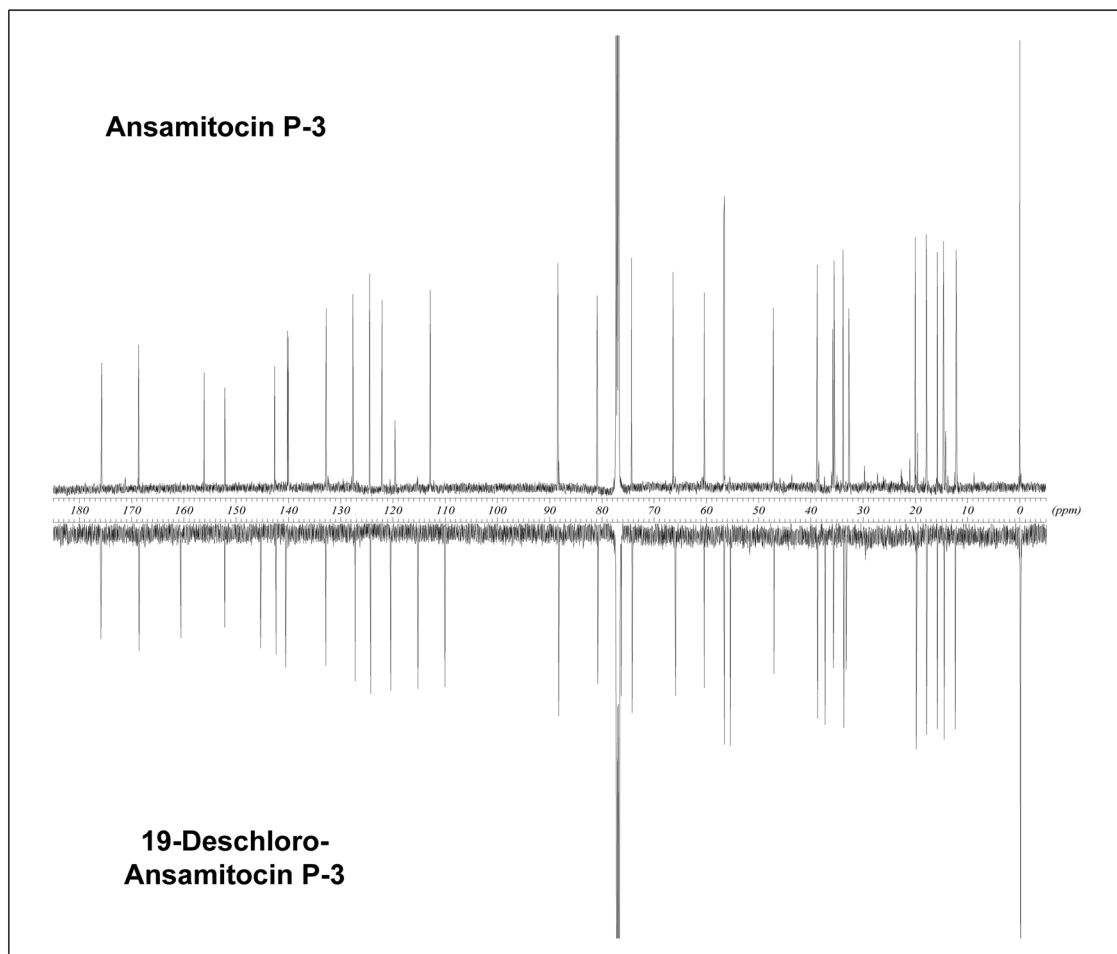


<sup>206</sup> a) P. J. Reider, D. M. Roland, *The Alkaloids*, Vol. 23, Ed.: A. Brossi, Academic Press, New York, **1984**, 71-156; b) C. R. Smith, R. G. Powell, *Alkaloids*, Vol. 2, Ed.: S. W. Pelletier, John Wiley and Sons, **1984**, 149-204.

Proton	Ansamitocin P-3	19-Deschloro-Ansamitocin P-3
2a	2.21 (dd, 1H, $J = 14.0, 3.0$ Hz)	2.21 (dd, 1H, $J = 13.9, 2.8$ Hz)
2b	2.57 (dd, 1H, $J = 14.0, 12.0$ Hz)	2.74 (dd, 1H, $J = 13.9, 12.0$ Hz)
3	4.82 (dd, 1H, $J = 12.0, 3.0$ Hz)	4.85 (dd, 1H, $J = 12.0, 2.8$ Hz)
4-CH <sub>3</sub>	0.83 (s, 3H)	0.85 (s, 3H)
5	2.96 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz)	2.95 (d, 1H, $J = 9.8$ Hz)
6	1.50 *	1.48 (m, 1H)
6-CH <sub>3</sub>	1.30 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz)	1.29 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz)
7	4.28 (m, 1H)	4.28 (ddd, 1H, $J = 12.2, 10.5, 1.8$ Hz)
8a	1.25 *	1.27 (m, 1H)
8b	1.70 *	1.67 (m, 1H)
9-NH	6.20 (bs, 1H)	6.24 (bs, 1H)
9-OH	2.97 (bs, 1H)	3.08 (bs, 1H)
10	3.50 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz)	3.51 (d, 1H, $J = 9.0$ Hz)
10-OCH <sub>3</sub>	3.36 (s, 3H)	3.36 (s, 3H)
11	5.46 (dd, 1H, $J = 15.0, 9.0$ Hz)	5.46 (dd, 1H, $J = 15.4, 9.0$ Hz)
12	6.45 (dd, 1H, $J = 15.0, 11.0$ Hz)	6.46 (dd, 1H, $J = 15.4, 10.8$ Hz)
13	6.17 (bd, 1H, $J = 12.0$ Hz)	6.17 (d, 1H, $J = 10.8$ )
14-CH <sub>3</sub>	1.70 (bs, 3H)	1.70 (s, 3H)
15a	3.52 (d, 1H, $J = 13.1$ Hz)	3.50 (d, 1H, $J = 13.5$ Hz)
15b	3.21 (d, 1H, $J = 14.0$ Hz)	3.19 (d, 1H, $J = 13.5$ Hz)
17	6.84 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz)	6.79 (bs, 1H)
18-NCH <sub>3</sub>	3.16 (s, 3H)	3.22 (s, 3H)
19	- - -	6.61 (dd, 1H, $J = 2.1, 2.1$ Hz)
20-OCH <sub>3</sub>	4.00 (s, 3H)	3.86 (s, 3H)
21	6.89 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz)	6.79 (bs, 1H)
2'	2.60 (m, 1H)	2.61 (sep, 1H, $J = 7.0$ Hz)
3'	1.21 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz)	1.20 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz)
4'	1.29 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz)	1.26 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz)

**Tabelle 3:** Gegenüberstellung der <sup>1</sup>H-NMR-Daten (500 MHz) von Ansamitocin P-3 und 19-Deschloro-Ansamitocin P-3; \* Die angegebenen Signale wurden in der Originalliteratur nicht zugeordnet.

Eine Gegenüberstellung der <sup>13</sup>C-NMR-Spektren (125 MHz) beider Substanzen findet sich in der Abbildung 23. Diese wurden auf das CDCl<sub>3</sub>-Signal (= 77.0 ppm) kalibriert und das Ansamitocin-Derivat **121** darin einmal an der Horizontalen gespiegelt.



**Abbildung 23:** Gegenüberstellung der <sup>13</sup>C-NMR-Spektren (125 MHz) von Ansamitocin P-3 (**2**) und 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 (**121**).

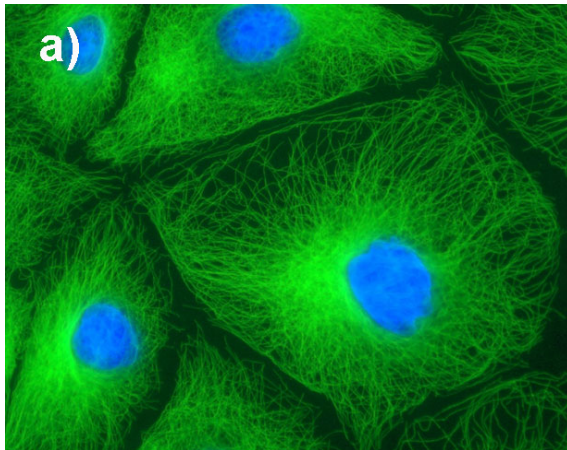
Eine Probe von 1.2 mg 19-Deschloro-AP-3 wurde schließlich zur GBF Braunschweig<sup>207</sup> geschickt, um erste *in-vitro* Untersuchungen bezüglich der Aktivität durchzuführen. Die vorläufigen Ergebnisse<sup>208</sup> im Vergleich zum Maytansin seien im Folgenden zusammengefasst: Das Deschloro-Analogon wurde an L929-Mausfibroblasten<sup>209</sup> getestet und weist mit einer IC<sub>50</sub> von 90 ng/ml eine noch sehr gute Wirksamkeit auf.<sup>210</sup> Für das Maytansin wurde dagegen schon früher an der GBF ein IC<sub>50</sub> von 0.3 ng/ml bestimmt. Die unten aufgeführten Bilder zeigen zum einen unbehandelte Zellen (Kontrolle), sowie mit Maytansin und 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 behandelte Fibroblasten.

<sup>207</sup> Gesellschaft für Biotechnologische Forschung

<sup>208</sup> Ergebnisse und Bilder von Dr. FLORENZ SASSE, GBF Braunschweig, **2005**, persönliche Mitteilung.

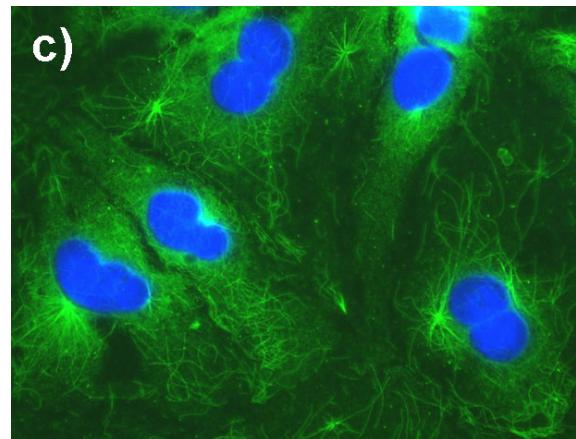
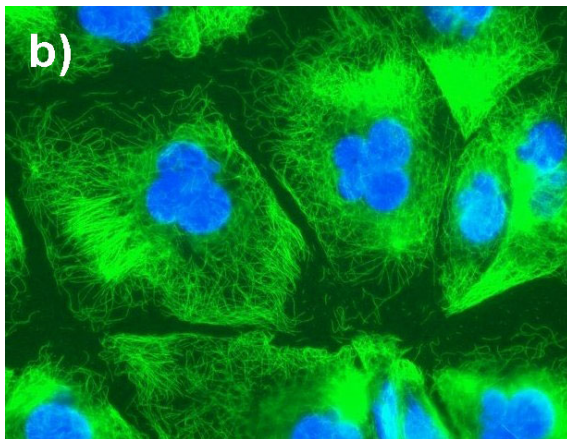
<sup>209</sup> Fibroblasten = Bindegewebszellen

<sup>210</sup> IC<sub>50</sub> (= 50% inhibitory concentration) steht für die notwendige Konzentration, das Wachstum bzw. die Replikation um 50% zu hemmen.



*Immunfluoreszenz-Markierung der Mikrotubuli (grün), Anfärbung der Zellkerne und Chromosomen (blau):*

- a) Unbehandelte Kontrollzellen
- b) Behandlung mit 50 ng/ml Maytansin (1)
- c) Behandlung mit 500 ng/ml 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 (121)



Das Maytansin wurde dabei mit der 166-fachen Konzentration des ermittelten  $IC_{50}$ -Wertes eingesetzt, woraufhin nur noch eine leichte Ausbildung des Spindelapparates erfolgt. Die Zellen können aufgrund der Mikrotubuli-destabilisierenden Wirkung des Maytansins die Metaphase nicht überschreiten, was zur Bildung polyploider Zellen<sup>211</sup> führt [Bild b)]. Das Derivat wurde dagegen nur in der 5,6-fachen Konzentration seines  $IC_{50}$ -Wertes eingesetzt und scheint sehr viel „brutalere“ Eigenschaften zu besitzen. Auch hier liegen bereits mehrere Zellkerne vor, das gesamte Zytoskelett scheint jedoch vollkommen aufgelöst und die Mikrotubuli auf einzelne Punkte konzentriert zu sein [Bild c)].

Eine genauere Interpretation der Ergebnisse war zu diesem Zeitpunkt noch nicht möglich. Weitere Untersuchungen, insbesondere ein direkter Vergleich von Ansamitocin P-3 und seiner Deschloro-Variante sollen in Kürze folgen.

<sup>211</sup> polyploid = mehrere Chromosomensätze enthaltend

## 4. Zusammenfassung und Ausblick

Mit der „chemoenzymatischen Synthese von Maytansinoid-Analoga“ wurde ein Projekt begonnen, welches in einigen Dissertationen und Diplomarbeiten eine Fortsetzung finden wird, sowohl mit anspruchsvoller organischer Synthese, als auch mit biochemischen Vorgehensweisen und Methoden. Mit der Zusammenschrift von THOMAS FRENZEL und der hier vorliegenden Arbeit wurde dieses Konzept erfolgreich begonnen. Die wichtigsten Ergebnisse seien in aller Kürze noch einmal zusammengefasst. Im Anschluss daran finden sich schließlich noch Anmerkungen und Vorschläge zu zukünftigen Aufgaben, welche den zeitlichen Rahmen einer einzelnen Dissertation gesprengt hätten.

### 4.1. Zusammenfassung der Ergebnisse

Mit dem SNAC-Ester des *seco*-Proansamitocin **7** und seinem Deshydroxy-Analogen **8** konnten die bislang umfangreichsten, vollsynthetisch erzeugten und als Vorläufer genutzten Polyketid-Thioester erfolgreich dargestellt werden. In verschiedenen anderen Ansätzen wurde zwar schon mit ähnlich großen Aktivestern gearbeitet, jedoch wurden diese überwiegend semi-synthetisch aus den jeweiligen Naturstoffen erhalten.<sup>212</sup>

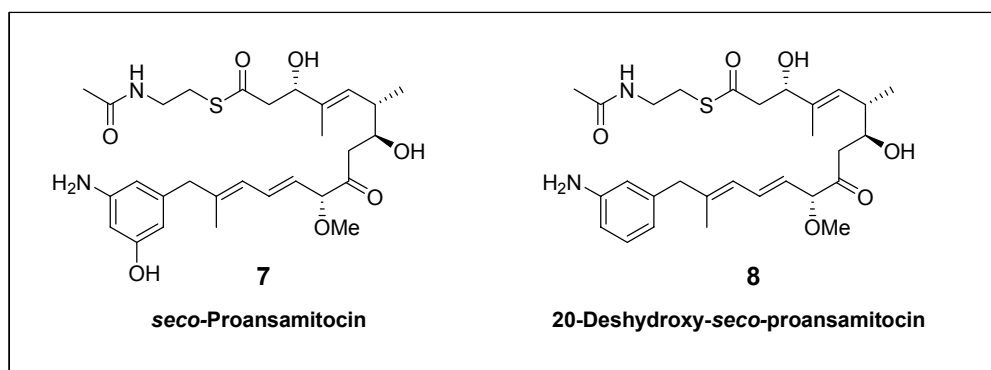


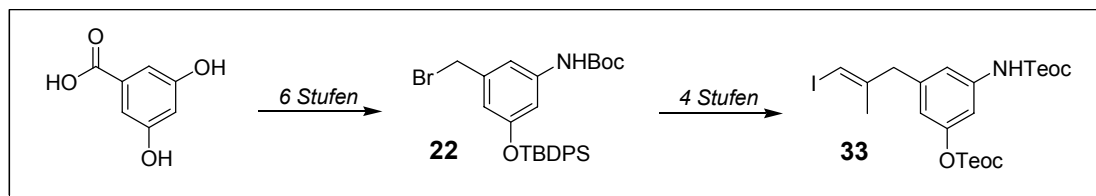
Abbildung 24: Präparierte *seco*-Proansamitocine von FRENZEL (**7**) und BRÜNJES (**8**)

Im Rahmen dieser Dissertation wurde dazu hauptsächlich der aromatische Abschnitt bearbeitet. Mit der Darstellung des Benzylhalogenids **22** wurde hierbei ein fundamentales Fragment für den weiteren Zugang zu sämtlichen Zielmolekülen geschaffen. Als besondere Herausforderung stellte sich dabei die Einführung des Acetylids heraus, welche sich

<sup>212</sup> Der bislang längste synthetisch erzeugte SNAC-Ester ist ein Hexaketid aus der Pikromycin-Biosynthese: C. C. Aldrich, B. J. Beck, R. A. Fecik, D. H. Sherman, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8441-8452.



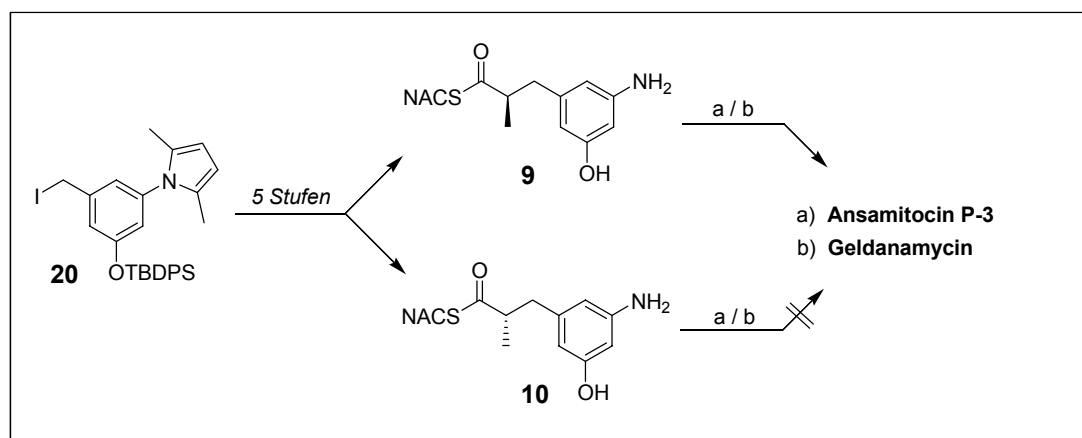
schließlich durch eine neue, Palladium-katalysierte Kupplung eines Indium-Organyls bewerkstelligen ließ. Mit der Fertigstellung des Vinylodids **33** konnte eine Synthese zum *seco*-Proansamitocin **7** von THOMAS FRENZEL entwickelt werden.



**Schema 49:** Hauptfragmente der Synthese zum Vinylodid **33**.

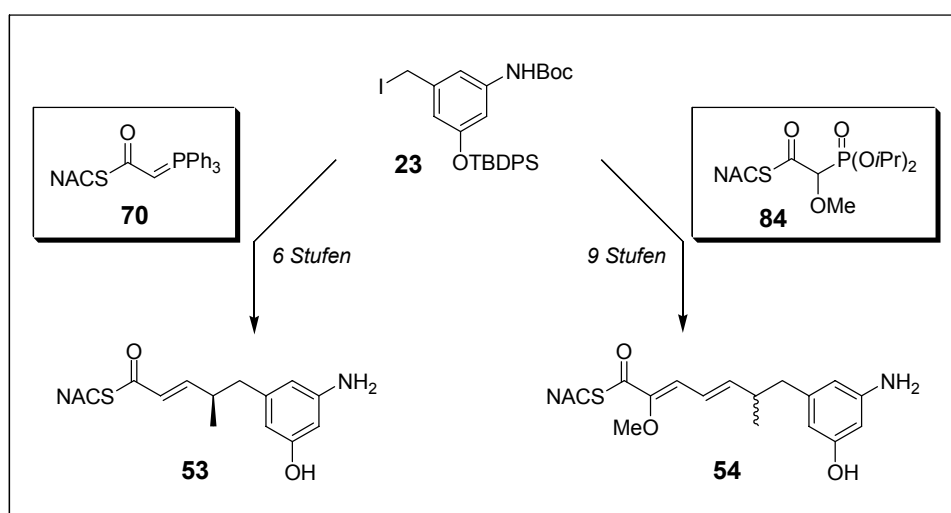
Das seinerseits präparierte aliphatische Rückgrat wurde in dieser Arbeit für die Erstellung eines ersten Derivats genutzt. Eine leichte Modifikation des Aromaten erlaubte die Darstellung eines analogen Vinylodids und die konvergente Zusammenführung dieser Hauptfragmente in einer HECK-Reaktion, wodurch in sechs weiteren Stufen das 20-Deshydroxy-*seco*-Proansamitocin **8** erhalten werden konnte.

Im Bereich der natürlichen Biosynthese-Vorläufer wurde mittels EVANS-Methodik der enantiomerenreine Aufbau zu den entsprechenden SNAC-Estern der Diketide **9** und **10** durchgeführt. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von H. G. FLOSS konnte durch Fütterungsstudien mit der Blockmutante *HGF073* des Ansamitocin-Produzenten *Actinosynnema pretiosum* die temporär auftretende Stereokonfiguration der C-14 Methylgruppe aufgeklärt werden. Kontrollexperimente mit einer Blockmutante des Geldanamycin-Produzenten bestätigten überdies die erhaltenen Ergebnisse.



**Schema 50:** Untersuchungen zur Ansamitocin-Biosynthese mit den präparierten Diketiden **9** und **10**; Fütterungsstudien mit a) *HGF073* und b) *K-390-76-1*.

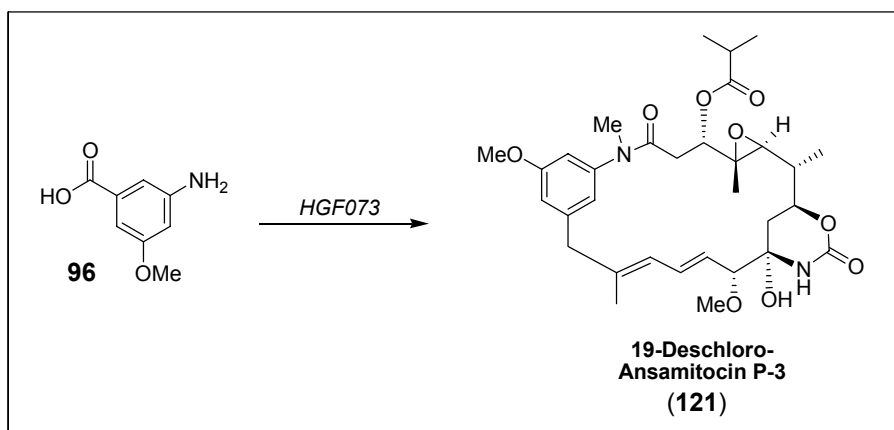
Beim Aufbau fortgeschrittener Ketide wurde der ungesättigte SNAC-Ester des Triketids **53** in einer WITTIG-Reaktion mit dem Reagenz **70** eingeführt. Auf dieser Grundlage konnte ein neuer HWE-Baustein **84** etabliert werden, über welchen das terminale Element des Tetraketids **54** aufgebaut werden konnte. Diese Vorgehensweise erlaubte eine Verkürzung des bereits bekannten Weges (über den homologen Methylester) um zwei Stufen.



**Schema 51:** Der Syntheseweg zu den fortgeschrittenen Biosynthese-Intermediaten **53** und **54**.

Erste Fermentationen dieser Ketide erbrachten jedoch keine neuen Erkenntnisse über den Zeitpunkt der Doppelbindungs-Isomerisierung.

Für die chemoenzymatische Synthese neuer Maytansinoide wurden insgesamt acht modifizierte Startereinheiten, basierend auf der *mC*<sub>7</sub>N-Struktur synthetisiert. Mit den durchgeführten Fermentationen konnte gezeigt werden, dass für die aromatischen Vorläufer keine Aktivierung als entsprechender SNAC-Ester notwendig ist. Die freien Benzoesäuren wurden in allen Fällen in vergleichbarem Maße aufgenommen und weiter transformiert. Mit der Verfütterung der 3-Amino-5-methoxybenzoesäure konnte ein erstes Ansamitocin-Derivat generiert und isoliert werden. Das hieraus hervorgegangene 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 konnte zwar bereits in den 80er Jahren semi-synthetisch aus dem ursprünglichen Naturstoff hergestellt werden, eine genaue spektroskopische Analytik der Substanz wurde jedoch nie publiziert. Die entsprechende Charakterisierung konnte mit den isolierten 1.5 mg vollständig durchgeführt werden. Erste Studien zur biologischen Aktivität an der GBF Braunschweig bescheinigten diesem Analogon starke cytotoxische Eigenschaften, welche in naher Zukunft jedoch noch genauer verifiziert werden müssen.



**Schema 52:** Chemoenzymatische Synthese von 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 (**121**).

Mit dieser chemoenzymatischen Synthese konnte zudem ein Teil der von FLOSS und Mitarbeitern veröffentlichten Studie zur Abfolge der post-PKS-enzymatischen Schritte bestätigt werden.

## 4.2. Ausblick

Aufbauend auf den in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnissen sollen post-PKS-enzymatische Transformationen verschiedener, chemisch zugänglicher Proansamitocine mit den Blockmutanten im Vordergrund stehen. Hierfür sollten weitere Methoden zur Makrolactamisierung und anderer Ringschluss-Varianten erprobt werden.<sup>213</sup> Erste Untersuchungen, mittels Ringschluss-Metathese oder intramolekularer HECK-Reaktion,<sup>214</sup> laufen hierzu bereits in der Arbeitsgruppe KIRSCHNING. Neben der Modifikation des aromatischen Abschnitts, sollten auch umfangreichere Veränderungen des aliphatischen Rückgrats erfolgen.

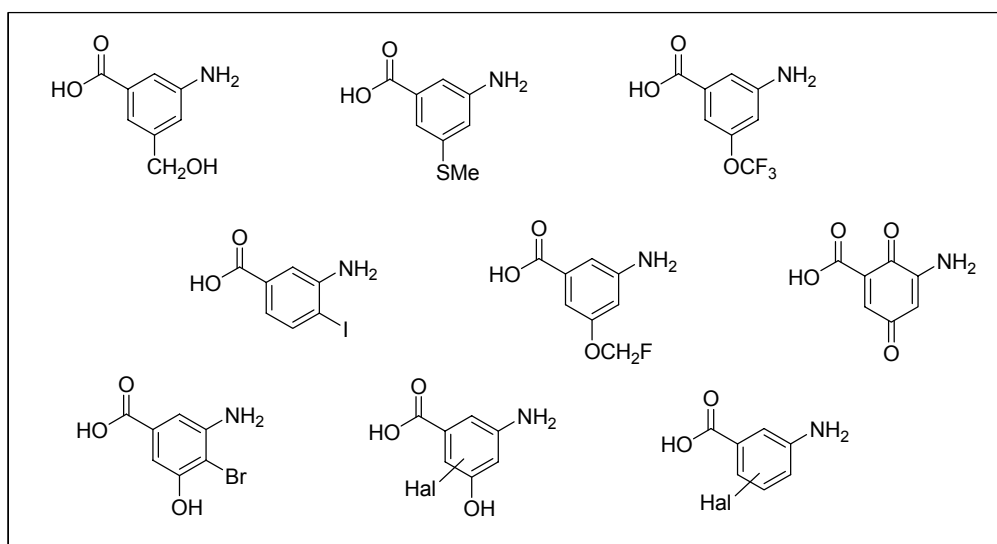
Mit den neuen, sowie den bisher erstellten *seco*-Proansamitocinen stehen weitere Arbeiten im Bereich der Cyclisierung mittels *Asm9* oder den Blockmutanten *HGF073* bzw. *HGF051* an. Diese sollen schließlich einen tieferen Einblick in die post-PKS-Transformationen geben und weitere Maytansinoid-Analoga für biologische Tests liefern.

<sup>213</sup> L. Blankenstein, J. Zhu, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 1949-1964.

<sup>214</sup> Zu Variationen der in dieser Arbeit verwendeten Reaktionsbedingungen: a) P. Liu, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10772-10773; b) B. S. J. Blagg, M. B. Jarstfer, D. H. Rogers, C. D. Poulter, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8846-8853.

Die Aufklärung des Zeitpunkts der Doppelbindungs-Isomerisierung stellt einen weiteren zu bearbeitenden Aspekt dar. Mit Hilfe der beiden isomeren Tetraketide und einem eventuell noch zu präparierenden (isomeren) Triketid könnte diese Frage letztlich geklärt werden.

Im Bereich weiterer differenzierter Startereinheiten für die Vorläufer-dirigierte Biosynthese wurde mit den bisherigen Substanzen nur ein geringer Teil aller Aromaten mit  $mC_7N$ -Struktur dargestellt und fermentiert. Um vielfältigere Strukturen zu generieren könnte unter anderem auch RICKARDS Zugang zu chlorierten AHBA's genutzt werden.<sup>215</sup> Hierbei sollte sich jedoch nicht nur um die Vorläufer des „Bioisosterie-Schema“ gekümmert werden, sondern auch rein willkürlich eine breite Palette unterschiedlichster Strukturen getestet werden. In diesem Zusammenhang sind zudem Fermentationen mit der Geldanamycin-Mutante *K390-76-1* geplant. Mit dieser sollen zudem die bereits präparierten, natürlichen Vorläufer der Ansamitocin-Biosynthese umgesetzt werden.



**Abbildung 25:** Ausgewählte Vertreter als AHBA-analoge Startereinheit

Insbesondere die halogenierten Aminobenzoesäure stellen in diesem Zusammenhang äußerst interessanten Vorläufer dar. Im Fall einer Prozessierung zu einem Ansamitocin-Derivat könnte speziell mit den iodierten Vertretern, über Palladium-katalysierte Reaktionen wie beispielsweise SUZUKI-Kupplungen, weitere selektive Chemie am vollständigen Naturstoff durchgeführt werden. Dabei soll das Substitutionsmuster, wie in Abbildung 25 dargestellt, noch entsprechend erweitert werden. Denn wie schon von FLORIAN TAFT in einer Diplomarbeit gezeigt werden konnte, wird schon die homologe *para*-Brom-3-aminobenzoesäure in zufrieden stellendem Maße zu einem Ansamitocin-Analogen prozessiert.

<sup>215</sup> A. M. Becker, R. W. Rickards, *Aust. J. Chem.* **1984**, *37*, 2103-2109.



## 5. Experimenteller Teil

### 5.1. Allgemeine Hinweise

#### Gerätschaften

Reaktionen mit luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Reagenzien wurden unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Die entsprechenden Glasgeräte wurden vor der Verwendung im Vakuum ausgeheizt.

#### Lösungsmittel und Reagenzien

Lösungsmittel für den Einsatz in feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen wurden nach Standardverfahren getrocknet<sup>216</sup> und unter Stickstoffatmosphäre aufbewahrt bzw. frisch destilliert eingesetzt: Diethylether (Et<sub>2</sub>O) und Tetrahydrofuran (THF) – trocknen durch Refluxieren über Natriumdraht, als Feuchtigkeits- und Sauerstoffindikator diente Benzophenon; Dichlormethan (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) – trocknen durch Refluxieren über Calciumhydrid. Alle weiteren absoluten Lösungsmittel wurden käuflich erworben (FLUKA, ACROS) und wie geliefert ohne weitere Reinigung eingesetzt. Verwendete Chemikalien, deren Herstellung nicht beschrieben ist, stammen von den Firmen ABCR, ACROS, ALDRICH, FLUKA und MERCK.

#### Chromatographie / HPLC

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel der Firma J. T. BAKER (Korngröße: 40-63 µm) bzw. RP-18 Kieselgel (Bakerbond™ Octadecyl C<sub>18</sub>, 40 µm) verwendet. Dünnschichtchromatographie wurde mit Kieselgel beschichteten Aluminiumfolien vom Typ 60 F<sub>254</sub> der Firma MERCK durchgeführt. Die eingesetzten Lösungsmittel wurden zuvor einfach destilliert, das verwendete Eluentenverhältnis ist in den entsprechenden Versuchsvorschriften angegeben. Der Nachweis der Substanzen geschah durch Fluoreszenzdetektion unter UV-Licht der Wellenlänge  $\lambda = 254$  nm (teilweise bei  $\lambda = 366$  nm) oder mittels Entwicklung durch verschiedene Färbereagenzien.<sup>217</sup> Sofern das jeweilige Färbereagenz von Bedeutung war, ist

---

<sup>216</sup> D. D. Perrin, W. L. F. Armarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, 3<sup>rd</sup> ed., Pergamon Press Oxford 1988.

<sup>217</sup> J. Leonard, B. Lygo, G. Procter, *Praxis der Organischen Chemie*, Hrsg. der dt. Übersetzung G. Dyker, 2. Aufl., VCH-Verlag, Weinheim 1996, 144.

dieses an entsprechender Stelle angegeben. Zur Reinigung von Substanzen per HPLC wurden die folgenden Säulen verwendet:

*Präparative HPLC:* Reprosil-Pur 120 C18 AQ, 5  $\mu\text{m}$ , 250 x 25 mm  
(vorgeschaltet: Reprosil-Pur 120 C18 AQ, 10  $\mu\text{m}$ , 30 x 20 mm)

*Semipräparative HPLC:* LiChrospher RP Select B, 10  $\mu\text{m}$ , 250 x 8 mm

### **<sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie**

Die Aufnahmen von <sup>1</sup>H-NMR-Spektren erfolgten mit den Geräten WP-200 SY (200 MHz), AM-400 (400 MHz) oder AM-500 (500 MHz) der Firma BRUKER bei Raumtemperatur. Die chemischen Verschiebungen sind in  $\delta$ -Werten (ppm) angegeben, der Bezug ist bei den jeweiligen Messungen vermerkt.<sup>218</sup> Die Kopplungskonstanten ( $J$ ) werden in Hertz (Hz) angegeben, die Multiplizitäten wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, qu = Quintett, se = Sextett, sep = Septett, m = Multiplett. Vor der Multiplizitätsangabe stehende Abkürzungen geben an: d = doppelt, b = breites Signal.

### **<sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie**

<sup>13</sup>C-NMR-Spektren wurden mit den Geräten AM-400 (100 MHz) bzw. AM-500 (125 MHz) der Firma BRUKER aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in  $\delta$ -Werten (ppm) angegeben, der Bezug ist bei den jeweiligen Messungen vermerkt.<sup>218</sup> Die angegebenen Multiplizitäten entsprechen denen nicht entkoppelter Spektren, wobei folgende Abkürzungen verwendet werden: s = Singulett (entspricht quartärem Kohlenstoff), d = Dublett (tertiärer K.), t = Triplett (sekundärer K.), q = Quartett (primärer K.). Die Anzahl der an den jeweiligen Kernen  $\alpha$ -ständigen Wasserstoffatome wurde nach der DEPT 90/DEPT 135-Methode bestimmt. Sofern notwendig wurden für eine vollständige Interpretation <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-Korrelationsspektren, HMBC-, HMQC- oder NOE-Experimente durchgeführt. Bei den in den Verbindungen **69**, **70**, **82**, **83** und **84** auftretenden <sup>31</sup>P-<sup>13</sup>C – Kopplungen, sowie bei **109** und **111** (<sup>19</sup>F-<sup>13</sup>C) handelt es sich ausschließlich um Dubletts ( $d_{\text{P-C}}$  /  $d_{\text{F-C}}$ ). Diese werden daher nicht explizit gekennzeichnet, es wird lediglich die Kopplungskonstante  $J_{\text{P-C}}$  /  $J_{\text{F-C}}$  (in Hertz) angegeben.

---

<sup>218</sup> Die Kalibrierung erfolgte nach: H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.

**Massenspektrometrie**

Massenspektrometrische Analysen wurden mit einem Gerät Typ LCT der Firma MICROMASS mit Lock-Spray-Einheit (Injektion im Loop-Modus in eine HPLC-Anlage der Firma WATERS, Alliance 2695) durchgeführt.

**Siedepunkte**

Unkorrigiert; die Siedepunkte und die jeweiligen Druckangaben beziehen sich auf bei der Destillation gefundene Werte.

**Schmelzpunkte**

Unkorrigiert; die Schmelzpunktbestimmung erfolgt mit einem Heitztischmikroskop der Firma GALLENKAMP bzw. einem Gerät vom Typ IA-9200 der Firma ELECTROTHERMAL.

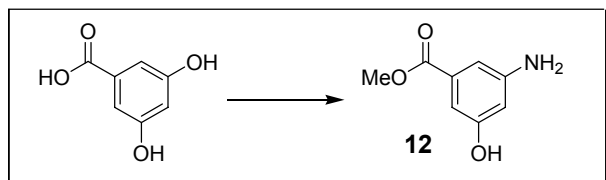
**Drehwerte**

Spezifische optische Rotationen  $[\alpha]$  wurden bei 20°C mit einem Polarimeter Typ 341 der Firma PERKIN-ELMER in einer 10 cm-Küvette bei  $\lambda = 589$  nm (Natrium-D-Linie) gemessen. Die Angabe der Drehwerte erfolgt in  $10^{-1} \text{°cm}^2 \text{g}^{-1}$ , wobei die Konzentration  $c$  definitionsgemäß in 10 mg/ml Lösung angegeben ist.



## 5.2. Verbindungen aus Kapitel 3.1.

### 3-Hydroxy-5-amino-benzoessäure-methylester



22.5 g 3,5-Dihydroxybenzoessäure (146 mmol, 1.0 Äq.), sowie 19.13 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (357.6 mmol, 2.45 Äq.) und 67.5 ml konzentrierter Ammoniak (30%ig) wurden in einer Stahlbombe (Modell T304, PARR INSTRUMENT COMPANY) für 40 Stunden bei  $180^\circ\text{C}$  autoklaviert. Nach dem Abkühlen wurde die Mischung im Vakuum bis zur Trockne eingengt und in 500 ml Methanol aufgenommen. Es folgte die vorsichtige Zugabe von Acetylchlorid, bis die Lösung  $\text{pH} = 0$  aufwies. Das Gemisch wurde für 36 Stunden unter Rückfluss gekocht und das Methanol anschließend im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Eiswasser aufgenommen und 2x mit Diethylether extrahiert (die Etherphasen wurden verworfen). Der wässrige Rückstand wurde nun mit  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung neutralisiert und 3x mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten Ethylacetat-Phasen wurden mit gesättigter  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und a) säulenchromatographisch mit  $\text{EE}/\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 2:3$  gereinigt oder b) mit Methylacetat/ $\text{CHCl}_3 = 1:5$  umkristallisiert (bei größeren Mengen zu bevorzugen). Auf diesem Wege wurden 18.3 g (109.5 mmol, 75%) des gelb-braunen Feststoffes **12** erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Aceton- $\text{d}_6$ , Aceton- $\text{d}_5 = 2.05$  ppm):  $\delta$  8.29 (bs, 1H, OH), 6.86 (dd, 1H,  $J = 2.2, 1.4$  Hz, H-aromat.), 6.77 (dd, 1H,  $J = 2.2, 1.4$  Hz, H-aromat.), 6.42 (dd, 1H,  $J = 2.2, 2.2$  Hz, H-aromat.), 4.83 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 3.80 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, Aceton- $\text{d}_6$ , Aceton- $\text{d}_6 = 29.3$  ppm):  $\delta$  167.1 (s,  $\text{COOMe}$ ), 158.6 (s, C-aromat.), 150.2 (s, C-aromat.), 132.2 (s, C-aromat.), 107.5, 105.8, 105.3 (3x d, 3x C-aromat.), 51.5 (q,  $\text{OCH}_3$ ) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_3$ : berechnet 166.0504 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 166.0496 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**:  $126^\circ\text{C}$ .

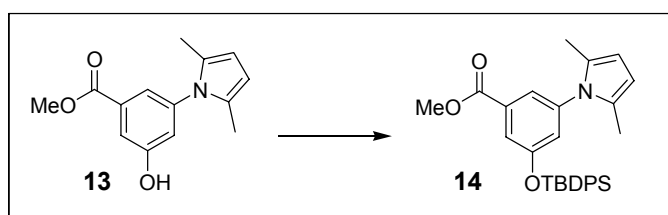
### 3-Hydroxy-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl)-benzoessäure-methylester



2.0 g des Methylesters **12** (12 mmol, 1.0 Äq.) und 4.2 ml 2,5-Hexandion (36 mmol, 3.0 Äq.) wurden in 50 ml Toluol gelöst. Nach der Zugabe von 0.14 ml konzentrierter Essigsäure (2.4 mmol, 0.2 Äq.) wurde die Mischung für fünf Stunden auf 90°C erwärmt und das entstehende Wasser azeotrop entfernt. Nach dem anschließenden Einengen wurde säulenchromatographisch mit PE/EE = 5:1 gereinigt. Es wurden 2.65 g (10.8 mmol, 90%) des Pyrrols **13** als grau-brauner Feststoff erhalten.

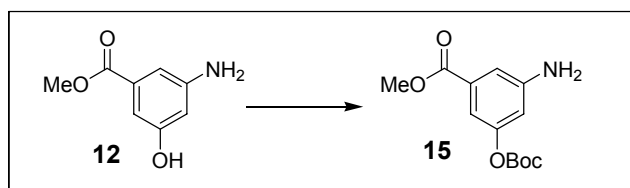
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 7.47 (m, 1H, H-aromat.), 7.26 (m, 1H, H-aromat.), 6.84 (m, 1H, H-aromat.), 5.80 (s, 2H, CH), 3.89 (s, 3H, OMe), 1.99 (s, 6H, Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm): δ 167.8 (s, COOMe), 159.6 (s, C-aromat.), 141.8 (s, C-aromat.), 133.3 (s, C-aromat.), 129.3 [s, C(Me)], 121.2 (d, C-aromat.), 121.0 (d, C-aromat.), 116.6 (d, C-aromat.), 107.1 (d, CH), 52.8 (q, OMe), 13.0 (q, Me) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>: berechnet 246.1130 [M+H]<sup>+</sup> gefunden 246.1126; **Smp.**: 154°C.

### 3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl)-benzoesäure-methylester



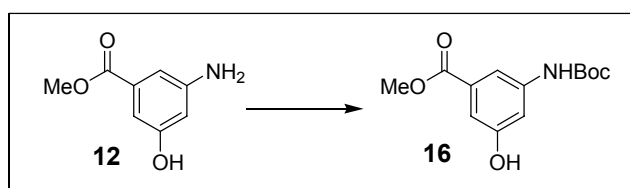
2.65 g des Pyrrols **13** (10.8 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 40 ml trockenem DMF gelöst und 4.24 ml (16.2 mmol, 1.5 Äq.) TBDPS-Cl zugetropft. Nach Zugabe von 1.10 g (16.2 mmol, 1.5 Äq.) Imidazol und 66 mg (0.54 mmol, 0.05 Äq.) 4-DMAP wurde das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde im Vakuum eingedunstet und der Rückstand säulenchromatographisch mit PE/EE = 10:1 gereinigt, wodurch 5.03 g (10.4 mmol, 96%) des Silylethers **14** als farbloses Öl erhalten wurden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.71 – 7.66 (m, 4H, H-aromat.), 7.64 (dd, 1H, *J* = 2.2, 1.4 Hz, H-aromat.), 7.45 – 7.32 (m, 7H, H-aromat.), 6.64 (dd, 1H, *J* = 2.2, 2.2 Hz, H-aromat.), 5.76 (s, 2H, CH), 3.87 (s, 3H, OMe), 1.74 (s, 6H, Me), 1.11 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 166.1 (s, COOMe), 156.1 (s, C-aromat.), 139.7 (s, C-aromat.), 135.4 (d, TBDPS), 131.9, 131.8 (s, C-aromat., TBDPS), 130.2 (d, TBDPS), 128.6 [s, C(Me)], 127.9 (d, TBDPS), 124.1 (d, C-aromat.), 122.3 (d, C-aromat.), 120.6 (d, C-aromat.), 105.7 (d, CH), 52.3 (q, OMe), 26.3 (q, TBDPS), 19.4 (s, TBDPS), 12.6 (q, Me) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>30</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>3</sub>Si: berechnet 484.2308 [M+H]<sup>+</sup> gefunden 484.2307 [M+H]<sup>+</sup>.

**3-(*tert*-Butylcarbonat)-5-aminobenzoessäure-methylester**

4.0 g des Methylesters **12** (23.9 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 40 ml trockenem THF gelöst, 5.79 g Boc<sub>2</sub>O (26.5 mmol, 1.1 Äq.) zugegeben und die Lösung für vier Stunden unter Rückfluss gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in 100 ml Ethylacetat aufgenommen, mit 50 ml wässriger Weinsäure hydrolysiert, die Phasen getrennt und jeweils einmal mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen mit Magnesiumsulfat wurde säulenchromatographisch mit PE/EE = 2:1 → 1:1 gereinigt. Es konnten 2.56 g (9.56 mmol, 40%) der phenolisch geschützten Substanz **15** als farbloser Feststoff erhalten werden.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Aceton-d<sub>6</sub>, Aceton-d<sub>5</sub> = 2.05 ppm): δ 7.21 (dd, 1H, *J* = 2.2, 1.4 Hz, H-aromat.), 6.99 (dd, 1H, *J* = 2.2, 1.4 Hz, H-aromat.), 6.70 (dd, 1H, *J* = 2.2, 2.2 Hz, H-aromat.), 5.15 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.84 (s, 3H, OMe), 1.52 (s, 9H, *t*Bu) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, Aceton-d<sub>6</sub>, Aceton-d<sub>6</sub> = 29.3 ppm): δ 166.4 (s, COOMe), 152.6, 151.9, 150.3 (3x s, 2x C-aromat., 1x OCOO), 132.3 (s, C-aromat.), 112.6, 111.5, 110.3 (3x d, C-aromat.), 83.0 (s, *t*Bu), 51.8 (q, COOMe), 27.2 (q, *t*Bu) ppm; HRMS *m/z* für C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub>: berechnet 266.1028 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 266.1030 [M-H]<sup>-</sup>; Smp.: 116°C.

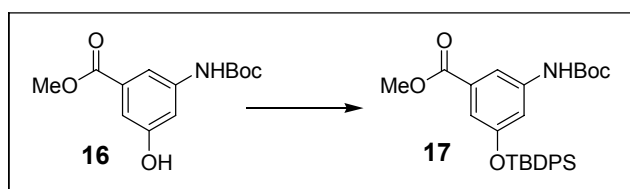
**3-Hydroxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-benzoessäure-methylester**

5.0 g des Methylesters **12** (29.9 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 150 ml einer 1:4-Mischung THF/NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (gesättigt) gelöst und anschließend mit 6.53 g Boc<sub>2</sub>O (29.9 mmol, 1 Äq.), gelöst in 20 ml THF, versetzt. Nach etwa einer Stunde wurden 3.02 g festes NaHCO<sub>3</sub> (35.9 mmol, 1.2 Äq.) hinzugefügt und die Mischung für 36 Stunden bei RT gerührt. Das THF wurde anschließend am Rotationsverdampfer entfernt und die verbliebene wässrige Phase 3x mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet,

im Vakuum eingeengt und säulenchromatographisch mit PE/EE = 3:1 gereinigt. Von dem Phenol **16** konnten 6.63 g (24.8 mmol, 83%) als farbloser Feststoff erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Aceton-d<sub>6</sub>, Aceton-d<sub>5</sub> = 2.05 ppm): δ 8.67 (bs, 1H), 8.53 (bs, 1H), 7.73 (m, 1H, H-aromat.), 7.40 (m, 1H, H-aromat.), 7.13 (m, 1H, H-aromat.), 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.48 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, Aceton-d<sub>6</sub>, Aceton-d<sub>6</sub> = 29.3 ppm): δ 166.6 (s, COOMe), 158.2, 153.1 (2x s, C-aromat., NCOO), 141.5 (s, C-aromat.), 132.1 (s, C-aromat.), 110.9, 110.4, 110.0 (3x d, 3x C-aromat.), 79.7 (s, *t*Bu), 51.7 (q, OCH<sub>3</sub>), 28.0 (q, *t*Bu) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub>: berechnet 266.1028 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 266.1038 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 146°C.

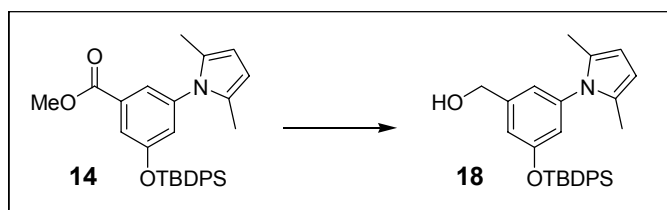
### 3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-benzoesäure-methylester



Von dem Phenol **16** wurden 6.0 g (22.45 mmol, 1.0 Äq.) in 100 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (abs.) gelöst, 1.83 g Imidazol (26.9 mmol, 1.2 Äq.) und 275 mg 4-DMAP (2.25 mmol, 0.1 Äq.) hinzugefügt. Bei der folgenden Zugabe von 6.91 ml TBDPS-Cl (26.9 mmol, 1.2 Äq.) entstand unmittelbar ein weißer Niederschlag. Die Reaktionsmischung wurde auf 30°C erwärmt und über Nacht gerührt. Nach dem Hydrolysieren mit gesättigter NH<sub>4</sub>Cl-Lösung wurde die organische Phase abgetrennt und die verbliebene wässrige Phase 3x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingeengt. Das Rohprodukt konnte säulenchromatographisch mit PE/EE = 20:1 → 8:1 gereinigt werden, in der Regel konnte es gleich weiter im nächsten Schritt eingesetzt werden. Vom Methylester **17** wurden 11.24 g (22.23 mmol, 99%) als farbloser, klebriger Schaum erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.73 – 7.68 (m, 4H, H-aromat.), 7.63 (m, 1H, H-aromat.), 7.45 – 7.35 (m, 6H, H-aromat.), 7.09 (m, 1H, H-aromat.), 6.95 (m, 1H, H-aromat.), 6.36 (bs, 1H, NH), 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.47 (s, 9H, *t*Bu), 1.10 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 166.6 (s, COOMe), 156.1, 152.3 (2x s, C-aromat., NCOO), 139.3 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.4, 131.6 (2x s, 2x C-aromat.), 130.0, 127.8, 115.5, 114.2, 112.4 (5x d, 5x C-aromat.), 80.8 (s, *t*Bu), 52.0 (q, OCH<sub>3</sub>), 28.2 (q, *t*Bu), 26.5 (q, *t*Bu), 19.5 (s, *t*Bu) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>29</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>5</sub>Si: berechnet 504.2206 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 504.2209 [M-H]<sup>-</sup>.

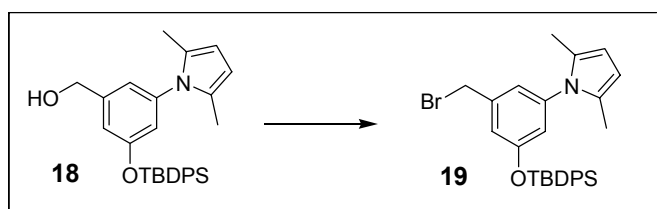
### 3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl)-benzylalkohol



4.84 g des Esters **14** (10.0 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 40 ml trockenem THF gelöst und auf  $-78^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Nach der Zugabe von 25 ml DIBAL-H [(1.2M in Toluol) 30.0 mmol, 3.0 eq] wurde die Mischung für zwei Stunden gerührt und anschließend mit K-Na-Tartrat-Lösung hydrolysiert. Nach dem Entfernen des THF im Vakuum wurde die wässrige Phase mit Ethylacetat dreimal extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, anschließend über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingengt. Säulenchromatographische Reinigung mit PE/EE = 5:1 lieferte 4.10 g (9.0 mmol, 90%) des Benzylalkohols **18** als farbloses Öl.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm)  $\delta$ : 7.70 – 7.67 (m, 4H, H-aromat.), 7.42 – 7.32 (m, 6H, H-aromat.), 6.93 (m, 1H, H-aromat.), 6.69 (m, 1H, H-aromat.), 6.41 (m, 1H, H-aromat.), 5.75 (s, 2H, CH), 4.59 (d, 2H,  $J = 3.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 1.77 (s, 6H, Me), 1.64 (bs, 1H, OH), 1.10 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm)  $\delta$ : 156.1 (s, C-aromat.), 142.9 (s, C-aromat.), 139.7 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.2 (s, C-aromat.), 130.0 (d, C-aromat.), 128.6 [s, C(Me)], 127.8 (d, C-aromat.), 105.3 (d, CH), 64.6 (t,  $\text{CH}_2$ ), 26.4 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu), 12.7 (q, Me) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{NO}_2\text{Si}$ : berechnet 456.2359  $[\text{M}+\text{H}]^+$  gefunden 456.2364  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl)-benzylbromid

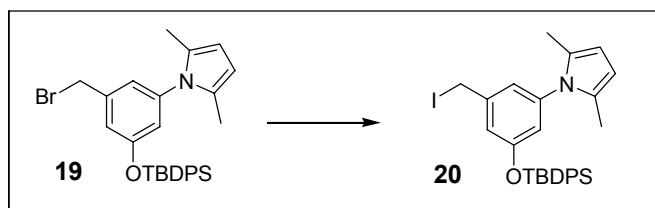


Nach dem Lösen von 4.10 g des Benzylalkohol **18** (9.0 mmol, 1.0 Äq.) in 50 ml trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wurden nacheinander 3.54 g  $\text{PPh}_3$  (13.5 mmol, 1.5 Äq.) und 4.48 g  $\text{CBr}_4$  (13.5 mmol, 1.5 Äq.) langsam zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, anschließend etwa 25 g Kieselgel zugefügt. Das Dichlormethan wurde im Vakuum entfernt, der erhaltene Feststoff auf eine gepackte Kieselgelsäule

aufgetragen und das Gemisch mit PE/EE = 20:1 → 10:1 gereinigt. Es wurden 4.56 g (8.8 mmol, 98%) des Benzylbromids **19** als viskoses, braunes Öl erhalten.

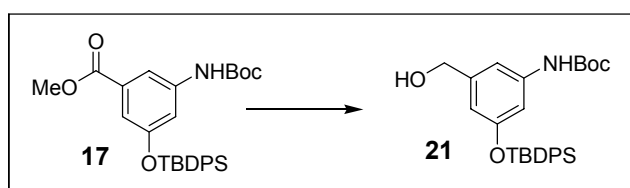
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.70 – 7.67 (m, 4H, H-aromat.), 7.42 – 7.32 (m, 6H, H-aromat.), 6.94 (m, 1H, H-aromat.), 6.73 (m, 1H, H-aromat.), 6.42 (m, 1H, H-aromat.), 5.75 (s, 2H, CH), 4.35 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.77 (s, 6H, Me), 1.10 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 156.0 (s, C-aromat.), 139.8 (s, C-aromat.), 139.4 (s, C-aromat.) 135.4 (d, C-aromat.), 132.0 (s, C-aromat.), 130.1 (d, C-aromat.), 128.6 [s, C(Me)], 127.9 (d, C-aromat.), 121.8 (d, C-aromat.), 120.0 (d, C-aromat.), 119.7 (d, C-aromat.), 105.5 (d, CH), 32.4 (t, CH<sub>2</sub>), 26.6 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu), 12.6 (q, Me) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>BrNOSi: berechnet 518.1515 [M+H]<sup>+</sup> gefunden 518.1514 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3-(*tert*-Butyldiphenylsilanyloxy)-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl)-benzyljodid



Vom Benzylbromid **19** wurden 1.04 g (2.0 mmol, 1.0 Äq.) in 15 ml trockenem Aceton gelöst und bei Raumtemperatur 0.45 g wasserfreies Natriumiodid [(in 5 ml Aceton gelöst) 3.0 mmol, 1.5 eq] zugegeben. Die Lösung wurde daraufhin trübe und ein weißer Niederschlag (Natriumbromid) entstand. Nach bereits 15 Minuten war die Reaktion abgeschlossen (GC-Kontrolle) und 5 ml Wasser, sowie 15 ml Diethylether wurden zugefügt. Nach dem Trennen der Phasen wurde die wässrige Phase 2x mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Das Trocknen über Magnesiumsulfat und eine folgende Filtrationssäule über Kieselgel mit Dichlormethan lieferte das Benzyljodid **20** in einer Ausbeute von 1.13 g (2.0 mmol, quant.) als dunkelrotes Öl.

### 3-(*tert*-Butyldiphenylsilanyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-benzylalkohol



11.35 g des Esters **17** (22.45 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 100 ml THF (abs.) gelöst und auf  $-50^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Unter Rühren wurden 56.1 ml DIBAL-H [(1.2M in Toluol) 67.35 mmol, 3.0 eq] zugegeben. Nach dem Ende der Reaktion wurde mit K-Na-Tartrat-Lösung hydrolysiert, der Großteil des THF im Vakuum entfernt und die verbliebene wässrige Phase 3x mit Ethylacetat mehrmals extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, anschließend über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingengt. Reste von Toluol wurden im Hochvakuum entfernt, die erhaltenen 10.62 g (22.23 mmol, 99%) des nahezu reinen Benzylalkohols **21** konnten ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt werden.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.72 – 7.68 (m, 4H, H-aromat.), 7.44 – 7.33 (m, 6H, H-aromat.), 7.06 (m, 1H, H-aromat.), 6.58 (m, 1H, H-aromat.), 6.39 (m, 1H, H-aromat.), 6.31 (bs, 1H, NH), 4.41 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.59 (bs, 1H, OH), 1.46 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  156.2, 152.5 (2x s, NCOO, C-aromat.), 142.9, 139.3 (2x s, 2x C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.7 (s, C-aromat.), 129.9, 127.8 (2x d, 2x C-aromat.), 112.8, 109.7, 109.0 (3x d, 3x C-aromat.), 80.5 (s, *t*Bu), 65.0 (t,  $\text{CH}_2$ ), 28.3 (q, *t*Bu), 26.5 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{NO}_4\text{Si}$ : berechnet 500.2233  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  gefunden 500.2235  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

### 3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-benzylbromid

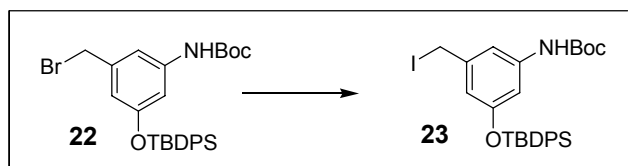


Zu einer Lösung von 1.50 g Benzylalkohol **21** (3.14 mmol, 1.0 Äq.) in 30 ml trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wurden nacheinander 0.99 g Triphenylphosphin (3.77 mmol, 1.2 Äq.) und 1.25 g Tetrabrommethan (3.77 mmol, 1.2 Äq.) hinzugefügt. Die Reaktion war bereits nach wenigen Minuten beendet und das Gemisch wurde auf Kieselgel eingengt („aufrotiert“, essentiell für die Abtrennung des entstandenen Triphenylphosphinoxids). Der erhaltene Feststoff wurde auf eine Kieselgelsäule aufgetragen und das Gemisch mit PE/EE = 20:1  $\rightarrow$  10:1 gereinigt. Vom Benzylbromid **22** konnten 1.41 g (2.61 mmol, 83%) als farbloses, zähes Öl erhalten werden.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.73 – 7.68 (m, 4H, H-aromat.), 7.45 – 7.35 (m, 6H, H-aromat.), 7.15 (m, 1H, H-aromat.), 6.56 (m, 1H, H-aromat.), 6.43 (m, 1H, H-aromat.), 6.28 (bs, 1H, NH), 4.22 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.47 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  156.1, 152.3 (2x s, C-aromat., NHCOO),

139.4, 139.3 (2x s, 2x C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.5 (s, C-aromat.), 130.0 (d, C-aromat.), 127.8 (d, C-aromat.), 115.2, 111.8, 109.7 (3x d, 3x C-aromat.), 80.7 (s, *t*Bu), 33.3 (t, CH<sub>2</sub>), 28.3 (q, *t*Bu), 26.4 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>BrNO<sub>3</sub>Si: berechnet 538.1413 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 538.1397 [M-H]<sup>-</sup>.

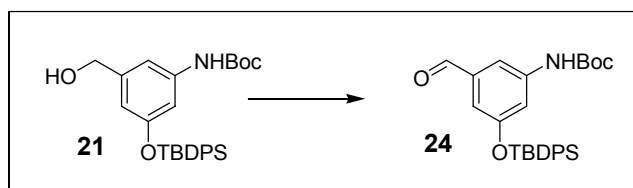
### 3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-benzyljodid



Vom Benzylbromid **22** wurden 1.25 g (2.31 mmol, 1.0 Äq.) in 10 ml trockenem Aceton gelöst und bei Raumtemperatur 0.52 g wasserfreies Natriumiodid [(in 5 ml Aceton gelöst) 3.46 mmol, 1.5 eq] zugegeben. Die Lösung wurde daraufhin trübe und ein weißer Niederschlag (Natriumbromid) entstand. Nach bereits 15 Minuten war die Reaktion abgeschlossen (GC-Kontrolle) und 5 ml Wasser wurden zugefügt. Nach dem Trennen der Phasen wurde die wässrige Phase 2x mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Das Trocknen über Magnesiumsulfat und eine folgende Filtrationssäule über Kieselgel mit Dichlormethan lieferte das Benzyljodid **23** in einer Ausbeute von 1.28 g (2.17 mmol, 94%) als hellgelben Schaum.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.74 – 7.67 (m, 4H, H-aromat.), 7.47 – 7.33 (m, 6H, H-aromat.), 7.12 (m, 1H, H-aromat.), 6.53 (m, 1H, H-aromat.), 6.40 (m, 1H, H-aromat.), 6.23 (bs, 1H, NH), 4.18 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.47 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  
**<sup>13</sup>C-NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 156.1, 152.3 (2x s, C-aromat., NHCOO), 140.8, 139.4 (2x s, 2x C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.6 (s, C-aromat.), 130.0 (d, C-aromat.), 127.9 (d, C-aromat.), 115.0, 111.5, 109.4 (3x d, 3x C-aromat.), 80.6 (s, *t*Bu), 28.3 (q, *t*Bu), 26.5 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu), 5.3 (t, CH<sub>2</sub>) ppm.

### 3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-benzaldehyd

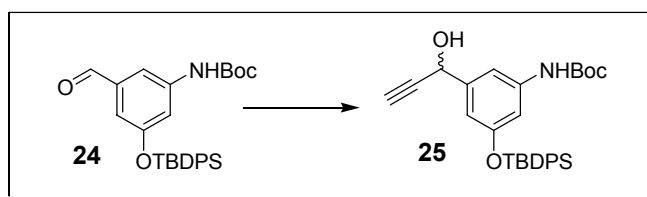




160 mg des Alkohols **21** (0.33 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 5 ml wasserfreiem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und 160 mg festes NaHCO<sub>3</sub> zugefügt. Es wurden langsam 168 mg (0.396 mmol, 1.2 Äq.) Dess-Martin-Periodinan zugefügt und die Mischung für 30 Minuten gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurden 5 ml Wasser, weitere 120 mg NaHCO<sub>3</sub> und 240 mg Natriumthiosulfat zugegeben und die Mischung für weitere 30 Minuten stark gerührt. Nach dem Trennen der Phasen wurde die wässrige Lösung mit 3x Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden noch zweimal mit gesättigter Thiosulfat-/Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum eingengt und das Rohprodukt ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt. Die Ausbeute betrug 138 mg (0.29 mmol, 87%) des gelben Schaums **24**.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 9.69 (s, 1H, CHO), 7.71 – 7.69 (m, 4H, H-aromat.), 7.56 (bs, 1H, NH oder H-aromat.), 7.44 – 7.35 (m, 6H, H-aromat.), 6.98 (pt, 1H, *J* = 2.2 Hz, H-aromat.), 6.87 (dd, 1H, *J* = 2.3, 1.3 Hz, H-aromat.), 6.43 (bs, 1H, NH oder H-aromat.), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.10 (s, 9H, *t*Bu) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 191.8 (d, CHO), 156.7, 152.3 (2x s, NCOO, C-aromat.), 140.1, 137.9 (2x s, 2x C-aromat.), 135.4 (d, C-aromat.), 132.1 (s, C-aromat.), 130.1, 127.9 (2x d, 2x C-aromat.), 115.4, 114.7, 112.7 (3x d, 3x C-aromat.), 81.0 (s, *t*Bu), 28.2 (q, *t*Bu), 26.4 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu) ppm.

### 1-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-phenyl]-propargyl-alkohol

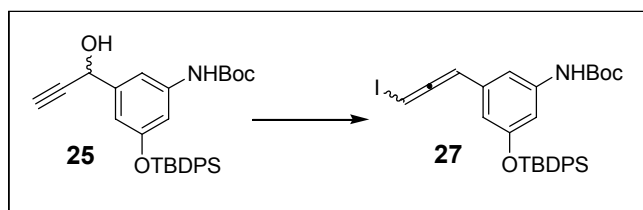


130 mg des Aldehyds **24** (0.27 mmol, 1.0 Äq) wurden in 10 ml trockenem THF gelöst und unter Stickstoffatmosphäre bei 0°C mit 2.16 ml Ethynylmagnesiumbromid [(0.5M Lösung in THF) 1.08 mmol, 4.0 Äq.] versetzt. Nach 15 Minuten wurde das Reaktionsgemisch mit gesättigter Ammoniumchloridlösung hydrolysiert und anschließend mit 25 ml Ethylacetat versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt und mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die wässrige Phase wurde 3x mit Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und anschließend im Vakuum eingengt. Nach

säulenchromatographischer Reinigung mit PE/EE 8:1 konnten 122 mg des Alkins **25** (0.24 mmol, 89%) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.72 – 7.69 (m, 4H, H-aromat.), 7.43 – 7.34 (m, 6H, H-aromat.), 7.20 (bs, 1H, NH oder H-aromat.), 6.69 (m, 1H, H-aromat.), 6.59 (m, 1H, H-aromat.), 6.32 (bs, 1H, NH oder H-aromat.), 5.18 (dd, 1H, *J* = 6.6, 2.2 Hz, CHOH), 2.47 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, HC≡C), 2.11 (m, 1H, OH), 1.46 (s, 9H, *t*Bu), 1.09 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 156.2, 152.4 (2x s, NCOO, C-aromat.), 141.9, 139.5 (2x s, 2x C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.6 (s, C-aromat.), 129.9 (d, C-aromat.), 127.8 (d, C-aromat.), 112.7, 109.8, 109.4 (3x d, 3x C-aromat.), 83.0 (s, HC≡C), 80.6 (s, *t*Bu), 74.5 (d, HC≡C), 64.1 (d, CHOH), 28.3 (q, *t*Bu), 26.5 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu) ppm.

### 1-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-phenyl]-3-iod-propadien



105 mg Triphenylphosphin (0.4 mmol, 4.0 Äq.) wurden bei Raumtemperatur in wasserfreiem Dichlormethan gelöst und mit 100 mg Iod (0.4 mmol, 4.0 Äq.) versetzt. Die Mischung wurde für 30 Minuten gerührt, anschließend 30 mg Imidazol (0.5 mmol, 5.0 Äq.) zugegeben. Nach weiteren 30 Minuten wurden 50 mg des Propargylalkohols **25** (0.1 mmol, 1.0 Äq.) hinzugefügt. Bereits nach fünf Minuten konnte vollständiger Umsatz verzeichnet werden. Das Lösungsmittel wurde daraufhin im Vakuum eingengt und der verbliebene Rückstand säulenchromatographisch mit PE/EE 10:1 gereinigt. Vom Allen **27** wurden 30 mg erhalten (50 µmol, 50%).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.74 – 7.69 (m, 4H, H-aromat.), 7.46 – 7.36 (m, 6H, H-aromat.), 6.91 (bs, 1H, NH), 6.76 (bs, 1H, H-aromat.), 6.32 (m, 2H, H-aromat.), 5.93 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz, CH=), 5.74 (d, 1H, *J* = 5.7 Hz, CH=), 1.49 (s, 9H, *t*Bu), 1.09 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 205.5 (s, =C=), 156.4, 152.4 (2x s, NCO, C-aromat.), 139.7 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 133.1, 132.7 (2x s, 2x C-aromat.), 129.9, 127.8 (2x d, 2x C-aromat.), 113.4, 110.6, 110.0 (3x d, 3x C-aromat.), 98.2 (d, =CH-Ar), 80.6 (s, *t*Bu), 38.2 (d, =CH-I), 28.3, 26.5 (2x q, 2x *t*Bu), 19.5 (s, *t*Bu) ppm.

### 1-Trimethylsilyl-3-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-phenyl]-propin



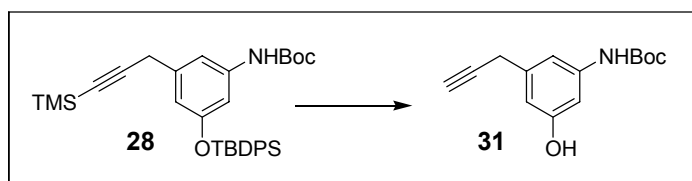
#### Zur Darstellung des $\text{In}(-\equiv\text{TMS})_3$ (**29**):

442 mg wasserfreies  $\text{InCl}_3$  (2.0 mmol, 1.0 Äq.) wurden im Vakuum mit einer Heißluftpistole zwei Minuten lang stark erhitzt und anschließend unter Schutzgasatmosphäre mit 4 ml wasserfreiem THF versetzt. Bei  $-78^\circ\text{C}$  wurden langsam 4 ml  $\text{TMS}-\equiv\text{Li}$  zugetropft [(1.5M in THF) 6.0 mmol, 3.0 eq, frisch hergestellt aus TMS-Acetylen und *n*-BuLi (1:1) bei  $-78^\circ\text{C}$ , 1h]. Die Mischung wurde für 30 Minuten in der Kälte gerührt und anschließend auf RT erwärmt.

#### Alkinylierung von Benzylbromiden:

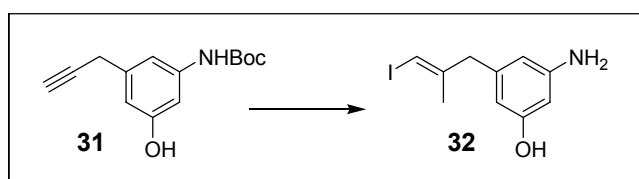
1.90 g des Benzylbromids **22** (3.51 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 25 ml THF (abs.) gelöst und mit 57 mg  $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$  (70  $\mu\text{mol}$ , 2.0 mol%) versetzt. Die Mischung wurde auf  $65^\circ\text{C}$  erwärmt und 5.6 ml  $(\text{TMS}-\equiv)_3\text{In}$  [(ungefähr 0.25M in THF) 1.4 mmol, 0.4 eq] zugetropft. Nach etwa 5 Stunden bei  $65^\circ\text{C}$  wurde mit 6 ml Methanol hydrolysiert, die Lösung im Vakuum eingeeengt und säulenchromatographisch mit PE/EE = 25:1  $\rightarrow$  10:1 gereinigt. Es wurden 1.88 g (3.37 mmol, 96%) des Alkins **28** als hellgelber Schaum erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.72 – 7.69 (m, 4H, H-aromat.), 7.44 – 7.34 (m, 6H, H-aromat.), 7.03 (bs, 1H, H-aromat.), 6.56 (m, 1H, H-aromat.), 6.46 (m, 1H, H-aromat.), 6.23 (bs, 1H, H-aromat.), 3.42 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.46 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.13 (s, 9H, TMS) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  156.1 (s, C-aromat.), 152.4 (s,  $\text{COO}t\text{Bu}$ ), 139.1, 138.1 (2x s, 2x C-aromat.), 135.5 (d, TBDPS), 132.8 (s, TBDPS), 129.9, 127.8 (2x d, 2x TBDPS), 114.1, 110.9, 108.1 (3x d, 3x C-aromat.), 103.9 (s,  $\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2$ ), 86.9 (s,  $\text{TMS}-\text{C}\equiv\text{C}$ ), 80.4 (s,  $\text{COO}t\text{Bu}$ ), 28.3 (q,  $\text{COO}t\text{Bu}$ ), 26.5 (q, *t*Bu), 26.0 (t,  $\text{CH}_2$ ), 19.5 (s, *t*Bu), 0.0 (q, TMS) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{NO}_3\text{Si}_2$ : berechnet 556.2703  $[\text{M}-\text{H}]^-$  gefunden 556.2689  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

**3-[3-Hydroxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-phenyl]-propin**

Vom geschützten Alkin **28** wurden 1.86 g (3.33 mmol, 1.0 Äq.) in 15 ml THF gelöst und auf  $-10^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Innerhalb von 10 Minuten wurden nun 2.10 g TBAF $\cdot$ 3H $_2$ O [(in 10 ml THF gelöst) 6.66 mmol, 2.0 eq] zugetropft und nach einer Stunde die Reaktionslösung mit NH $_4$ Cl-Lösung hydrolysiert. Die organische Phase wurde abgetrennt, die verbliebene wässrige Phase mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Die abschließende chromatographische Reinigung erfolgt mit PE/EE = 5:1  $\rightarrow$  2:1 und lieferte 725 mg des terminalen Alkins **31** (2.93 mmol, 88%) als farbloses Öl.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, CDCl $_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  6.98 (bs, 1H, OH), 6.76 (m, 1H, H-aromat.), 6.55 (m, 2H, H-aromat.), 5.88 (bs, 1H, NH), 3.49 (d, 2H,  $J$  = 2.8 Hz, CH $_2$ ), 2.17 (t, 1H,  $J$  = 2.8 Hz,  $\equiv\text{CH}$ ), 1.51 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, CDCl $_3$ , CDCl $_3$  = 77.0 ppm):  $\delta$  156.6 (s, C-aromat.), 152.9 (s, COOtBu), 139.4, 138.3 (2x s, 2x C-aromat.), 110.2, 109.9, 104.3 (3x d, 3x C-aromat.), 81.5 (s, C $\equiv$ CH), 81.0 (s, NHCOO), 70.7 (d, C $\equiv$ CH), 28.3 (q, *t*Bu), 24.6 (t, CH $_2$ ) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C $_{14}$ H $_{17}$ NO $_3$ : berechnet 246.1130 [M-H] $^-$  gefunden 246.1135 [M-H] $^-$ .

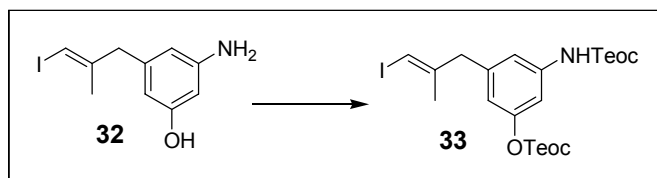
**(*E*)-3-(3-Hydroxy-5-aminophenyl)-2-methyl-iodpropen**

16.38 ml AlMe $_3$  [(2.0 M in Hexan) 32.76 mmol, 9.0 Äq.] wurden unter Schutzgas (N $_2$ ) bei  $0^{\circ}\text{C}$  zu einer Lösung von 3.19 g Cp $_2$ ZrCl $_2$  (10.92 mmol, 3.0 Äq.) in 60 ml wasserfreiem 1,2-Dichlorethan zugetropft und die Mischung auf RT erwärmt. Nach 60 Minuten wurde der Reaktionsansatz erneut auf  $0^{\circ}\text{C}$  gekühlt und 900 mg des Alkins **31** (3.64 mmol, 1.0 Äq.), in 8 ml Dichlorethan vorgelöst, zugetropft. Die Mischung wurde nun für 72 Stunden bei RT gerührt und anschließend auf  $-30^{\circ}\text{C}$  abgekühlt. Nach der Zugabe einer Lösung von 5.54 g I $_2$  in 40 ml THF (21.84 mmol, 6.0 Äq.) wurde noch für eine Stunde bei  $-30^{\circ}\text{C}$  gerührt, auf  $0^{\circ}\text{C}$

erwärmt und mit gesättigter K-Na-Tartrat-Lösung vorsichtig hydrolysiert. Das Gemisch wurde noch eine Stunde stark gerührt, anschließend die Phasen getrennt und die verbliebene wässrige Phase 4x mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (PE/EE = 3:1) gereinigt. Vom Vinyljodid **32** wurden 610 mg (2.11 mmol, 58%) als farbloses Öl erhalten. Das Rohprodukt konnte auch ohne Aufreinigung gleich im nächsten Schritt eingesetzt werden. Die Ausbeute konnte auf diesem Wege (über zwei Schritte) etwas erhöht werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 6.09 – 6.06 (m, 2H, H-aromat), 6.04 (m, 1H, 1-H), 6.00 (m, 1H, H-aromat.), 3.31 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.74 (d, 3H, *J* = 1.0 Hz, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm): δ 159.2 (s, C-aromat.), 149.9 (s, C-2), 148.6 (s, C-aromat.), 141.7 (s, C-aromat.), 109.0 (d, C-aromat.), 107.0 (d, C-aromat.), 102.0 (d, C-aromat.), 76.4 (d, C-1), 46.4 (t, C-3), 23.7 (q, 2-Me) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>INO: berechnet 287.9885 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 287.9877 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 110°C.

**(*E*)-*N,O*-Bis-(trimethylsilylethoxycarbonyl)-3-(3-hydroxy-5-aminophenyl)-2-methyl-iodpropen**



330 mg des Vinyljodids **32** (1.14 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 5 ml Dichlormethan gelöst und mit 0.46 ml Pyridin (5.7 mmol, 5 Äq.), sowie mit 5 ml TeocCl [(1M in Toluol) 5.0 mmol, 4.4 eq] versetzt. Die Mischung wurde für 3-4 Stunden bei RT gerührt und durch Zugabe von 15 ml pH-7 Phosphatpufferlösung beendet. Nach dem Abtrennen der organischen Phase wurde die wässrige Phase noch 3x mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Dem Trocknen über Magnesiumsulfat folgten das Einengen im Vakuum und die säulenchromatographische Reinigung mit PE/EE = 10:1, was das Vinyljodid **33** in einer Ausbeute von 583 mg (1.01 mmol, 89%) als gelbliches Öl lieferte.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.23 (bs, 1H, H-aromat.), 7.00 (bs, 1H, H-aromat.), 6.66 (m, 1H, H-aromat.), 6.59 (bs, 1H, NH), 6.02 (m, 1H, 1-H), 4.33 (m, 2H, Teoc), 4.25 (m, 2H, Teoc), 3.44 (s, 2H, 3-H), 1.77 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.13 (m, 2H, Teoc), 1.04 (m,

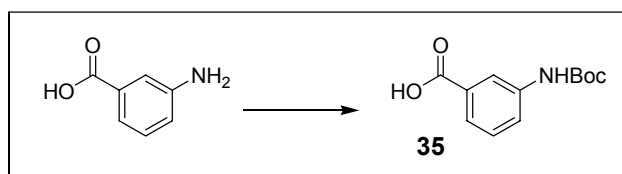
2H, Teoc), 0.07 (s, 9H, Teoc), 0.06 (s, 9H, Teoc) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3$  = 77.0 ppm):  $\delta$  153.6, 153.5, 151.8, 146.3, 140.6, 139.3 (6x s, 3x C-aromat., 2x Teoc, C-2), 116.28, 116.24, 110.0 (3x d, 3x C-aromat.), 77.6 (d, C-1), 67.6, 63.9 (2x t, 2x Teoc), 45.5 (t, C-3), 23.8 (q, 2-Me), 17.9, 17.7 (2x t, 2x Teoc), -1.3, -1.4 (2x q, 2x Teoc) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{INO}_5\text{Si}$ : berechnet 576.1099  $[\text{M-H}]^-$  gefunden 576.1083  $[\text{M-H}]^-$ .

### 2-Trimethylsilyl-ethoxycarbonylchlorid



980 mg 2-Trimethylsilylethanol (8.29 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 5 ml trockenem Toluol gelöst und auf  $-10^\circ\text{C}$  gekühlt. 974 mg  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (7.04 mmol, 0.85 Äq.) und 6.14 ml Phosgen [(20%ig in Toluol) 11.6 mmol, 1.4 eq] wurde hinzugegeben und die Lösung für 30 Minuten in der Kälte gerührt. Nach dem Erwärmen auf Raumtemperatur wurde für weitere 60 Minuten gerührt und anschließend das überschüssige Phosgen im Stickstoffstrom ausgetrieben. Die Lösung wurde daraufhin für 10 Minuten an das Wasserstrahlvakuum angeschlossen und der verbliebene Rückstand über Magnesiumsulfat filtriert. Es wurde eine ca. 8%ige Lösung (Bestimmung durch Roh-NMR) des gewünschten Produkts **34** in Toluol erhalten, welche unter Schutzgas im Gefrierschrank gelagert werden konnte.

### 3-(tert-Butoxycarbonylamino)-benzoesäure



4.11 g 3-Aminobenzoessäure (30.0 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 90 ml Dioxan/Wasser (2:1) gelöst, anschließend 9.82 g  $\text{Boc}_2\text{O}$  (45.0 mmol, 1.5 Äq.) und 6.32 ml (45.0 mmol, 1.5 Äq.) Triethylamin zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei RT gerührt, das Dioxan anschließend im Vakuum entfernt. Die verbliebene wässrige Phase wurde mit 4N Salzsäure angesäuert (pH = 1 bis 0), wobei ein Feststoff ausfiel. Dieser wurde abfiltriert und mehrmals mit Wasser gewaschen. Der Rückstand wurde im Hochvakuum für mindestens 12 Stunden getrocknet, die 6.98 g des farblosen Feststoffs **35** (29.4 mmol, 98%) bedurften keiner weiteren Aufreinigung.

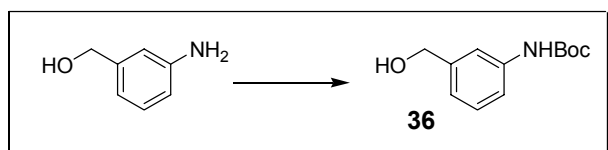
**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz, DMSO- $d_6$ , DMSO- $d_5 = 2.50$  ppm):  $\delta$  12.89 (s, 1H, COOH), 9.55 (s, 1H, NH), 8.15 (s, 1H, H-aromat.), 7.58 (m, 2H, H-aromat.), 7.35 (m, 1H, H-aromat.), 1.48 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (50 MHz, DMSO- $d_6$ , DMSO- $d_6 = 39.5$  ppm):  $\delta$  167.3 (s, COOH), 152.8 (s, NHCOO*t*Bu), 139.8 (s, C-aromat.), 131.3 (s, C-aromat.), 128.8 (d, C-aromat.), 122.9 (d, C-aromat.), 122.3 (d, C-aromat.), 118.8 (d, C-aromat.), 79.3 (s, *t*Bu), 28.1 (q, *t*Bu) ppm; **Smp.**: 185°C.

### 3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-benzylalkohol

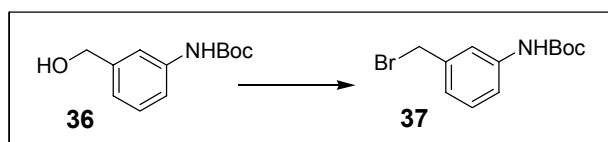


1.20 g der Benzoesäure **35** (5.06 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 20 ml wasserfreiem THF gelöst und bei Raumtemperatur 12.65 ml  $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$  Komplex [(1M in THF) 12.65 mmol, 2.5 eq] langsam zugetropft. Das Gemisch wurde unter Schutzgas ( $\text{N}_2$ ) für 24 h gerührt und anschließend vorsichtig mit Wasser hydrolysiert. Das THF wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand mit gesättigter NaCl-Lösung versetzt und 3x mehrmals mit Ethylacetat extrahiert. Nacheinander wurden die vereinten organischen Phasen mit 40 ml 5%iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, anschließend über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Das verbliebene farblose Öl wurde mit PE/EE = 20:1 umkristallisiert, 630 mg des Benzylalkohols **36** (2.82 mmol, 55%) konnten als farbloser Feststoff erhalten werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.41 (s, 1H, H-aromat.), 7.28 – 7.21 (m, 2H, H-aromat.), 7.03 – 7.00 (m, 1H, H-aromat.), 6.59 (bs, 1H, NH), 4.63 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.10 (bs, 1H, OH), 1.51 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  152.8 (s, NHCOO*t*Bu), 141.9 (s, C-aromat.), 138.5 (s, C-aromat.), 129.1 (d, C-aromat.), 121.5 (d, C-aromat.), 117.7 (d, C-aromat.), 117.0 (d, C-aromat.), 80.6 (s, *t*Bu), 65.1 (t,  $\text{CH}_2$ ), 28.3 (q, *t*Bu) ppm; **Smp.**: 99°C.

**3-(tert-Butoxycarbonylamino)-benzylalkohol**

5.0 g 3-Aminobenzylalkohol (40.6 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 105 ml Dioxan/Wasser (2.5:1) gelöst, 8.56 ml (60.9 mmol, 1.5 Äq.) Triethylamin und 13.29 g (60.9 mmol, 1.5 Äq.)  $\text{Boc}_2\text{O}$  zugegeben und das Gemisch für 12 Stunden bei RT gerührt. Das Dioxan wurde im Vakuum entfernt und die wässrige Phase mit 1N Salzsäure auf  $\text{pH} = 3$  angesäuert. Es wurde 3x mit Ethylacetat extrahiert und die vereinten organischen Phasen nacheinander mit 40 ml 1N Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde im Vakuum eingeeengt und mit PE/EE = 20:1 aus dem verbliebenen Öl umkristallisiert. Es wurden 7.40 g (33.14 mmol, 82%) eines hellgelben Feststoffes **36** erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmten mit den oben genannten überein (hier **Smp.**:  $98^\circ\text{C}$ ).

**3-(tert-Butoxycarbonylamino)-benzylbromid**

Vom Benzylalkohols **36** wurden 3.0 g (13.44 mmol, 1.0 Äq.) in 25 ml wasserfreiem Dichlormethan gelöst und bei RT nacheinander mit 4.58 g (17.47 mmol, 1.2 Äq.)  $\text{PPh}_3$  und 5.79 g (17.47 mmol, 1.2 Äq.)  $\text{CBr}_4$  versetzt. Die Lösung wurde für eine Stunde gerührt und anschließend auf Kieselgel eingeeengt („aufrotiert“, essentiell für die Abtrennung des  $\text{Ph}_3\text{PO}$ ). Die säulenchromatographische Reinigung mit PE/EE = 15:1  $\rightarrow$  10:1 erbrachte 3.195 g (11.02 mmol, 83%) des kristallinen, farblosen Feststoffes **37**.

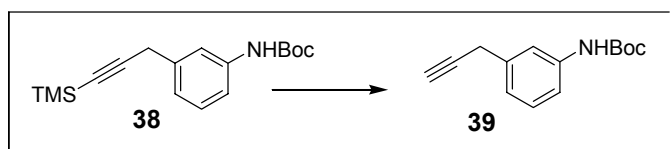
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.51 (s, 1H, H-aromat.), 7.27 – 7.18 (m, 2H, H-aromat.), 7.07 – 7.04 (m, 1H, H-aromat.), 6.52 (bs, 1H, NH), 4.45 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.52 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  152.6 (s,  $\text{NHCOO}t\text{Bu}$ ), 138.7 (s, C-aromat.), 138.6 (s, C-aromat.), 129.4 (d, C-aromat.), 123.6 (d, C-aromat.), 118.9 (d, C-aromat.), 118.4 (d, C-aromat.), 80.7 (s, *t*Bu), 33.3 (t,  $\text{CH}_2$ ), 28.3 (q, *t*Bu) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{BrNO}_2$ : berechnet 284.0286  $[\text{M-H}]^-$  gefunden 284.0278  $[\text{M-H}]^-$ ; **Smp.**:  $122^\circ\text{C}$ .



**1-Trimethylsilyl-3-[3-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-propin**

Die Darstellung des benötigten (TMS≡)<sub>3</sub>In (**29**) erfolgte wie auf Seite 91, beschrieben. 500 mg des Benzylbromids **37** (1.75 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 10 ml THF (abs.) gelöst und mit 40 mg Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (49 μmol, 2.8 mol%) versetzt. Die Mischung wurde auf 60°C erwärmt und 1.4 ml **29** [(ungefähr 0.5M in THF) 0.7 mmol, 0.4 eq] zugetropft. Nach etwa 4 Stunden bei 60°C wurde mit 3 ml Methanol hydrolysiert, die Lösung im Vakuum eingengt und säulenchromatographisch mit PE/EE = 50:1 gereinigt. Es wurden 522 mg (1.72 mmol, 98%) des Alkins **38** als hellgelbes Öl erhalten.

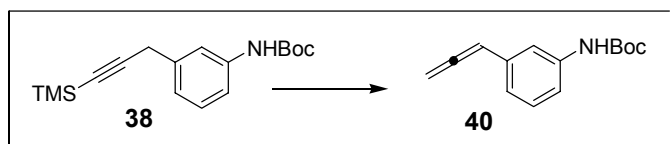
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.36 (s, 1H, H-aromat.), 7.25 – 7.19 (m, 2H, H-aromat.), 7.05 – 7.01 (m, 1H, H-aromat.), 6.48 (bs, 1H, NH), 3.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.52 (s, 9H, *t*Bu), 0.19 (s, 9H, TMS) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 152.7 (s, NHCOO*t*Bu), 138.5 (s, C-aromat.), 137.3 (s, C-aromat.), 129.1 (d, C-aromat.), 122.5 (d, C-aromat.), 118.0 (d, C-aromat.), 116.7 (d, C-aromat.), 104.0 (s, C≡C-CH<sub>2</sub>), 87.0 (s, TMS-C≡C), 80.5 (s, *t*Bu), 28.3 (q, *t*Bu), 26.1 (t, CH<sub>2</sub>), 0.1 (q, TMS) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>2</sub>Si: berechnet 302.1576 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 302.1575 [M-H]<sup>-</sup>.

**3-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-phenyl]-propin**

400 mg des TMS-Alkins **38** (1.32 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 5 ml THF gelöst, auf -20°C gekühlt und 0.7 ml TBAF·3H<sub>2</sub>O [(0.5M in THF) 1.4 mmol, 1.01 eq] zugetropft. Nach etwa einer Stunde wurde die Mischung in der Kälte mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung hydrolysiert und auf RT erwärmt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase 2x mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, eingengt und mit PE/EE = 20:1 über eine Filtrationssäule (Kieselgel) gereinigt. Vom terminalen Alkin **39** wurden 269 mg (1.16 mmol, 88%) als farbloses Öl erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.39 (m, 1H, H-aromat.), 7.24 (m, 2H, H-aromat.), 7.04 (m, 1H, H-aromat.), 6.48 (bs, 1H, NH), 3.58 (d, 2H,  $J = 2.7$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.18 (t, 1H,  $J = 2.7$  Hz, CH), 1.52 (s, 9H, *t*Bu) ppm.

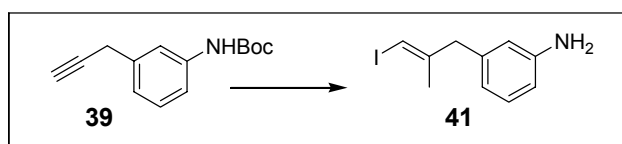
### 1-[3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-phenyl]-1,2-propadien



Wurde die oben beschriebene Reaktion bei über  $-10^\circ\text{C}$  durchgeführt, entstand ein nicht unerheblicher Anteil des entsprechenden Allens **40** (Ausbeute bei RT: 95%).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.31 (s, 1H, H-aromat.), 7.25 – 7.17 (m, 2H, H-aromat.), 6.99 – 6.95 (m, 1H, H-aromat.), 6.50 (bs, 1H, NH), 6.12 (t, 1H,  $J = 6.8$  Hz, =CH), 5.14 (d, 2H,  $J = 6.8$  Hz,  $\text{H}_2\text{C}=\text{C}$ ), 1.51 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  208.8 (s,  $\text{H}_2\text{C}=\text{C}=\text{C}$ ), 152.7 (s,  $\text{NHCOO}t\text{Bu}$ ), 138.7 (s, C-aromat.), 134.8 (s, C-aromat.), 129.1 (d, C-aromat.), 121.5 (d, C-aromat.), 117.0 (d, C-aromat.), 116.5 (d, C-aromat.), 93.8 (d, =CH), 80.5 (s, *t*Bu), 78.9 (t,  $\text{H}_2\text{C}=\text{C}$ ), 28.3 (q, *t*Bu) ppm.

### (*E*)-3-(3-Aminophenyl)-2-methyl-iodpropen

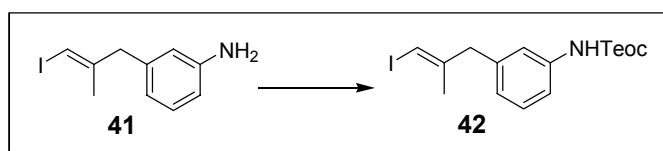


854 mg  $\text{Cp}_2\text{ZrCl}_2$  (2.92 mmol, 3.0 Äq.) wurden in 10 ml Dichlorethan (abs.) gelöst, auf  $0^\circ\text{C}$  abgekühlt und 4.38 ml Trimethylaluminium [(2M in ) 8.76 mmol, 9.0 eq] langsam zugetropft. Die Lösung wurde nun auf RT erwärmt und für 30 Minuten gerührt. Nach erneutem Abkühlen auf  $0^\circ\text{C}$  wurden 225 mg des Alkins **39** (0.973 mmol, 1.0 eq, in 4 ml Dichlorethan gelöst) zugetropft. Die Reaktion wurde für 72 h bei RT gerührt, anschließend auf  $-30^\circ\text{C}$  abgekühlt und mit Zugabe von 1.65 g Iod [(in 10 ml THF gelöst) 5.84 mmol, 6.0 eq] beendet. Eine weitere Stunde wurde in der Kälte weiter gerührt, dann auf  $0^\circ\text{C}$  erwärmt und das gleiche Volumen der Reaktionsmischung an Diethylether zugegeben. Nach dem vorsichtigen Hydrolysieren mit K-Na-Tartrat-Lösung wurde auf RT erwärmt, die Phasen getrennt und der wässrige Rückstand 3x mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden

über Magnesiumsulfat getrocknet, eingengt und über eine Filtrationssäule (PE/EE = 4:1) gereinigt. Es wurden 142 mg des Vinyljodids **41** (0.52 mmol, 53%) als gelbes Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.08 (dd, 1H, *J* = 7.7, 7.7 Hz, H-aromat.), 6.55 (dd, 2H, *J* = 7.7, 1.9 Hz, 2x H-aromat.), 6.47 (dd, 1H, *J* = 1.9, 1.9 Hz, H-aromat.), 5.97 (q, 1H, *J* = 1.0 Hz, 1-H), 3.51 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.39 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.78 (d, 3H, *J* = 1.0 Hz, 2-Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 147.0, 146.4 (2x s, C-aromat, C-2), 139.4 (s, C-aromat.), 129.3 (d, C-aromat.), 119.2 (d, C-aromat.), 115.4 (d, C-aromat.), 113.4 (d, C-aromat.), 76.6 (d, C-3), 45.6 (t, C-1), 23.7 (q, CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>IN: berechnet 315.0358 [M+NMeCN+H]<sup>+</sup> gefunden 315.0359 [M+MeCN+H]<sup>+</sup>.

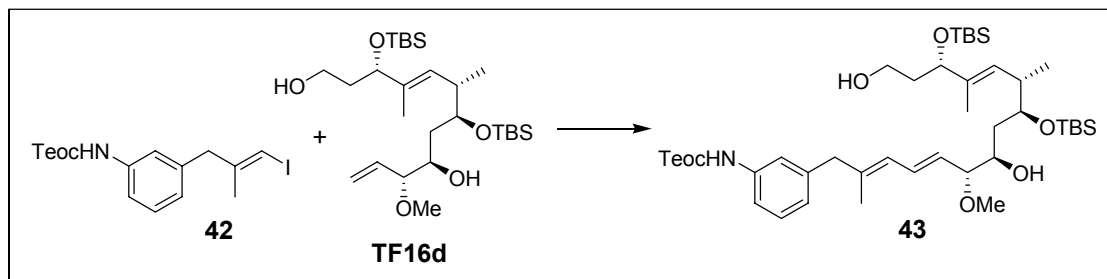
### (*E*)-3-[3-(Trimethylsilylethoxycarbonyl-amino)-phenyl]-2-methyl-iodpropen



150 mg des Vinyljodids **41** (0.55 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 3 ml Dichlormethan gelöst und 462 mg NaHCO<sub>3</sub> (5.5 mmol, 10.0 Äq.) zugegeben. Unter Rühren wurde bei RT solange TeocCl (als Lösung in Toluol, verschiedene Konzentrationen zwischen 0.5M und 1M) zugegeben, bis das Edukt abreagiert war (DC-Kontrolle). Im Allgemeinen wurde hierfür eine Menge von 4-6 eq an TeocCl benötigt. Nach vollständiger Reaktion wurde das NaHCO<sub>3</sub> abfiltriert und mit Dichlormethan nachgespült. Die organische Phase wurde im Vakuum eingengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Filtrationssäule) mit Dichlormethan über Kieselgel gereinigt. Es wurden 209 mg (0.5 mmol, 91%) des geschützten Vinyljodids **42** als viskoses, farbloses Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.23 (m, 2H, H-aromat.), 7.20 (bs, 1H, H-aromat.), 6.85 (m, 1H, H-aromat.), 6.53 (bs, 1H, NH), 5.98 (s, 1H, 1-H), 4.25 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3.46 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.78 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.05 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Si), 0.06 (s, 9H, SiMe<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 153.7 (s, COO), 146.8 (s, C=CHI), 139.2 (s, C-aromat.), 138.2 (s, C-aromat.), 129.1 (d, C-aromat.), 123.8 (d, C-aromat.), 119.0 (d, C-aromat.), 116.9 (d, C-aromat.), 76.9 (d, C=CHI), 63.6 (t, COOCH<sub>2</sub>), 45.6 (t, CH<sub>2</sub>Ar), 23.7 (q, CH<sub>3</sub>), 17.7 (t, CH<sub>2</sub>Si), -1.5 (q, SiMe<sub>3</sub>) ppm.

**(3*S*, 4*E*, 6*S*, 7*S*, 9*R*, 10*R*, 11*E*, 13*E*)-15-[3-(Trimethylsilylethoxycarbonylamino)-phenyl]-3,7-bis-(*tert*-butyldimethylsilanyloxy)-10-methoxy-9-hydroxy-4,6,14-trimethyl-pentadeca-4,11,13-trienol**

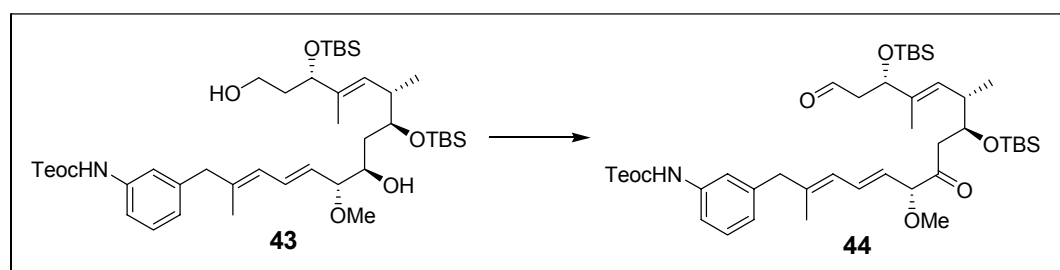


233 mg des Olefins **TF16d** (0.45 mmol, 1.0 Äq.) und 225 mg des Vinyljodids **42** (0.54 mmol, 1.2 Äq.) wurden in einem Kolben zusammengefügt und unter Schutzgasatmosphäre gesetzt. Nach dem Lösen beider Substanzen in 3 ml wasserfreiem DMF wurde die entstandene Lösung entgast. Anschließend wurden 160 mg CsCO<sub>3</sub> (0.49 mmol, 1.1 Äq.) und 146 mg TBAB (0.45 mmol, 1.0 Äq.) zugesetzt und die Mischung gerührt, bis die Salze in Lösung gegangen waren. Nach der folgenden Zugabe von 101 mg (0.45 mmol, 1.0 Äq.) Pd(OAc)<sub>2</sub> wurde das Gemisch erneut entgast und schließlich 63 µl (0.45 mmol, 1.0 Äq.) Et<sub>3</sub>N zugetropft. Die Lösung färbte sich daraufhin tiefschwarz und wurde bis zum vollständigen Umsatz bei RT gerührt (ca. 2-3h). Der Reaktionsansatz wurde ohne weitere Aufarbeitung oder Einengen durch Säulenchromatographie (PE/EE = 5:1) gereinigt. Nach einer zweiten chromatographischen Reinigung der erhaltenen Mischfraktionen wurde eine Gesamtausbeute von 247 mg **43** (0.306 mmol, 68%) als farbloses Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.29 (m, 1H, H-aromat.), 7.21 (dd, 1H, *J* = 7.9, 7.7 Hz, H-aromat.), 7.15 (bs, 1H, H-aromat.), 6.89 (m 1H, H-aromat.), 6.64 (bs, 1H, NH), 6.45 (dd, 1H, *J* = 15.1, 10.9 Hz, 12-H), 5.92 (d, 1H, *J* = 10.9 Hz, 13-H), 5.42 (m, 1H, 5-H), 5.39 (dd, 1H, *J* = 15.1, 8.3, 11-H), 4.24 (m, 2H, Teoc), 4.18 (dd, 1H, *J* = 5.5, 5.4 Hz, 3-H), 3.78 (ddd, 1H, *J* = 6.9, 5.0, 5.0 Hz, 7-H), 3.69 (m, 3H, 1-H, 9-H), 3.39 (dd, 1H, *J* = 8.3, 7.0 Hz, 10-H), 3.33 (s, 2H, 15-H), 3.29 (s, 3H, 10-OMe), 2.78 (bs, 1H, OH), 2.68 (m, 1H, 6-H), 2.44 (bs, 1H, OH), 1.76 (m, 2H, 2-H), 1.71 (d, 3H, *J* = 1.1 Hz, 14-CH<sub>3</sub>), 1.68 (m, 1H, 8-H), 1.59 (d, 3H, *J* = 1.3 Hz, 4-CH<sub>3</sub>), 1.53 (m, 1H, 8-H'), 1.04 (m 2H, Teoc), 0.90 (s, 9H, TBS), 0.89 (s, 9H, TBS), 0.87 (d, 3H, *J* = 6.9 Hz, 6-CH<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3H, TBS), 0.063 (s, 12H, TBS), 0.060 (s, 9H, Teoc), 0.056 (s, 3H, TBS), 0.02 (s, TBS) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 153.7 (s, Teoc), 140.5 (s, C-aromat.), 138.8 (s, C-14), 138.1 (s, C-aromat.), 136.0 (s, C-4), 131.4 (d, C-12), 129.0 (d, C-aromat.), 128.3 (d, C-11), 128.2 (d,

C-5), 125.6 (d, C-13), 124.0 (d, C-aromat.), 119.1 (d, C-aromat.), 116.5 (d, C-aromat.), 86.4 (d, C-10), 76.8 (d, C-3), 74.1 (d, C-7), 71.1 (d, C-9), 63.4 (t, Teoc), 60.3 (t, C-1), 56.4 (q, 10-OMe), 46.1 (t, C-15), 38.0 (t, C-2), 37.1 (t, C-8), 36.8 (d, C-6), 26.0 (q, TBS), 25.8 (q, TBS), 18.13 (s, TBS), 18.07 (s, TBS), 17.8 (t, Teoc), 16.6 (q, 14-CH<sub>3</sub>), 15.9 (q, 6-CH<sub>3</sub>), 12.8 (q, 4-CH<sub>3</sub>), -1.5 (q, Teoc), -4.2 (q, TBS), -4.4 (q, TBS), -4.5 (q, TBS), -5.2 (q, TBS) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C<sub>43</sub>H<sub>79</sub>NO<sub>7</sub>Si<sub>3</sub>: berechnet 804.5086 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 804.5084 [M-H]<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -16.0$  (c = 1.0, CDCl<sub>3</sub>).

**(3*S*, 4*E*, 6*S*, 7*S*, 10*R*, 11*E*, 13*E*)-15-[3-(Trimethylsilylethoxycarbonylamino)-phenyl]-3,7-bis-(*tert*-butyldimethylsilanyloxy)-9-oxo-10-methoxy-4,6,14-trimethyl-pentadeca-4,11,13-trienal**

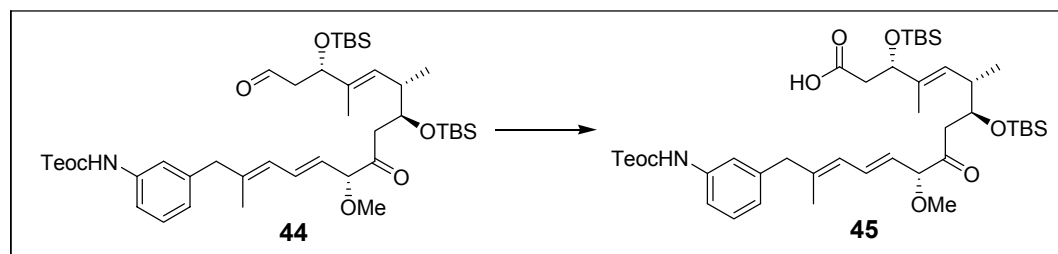


254  $\mu$ l DMSO (3.57 mmol, 18.0 Äq.) wurden unter Schutzgas (N<sub>2</sub>) in 5 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und auf -60°C abgekühlt. Es wurden 154  $\mu$ l Oxalylchlorid (1.79 mmol, 9.0 Äq.) zugetropft und die Mischung für 30 Minuten gerührt. Vom Diol **43** wurden nun 160 mg (198  $\mu$ mol, 1.0 Äq.) in 3 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst, zugetropft und die Lösung für weitere 60 Minuten gerührt. Nach der Zugabe von 621  $\mu$ l (4.46 mmol, 22.5 Äq.) Triethylamin wurde langsam auf -40°C erwärmt und schließlich mit pH-7 Phosphatpuffer-Lösung hydrolysiert. Nach dem Erwärmen auf RT wurde die organische Phase abgetrennt und die verbliebene wässrige Phase noch 3x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum (nicht über 30°C) eingengt. Nach säulenchromatographischer Reinigung mit PE/EE = 15:1 → 10:1 wurden 143 mg des Aldehyds **44** (178  $\mu$ mol, 90%) als farbloses Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  9.72 (dd, 1H,  $J = 2.8, 2.5$  Hz, 1-H), 7.24 (bs, 1H, H-aromat.), 7.21 (d, 1H,  $J = 7.4$  Hz, H-aromat.), 7.16 (bs, 1H, H-aromat.), 6.85 (ddd, 1H,  $J = 7.4, 1.1, 1.1$  Hz, H-aromat.), 6.61 (ddd, 1H,  $J = 15.1, 11.0, 1.0$  Hz, 12-H), 6.52 (bs, 1H, NH), 5.90 (d, 1H,  $J = 11.0$  Hz, 13-H), 5.42 (dd, 1H,  $J = 15.1, 7.5$  Hz, 11-H), 5.38 (m, 1H, 5-H), 4.48 (ddd, 1H,  $J = 7.8, 4.2, 0.4$  Hz, 3-H), 4.24 (m, 2H, Teoc), 4.11 (m, 2H, 7-H, 10-H), 3.34 (s, 3H, 10-OMe), 3.33 (m, 2H, 15-H), 2.69 (dd, 1H,  $J = 17.3, 6.7$  Hz, 8-H), 2.60 (dd, 1H,

$J = 17.3, 5.0$  Hz, 8-H'), 2.60 (ddd, 1H,  $J = 15.3, 7.8, 2.8$  Hz, 2-H), 2.49 (ddd, 1H,  $J = 9.8, 6.8, 4.7$  Hz, 6-H), 2.41 (ddd, 1H,  $J = 15.3, 4.4, 2.5$  Hz, 2-H'), 1.72 (s, 3H, 14-CH<sub>3</sub>), 1.61 (d, 3H,  $J = 1.4$  Hz, 4-CH<sub>3</sub>), 1.04 (m, 2H, Teoc), 0.88 (d, 3H,  $J = 6.8$  Hz, 6-CH<sub>3</sub>), 0.86 (s, 9H, TBS), 0.84 (s, 9H, TBS), 0.06 (s, 12H, Teoc, TBS), 0.04 (s, 3H, TBS), 0.01 (s, 3H, TBS), -0.03 (s, 3H, TBS) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 206.8 (s, C-9), 202.1 (d, C-1), 153.7 (s, Teoc), 140.3 (s, C-aromat.), 140.2 (s, C-14), 138.1 (s, C-aromat.), 136.3 (s, C-4), 132.0 (d, C-12), 129.0 (d, C-aromat.), 128.5 (d, C-5), 125.3 (d, C-13), 125.0 (d, C-11), 123.9 (d, C-aromat.), 119.1 (d, C-aromat.), 116.6 (d, C-aromat.), 88.6 (d, C-10), 73.5 (d, C-3), 71.4 (d, C-7), 63.5 (t, Teoc), 56.8 (q, 10-OMe), 50.2 (t, C-2), 46.2 (t, C-15), 43.6 (t, C-8), 38.1 (d, C-6), 25.9 (q, TBS), 25.7 (q, TBS), 18.04 (s, TBS), 18.02 (s, TBS), 17.7 (t, Teoc), 16.67 (q, 14-CH<sub>3</sub>), 15.8 (q, 6-CH<sub>3</sub>), 12.2 (q, 4-CH<sub>3</sub>), -1.5 (q, Teoc), -4.45 (q, TBS), -4.47 (q, TBS), -4.49 (q, TBS), -5.2 (q, TBS) ppm; HRMS  $m/z$  für C<sub>43</sub>H<sub>75</sub>NO<sub>7</sub>Si<sub>3</sub>: berechnet 824.4749 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 824.4759 [M-H]<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -61.0$  (c = 1.0, CDCl<sub>3</sub>).

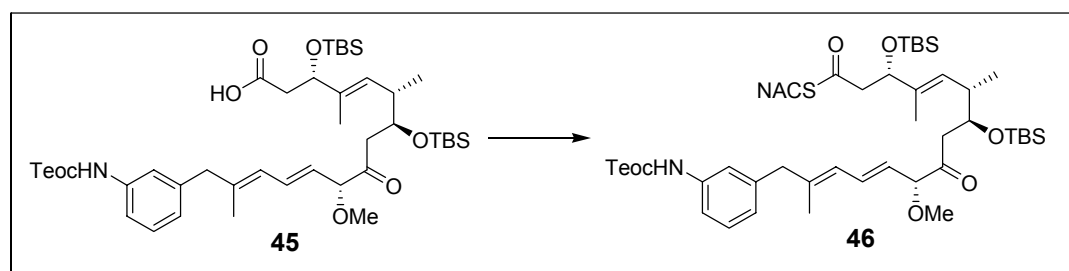
**(3*S*, 4*E*, 6*S*, 7*S*, 10*R*, 11*E*, 13*E*)-15-[3-(Trimethylsilylethoxycarbonylamino)-phenyl]-3,7-bis-(*tert*-butyldimethylsilanyloxy)-9-oxo-10-methoxy-4,6,14-trimethyl-pentadeca-4,11,13-trien-carbonsäure**



120 mg des Ketoaldehyds **44** (150 μmol, 1.0 Äq.) wurden in 3 ml *tert*-Butanol gelöst und mit 3.51 ml 2-Methyl-2-buten (12.0 mmol, 80 Äq.) versetzt. Die Mischung wurde auf 0°C gekühlt und eine Mischung aus 360 mg NaClO<sub>2</sub> (1.35 mmol, 9.0 Äq.) und 486 mg NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (1.5 mmol, 10.0 Äq.) in 3 ml Wasser gelöst und zugetropft. Nach dem Erwärmen RT war die Reaktion bereits abgeschlossen und wurde durch Hydrolyse mit pH-7 Phosphatpufferlösung beendet. Es wurde 5x mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Einengen in Vakuum (max. 30°C Wasserbad) wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch mit PE/EE = 5:1 → 2:1 gereinigt. Von der Säure **45** wurden 105 mg (128 μmol, 85%) als farbloses Öl erhalten. Die Ausbeute war nicht immer reproduzierbar, üblicherweise wurden zwischen 60% und 85% der Säure erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.27 (d, 1H, *J* = 7.4 Hz, H-aromat.), 7.20 (dd, 1H, *J* = 7.4, 7.4 Hz, H-aromat.), 7.11 (bs, 1H, H-aromat.), 6.85 (d, 1H, *J* = 7.4 Hz, H-aromat.), 6.62 (ddd, 1H, *J* = 15.0, 11.0, 0.5 Hz, 12-H), 5.90 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, 13-H), 5.42 (dd, 1H, *J* = 15.0, 7.7 Hz, 11-H), 5.35 (d, 1H, *J* = 9.9 Hz, 5-H), 4.44 (dd, 1H, *J* = 7.8, 4.6, 3-H), 4.23 (m, 2H, Teoc), 4.08 (m, 2H, 7-H, 10-H), 3.32 (s, 3H, 10-OMe), 3.31 (bs, 2H, 15-H), 2.64 (m, 1H, 8-H), 2.60 (m, 1H, 8-H'), 2.55 (dd, 1H, *J* = 14.4, 8.1 Hz, 2-H), 2.50 (m, 1H, 6-H), 2.44 (dd, 1H, *J* = 14.4, 4.9 Hz, 2-H'), 1.70 (d, 3H, *J* = 0.9 Hz, 14-CH<sub>3</sub>), 1.61 (d, 3H, *J* = 1.3 Hz, 4-CH<sub>3</sub>), 1.03 (m, 2H, Teoc), 0.90 (d, 3H, *J* = 6.9 Hz, 6-CH<sub>3</sub>), 0.85 (s, 9H, TBS), 0.83 (s, 9H, TBS), 0.07 (s, 3H, TBS), 0.06 (s, 9H, Teoc), 0.05 (s, 3H, TBS), 0.02 (s, 3H, TBS), -0.02 (s, 3H, TBS) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 206.6 (s, C-9), 175.9 (s, C-1), 153.8 (s, Teoc), 140.3 (s, C-aromat.), 140.2 (s, C-14), 138.0 (s, C-aromat.), 136.1 (s, C-4), 132.1 (d, C-12), 128.9 (d, C-aromat.), 128.8 (d, C-5), 125.3 (d, C-13), 124.9 (d, C-11), 124.0 (d, C-aromat.), 119.2 (d, C-aromat.), 116.7 (d, C-aromat.), 88.6 (d, C-10), 74.9 (d, C-3), 71.5 (d, C-7), 63.6 (t, Teoc), 56.7 (q, 10-OMe), 46.2 (t, C-15), 43.6 (t, C-8), 42.3 (t, C-2), 38.0 (d, C-6), 25.9 (q, TBS), 25.7 (q, TBS), 18.04 (s, TBS), 18.03 (s, TBS), 17.7 (t, Teoc), 16.67 (q, 14-CH<sub>3</sub>), 15.8 (q, 6-CH<sub>3</sub>), 11.8 (q, 4-CH<sub>3</sub>), -1.5 (q, Teoc), -4.49 (q, TBS), -4.50 (q, TBS), -4.54 (q, TBS), -5.3 (q, TBS) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>43</sub>H<sub>75</sub>NO<sub>8</sub>Si<sub>3</sub>: berechnet 816.4722 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 816.4724 [M-H]<sup>-</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -76.5 (c = 1.7, CDCl<sub>3</sub>).

**(3*S*, 4*E*, 6*S*, 7*S*, 10*R*, 11*E*, 13*E*)-15-[3-(Trimethylsilylethoxycarbonylamino)-phenyl]-3,7-bis-(*tert*-butyldimethylsilanyloxy)-9-oxo-10-methoxy-4,6,14-trimethyl-pentadeca-4,11,13-trien-thiocarbonsäure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester**

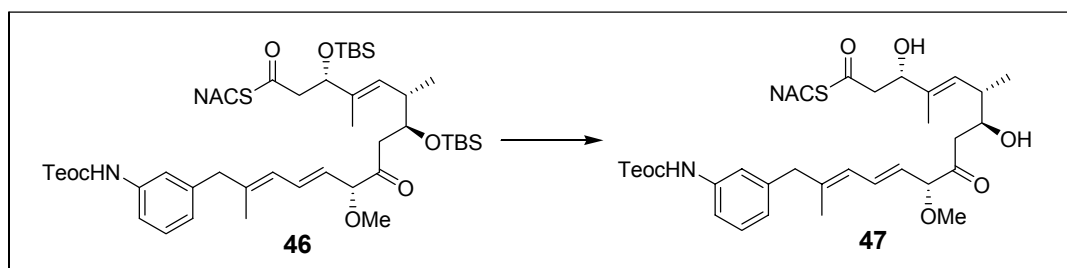


In 2 ml wasserfreiem Dichlormethan wurden 52 mg der Säure **45** (64 μmol, 1.0 Äq.) gelöst und bei 0°C nacheinander mit 27 μl *N*-Acetylcysteamin (256 μmol, 4.0 Äq.), 0.8 mg 4-DMAP (6.4 μmol, 0.1 Äq.) und 12.9 μl DIC (83 μmol, 1.3 Äq.) versetzt. Die Mischung wurde auf RT erwärmt und bis zum vollständigen Umsatz (ca. 2h) gerührt. Das Dichlormethan wurde anschließend im Vakuum entfernt und der Rückstand

säulenchromatographisch mit Cyclohexan/EE = 4:1 → 1.5:1 gereinigt. Vom entsprechenden SNAC-Ester **46** wurden 33 mg (36 µmol, 56%) als farbloses Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.25 (m, 1H, H-aromat.), 7.20 (m, 1H, H-aromat.), 7.16 (bs, 1H, H-aromat.), 6.84 (d, 1H, *J* = 7.4 Hz, H-aromat.), 6.65 (bs, 1H, NH), 6.60 (ddd, 1H, *J* = 15.1, 10.9, 0.9 Hz, 12-H), 5.93 (bs, 1H, NH), 5.90 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, 13-H), 5.42 (dd, 1H, *J* = 15.1, 7.6 Hz, 11-H), 5.32 (d, 1H, *J* = 9.9 Hz, 5-H), 4.43 (dd, 1H, *J* = 8.3, 4.1, 3-H), 4.23 (m, 2H, Teoc), 4.11 (d, 1H, *J* = 7.4 Hz, 10-H), 4.07 (m, 1H, 7-H), 3.40 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub>), 3.33 (s, 3H, 10-OMe), 3.32 (bs, 2H, 15-H), 2.98 (m, 2H, CH<sub>2</sub>S), 2.76 (dd, 1H, *J* = 13.9, 6.8 Hz, 2-H), 2.69 (dd, 1H, *J* = 17.2, 8.5 Hz, 8-H), 2.60 (dd, 1H, *J* = 17.2, 4.8 Hz, 8-H'), 2.58 (dd, 1H, *J* = 13.9, 4.3 Hz, 2-H'), 2.46 (m, 1H, 6-H), 1.96 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.71 (d, 3H, *J* = 0.8 Hz, 14-CH<sub>3</sub>), 1.59 (d, 3H, *J* = 1.1 Hz, 4-CH<sub>3</sub>), 1.03 (m, 2H, Teoc), 0.86 (d, 3H, *J* = 7.3 Hz, 6-CH<sub>3</sub>), 0.842 (s, 9H, TBS), 0.839 (s, 9H, TBS), 0.054 (s, 3H, TBS), 0.050 (s, 9H, Teoc), 0.01 (s, 3H, TBS), -0.03 (s, 3H, TBS), -0.04 (s, 3H, TBS) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 206.8 (s, C-9), 197.8 (s, C-1), 170.2 (s, NHCOCH<sub>3</sub>), 153.7 (s, Teoc), 140.3 (s, C-aromat.), 140.2 (s, C-14), 138.1 (s, C-aromat.), 136.1 (s, C-4), 132.0 (d, C-12), 129.0 (d, C-aromat.), 128.8 (d, C-5), 125.2 (d, C-13), 124.9 (d, C-11), 123.9 (d, C-aromat.), 119.1 (d, C-aromat.), 116.6 (d, C-aromat.), 88.6 (d, C-10), 75.1 (d, C-3), 71.4 (d, C-7), 63.4 (t, Teoc), 56.8 (q, 10-OMe), 51.5 (t, C-2), 46.2 (t, C-15), 43.7 (t, C-8), 39.6 (t, NHCH<sub>2</sub>), 38.2 (d, C-6), 28.7 (t, CH<sub>2</sub>S), 25.9 (q, TBS), 25.7 (q, TBS), 23.2 (q, NHCOCH<sub>3</sub>), 18.09 (s, TBS), 18.03 (s, TBS), 17.7 (t, Teoc), 16.7 (q, 14-CH<sub>3</sub>), 15.9 (q, 6-CH<sub>3</sub>), 12.0 (q, 4-CH<sub>3</sub>), -1.5 (q, Teoc), -4.48 (2x q, 2x TBS), -4.53 (q, TBS), -5.4 (q, TBS) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>47</sub>H<sub>82</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>SSi<sub>3</sub>: berechnet 941.4997 [M+Na]<sup>+</sup> gefunden 941.501 [M+Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -48.3 (c = 0.6, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**(3*S*, 4*E*, 6*S*, 7*S*, 10*R*, 11*E*, 13*E*)-15-[3-(Trimethylsilylethoxycarbonylamino)-phenyl]-9-oxo-10-methoxy-3,7-dihydroxy-4,6,14-trimethyl-pentadeca-4,11,13-trien-thiocarbon-säure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester**

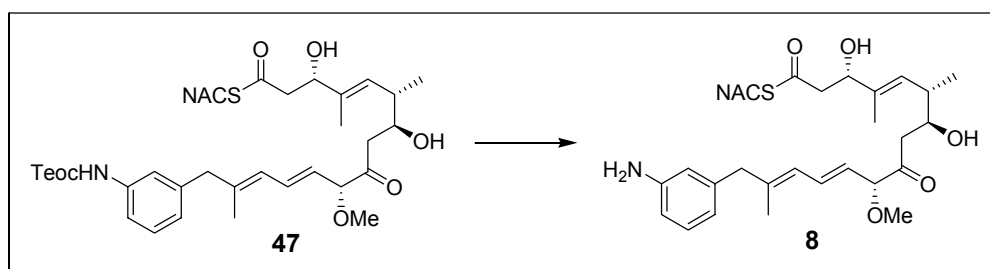




In einem Teflon-Kolben wurden in 2 ml wasserfreiem THF 32 mg des Bis-Silylethers **46** (34.8  $\mu\text{mol}$ , 1.0  $\text{\AA}\text{q.}$ ) gelöst und mit 250  $\mu\text{l}$  HF\*Py (70% HF) versetzt. Die Mischung wurde für 24 Stunden gerührt und anschließend mit 4 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und 5 ml pH-7 Phosphatpuffer versetzt. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase mehrmals mit Ethylacetat extrahiert und die vereinten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Einengen wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 20:1$  gereinigt. Vom desilylierten SNAC-Ester **47** wurden 15 mg (21.7  $\mu\text{mol}$ , 62%) als farbloser Schaum erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.30 (m, 1H, H-aromat.), 7.20 (dd, 1H,  $J = 7.9, 7.7$  Hz, H-aromat.), 7.14 (bs, 1H, H-aromat.), 6.82 (m, 2H, NH, H-aromat.), 6.60 (ddd, 1H,  $J = 15.2, 11.0, 1.0$  Hz, 12-H), 6.05 (bt, 1H,  $J = 5.4$  Hz, NH), 5.89 (d, 1H,  $J = 11.0$  Hz, 13-H), 5.42 (dd, 1H,  $J = 15.2, 7.5$  Hz, 11-H), 5.32 (m, 1H, 5-H), 4.45 (dd, 1H,  $J = 8.3, 3.8, 3$ -H), 4.23 (m, 2H, Teoc), 4.15 (dd, 1H,  $J = 7.4, 0.6$  Hz, 10-H), 3.85 (ddd, 1H,  $J = 9.1, 6.9, 2.4$  Hz, 7-H), 3.41 (dt, 2H,  $J = 6.3, 6.2$  Hz,  $\text{NHCH}_2$ ), 3.34 (s, 3H, 10-OMe), 3.32 (bs, 2H, 15-H), 3.02 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 2.82 (dd, 1H,  $J = 14.9, 8.4$  Hz, 2-H), 2.76 (dd, 1H,  $J = 17.6, 2.5$  Hz, 8-H), 2.74 (dd, 1H,  $J = 14.9, 4.0$  Hz, 2-H'), 2.70 (bs, 1H, OH), 2.57 (dd, 1H,  $J = 17.6, 9.2$  Hz, 8-H'), 2.50 (m, 1H, 6-H), 1.95 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.71 (d, 3H,  $J = 1.0$  Hz, 14- $\text{CH}_3$ ), 1.64 (d, 3H,  $J = 1.3$  Hz, 4- $\text{CH}_3$ ), 1.63 (bs, 1H, OH), 1.03 (m, 2H, Teoc), 0.99 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz, 6- $\text{CH}_3$ ), 0.05 (s, 9H, Teoc) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  210.0 (s, C-9), 198.7 (s, C-1), 170.6 (s,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 153.8 (s, Teoc), 140.7 (s, C-14), 140.1 (s, C-aromat.), 138.2 (s, C-aromat.), 136.6 (s, C-4), 132.0 (d, C-12), 129.0 (d, C-aromat.), 128.6 (d, C-5), 125.0 (d, C-13), 124.7 (d, C-11), 124.0 (d, C-aromat.), 119.1 (d, C-aromat.), 116.7 (d, C-aromat.), 88.3 (d, C-10), 73.8 (d, C-3), 71.5 (d, C-7), 63.5 (t, Teoc), 56.9 (q, 10-OMe), 49.4 (t, C-2), 46.2 (t, C-15), 42.3 (t, C-8), 39.2 (t,  $\text{NHCH}_2$ ), 37.7 (d, C-6), 28.9 (t,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 23.1 (q,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 17.7 (t, Teoc), 16.8 (q, 14- $\text{CH}_3$ ), 16.3 (q, 6- $\text{CH}_3$ ), 12.6 (q, 4- $\text{CH}_3$ ), -1.5 (q, Teoc) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_8\text{SSi}$ : berechnet 713.3268  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  gefunden 713.3281  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -38.1$  ( $c = 1.5, \text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

**(3*S*, 4*E*, 6*S*, 7*S*, 10*R*, 11*E*, 13*E*)-15-[3-Aminophenyl]-9-oxo-10-methoxy-3,7-dihydroxy-4,6,14-trimethyl-pentadeca-4,11,13-trien-thiocarbon-säure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester**

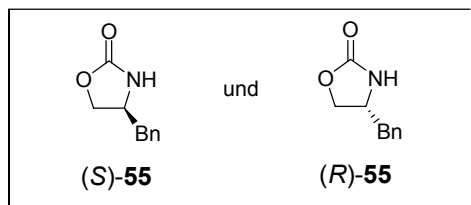


12 mg des Thioesters **47** (17.4  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äq.) wurden in 2 ml Nitromethan gelöst (über Molsieb 4Å gelagert) und mit 23.7 mg wasserfreiem  $\text{ZnCl}_2$  (174  $\mu\text{mol}$ , 10.0 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 80 Minuten in ein Ultraschallbad gestellt, wobei sich die Farbe der Lösung von hellgelb, über rot nach braun veränderte und sich ein brauner, voluminöser Niederschlag bildete. Dieser wurde abfiltriert, anschließend mit 1 ml Methanol und 1 ml pH-7 Phosphatpuffer hydrolysiert und direkt säulenchromatographisch über RP-18 Kieselgel gereinigt (Gradient:  $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{MeOH}$ , Produkt wird bei etwa  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH} = 1:2$  erhalten). Alternativ dazu konnte der Rückstand durch semipräparative HPLC (Gradient  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH} = 80:20 \rightarrow 0:100$  in 30 Minuten, 3.0 ml/min, Produkt bei 24.0 Minuten) gereinigt werden. Es wurden 6.0 mg (11.0  $\mu\text{mol}$ , 63%) vom 20-Deshydroxy-*seco*-Proansamitocin-*N*-acetylcysteamin-thioester **8** erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CDHCl}_2 = 5.32$  ppm):  $\delta$  7.04 (t, 1H,  $J = 7.7$  Hz, H-aromat.), 6.61 (ddd, 1H,  $J = 15.1, 11.0, 1.0$  Hz, 12-H), 6.55 – 6.47 (m, 3H, 3x H-aromat.), 5.92 (dt, 1H,  $J = 11.0, 1.1$  Hz, 13-H), 5.89 (bs, 1H, NH), 5.43 (dd, 1H,  $J = 15.1, 7.5$  Hz, 11-H), 5.29 (m, 1H, 5-H), 4.44 (ddd, 1H,  $J = 8.2, 4.4, 0.7$  Hz, 3-H), 4.14 (dd, 1H,  $J = 7.5, 1.0$  Hz, 10-H), 3.81 (ddd, 1H,  $J = 9.3, 7.1, 2.3$  Hz, 7-H), 3.39 (dd, 2H,  $J = 6.3, 6.2$  Hz,  $\text{NHCH}_2$ ), 3.33 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.26 (s, 2H, 15-H, 15-H'), 3.01 (t, 1H,  $J = 6.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.00 (t, 1H,  $J = 6.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 2.79 (dd, 1H,  $J = 14.8, 8.2$  Hz, 2-H), 2.75 (dd, 1H,  $J = 17.7, 2.3$  Hz, 8-H), 2.74 (dd, 1H,  $J = 14.8, 4.4$  Hz, 2-H'), 2.56 (dd, 1H,  $J = 17.7, 9.3$  Hz, 8-H'), 2.48 (m, 1H, 6-H), 1.90 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.89 (bs, 1H, OH), 1.73 (d, 3H,  $J = 1.1$  Hz, 14- $\text{CH}_3$ ), 1.70 – 1.50 (bs, 3H,  $\text{NH}_2, \text{OH}$ ), 1.64 (d, 3H,  $J = 1.4, 4\text{-CH}_3$ ), 0.98 (d, 3H,  $J = 6.8$  Hz, 6- $\text{CH}_3$ ) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  210.0 (s, C-9), 198.5 (s, C-1), 170.2 (s,  $\text{COCH}_3$ ), 146.9 (s, C-aromat.), 141.1 (s, C-aromat.), 140.6 (s, C-14), 136.5 (s, C-4), 132.0 (d, C-12), 129.2 (d, C-aromat.), 128.5 (d, C-5), 124.9 (d, C-11), 124.9 (d, C-13), 119.1 (d, C-aromat.), 115.4 (d, C-aromat.), 112.9 (d, C-aromat.), 88.4 (d, C-10), 73.8 (d, C-3), 71.5 (d, C-7), 56.8 (q, 10- $\text{OCH}_3$ ), 49.7 (t, C-2), 46.2 (t, C-15), 42.6 (t, C-8), 39.0 (t,  $\text{NHCH}_2$ ), 37.8 (d, C-6), 29.0 (t,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 23.0 (q,  $\text{COCH}_3$ ), 16.5 (q, 14- $\text{CH}_3$ ), 16.1 (q, 6- $\text{CH}_3$ ), 12.4 (q, 4- $\text{CH}_3$ ) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ : berechnet 569.2661  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  gefunden 569.2674  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -60.4$  ( $c = 0.5, \text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

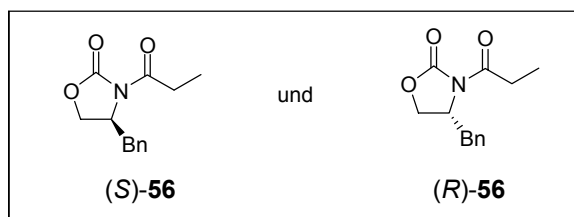
### 5.3. Verbindungen aus Kapitel 3.2.

#### (S)- und (R)-4-Benzyloxazolidin-2-on



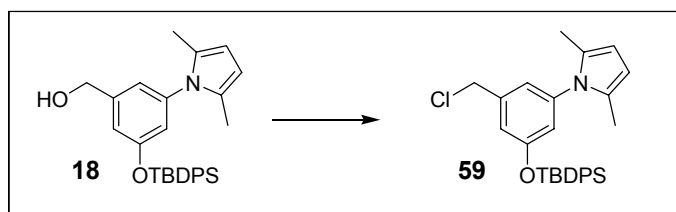
Die Synthese der gezeigten Evans-Auxiliare erfolgte nach der Vorschrift von MCKILLOP und TAYLOR.<sup>140</sup> Die spektroskopischen Daten, Drehwerte und Schmelzpunkte stimmten dabei mit den in der Literatur gegebenen Werten überein.<sup>138, 139, 140</sup>

#### (S)- und (R)-3-Propionyl-4-benzyloxazolidin-2-on



Die Darstellung der aufgeführten Bausteine erfolgte aus den jeweiligen Auxiliaren (S)-55 bzw. (R)-55 nach der Vorschrift von ORGAN.<sup>139b</sup> Die Reinigung konnte statt der darin angegebenen Chromatographie auch durch Umkristallisation mit PE/EE = 20:1 erfolgen, die Ausbeute betrug 96%. Die Daten der erhaltenen Produkte stimmten in allen Punkten mit den in der Literatur gegebenen Werten überein.<sup>139a, 140</sup>

#### 3-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl)-benzylchlorid

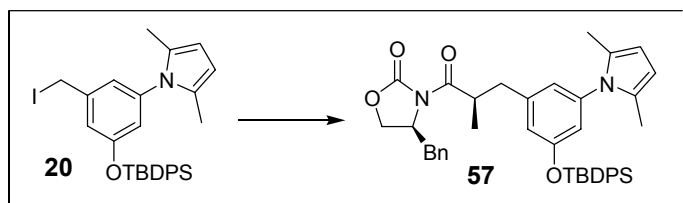


150 mg des Benzylalkohols **18** (0.33 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 3 ml trockenem Dichlormethan gelöst und bei 0°C mit 122 mg 4-DMAP (1.0 mmol, 3.0 Äq.) und 190 mg *p*-TsCl (1.0 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Nach etwa einer Stunde wurde das Lösungsmittel im

Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch mit PE/EE = 15:1 gereinigt. Es wurden 95 mg des Benzylchlorids **59** (0.2 mmol, 60%) erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.70 – 7.67 (m, 4H, H-aromat.), 7.43 – 7.33 (m, 6H, H-aromat.), 6.95 (m, 1H, H-aromat.), 6.73 (m, 1H, H-aromat.), 6.44 (m, 1H, H-aromat.), 5.75 (s, 2H, CH), 4.46 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.77 (s, 6H, Me), 1.11 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 156.1 (s, C-aromat.), 139.8 (s, C-aromat.), 139.2 (s, C-aromat.), 135.4 (d, C-aromat.), 132.0 (s, C-aromat.), 130.1 (s, C-aromat.), 128.6 [s, C(Me)], 127.9 (d, C-aromat.), 121.2 (d, C-aromat.), 119.7 (d, C-aromat.), 119.4 (d, C-aromat.), 105.5 (d, CH), 45.4 (t, CH<sub>2</sub>), 26.4 (q, *t*-Bu), 19.4 (s, *t*-Bu), 12.6 (q, Me) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>29</sub>H<sub>33</sub>ClNOSi: berechnet 474.2020 [M+H]<sup>+</sup> gefunden 474.2012 [M+H]<sup>+</sup>.

**(4*S*, (2*R*))-3-{3-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilanyloxy)-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl-amino)-phenyl]-2-methylpropanoyl}-4-benzyloxazolidin-2-on**

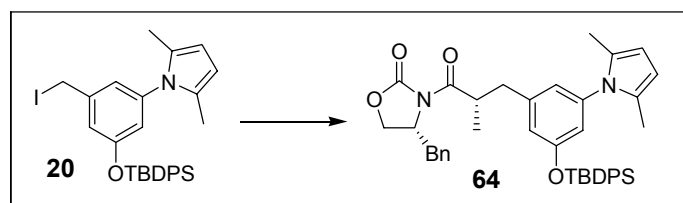


825 mg des (*S*)-Oxazolidinons **56** (3.54 mmol, 2.0 Äq.) wurden in 20 ml wasserfreiem THF gelöst, auf -78°C abgekühlt und 1.77 ml LDA [(2M in THF/*n*-Heptan) 3.54 mmol, 2.0 eq] zugetropft. Die Reaktionslösung wurde nun für 15 Minuten auf -50°C erwärmt, anschließend erneut auf -78°C abgekühlt. Vom Benzyljodid **20** wurden 5.0 ml [(0.2M Lösung in THF) 1.77 mmol, 1.0 eq] zugetropft und die Mischung langsam auf -40°C erwärmt. Nach vollständigem Umsatz (etwa 3 h) wurde bei -40°C mit 20 ml gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung hydrolysiert und die Mischung auf RT erwärmt. Nach dem Entfernen des THF unter reduziertem Druck wurde die verbliebene wässrige Phase 4x mit Diethylether extrahiert. Es wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, eingengt und säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE = 9:1 → 5:1). Vom Produkt **57** konnten 618 mg (0.92 mmol, 52%) als gelblicher Schaum erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.70 – 7.63 (m, 4H, H-aromat.), 7.40 – 7.24 (m, 9H, H-aromat.), 7.15 – 7.10 (m, 2H, H-aromat.), 6.86 (m, 1H, H<sup>6</sup>-aromat.), 6.63 (m, 1H, H<sup>2</sup>-aromat.), 6.36 (m, 1H, H<sup>4</sup>-aromat.), 5.74 (s, 2H, CH-pyrrol), 4.66 (m, 1H, 4-H), 4.15 (m, 2H, 5-H, 5-H'), 3.96 (m, 1H, CHCH<sub>3</sub>), 3.16 (dd, 1H, *J* = 13.3, 3.3 Hz, NCHCH<sub>2</sub>), 3.08

[dd, 1H,  $J = 13.2, 6.3$  Hz, CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>], 2.60 (dd, 1H,  $J = 13.3, 9.6$  Hz, NCHCH<sub>2</sub>), 2.52 [dd, 1H,  $J = 13.2, 8.3$  Hz, CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>], 1.76 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-pyrrol), 1.08 (s, 9H, TBDPS), 1.07 [d, 3H,  $J = 6.7$  Hz, CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>] ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 176.1 (s, NCOCH), 155.9 (s, C<sup>5</sup>-aromat.), 152.9 (s, NCOO), 141.0 (s, C<sup>1</sup>-aromat.), 139.4 (s, C<sup>3</sup>-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 135.2 (s, C-aromat.), 132.4 (s, TBDPS), 129.9 (d, C-aromat.), 129.4 (d, C-aromat.), 128.9 (d, C-aromat.), 128.6 (s, C-pyrrol), 127.8 (d, C-aromat.), 127.3 (d, C-aromat.), 122.3 (d, C<sup>2</sup>-aromat.), 120.4 (d, C<sup>6</sup>-aromat.), 117.9 (d, C<sup>4</sup>-aromat.), 105.3 (d, CH-pyrrol), 66.0 (t, C-5), 55.2 (d, C-4), 39.4 (d, CHCH<sub>3</sub>), 39.2 [t, CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>], 37.9 (t, NCHCH<sub>2</sub>), 26.4 (q, TBDPS), 19.4 (s, TBDPS), 16.3 (q, CHCH<sub>3</sub>), 12.7 (q, CH<sub>3</sub>-pyrrol) ppm; HRMS  $m/z$  für C<sub>42</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Si: berechnet 671.3305 [M+H]<sup>+</sup> gefunden 671.3311 [M+H]<sup>+</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = +3.0$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>); Smp.: 64-66°C.

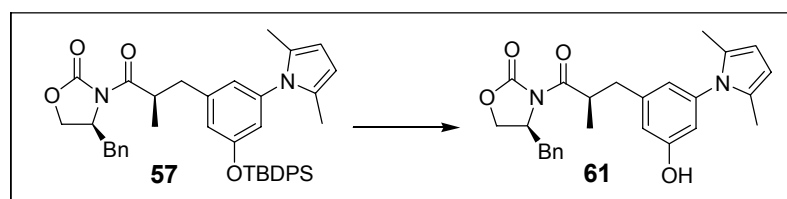
**(4R, (2S))-3-{3-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl-amino)-phenyl]-2-methylpropanoyl}-4-benzyloxazolidin-2-on**



Die Synthese von **64** wurde analog der Darstellung von **57** durchgeführt und ergab in diesem Fall eine Ausbeute von 51%. Da es sich hierbei um das entsprechende Enantiomer handelt, brauchen die NMR-spektroskopischen Daten nicht erneut aufgeführt zu werden.

HRMS  $m/z$  für C<sub>42</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Si: berechnet 671.3305 [M+H]<sup>+</sup> gefunden 671.3291 [M+H]<sup>+</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -3.0$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>); Smp.: 67°C.

**(4S, (2R))-3-{3-[3-Hydroxy-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl-amino)-phenyl]-2-methylpropanoyl}-4-benzyloxazolidin-2-on**

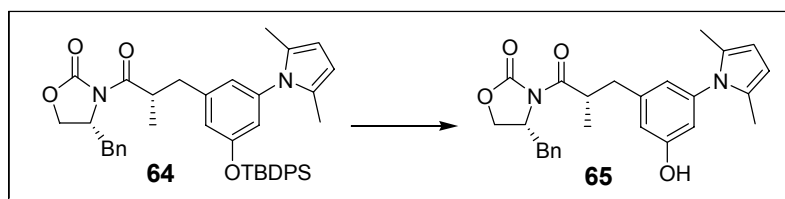


899 mg (1.34 mmol, 1.0 Äq.) des Oxazolidinons **57** wurden in 10 ml THF gelöst, auf 0°C abgekühlt und 1.34 ml TBAF [(1M Lösung in THF) 1.34 mmol, 1.0 eq] zugetropft. Nach

vollständigem Umsatz (max. 10 Minuten) wurde der Ansatz mit 15 ml gesättigter  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung versetzt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mehrmals mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit gesättigter  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen und anschließend über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach dem Einengen im Vakuum wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch (PE/EE = 4:1  $\rightarrow$  2:1) gereinigt. Als hellgelber Feststoff wurden 296 mg (683  $\mu\text{mol}$ , 51%) des Produkts **61** erhalten.

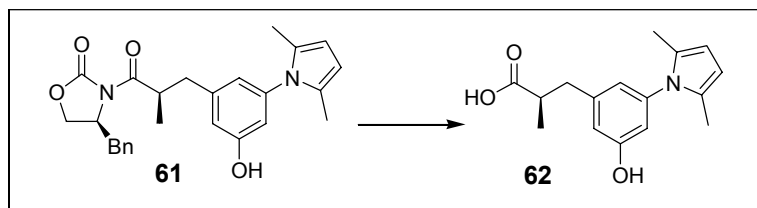
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.32 – 7.23 (m, 3H, H-aromat.), 7.11 – 7.07 (m, 2H, H-aromat.), 5.95 (bs, 1H, OH), 5.86 (s, 2H, CH-pyrrol), 4.68 (m, 1H, 4-H), 4.14 (m, 3H, 5-H, CH), 3.14 (m, 2H,  $\text{PhCH}_2$ ,  $\text{ArCH}_2$ ), 2.65 (dd, 1H,  $J = 13.4, 9.3$  Hz,  $\text{PhCH}_2$ ), 2.61 (dd, 1H,  $J = 13.3, 8.0$  Hz,  $\text{ArCH}_2$ ), 2.02 (s, 6H,  $\text{CH}_3$ -pyrrol), 1.17 (d, 3H,  $J = 6.8$  Hz,  $\text{CHCH}_3$ ) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  176.3 (s, NCO), 156.3 (s, C-aromat.), 153.3 (s, NCOO), 141.5 (s, C-aromat.), 140.0 (s, C-aromat.), 135.0 (s, C-aromat.), 129.4 (d, C-aromat.), 128.9 (d, C-aromat.), 128.7 (s, C-aromat.), 127.4 (d, C-aromat.), 121.7 (d, C-aromat.), 115.2 (d, C-aromat.), 113.6 (d, C-aromat.), 105.6 (d, CH-pyrrol), 66.1 (t, C-5), 55.2 (d, C-4), 39.5 (t,  $\text{CH}_2$ ), 39.4 (d,  $\text{CH-CH}_3$ ), 37.8 (t,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 16.4 (q, 2- $\text{CH}_3$ ), 13.0 (q,  $\text{CH}_3$ -pyrrol) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ : berechnet 431.1971  $[\text{M-H}]^-$  gefunden 431.1973  $[\text{M-H}]^-$ ;  $[\alpha]_D^{20} = +8.7$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); **Smp.**: 55-62°C.

**(4*R*, 2*S*)-3-{3-[3-Hydroxy-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl-amino)-phenyl]-2-methylpropanoyl}-4-benzyloxazolidin-2-on**



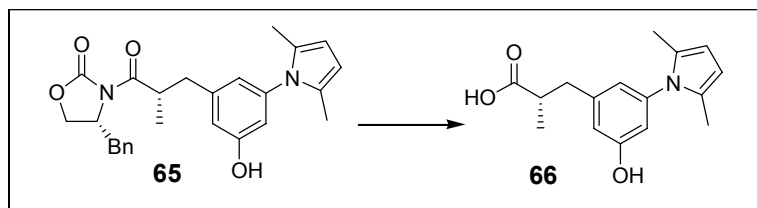
Die Durchführung erfolgte analog zu dem (*R*)-Enantiomer **61**, es wurden 53% von **65** als hellgelber Feststoff erhalten.

**HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ : berechnet 431.1971  $[\text{M-H}]^-$  gefunden 431.1973  $[\text{M-H}]^-$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -8.8$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); **Smp.**: 56-60°C.

**(2R)-3-[3-Hydroxy-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl-amino)-phenyl]-2-methyl-propionsäure**

Eine Lösung von 160 mg **61** (0.37 mmol, 1.0 Äq.) in 6 ml THF/H<sub>2</sub>O (4:1) wurde auf 0°C gekühlt, mit 0.24 ml 30%iger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2.22 mmol, 6.0 Äq.) und 31 mg LiOH·H<sub>2</sub>O (0.74 mmol, 2.0 Äq.) versetzt. Nach 1.5 h wurde die Reaktion mit 3 ml wässriger Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>-Lösung abgebrochen und für weitere 30 Minuten gerührt. Anschließend wurde 3x mit Dichlormethan gewaschen, die wässrige Phase mit 1N Salzsäure auf pH 4 angesäuert und 4x mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten Ethylacetat-Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und eingengt. Vom sauberen Rohprodukt **62** wurden 88 mg (0.32 mmol, 87%) als hellrotes Öl erhalten, welches ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt werden konnte.

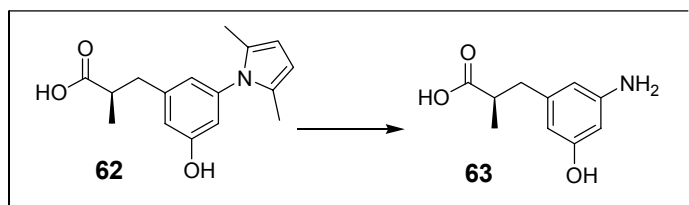
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 6.70 (dd, 1H, *J* = 2.2, 1.7 Hz, H-aromat.), 6.50 (pt, 1H, *J* = 1.7 Hz, H-aromat.), 6.45 (pt, 1H, *J* = 2.2 Hz, H-aromat.), 5.75 (s, 2H, CH-pyrrol), 2.94 (dd, 1H, *J* = 12.4, 6.5 Hz, 3-H), 2.70 (m, 2H, 2-H, 3-H'), 1.98 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-pyrrol), 1.16 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz, 2-Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 179.7 (s, C-1), 159.2 (s, C-aromat.), 143.2 (s, C-aromat.), 141.3 (s, C-aromat.), 129.3 (s, C-pyrrol), 121.2 (d, C-aromat.), 116.4 (d, C-aromat.), 114.3 (d, C-aromat.), 106.4 (d, CH-pyrrol), 42.6 (d, C-2), 40.5 (t, C-3), 17.3 (q, 2-Me), 13.0 (q, CH<sub>3</sub>-pyrrol) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>: berechnet 272.1287 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 272.1287 [M-H]<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -15.0$  (c = 1.0, MeOH).

**(2S)-3-[3-Hydroxy-5-(2,5-dimethylpyrrol-1-yl-amino)-phenyl]-2-methyl-propionsäure**

Die gleiche Vorgehensweise wie bei **62** erbrachte das Enantiomer **66** in einer Ausbeute von 84%.

**HRMS**  $m/z$  für  $C_{16}H_{19}NO_3$ : berechnet 272.1287  $[M-H]^-$  gefunden 272.1283  $[M-H]^-$ ;

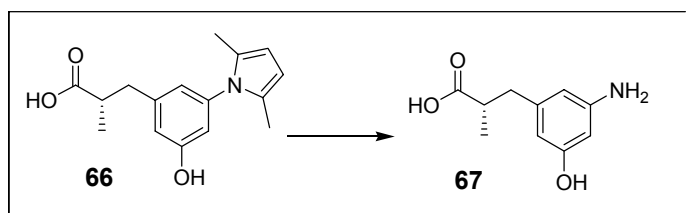
$[\alpha]_D^{20} = +14.8$  ( $c = 0.5$ , MeOH).

**(2R)-3-(3-Hydroxy-5-amino-phenyl)-2-methyl-propionsäure**

88 mg der Säure **62** (0.32 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 4 ml MeOH/H<sub>2</sub>O (3:1) gelöst, 111 mg NH<sub>2</sub>OH·HCl (1.6 mmol, 5.0 Äq.) und 36 mg KOH (0.64 mmol, 2.0 Äq.) zugefügt. Die Reaktionsmischung wurde für 60 Stunden bei 60°C gerührt und anschließend durch Zugabe von 0.1N Salzsäure neutralisiert. Im Vakuum wurden anschließend alle Lösungsmittel entfernt und der erhaltene Feststoff säulenchromatographisch gereinigt (EE/MeOH = 10:1). Von der unnatürlichen Aminosäure **63** konnten 39 mg (0.20 mmol, 63%) als hellgelber Feststoff isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm):  $\delta$  6.12 (m, 1H, H-aromat.), 6.04 (m, 2H, H-aromat.), 2.83 (dd, 1H,  $J = 13.3, 6.7$  Hz, 3-H), 2.63 (m, 1H, 2-H), 2.42 (dd, 1H,  $J = 13.3, 7.9$  Hz, 3-H'), 1.10 (d, 3H,  $J = 6.9$  Hz, 2-Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm):  $\delta$  180.7 (s, C-1), 159.1 (s, C-aromat.), 149.5 (s, C-aromat.), 143.0 (s, C-aromat.), 109.4 (d, C-aromat.), 107.5 (d, C-aromat.), 101.9 (d, C-aromat.), 42.8 (d, C-2), 40.9 (t, C-3), 17.3 (q, 2-Me) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $C_{10}H_{13}NO_3$ : berechnet 194.0817  $[M-H]^-$  gefunden 194.0817  $[M-H]^-$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -11.0$  ( $c = 1.4$ , MeOH); **Smp.**: 48-52°C.

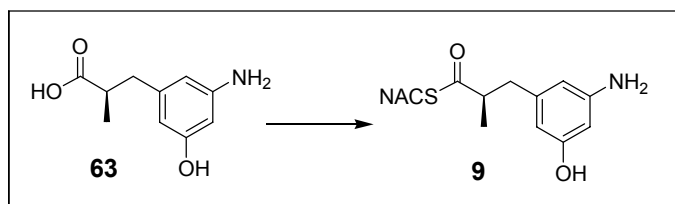


**(2S)-3-(3-Hydroxy-5-amino-phenyl)-2-methyl-propionsäure**

Die zu **63** gleiche Vorgehensweise erbrachte das Enantiomer **67** mit einer Ausbeute in ähnlicher Größenordnung.

**HRMS**  $m/z$  für  $C_{10}H_{13}NO_3$ : berechnet 194.0817  $[M-H]^-$  gefunden 194.0824  $[M-H]^-$ ;

$[\alpha]_D^{20} = +10.4$  ( $c = 0.8$ , MeOH); **Smp.**: 49-52°C.

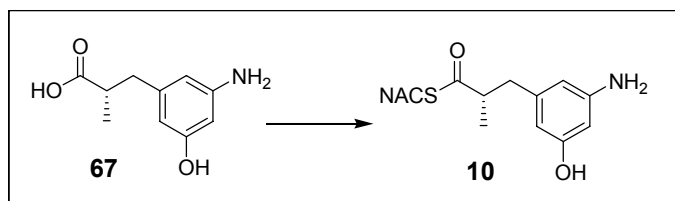
**(2R)-3-(3-Hydroxy-5-amino-phenyl)-2-methyl-thiopropionsäure-S-(2-acetylamino-ethyl)-ester**

Zu einer Lösung von 39 mg **63** (0.2 mmol, 1.0 Äq.) in 2 ml Acetonitril wurden 28  $\mu$ l *N*-Acetylcysteinin (0.26 mmol, 1.3 Äq.) zugetropft. Im Folgenden wurden 54 mg DCC (0.26 mmol, 1.3 Äq.) und 2.4 mg (0.02 mmol, 0.1 Äq.) 4-DMAP zugegeben und die Mischung daraufhin über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff wurde abfiltriert und die verbliebene Lösung im Vakuum eingengt. Säulenchromatographische Reinigung mit PE/EE = 1:1  $\rightarrow$  EE  $\rightarrow$  EE/MeOH = 10:1 (mit einer 1 cm dicken Schicht  $CuSO_4$ -imprägniertem Kieselgel auf dem oberen Ende der Säule) erbrachte 38.5 mg des SNAC-Esters **9** (0.13 mmol, 65%) als gelben, klebrigen Feststoff.

**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CD_3OD$ ,  $CHD_2OD = 3.31$  ppm):  $\delta$  6.08 (m, 2H, H-aromat.), 6.00 (m, 1H, H-aromat.), 3.30 (m, 2H,  $SCH_2CH_2$ ), 2.98 (m, 2H,  $SCH_2CH_2$ ), 2.92 (m, 2H, 2-H, 3-H), 2.47 (dd, 1H,  $J = 13.1, 7.1$  Hz, 3-H'), 1.92 (s, 3H,  $COCH_3$ ), 1.14 (d, 3H,  $J = 6.8$  Hz, 2- $CH_3$ ) ppm;  **$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CD_3OD$ ,  $CD_3OD = 49.0$  ppm):  $\delta$  204.5 (s,  $SCO$ ), 173.4 (s,  $NCO$ ), 159.2 (s, C-aromat.), 149.8 (s, C-aromat.), 142.3 (s, C-aromat.), 109.3 (d, C-aromat.), 107.3 (d, C-aromat.), 101.9 (d, C-aromat.), 51.5 (d, C-2), 41.2 (t, C-3), 40.1 (t,  $SCH_2CH_2$ ), 29.0 (t,

SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.5 (q, COCH<sub>3</sub>), 17.8 (q, 2-CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: berechnet 295.1116 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 295.1116 [M-H]<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -10.1$  (c = 1.0, MeOH).

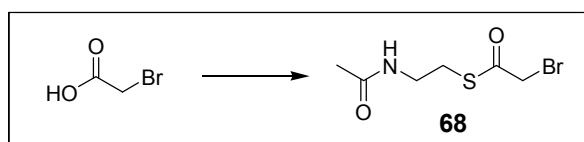
**(2S)-3-(3-Hydroxy-5-amino-phenyl)-2-methyl-thiopropionsäure-S-(2-acetylamino-ethyl)-ester**



Unter gleichem Vorgehen zu **9** wurde in einem 0.1 mM Ansatz das Enantiomer **10** in einer Ausbeute von 58% erhalten.

**HRMS**  $m/z$  für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: berechnet 295.1116 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 295.1123 [M-H]<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = +10.0$  (c = 0.6, MeOH).

**2-Brom-thioessigsäure-S-(2-acetylamino-ethyl)-ester**



1.60 ml *N*-Acetylcysteamin (15.0 mmol, 1.0 Äq.) wurden unter Schutzgas (N<sub>2</sub>) in 40 ml trockenem Dichlormethan gelöst, dann 2.30 g (16.5 mmol, 1.1 Äq.) Bromessigsäure und 183 mg 4-DMAP (1.5 mmol, 0.1 Äq.) zugegeben. Die Lösung wurde auf 0°C gekühlt, 3.40 g DCC (16.5 mmol, 1.1 Äq.) portionsweise hinzugefügt und für 24 Stunden bei RT gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde über Celite abfiltriert und mit wenig Dichlormethan gewaschen. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde anschließend im Vakuum eingeeengt, wobei eine farblose Substanz auskristallisierte (sehr exotherm), welche in Dichlormethan umkristallisiert wurde. Vom SNAC-Ester **68** wurden 2.93 g (12.21 mmol, 74%) als farbloser Feststoff erhalten. **Achtung:** Das Produkt ist äußerst tränenreizend!

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  5.89 (bs, 1H, NH), 4.05 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 3.47 (dt, 2H,  $J = 6.3, 6.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3.12 (t, 2H,  $J = 6.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 1.99 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  193.0 (s, COS), 170.3 (s, CONH), 39.1 (t,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 33.2 (t,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 29.8 (t,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 23.2 (q,  $\text{CH}_3$ ) ppm; **Smp.**: 96°C.

### (2-Acetylamino-ethyl)-sulfanyl-carbonylmethyl-triphenylphosphoniumbromid



2.66 g des Thioesters **68** (11.08 mmol, 1.0 Äq.) wurden in einem Rundkolben in 50 ml Toluol gelöst und auf 80°C erhitzt. Nach der Zugabe von 2.91 g  $\text{PPh}_3$  (11.08 mmol, 1 Äq.) wurde die Mischung über Nacht gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde mit einer Fritte (3er Porosität) abfiltriert und mehrmals mit Toluol gewaschen. Das Rohprodukt wurde im Hochvakuum getrocknet und bedurfte keiner weiteren Reinigung. Die Synthese lieferte das Wittig-Salz **69** in einer Ausbeute von 4.90 g (9.75 mmol, 88%).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  8.12 (t, 1H,  $J = 5.9$  Hz, NH), 7.87 – 7.76 (m, 9H, H-aromat.), 7.71 – 7.64 (m, 6H, H-aromat.), 5.85 (d, 2H,  $J_{\text{P-H}} = 12.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{P}$ ), 3.32 (dt, 2H,  $J = 5.9, 5.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.01 (t, 2H,  $J = 5.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 1.94 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  190.4 (s,  $J_{\text{P-C}} = 6.7$  Hz, COS), 171.4 (s, CONH), 135.1 (d,  $J_{\text{P-C}} = 3.1$  Hz, C-aromat.), 133.9 (d,  $J_{\text{P-C}} = 10.7$  Hz, C-aromat.), 130.2 (d,  $J_{\text{P-C}} = 13.2$  Hz, C-aromat.), 117.9 (s,  $J_{\text{P-C}} = 88.7$  Hz, C-aromat.), 40.5 (t,  $J_{\text{P-C}} = 55.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{P}$ ), 37.9 (t,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 30.6 (t,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 23.1 (q,  $\text{CH}_3$ ) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{BrNO}_2\text{PS}$ : berechnet 422.1344  $[\text{M-Br}]^+$  gefunden 422.1358  $[\text{M-Br}]^+$ ; **Smp.**: 183°C.

### Triphenylphosphinyliden-thioessigsäure-S-(2-acetylamino-ethyl)-ester

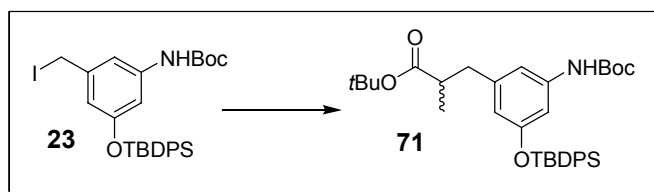


Vom Phosphonium-Salz **69** wurden 1.00 g (1.99 mmol, 1.0 Äq.) in 15 ml Wasser gelöst und mit 1N Natronlauge ein pH-Wert von 10 eingestellt, wobei sich unverzüglich ein weißer Niederschlag bildete. Das Reaktionsgemisch wurde für weitere 10 Minuten stark gerührt und anschließend 5x mit Dichlormethan extrahiert. Nach dem Trocknen der organischen Phase

über Magnesiumsulfat wurde im Vakuum eingeengt, wobei 838 mg des Ylids **70** (1.99 mmol, 100%) als weißer Feststoff auskristallisierten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.66 – 7.57 (m, 9H, H-aromat.), 7.52 – 7.47 (m, 6H, H-aromat.), 7.32 (bs, 1H, NH), 3.82 (d, 1H, *J*<sub>P-H</sub> = 22.0 Hz, CH=P), 3.37 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N), 2.99 (m, 2H, CH<sub>2</sub>S), 1.69 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 181.5 (s, *J*<sub>P-C</sub> = 5.0 Hz, COS), 170.3 (s, CONH), 132.9 (d, *J*<sub>P-C</sub> = 10.4 Hz, C-aromat.), 132.5 (d, *J*<sub>P-C</sub> = 2.9 Hz, C-aromat.), 129.0 (d, *J*<sub>P-C</sub> = 12.5 Hz, C-aromat.), 126.1 (s, *J*<sub>P-C</sub> = 91.4 Hz, C-aromat.), 48.7 (d, *J*<sub>P-C</sub> = 110.0 Hz, CH=P), 42.8 (t, CH<sub>2</sub>N), 27.5 (t, *J*<sub>P-C</sub> = 2.5 Hz, CH<sub>2</sub>S), 23.0 (q, CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>2</sub>PS: berechnet 422.1344 [M+H]<sup>+</sup> gefunden 422.1339 [M+H]<sup>+</sup>; **Smp.**: 170°C (Zers.).

**(2*rac*)-3-[(3-*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-2-methyl-propionsäure-*tert*-butylester**

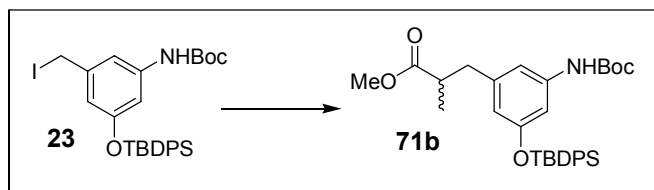


1.01 ml *tert*-Butylpropionat (6.75 mmol, 3.0 Äq.) wurden in 25 ml wasserfreiem THF gelöst, auf -78°C abgekühlt und langsam mit 3.38 ml LDA [(2M in THF/n-Heptan) 6.75 mmol, 3.0 eq] versetzt. Die Lösung wurde für zehn Minuten auf etwa -40°C erwärmt, erneut auf -78°C abgekühlt und daraufhin 1.30 g des Benzyliodids **23** (2.25 mmol, 1.0 Äq.), gelöst in 10 ml wasserfreiem THF, langsam zugetropft. Sofort nach Beendigung der Zugabe war die Reaktion abgeschlossen (DC-Kontrolle) und die Lösung wurde mit gesättigter NH<sub>4</sub>Cl-Lösung hydrolysiert. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde noch zweimal mit Ethylacetat extrahiert, die vereinten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit PE/EE = 25:1 aufgereinigt. Es wurden 1.20 g (2.03 mmol, 90%) einer hochviskosen, farblosen Masse (**71**) erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.73 – 7.68 (m, 4 H, H-aromat.), 7.44 – 7.33 (m, 6H, H-aromat.), 6.86 (bs, 1H, H-aromat.), 6.57 (m, 1H, H-aromat.), 6.23 (bs, 1H, NH), 6.18 (m, 1H, H-aromat.), 2.76 (m, 1H, 3-H), 2.31 (m, 2H, 2-H, 3-H'), 1.47 (s, 9H, *t*Bu), 1.38 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.86 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz, 2-Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 175.5 (s, COO*t*Bu), 155.8, 152.4 (2x s, NHCO, C-aromat.),

141.5 (s, C-aromat.), 139.0 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.9 (s, C-aromat.), 129.8 (d, C-aromat.), 127.7 (d, C-aromat.), 115.4 (d, C-aromat.), 111.9 (d, C-aromat.), 107.8 (d, C-aromat.), 80.3 (s, *t*Bu), 79.9 (s, *t*Bu), 41.8 (d, C-2), 39.5 (t, C-3), 28.3 (q, *t*Bu), 28.0 (q, *t*Bu), 26.5 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu), 16.4 (q, 2-Me) ppm.

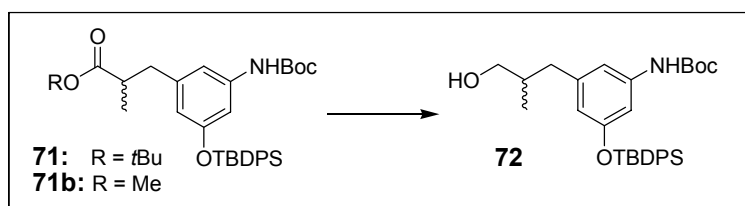
**(2*rac*)-3-[(3-*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-2-methyl-propionsäure-methylester**



Die Durchführung verlief analog zur Synthese von **71**. Dabei wurde das *tert*-Butylpropionat gegen den entsprechenden Methylester ausgetauscht. Die Ausbeute von **71b** betrug in diesem Fall jedoch nur ~ 20%.

<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.74 – 7.66 (m, 4H, H-aromat.), 7.45 – 7.31 (m, 6H, H-aromat.), 6.81 (m, 1H, H-aromat.), 6.65 (m, 1H, H-aromat.), 6.27 (bs, 1H, NH), 6.13 (m, 1H, H-aromat.), 3.57 (s, 3H, OMe), 2.79 (dd, 1H, *J* = 12.3, 5.3 Hz, 3-H), 2.38 (m, 2H, 2-H, 3-H'), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.07 (s, 9H, *t*Bu), 0.88 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz, 2-Me) ppm.

**(2*rac*)-3-[(3-*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-2-methyl-propan-1-ol**

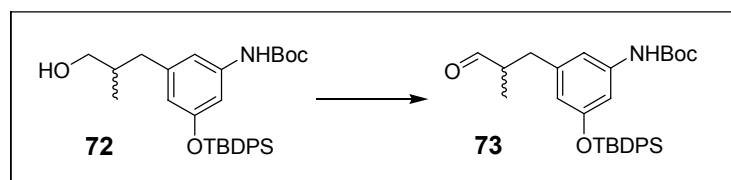


Die Synthese von **72** ist im Folgenden nur ausgehend vom *tert*-Butylester **71** beschrieben. Die Durchführung mit **71b** verlief analog und lieferte Ausbeuten in gleicher Größenordnung. 1.18 g des *tert*-Butylesters **71** (2.0 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 25 ml THF gelöst und auf -30°C abgekühlt. Daraufhin wurden 5.0 ml DIBAL-H [(1.2M in Toluol) 6.0 mmol, 3.0 Äq.] zuge tropft und die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle) wurde erneut auf -20°C abgekühlt und mit Kalium-Natrium-Tartrat-Lösung hydrolysiert. Nach dem anschließenden Erwärmen auf RT wurde 3x

mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Nach säulenchromatographischer Reinigung des Rohprodukts mit PE/EE = 3:1 als Laufmittelgemisch, wurden 780 mg (1.50 mmol, 75%) des primären Alkohols **72** als farbloses, zähflüssiges Öl erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.73 – 7.69 (m, 4H, H-aromat.), 7.44 – 7.33 (m, 6H, H-aromat.), 6.81 (bs, 1H, H-aromat.), 6.68 (m, 1H, H-aromat.), 6.32 (bs, 1H, NH), 6.10 (m, 1H, H-aromat.), 3.22 (m, 2H, 1-H, 1-H'), 2.40 (dd, 1H,  $J = 13.3, 6.8$  Hz, 3-H), 2.15 (dd, 1H,  $J = 13.3, 7.7$  Hz, 3-H'), 1.65 (bs, 1H, OH), 1.62 (m, 1H, 2-H), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.70 (d, 3H,  $J = 6.8$  Hz, 2-Me) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  155.8, 152.5 (2x s, C-aromat., NHCO), 142.3 (s, C-aromat.), 139.1 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.9 (s, C-aromat.), 129.8 (d, C-aromat.), 127.7 (d, C-aromat.), 115.3 (d, C-aromat.), 112.0 (d, C-aromat.), 107.6 (d, C-aromat.), 80.3 (s, *t*Bu), 67.1 (t, C-1), 39.5 (t, C-3), 37.3 (d, C-2), 28.3 (q, *t*Bu), 26.4 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu), 16.4 (q, 2-Me) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{NO}_4\text{Si}$ : berechnet 542.2703  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  gefunden 542.2714  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

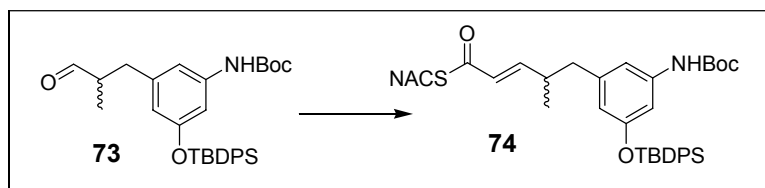
**(2*rac*)-3-[(3-*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-2-methyl-propionaldehyd**



120 mg **72** (231  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äq.) wurden in 5 ml wasserfreiem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und 120 mg festes  $\text{NaHCO}_3$  zugefügt. Es wurden langsam 117 mg (277  $\mu\text{mol}$ , 1.2 Äq.) Dess-Martin-Periodinan zugefügt und die Mischung für 30 Minuten gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurden 5 ml Wasser, weitere 120 mg  $\text{NaHCO}_3$  und 240 mg Natriumthiosulfat zugegeben und die Mischung für weitere 30 Minuten stark gerührt. Nach dem Trennen der Phasen wurde die wässrige Lösung mit 3x Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden noch zweimal mit gesättigter Thiosulfat-/Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum eingeengt und das Rohprodukt ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt. Die Ausbeute betrug 110 mg (213  $\mu\text{mol}$ , 92%) des farblosen Schaums **73**.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 9.50 (d, 1H, *J* = 1.3 Hz, 1-H), 7.73 – 7.66 (m, 4H, H-aromat.), 7.47 – 7.31 (m, 6H, H-aromat.), 6.85 (bs, 1H, H-aromat.), 6.65 (dd, 1H, *J* = 2.1, 2.1 Hz, H-aromat.), 6.28 (bs, 1H, NH), 6.10 (dd, 1H, *J* = 2.1, 1.6 Hz, H-aromat.), 2.79 (m, 1H, 3-H), 2.30 (m, 2H, 2-H, 3-H'), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.82 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz, 2-Me) ppm.

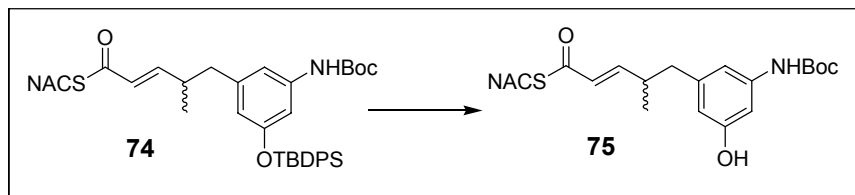
**(2*E*, 4*rac*)-5-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-4-methyl-thiopent-2-ensäure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester**



90 mg des Aldehyds **73** (174 μmol, 1.0 Äq.) sowie 110 mg des Ylids **70** (261 μmol, 1.5 Äq.) wurden in 1 ml wasserfreiem Dichlormethan gelöst und für 48 h bei 40°C gerührt. Für eine vollständige Umsetzung war die Verwendung von sehr wenig Lösungsmittel in dieser Reaktion obligat. Durch säulenchromatographische Reinigung mit PE/EE = 1:1 wurden 90.5 mg (137 μmol, 79%) des SNAC-Esters **74** als farbloser, klebriger Schaum erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.72 – 7.69 (m, 4H, H-aromat.), 7.44 – 7.34 (m, 6H, H-aromat.), 6.81 (bs, 1H, H-aromat.), 6.75 (dd, 1H, *J* = 15.6, 6.9 Hz, 3-H), 6.64 (m, 1H, H-aromat.), 6.35 (bs, 1H, NH), 6.09 (m, 1H, H-aromat.), 5.94 (bs, 1H, NH), 5.93 (dd, 1H, *J* = 15.6, 0.9 Hz, 2-H), 3.44 (dt, 2H, *J* = 6.4, 6.1 Hz, CH<sub>2</sub>NH), 3.07 (t, 2H, *J* = 6.1 Hz, CH<sub>2</sub>S), 2.49 (m, 1H, 5-H), 2.26 (m, 2H, 4-H, 5-H'), 1.95 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.80 (d, 3H, *J* = 6.2 Hz, 4-CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 190.4 (s, C-1), 170.2 (s, NHCOCH<sub>3</sub>), 156.0, 152.5 (2x s, C-aromat., NHCOO), 150.7 (d, C-3), 141.0 (s, C-aromat.), 139.2 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.8 (s, C-aromat.), 129.9 (d, C-aromat.), 126.7 (d, C-2), 115.2, 111.9, 108.0 (3x d, 3x C-aromat.), 80.4 (s, *t*Bu), 42.0 (t, C-5), 39.8 (t, CH<sub>2</sub>NH), 37.9 (d, C-4), 28.3 (t, CH<sub>2</sub>S), 28.3 (q, *t*Bu), 26.5 (q, *t*Bu), 23.2 (q, COCH<sub>3</sub>), 19.4 (s, *t*Bu), 18.3 (q, 4-CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>SSi: berechnet 657.2975 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 659.3000 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 60-70°C.

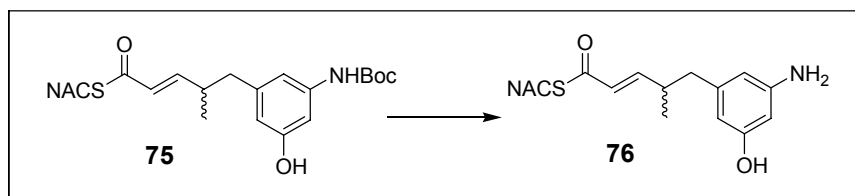
**(2*E*, 4*rac*)-5-[3-Hydroxy-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-4-methylthiopent-2-ensäure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester**



Vom Thioester **74** wurden 68 mg (103  $\mu\text{mol}$ , 1.0  $\text{\AA}$ q.) in 2 ml THF gelöst und auf 0°C gekühlt. Es wurde langsam TBAF\*3H<sub>2</sub>O (als 0.5M Lösung in THF) zugetropft und der Reaktionsfortschritt dünnschichtchromatographisch (PE/EE = 1:2) verfolgt. Nach Zugabe von etwa 70  $\mu\text{l}$  der TBAF-Lösung (etwa 0.33  $\text{\AA}$ q.) konnte kein Edukt mehr nachgewiesen werden, woraufhin 3 ml gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung zur Reaktionslösung gegeben wurden. Die organische Phase wurde abgetrennt, die verbliebene wässrige Phase mehrmals mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über MgSO<sub>4</sub> wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit PE/EE = 1:2 als Laufmittelgemisch gereinigt. Es wurden 41 mg **75** (96  $\mu\text{mol}$ , 93%) als farbloser Schaum erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.73 (bs, 1H, OH), 6.87 (dd, 1H,  $J = 15.7$ , 6.7 Hz, 3-H), 6.77 (m, 2H, H-aromat.), 6.72 (bs, NH), 6.30 (m, 1H, H-aromat.), 6.25 (t, 1H,  $J = 6.0$  Hz, NH), 6.00 (d, 1H,  $J = 15.7$  Hz, 2-H), 3.47 (dt, 2H,  $J = 6.1$ , 6.0 Hz, CH<sub>2</sub>NH), 3.06 (m, 2H, CH<sub>2</sub>S), 2.56 (m, 3H, 4-H, 5-H, 5-H'), 1.97 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.50 (s, 9H, *t*Bu), 1.05 (d, 3H,  $J = 6.0$  Hz, 4-Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm):  $\delta$  190.7 (s, C-1), 171.2 (s, NHCOCH<sub>3</sub>), 156.9, 152.8 (2x s, C-aromat., NHCOO*t*Bu), 151.0 (d, C-3), 141.3 (s, C-aromat.), 139.4 (s, C-aromat.), 127.1 (d, C-2), 111.2 (d, C-aromat.), 111.0 (d, C-aromat.), 104.0 (d, C-aromat.), 80.4 (s, *t*Bu), 42.5 (t, C-5), 39.6 (t, CH<sub>2</sub>NH), 38.0 (d, C-4), 28.4 (t, CH<sub>2</sub>S), 28.3 (q, *t*Bu), 23.0 (q, COCH<sub>3</sub>), 18.8 (q, 4-Me) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: berechnet 421.1797 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 421.1799 [M-H]<sup>-</sup>.

**(2*E*, 4*rac*)-5-(3-Hydroxy-5-amino-phenyl)-4-methylthiopent-2-ensäure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester**

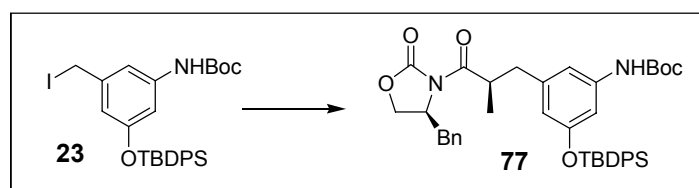




30 mg des geschützten Triketids **75** (71  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äq.) wurden in 3 ml absolutem Dichlormethan gelöst und bei Raumtemperatur mit 0.2 ml Trifluoressigsäure (2.84 mmol, 40 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für drei Stunden gerührt und nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle) vorsichtig mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung neutralisiert. Nach dem Zufügen von 3 ml gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung wurde die organische Phase abgetrennt. Die verbliebene wässrige Phase wurde 5x mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde im Vakuum eingeeengt, eine chromatographische Reinigung der erhaltenen 22 mg (68  $\mu\text{mol}$ , 96%) des racemischen Triketids **76** war in diesem Fall nicht notwendig.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CHD}_2\text{OD} = 3.31$  ppm):  $\delta$  6.87 (dd, 1H,  $J = 15.6, 7.2$  Hz, 3-H), 6.09 – 6.04 (m, 3H, 2x H-aromat., 2-H), 6.00 (m, 1H, H-aromat.), 3.33 (m, 2H,  $\text{NHCH}_2$ ), 3.04 (t, 2H,  $J = 6.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 2.58 (m, 1H, 4-H), 2.53 (dd, 1H,  $J = 12.9, 6.9$  Hz, 5-H), 2.44 (dd, 1H,  $J = 12.9, 7.2$  Hz, 5-H'), 1.91 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.04 (d, 3H,  $J = 6.5$  Hz, 4- $\text{CH}_3$ ) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CD}_3\text{OD} = 49.0$  ppm):  $\delta$  191.3 (s, C-1), 173.4 (s,  $\text{COCH}_3$ ), 159.1 (s, C-aromat.), 152.0 (d, C-3), 149.7 (s, C-aromat.), 142.8 (s, C-aromat.), 127.9 (d, C-2), 109.4 (d, C-aromat.), 107.5 (d, C-aromat.), 101.8 (d, C-aromat.), 43.5 (t, C-5), 40.2 (t,  $\text{NHCH}_2$ ), 39.3 (d, C-4), 28.9 (t,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 22.5 (q,  $\text{COCH}_3$ ), 19.2 (q, 4- $\text{CH}_3$ ) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ : berechnet 345.1249  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  gefunden 345.1254  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**(4*S*, (2*R*))-3-{3-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-2-methylpropanoyl}-4-benzyloxazolidin-2-on**

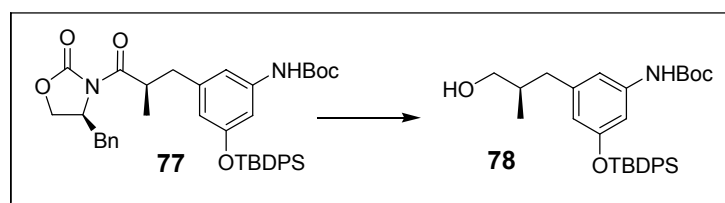


1.633 g (7.0 mmol, 1.63 Äq.) des (*S*)-Oxazolidinons **56** wurden in 60 ml absolutem THF gelöst und auf  $-78^\circ\text{C}$  gekühlt. Langsam wurden 3.50 ml LDA [(2M in THF/*n*-Heptan) 7.0 mmol, 1.63 eq] zugetropft und die Reaktionsmischung für 5 Minuten auf  $-40^\circ\text{C}$  erwärmt. Nach dem erneuten Abkühlen auf  $-78^\circ\text{C}$  wurden nun 2.53 g (4.3 mmol, 1.0 Äq.) des Benzyljodids **23** in 20 ml wasserfreiem THF gelöst und zur Reaktionsmischung langsam zugetropft. Das Gemisch wurde langsam (etwa 2h) auf  $-35^\circ\text{C}$  erwärmt und bei dieser Temperatur bis zum vollständigen Umsatz gerührt (insgesamt ca. 3h). Anschließend wurde in der Kälte mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung hydrolysiert und auf RT erwärmt. Das

THF wurde am Rotationsverdampfer entfernt und die verbliebene wässrige Phase 3x mit Ethylacetat extrahiert. Nach dem Trocknen über  $\text{MgSO}_4$  und Einengen im Vakuum wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch mit PE/EE = 10:1  $\rightarrow$  5:1 als Laufmittelgemisch gereinigt. Es wurden 1.760 g des reinen Diastereomers **77** (2.54 mmol, 59%) als farbloser Schaum erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.71 – 7.68 (m, 4H, H-aromat.), 7.42 – 7.22 (m, 9H, H-aromat.), 7.12 – 7.09 (m, 2H, H-aromat.), 6.85 (bs, 1H, H-aromat.), 6.73 (m, 1H, H-aromat.), 6.28 (m, 1H, H-aromat.), 6.26 (bs, 1H, NH), 4.64 (m, 1H, CH), 4.14 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.83 (m, 1H, CH), 3.15 (dd, 1H,  $J = 13.4, 3.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.93 (dd, 1H,  $J = 13.1, 6.1$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.60 (dd, 1H,  $J = 13.4, 9.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.33 (dd, 1H,  $J = 13.1, 8.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 1.44 (s, 9H, *t*Bu), 1.07 (s, 9H, *t*Bu), 0.92 (d, 3H,  $J = 6.8$  Hz,  $\text{CH}_3$ ) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  176.4 (s, NCOCH), 155.9 (s, C-aromat.), 152.9 (s, NCOO), 152.4 (s, NCOO), 140.7 (s, C-aromat.), 139.2 (s, C-aromat.), 135.49 (d, C-aromat.), 135.48 (d, C-aromat.), 135.3 (s, C-aromat.), 132.82 (s, C-aromat.), 132.78 (s, C-aromat.), 129.8 (d, C-aromat.), 129.4 (d, C-aromat.), 128.8 (d, C-aromat.), 127.73 (d, C-aromat.), 127.71 (d, C-aromat.), 127.2 (d, C-aromat.), 115.7 (d, C-aromat.), 111.9 (d, C-aromat.), 108.0 (d, C-aromat.), 80.3 (s, *t*Bu), 65.9 (t,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 55.2 (d, CHN), 39.5 (t,  $\text{CH}_2$ ), 39.4 (d,  $\text{CHCH}_3$ ), 37.8 (t,  $\text{CH}_2$ ), 28.3 (q, *t*Bu), 26.5 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu), 16.1 (q,  $\text{CH}_3$ ) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{41}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$ : berechnet 691.3203  $[\text{M-H}]^-$  gefunden 691.3194  $[\text{M-H}]^-$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -3.4$  (c = 1.5,  $\text{CHCl}_3$ ); **Smp.**: 60-64°C.

**(2R)-3-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-2-methyl-propan-1-ol**

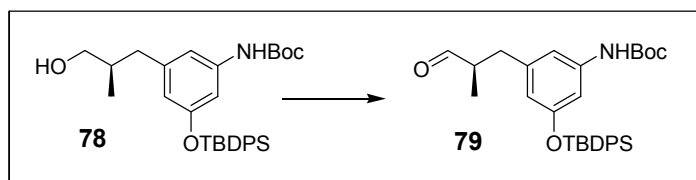


1.60 g des Oxazolidinons **77** (2.31 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 20 ml wasserfreiem Diethylether gelöst und mit 42  $\mu\text{l}$  (2.31 mmol, 1 Äq.) Wasser versetzt. Nach dem Abkühlen auf 0°C wurden 110 mg Lithiumborhydrid (5.08 mmol, 2.2 Äq.) zugegeben. Nach etwa 90 Minuten war die Reaktion abgeschlossen und es wurde mit gesättigter  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung hydrolysiert. Die Phasen wurden getrennt und die verbliebene wässrige Phase 3x mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat

getrocknet, im Vakuum eingengt und säulenchromatographisch mit PE/EE = 2:1 als Laufmittel gereinigt. Die Ausbeute des primären Alkohols **78** betrug 1.08 g (2.08 mmol, 90%), erhalten als farbloser Feststoff.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.72 – 7.69 (m, 4H, H-aromat.), 7.44 – 7.34 (m, 6H, H-aromat.), 6.81 (bs, 1H, H-aromat.), 6.72 (dd, 1H, *J* = 2.1, 2.1 Hz, H-aromat.), 6.31 (bs, 1H, NH), 6.13 (dd, 1H, *J* = 1.7, 1.7 Hz, H-aromat.), 3.28 (dd, 1H, *J* = 10.5, 5.6 Hz, CH<sub>2</sub>OH), 3.21 (dd, 1H, *J* = 10.5, 5.9 Hz, CH<sub>2</sub>OH), 2.43 (dd, 1H, *J* = 13.3, 6.9 Hz, ArCH<sub>2</sub>), 2.18 (dd, 1H, *J* = 13.3, 7.7 Hz, ArCH<sub>2</sub>), 1.62 (m, 1H, CHCH<sub>3</sub>), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.19 (bs, CH<sub>2</sub>OH), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.72 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz, CHCH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 155.8 (s, C-aromat.), 152.5 (s, NHCOO*t*Bu), 142.3 (s, C-aromat.), 139.1 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.9 (s, C-aromat.), 129.8 (d, C-aromat.), 127.7 (d, C-aromat.), 115.3 (d, C-aromat.), 111.9 (d, C-aromat.), 107.5 (d, C-aromat.), 80.3 (s, *t*Bu), 67.1 (t, CH<sub>2</sub>), 39.4 (t, CH<sub>2</sub>), 37.3 (d, CH), 28.3 (q, *t*Bu), 26.4 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu), 16.4 (q, CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>31</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>4</sub>Si: berechnet 542.2703 [M+Na]<sup>+</sup> gefunden 542.2700 [M+Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 3.9 (c = 1.2, CHCl<sub>3</sub>); **Smp.**: 47-49°C.

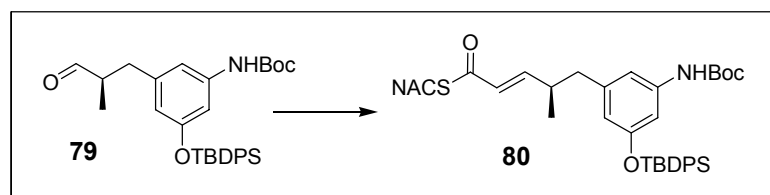
**(2*R*)-3-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-2-methyl-propanal**



815 mg des Alkohols **78** (1.57 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 10 ml wasserfreiem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und 0.8 g festes NaHCO<sub>3</sub> zugefügt. Es wurden langsam 732 mg (1.73 mmol, 1.1 Äq.) Dess-Martin-Periodinan zugefügt und die Mischung für 30 Minuten gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurden 10 ml Wasser, weitere 800 mg NaHCO<sub>3</sub>, sowie 1.60 g Natriumthiosulfat zugegeben und die Mischung erneut für 30 Minuten stark gerührt. Nach dem Trennen der Phasen wurde die wässrige Lösung 3x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden noch zweimal mit gesättigter Thiosulfat-/Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum eingengt und das Rohprodukt ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt. Die Ausbeute betrug 673 mg des Aldehyds **79** (1.23 mmol, 78%) als farbloser Schaum.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 9.50 (d, 1H, *J* = 1.3 Hz, CHO), 7.71 – 7.68 (m, 4H, H-aromat.), 7.44 – 7.34 (m, 6H, H-aromat.), 6.85 (bs, 1H, H-aromat.), 6.66 (dd, 1H, *J* = 2.1, 2.1 Hz, H-aromat.), 6.28 (bs, 1H, NH), 6.10 (dd, 1H, *J* = 1.7, 1.7 Hz, H-aromat.), 2.79 (dd, 1H, *J* = 12.9, 5.1 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.32 (m, 1H, CHCH<sub>3</sub>), 2.26 (dd, 1H, *J* = 12.9, 8.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 1.49 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.82 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz, CHCH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 204.2 (d, CHO), 156.1 (s, C-aromat.), 152.4 (s, NHCOOtBu), 140.5 (s, C-aromat.), 139.3 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.7 (s, C-aromat.), 129.9 (d, C-aromat.), 127.8 (d, C-aromat.), 115.1 (d, C-aromat.), 111.7 (d, C-aromat.), 108.0 (d, C-aromat.), 80.5 (s, *t*Bu), 47.6 (d, CH), 36.5 (t, CH<sub>2</sub>), 28.3 (q, *t*Bu), 26.4 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu), 12.8 (q, CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>31</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>4</sub>Si: berechnet 540.2546 [M+Na]<sup>+</sup> gefunden 540.2529 [M+Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 1.45 (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>).

**(2*E*, 4*R*)-5-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-4-methyl-thiopent-2-ensäure-*S*-(2-acetyl-amino-ethyl)-ester**

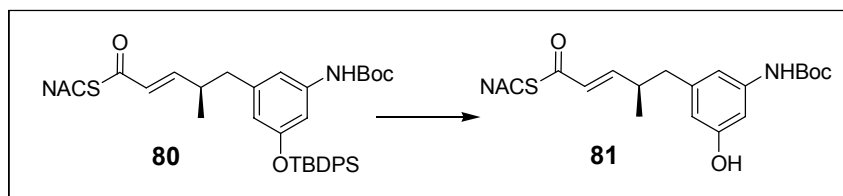


620 mg des Aldehyds **79** (1.20 mmol, 1.0 Äq.) sowie 1.01 g des Ylids **70** (2.40 mmol, 2.0 Äq.) wurden in 4 ml Chloroform gelöst und für 24 h bei 60°C gerührt. Für eine vollständige Umsetzung war die Verwendung von sehr wenig Lösungsmittel in dieser Reaktion obligat. Durch säulenchromatographische Reinigung mit PE/EE = 1:1 → 1:2 als Laufmittel wurden 645 mg (976 μmol, 81%) des SNAC-Esters **80** als farbloser Schaum erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.72 – 7.69 (m, 4H, H-aromat.), 7.44 – 7.34 (m, 6H, H-aromat.), 6.81 (bs, 1H, H-aromat.), 6.75 (dd, 1H, *J* = 15.6, 6.9 Hz, 3-H), 6.64 (m, 1H, H-aromat.), 6.35 (bs, 1H, NH), 6.09 (m, 1H, H-aromat.), 5.95 (bs, 1H, NH), 5.92 (dd, 1H, *J* = 15.6, 0.5 Hz, 2-H), 3.44 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.25 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.49 (m, 1H, 5-H), 2.25 (m, 2H, 4-H, 5-H'), 1.95 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.80 (d, 3H, *J* = 6.1 Hz, 4-CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 190.4 (s, C-1), 170.3 (s, NHCOCH<sub>3</sub>), 155.9, 152.5 (2x s, C-aromat., NHCOOtBu), 150.7 (d, C-3), 141.0 (s, C-aromat.), 139.2 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.8 (s, C-aromat.), 129.9 (d, C-aromat.), 127.8 (d, C-aromat.), 126.6 (d, C-2), 115.1, 111.8, 107.9 (3x d, 3x C-aromat.), 80.4 (s, *t*Bu), 42.0 (t, C-5), 39.8 (t, CH<sub>2</sub>NH), 37.9 (d, C-4), 28.3 (t, CH<sub>2</sub>S), 28.3 (q, *t*Bu), 26.4 (q, *t*Bu), 23.2 (q,

COCH<sub>3</sub>), 19.4 (s, *t*Bu), 18.2 (q, 4-CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>SSi: berechnet 683.2951 [M+Na]<sup>+</sup> gefunden 683.2938 [M+Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 43.8 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

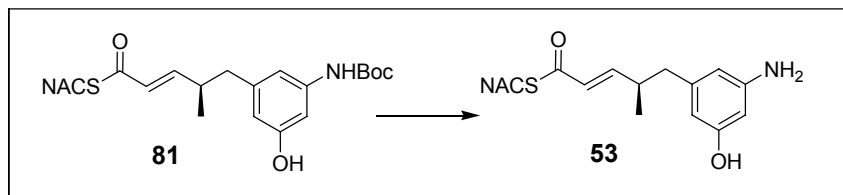
**(2*E*, 4*R*)-5-[3-Hydroxy-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-4-methyl-thiopent-2-ensäure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester**



640 mg des SNAC-Esters **80** (0.97 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 10 ml THF gelöst und auf 0°C gekühlt. Langsam wurden 390 µl TBAF\*3H<sub>2</sub>O (als 0.5M Lösung in THF) zugetropft und anschließend mit Ammoniumchlorid-Lösung hydrolysiert. Die organische Phase wurde abgetrennt, die verbliebene wässrige Phase 3x mit Ethylacetat extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum eingeeengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit PE/EE = 1:2 gereinigt. Es wurden 300 mg (0.71 mmol, 73%) eines farblosen, klebrigen Feststoffes (**81**) erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 6.77 (dd, 1H, *J* = 15.7, 6.8 Hz, 3-H), 6.77 (m, 3H, 2x H-aromat., NH), 6.25 (t, *J* = 5.8 Hz, NH), 6.31 (m, 1H, H-aromat.), 5.99 (d, 1H, *J* = 15.7 Hz, 2-H), 3.46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 3.06 (m, 2H, CH<sub>2</sub>S), 2.55 (m, 3H, 4-H, 5-H, 5-H'), 1.96 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.50 (s, 9H, *t*Bu), 1.04 (d, 3H, *J* = 6.0 Hz, 4-Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 190.8 (s, C-1), 171.4 (s, NHCOCH<sub>3</sub>), 156.9, 152.8 (2x s, C-aromat., NHCOO*t*Bu), 151.1 (d, C-3), 141.3 (s, C-aromat.), 139.4 (s, C-aromat.), 127.0 (d, C-2), 111.2 (d, C-aromat.), 110.9 (d, C-aromat.), 104.0 (d, C-aromat.), 80.4 (s, *t*Bu), 42.4 (t, C-5), 39.6 (t, CH<sub>2</sub>NH), 38.0 (d, C-4), 28.3 (t, CH<sub>2</sub>S), 28.3 (q, *t*Bu), 22.9 (q, COCH<sub>3</sub>), 18.7 (q, 4-Me) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: berechnet 445.1773 [M+Na]<sup>+</sup> gefunden 445.1763 [M+Na]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 51.7 (c = 0.47, CHCl<sub>3</sub>).

**(2*E*, 4*R*)-5-[3-Hydroxy-5-amino-phenyl]-4-methyl-thiopent-2-ensäure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester**



Zu 92 mg des Phenols **81** (218  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äq.) wurden 3 ml wasserfreies Dichlormethan gegeben und mit einem großen Überschuss (830  $\mu\text{l}$ , 50 Äq.) von Trifluoressigsäure versetzt. Es wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend mit Hydrogencarbonat- und Phosphatpuffer-Lösung auf pH = 6 eingestellt. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase nochmals mit Ethylacetat extrahiert und die vereinten, organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Einengen und Trocknen im Hochvakuum wurde das schon sehr saubere Rohprodukt erhalten. Für Fütterungsstudien wurde noch chromatographisch mit Ethylacetat über eine Filtrationssäule (Kieselgel) aufgereinigt. Es wurden 63 mg (195  $\mu\text{mol}$ , 89%) des Triketids **53** als hellbrauner, klebriger Feststoff erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CHD}_2\text{OD} = 3.31$  ppm):  $\delta$  6.89 (dd, 1H,  $J = 15.6, 7.2$  Hz, 3-H), 6.09 – 6.08 (m, 2H, H-aromat.), 6.08 (dd, 1H,  $J = 15.6, 1.2$  Hz, 2-H), 6.03 (dd, 1H,  $J = 1.8, 1.7$  Hz, H-aromat.), 3.33 (t, 2H,  $J = 6.7$  Hz,  $\text{NHCH}_2$ ), 3.06 (t, 2H,  $J = 6.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 2.59 (m, 1H, 4-H), 2.55 (dd, 1H,  $J = 12.9, 7.0$  Hz, 5-H), 2.47 (dd, 1H,  $J = 12.9, 7.2$  Hz, 5-H'), 1.92 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.07 (d, 3H,  $J = 6.5$  Hz, 4-Me) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CD}_3\text{OD} = 49.0$  ppm):  $\delta$  191.2 (s, C-1), 173.5 (s,  $\text{COCH}_3$ ), 159.1 (s, C-aromat.), 152.0 (d, C-3), 149.3 (s, C-aromat.), 142.8 (s, C-aromat.), 127.9 (d, C-2), 109.6 (d, C-aromat.), 107.8 (d, C-aromat.), 102.0 (d, C-aromat.), 43.5 (t, C-5), 40.2 (t,  $\text{NHCH}_2$ ), 39.3 (d, C-4), 28.9 (t,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 22.5 (q,  $\text{COCH}_3$ ), 19.2 (q, 4-Me) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ : berechnet 345.1249  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  gefunden 345.1256  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -68.0$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

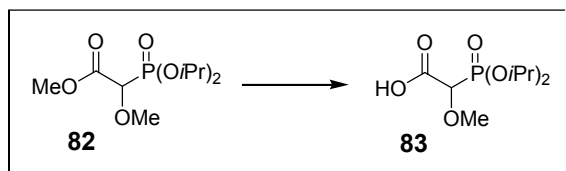
**1-Methoxy-2-methoxycarbonylmethyl-di-*iso*-propylphosphit**



21.5 g des 2-Brom-2-methoxy-essigsäure-methylesters (117 mmol, 1.0 Äq.) wurden zusammen mit 28.9 ml P(O*i*Pr)<sub>3</sub> (117 mmol, 1.0 Äq.) für 5 Stunden unter Rückfluss gekocht. Letzte Reste der Ausgangssubstanzen wurden im Anschluss im Hochvakuum entfernt. Vom Phosphit **82** wurden 30.04 g (112 mmol, 96%) als farblose Flüssigkeit erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 4.80 (m, 2H, O*i*Pr), 4.17 (d, 1H,  $J_{P-H} = 18.4$  Hz, 1-H), 3.82 (s, 3H, COOMe), 3.52 (s, 3H, OMe), 1.33 (d, 12H,  $J = 6.2$  Hz, O*i*Pr) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 167.8 (s,  $J_{P-C} = 1.5$  Hz, COOMe), 78.7 (d,  $J_{P-C} = 158.9$  Hz, CH), 72.5 (d,  $J_{P-C} = 6.9$  Hz, *i*Pr), 72.4 (d,  $J_{P-C} = 6.9$  Hz, *i*Pr), 60.3 (q,  $J_{P-C} = 13.0$  Hz, OMe), 52.4 (q, COOMe), 24.02, 24.00 (2x q,  $J_{P-C} = 3.5$  Hz, *i*Pr), 23.64, 23.59 (2x q,  $J_{P-C} = 1.6$  Hz, *i*Pr) ppm.

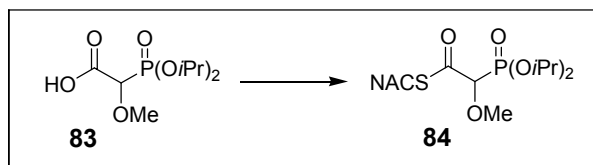
### 1-Methoxy-2-carboxymethyl-di-*iso*-propylphosphit



536 mg des Phosphits **82** (2.0 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 10 ml Dioxan gelöst und mit 6.0 ml 0.5N wässriger KOH (3.0 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Das Gemisch wurde für 4 Stunden bei 80°C gerührt, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand 2x mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit 0.5N Salzsäure und gesättigter NaCl-Lösung versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die saure wässrige Lösung wurde noch 3x mit Dichlormethan extrahiert und die vereinten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Einengen und Trocknen im Vakuum wurden 491 mg (1.9 mmol, 95%) der Carbonsäure **83** als farbloser, kristalliner Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 9.70 (bs, 1H, COOH), 4.87 (m, 2H, O*i*Pr), 4.18 (d,  $J_{P-H} = 19.5$  Hz, 1-H), 3.54 (d,  $J_{P-H} = 0.4$  Hz, OMe), 1.37 (d, 12H,  $J = 6.2$  Hz, O*i*Pr) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>O<sub>6</sub>P: berechnet 277.0817 [M+Na]<sup>+</sup> gefunden 277.0822 [M+Na]<sup>+</sup>; **Smp.**: ~ 35°C.

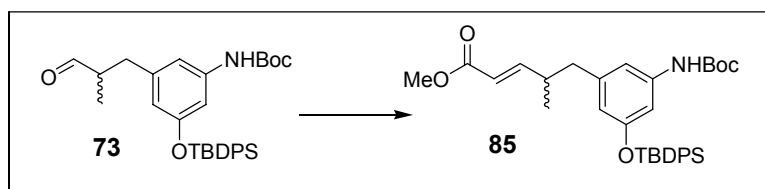
### 1-Methoxy-2-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-thiocarboxymethyl-di-*iso*-propylphosphit



1.68 g *N*-Acetylcysteamin (14.1 mmol, 1.3 Äq.) wurden unter Schutzgas (N<sub>2</sub>) in 10 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und 2.75 g der Säure **83** (10.8 mmol, 1.0 Äq.) zugegeben. Nach dem Hinzufügen von 2.33 g DCC (11.3 mmol, 1.05 Äq.) und 0.13 g 4-DMAP (1.08 mmol, 0.1 Äq.) wurde die Mischung für 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene Harnstoff wurde abfiltriert, das Lösungsmittel eingeeengt und der Rückstand säulenchromatographisch mit EE/MeOH = 10:1 gereinigt. Vom SNAC-Ester **84** wurden 3.28 g (9.2 mmol, 85%) als farbloser Feststoff erhalten. **Achtung:** Das Produkt sollte aufgrund langsamer Zersetzung nicht länger als einen Monat aufbewahrt werden!

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 6.30 (bs, 1H, NH), 4.80 (m, 2H, OiPr), 4.14 (d, 1H, *J*<sub>P-H</sub> = 18.4 Hz, 1-H), 3.59 (s, 3H, OMe), 3.13 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N), 3.04 (m, 2H, CH<sub>2</sub>S), 1.97 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.36 (d, 12H, *J* = 6.2 Hz, OiPr) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 197.3 (s, *J*<sub>P-C</sub> = 3.1 Hz, C-2), 170.5 (s, COCH<sub>3</sub>), 85.1 (d, *J*<sub>P-C</sub> = 158.1 Hz, C-1), 72.9 (d, *J*<sub>P-C</sub> = 7.1 Hz, OiPr), 72.8 (d, *J*<sub>P-C</sub> = 7.1 Hz, OiPr), 61.5 (q, *J*<sub>P-C</sub> = 10.5 Hz, OMe), 39.0 (t, CH<sub>2</sub>), 29.0 (t, CH<sub>2</sub>), 24.14, 24.10 (2x q, *J*<sub>P-C</sub> = 3.5 Hz, OiPr), 23.72, 23.70 (2x q, *J*<sub>P-C</sub> = 5.4 Hz, OiPr) ppm; **Smp.:** 64°C.

**(2*E*, 4*rac*)-5-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-4-methyl-pent-2-ensäure-methylester**



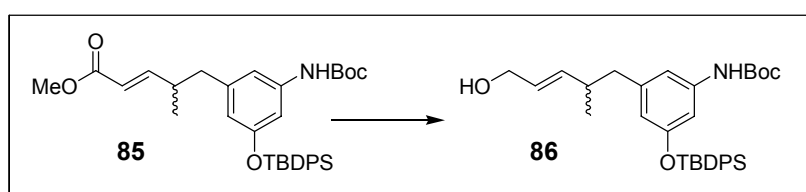
1.08 g des Aldehyds **73** (2.086 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 5 ml Chloroform gelöst und 1.046 g (3.129 mmol, 1.5 Äq.) Methoxycarbonylmethylen-triphenylphosphoran zugefügt. Das Gemisch wurde für 12h bei 55°C gerührt und anschließend chromatographisch mit PE/EE = 10:1 → 5:1 gereinigt. Es wurden 1.163 g des ungesättigten Methylesters **85** (2.027 mmol, 97%) als farbloser Schaum erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.72 – 6.68 (m, 4H, H-aromat.), 7.44 – 7.34 (m, 6H, H-aromat.), 6.81 (dd, 1H, *J* = 15.7, 7.0 Hz, 3-H), 6.79 (bs 1H, H-aromat.), 6.65 (dd, 1H, *J* = 2.0, 2.0 Hz, H-aromat.), 6.29 (bs, 1H, NH), 6.09 (m, 1H, H-aromat.), 5.63 (dd, 1H, *J* = 15.7, 0.9 Hz, 2-H), 3.70 (s, 3H, OMe), 2.49 (dd, 1H, *J* = 12.3, 5.3 Hz, 5-H), 2.24 (m, 2H, 4-H, 5-H'), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.78 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz, 4-Me) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 167.2 (s, COOMe), 155.9 (s, C-aromat.),



153.8 (d, C-3), 152.5 (s, NHCOOtBu), 141.3 (s, C-aromat.), 139.1 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.83, 132.78 (2x s, 2x C-aromat.), 129.85, 129.84 (2x d, 2x C-aromat.), 127.7 (d, C-aromat.), 119.2 (d, C-2), 115.2 (d, C-aromat.), 111.8 (d, C-aromat.), 107.8 (d, C-aromat.), 80.4 (s, *t*Bu), 51.4 (q, OMe), 42.0 (t, C-5), 37.8 (d, C-4), 28.3 (q, *t*Bu), 26.4 (d, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu), 18.3 (q, 4-Me) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $C_{34}H_{43}NO_5Si$ : berechnet 596.2808  $[M+Na]^+$  gefunden 596.2808  $[M+Na]^+$ .

**(2*E*, 4*rac*)-5-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-4-methyl-pent-2-en-1-ol**

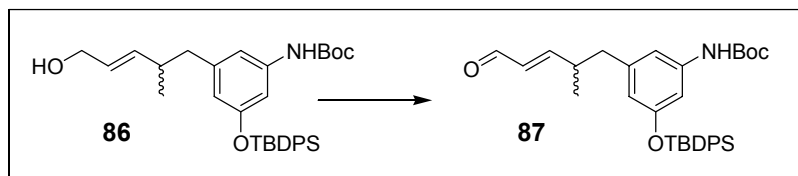


1.13 g des Methylesters **85** (1.97 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 30 ml wasserfreiem THF gelöst und auf  $-40^{\circ}\text{C}$  abgekühlt. Nach der anschließenden Zugabe von 5.91 ml DIBAL-H [(1.0M in Hexan) 5.91 mmol, 3.0 eq] wurde innerhalb von 30 Minuten auf RT erwärmt und für eine weitere Stunde gerührt. Der vorsichtigen Hydrolyse mit Kalium-Natrium-Tartrat-Lösung bei  $0^{\circ}\text{C}$  folgte die Extraktion mit Diethylether (4x). Die vereinten, organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Restliche Spuren der verwendeten Lösungsmittel wurden im Hochvakuum entfernt, 1.044 g des Alkohols **86** (1.91 mmol, 97%) konnten so erhalten werden. Das Rohprodukt bedurfte keiner weiteren Reinigung und wurde direkt im folgenden Schritt eingesetzt.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.72 – 6.68 (m, 4H, H-aromat.), 7.44 – 7.34 (m, 6H, H-aromat.), 6.91 (bs 1H, H-aromat.), 6.49 (dd, 1H,  $J = 2.1, 2.1$  Hz, H-aromat.), 6.27 (bs, 1H, NH), 6.17 (dd, 1H,  $J = 2.1, 1.5$  Hz, H-aromat.), 5.53 (ddt, 1H,  $J = 15.4, 7.0, 1.0$  Hz, 2-H), 5.42 (ddt, 1H,  $J = 15.4, 5.7, 0.8$  Hz, 3-H), 4.01 (d, 2H, 1-H), 2.40 (dd, 1H,  $J = 13.1, 7.3$  Hz, 5-H), 2.31 (dd, 1H,  $J = 13.1, 6.6$  Hz, 5-H'), 2.15 (m, 1H, 4-H), 1.72 (bs, 1H, OH), 1.47 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.82 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz, 4-Me) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  155.6 (s, C-aromat.), 152.7 (s, NHCOOtBu), 142.3 (s, C-aromat.), 138.6 (s, C-aromat.), 137.9 (d, C-3), 135.5 (d, C-aromat.), 132.9 (s, C-aromat.), 129.8 (d, C-aromat.), 127.8 (d, C-2), 127.7 (d, C-aromat.), 115.6 (d, C-aromat.), 112.7 (d, C-aromat.), 107.6 (d, C-aromat.), 80.5 (s, *t*Bu), 63.7 (t, C-1), 43.2 (t, C-5), 37.6 (d, C-4), 28.3

(q, *t*Bu), 26.4 (d, *t*Bu), 19.6 (q, 4-Me), 19.4 (s, *t*Bu) ppm; HRMS  $m/z$  für  $C_{33}H_{43}NO_4Si$ : berechnet 568.2859  $[M+Na]^+$  gefunden 568.2867  $[M+Na]^+$ .

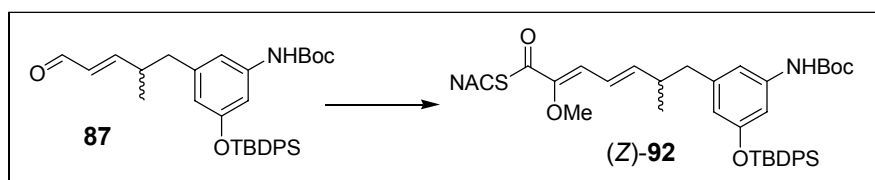
**(2*E*, 4*rac*)-5-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-4-methyl-pent-2-enal**



985 mg des ungesättigten Alkohols **86** (1.80 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 10 ml wasserfreiem  $CH_2Cl_2$  gelöst und 1.0 g festes  $NaHCO_3$  zugefügt. Es wurden 826 mg (1.98 mmol, 1.1 Äq.) Dess-Martin-Periodinan zugefügt und die Mischung für 30 Minuten kräftig gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurden 10 ml Wasser, weitere 1.0 g  $NaHCO_3$  und 2.0 g Natriumthiosulfat zugegeben und die Mischung erneut 30 Minuten stark gerührt. Nach dem Trennen der Phasen wurde die wässrige Phase mit  $CH_2Cl_2$  (3x) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Säulenchromatographie mit  $CH_2Cl_2$  als Eluent erbrachte 0.70 g **87** (1.29 mmol, 72%) als farblosen Schaum.

$^1H$ -NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  9.35 (d, 1H,  $J = 7.9$  Hz, CHO), 7.73 – 7.66 (m, 4H, H-aromat.), 7.47 – 7.31 (m, 6H, H-aromat.), 6.87 (m, 1H, H-aromat.), 6.63 (dd, 1H,  $J = 2.1, 2.0$  Hz, H-aromat.), 6.59 (dd, 1H,  $J = 15.6, 6.1$  Hz, 3-H), 6.28 (bs, 1H, NH), 6.08 (dd, 1H,  $J = 2.0, 1.6$  Hz, H-aromat.), 5.90 (dd, 1H,  $J = 15.6, 7.9$  Hz, 2-H), 2.41 (m, 3H, 4-H, 5-H, 5-H'), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.07 (s, 9H, *t*Bu), 0.87 (d, 3H,  $J = 6.3$  Hz, 4-Me) ppm.

**(2*Z*, 4*E*, 6*rac*)-7-[3-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-2-methoxy-6-methyl-thiohepta-2,4-diensäure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester**



441 mg des HWE-Reagenz **84** (1.24 mmol, 2.0 Äq.) wurden unter Schutzgas ( $N_2$ ) in 4 ml absolutem THF gelöst und auf  $0^\circ C$  gekühlt. Nach Zugabe von 374  $\mu l$  DBU (2.48 mmol, 4.0 Äq.) wurde für 30 Minuten gerührt, anschließend 337 mg des Aldehyds **87** (als

2M Lösung in THF) zugetropft. Nach dem Erwärmen auf RT wurde für 24h gerührt. Mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung wurde schließlich hydrolysiert und das Reaktionsgemisch 3x mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Säulenchromatographie über Kieselgel mit einem Gradienten von PE/EE = 2:1 → 1:1 lieferte 258 mg (0.36 mmol, 58%) des (2*Z*)-Isomers **92**:

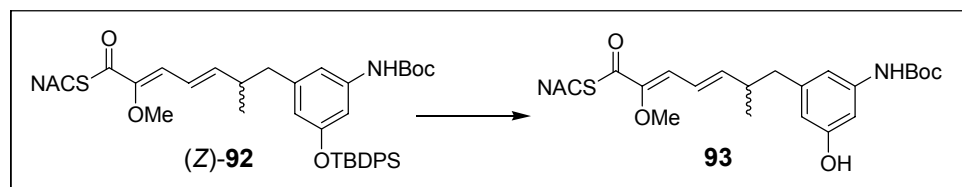
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.72 – 7.67 (m, 4H, H-aromat.), 7.45 – 7.33 (m, 6H, H-aromat.), 6.83 (bs, 1H, H-aromat.), 6.62 (m, 1H, H-aromat.), 6.59 (d, 1H, *J* = 11.2 Hz, 3-H), 6.31 (bs, 1H, NH), 6.18 (dd, 1H, *J* = 15.3, 11.2 Hz, 4-H), 6.09 (bs, 1H, H-aromat.), 5.94 (bs, 1H, NH), 5.93 (dd, 1H, *J* = 15.3, 6.9 Hz, 5-H), 3.68 (s, 3H, OMe), 3.48 (dt, 2H, *J* = 6.3, 6.2 Hz, NHCH<sub>2</sub>), 3.09 (t, 2H, *J* = 6.3 Hz, CH<sub>2</sub>S), 2.41 (m, 1H, 7-H), 2.29 (m, 2H, 6-H, 7-H'), 1.96 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.84 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz, 6-Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 190.6 (s, C-1), 170.3 (s, COCH<sub>3</sub>), 155.8 (s, C-2), 152.5 (s, COO*t*Bu), 149.4 (s, C-aromat.), 149.1 (d, C-5), 141.7 (s, C-aromat.), 139.0 (s, C-aromat.), 135.4 (d, C-aromat.), 132.82, 132.79 (2x s, 2x C-aromat.), 129.8 (d, C-aromat.), 127.7 (d, C-aromat.), 122.9 (d, C-4), 121.0 (d, C-3), 115.2 (d, C-aromat.), 111.9 (d, C-aromat.), 107.6 (d, C-aromat.), 80.4 (s, *t*Bu), 62.0 (q, OMe), 42.7 (t, C-7), 39.7 (t, NHCH<sub>2</sub>), 38.8 (d, C-6), 28.3 (q, *t*Bu), 27.9 (t, CH<sub>2</sub>S), 26.4 (q, *t*Bu), 23.2 (q, COCH<sub>3</sub>), 19.4 (s, *t*Bu), 19.1 (q, 6-Me) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>40</sub>H<sub>52</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SSi: berechnet 715.3237 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 715.3238 [M-H]<sup>-</sup>.

Weiterhin konnten 51 mg des entsprechenden (2*E*)-Isomers von **92** (70 μmol, 11%) isoliert und charakterisiert werden:

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.73 – 7.67 (m, 4H, H-aromat.), 7.44 – 7.33 (m, 6H, H-aromat.), 7.02 (dd, 1H, *J* = 15.1, 10.6 Hz, 4-H), 6.81 (bs, 1H, H-aromat.), 6.64 (dd, 1H, *J* = 2.0, 2.0 Hz, H-aromat.), 6.34 (bs, 1H, NH), 6.13 (bs, 1H, H-aromat.), 5.96 (bs, 1H, NH), 5.75 (dd, 1H, *J* = 15.1, 6.8 Hz, 5-H), 5.66 (d, 1H, *J* = 10.6 Hz, 3-H), 3.67 (s, 3H, OMe), 3.45 (dt, 2H, *J* = 6.3, 6.2 Hz, NHCH<sub>2</sub>), 3.05 (t, 2H, *J* = 6.3 Hz, CH<sub>2</sub>S), 2.47 (dd, 1H, *J* = 12.3, 5.5 Hz, 7-H), 2.28 (m, 1H, 6-H), 2.22 (dd, 1H, *J* = 12.3, 8.2 Hz, 7-H'), 1.96 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.48 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu), 0.79 (d, 3H, *J* = 6.4 Hz, 6-Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 189.7 (s, C-1), 170.3 (s, COCH<sub>3</sub>), 155.8 (s, C-2), 152.5 (s, COO*t*Bu), 147.4 (s, C-aromat.), 145.8 (d, C-5), 142.0 (s, C-aromat.), 138.9 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.8 (s, C-aromat.), 129.8 (d, C-aromat.), 127.7 (d, C-aromat.), 122.6 (d, C-4), 115.3 (d, C-aromat.), 113.2 (d, C-3), 112.1 (d, C-aromat.), 107.6

(d, C-aromat.), 80.3 (s, *t*Bu), 56.3 (q, OMe), 43.0 (t, C-7), 39.5 (t, NHCH<sub>2</sub>), 38.1 (d, C-6), 28.3 (q, *t*Bu), 27.8 (t, CH<sub>2</sub>S), 26.4 (q, *t*Bu), 23.2 (q, COCH<sub>3</sub>), 19.4 (s, *t*Bu), 19.1 (q, 6-Me) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>40</sub>H<sub>52</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SSi: berechnet 715.3237 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 715.3209 [M-H]<sup>-</sup>.

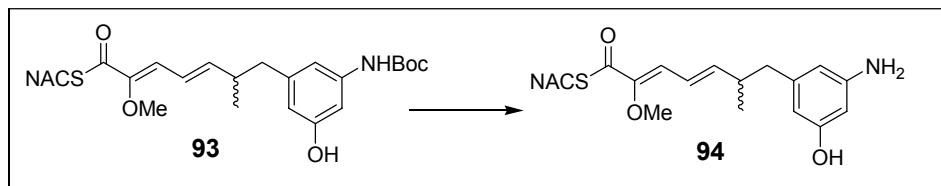
**(2Z, 4E, 6rac)-7-[3-Hydroxy-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-2-methoxy-6-methyl-thiohepta-2,4-diensäure-S-(2-acetylamino-ethyl)-ester**



Vom SNAC-Ester (*Z*)-**92** wurden 143 mg (0.2 mmol, 1.0 Äq.) in 4 ml THF gelöst und bei RT insgesamt 0.1 ml TBAF [(1M in THF) 0.1 mmol, 0.5 Äq.] zugesetzt. Die Mischung wurde für etwa 30 Minuten gerührt und anschließend mit 3 ml Ammoniumchlorid-Lösung versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt, die wässrige Phase mit Ethylacetat extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde im Vakuum eingeeengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch über Kieselgel mit Ethylacetat gereinigt. Es wurden 60 mg (125 µmol, 63%) des Phenols **93** erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.42 (bs, 1H, OH), 6.78 (bs, 1H, H-aromat.), 6.73 (bs, 1H, NH), 6.69 (bs, 1H, NH), 6.61 (d, 1H, *J* = 11.1 Hz, 3-H), 6.34 (bs, 1H, H-aromat.), 6.27 (bs, 1H, H-aromat.), 6.25 (dd, 1H, *J* = 15.3, 11.1 Hz, 4-H), 6.06 (dd, 1H, *J* = 15.3, 6.8 Hz, 5-H), 3.68 (s, 3H, OMe), 3.45 (dt, 2H, *J* = 6.2, 6.1 Hz, NHCH<sub>2</sub>), 3.06 (t, 2H, *J* = 6.2 Hz, CH<sub>2</sub>S), 2.55 (m, 3H, 6-H, 7-H), 1.97 (s, 3H, NHCOCH<sub>3</sub>), 1.50 (s, 9H, *t*Bu), 1.04 (d, 3H, *J* = 6.5 Hz, 6-Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 190.7 (s, C-1), 171.0 (s, COCH<sub>3</sub>), 156.8 (s, C-2), 152.8 (s, COO*t*Bu), 149.4 (s, C-aromat.), 149.1 (d, C-5), 142.1 (s, C-aromat.), 139.3 (s, C-aromat.), 123.0 (d, C-4), 121.2 (d, C-3), 111.1 (d, C-aromat.), 110.9 (d, C-aromat.), 103.6 (d, C-aromat.), 80.4 (s, *t*Bu), 62.0 (q, OMe), 42.9 (t, C-7), 39.7 (t, NHCH<sub>2</sub>), 38.9 (d, C-6), 28.3 (q, *t*Bu), 27.8 (t, CH<sub>2</sub>S), 23.0 (q, COCH<sub>3</sub>), 19.5 (q, 6-Me) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S: berechnet 501.2035 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 501.2047 [M-H]<sup>-</sup>.

**(2Z, 4E, 6rac)-7-[3-Hydroxy-5-amino-phenyl]-2-methoxy-6-methyl-thiohepta-2,4-diensäure-S-(2-acetyl-amino-ethyl)-ester**

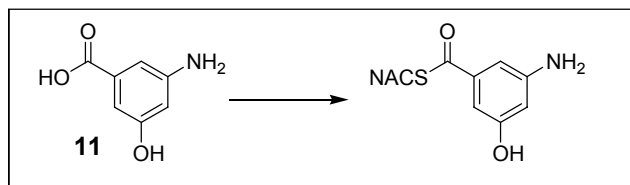


60 mg des Phenols **93** (125  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äq.) wurden in wasserfreiem Dichlormethan gelöst und bei RT mit 384  $\mu\text{l}$  (5.0 mmol, 40 Äq.) Trifluoressigsäure versetzt. Nach dem Ende der Reaktion (etwa 4 Stunden, DC-Kontrolle) wurde die Mischung mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat extrahiert (3x), die vereinten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Nach der Reinigung über eine kurze Filtrationssäule (EE/MeOH = 20:1) wurden 42 mg (110  $\mu\text{mol}$ , 88%) des Tetraketids **94** als hellbrauner, klebriger Feststoff erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CHD}_2\text{OD} = 3.31$  ppm):  $\delta$  6.59 (d, 1H,  $J = 11.3$  Hz, 3-H), 6.25 (dd, 1H,  $J = 15.3, 11.3$  Hz, 4-H), 6.09 (dd, 1H,  $J = 15.3, 7.7$  Hz, 5-H), 6.08 (m, 1H, H-aromat.), 6.05 (dd, 1H,  $J = 2.2, 2.2$  Hz, H-aromat.), 6.00 (m, 1H, H-aromat.), 3.65 (s, 3H, OMe), 3.34 (m, 2H,  $\text{NHCH}_2$ ), 3.02 (t, 2H,  $J = 6.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 2.57 (m, 1H, 6-H), 2.46 (d, 2H,  $J = 7.2$  Hz, 7-H), 1.92 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.05 (d, 3H,  $J = 6.8$  Hz, 6-Me) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CD}_3\text{OD} = 49.0$  ppm):  $\delta$  191.1 (s, C-1), 173.5 (s,  $\text{COCH}_3$ ), 159.0 (s, C-2), 151.0 (s, C-aromat.), 150.1 (d, C-5), 149.5 (s, C-aromat.), 143.4 (s, C-aromat.), 123.4 (d, C-3), 122.5 (d, C-4), 109.6 (d, C-aromat.), 107.7 (d, C-aromat.), 101.7 (d, C-aromat.), 62.5 (q, OMe), 44.2 (t, C-7), 40.5 (d, C-6), 40.1 (t,  $\text{NHCH}_2$ ), 28.6 (t,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 22.5 (q,  $\text{COCH}_3$ ), 20.0 (q, 6-Me) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ : berechnet 401.1511  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  gefunden 401.1523  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

### 5.4. Verbindungen aus Kapitel 3.3.

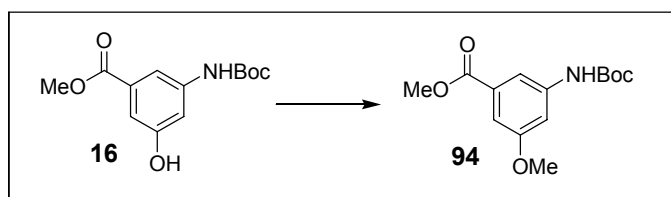
#### 3-Amino-5-hydroxythiobenzoessäure-S-(2-acetylamino-ethyl)-ester



200 mg (1.31 mmol, 1.0 Äq.) Amino-hydroxybenzoessäure **11** wurden unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml trockenem Acetonitril gelöst. Zur Suspension wurden nacheinander 180 µl (1.7 mmol, 1.3 Äq.) *N*-Acetylcysteamin, 300 mg (1.44 mmol, 1.1 Äq.) DCC und 8 mg (65 µmol, 0.05 Äq.) 4-DMAP gegeben. Bei Raumtemperatur rührte die Mischung für 24 h bevor das Gemisch im Vakuum eingengt wurde. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch über Kieselgel (mit einer etwa 1 cm dicken Schicht CuSO<sub>4</sub> auf Kieselgel versehen) mit einem Laufmittelgemisch PE/EE = 1:2 → EE gereinigt. Nach der ersten Aufreinigung wurden 60% vom Thioester erhalten, eine weitere Reinigung der Mischfraktionen lieferte schließlich eine Gesamtausbeute von 253 mg (1.0 mmol, 76%) des AHBA-SNAC als hellgelber Feststoff.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 6.84 (dd, 1H, *J* = 1.7, 1.7 Hz, H-aromat.), 6.74 (dd, 1H, *J* = 2.1, 1.7 Hz, H-aromat.), 6.43 (dd, 1H, *J* = 2.1, 2.1 Hz, H-aromat.), 3.43 (t, 2H, *J* = 6.7 Hz, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.17 (t, 2H, *J* = 6.7 Hz, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm): δ 193.3 (s, SCO), 173.5 (s, NCO), 159.7 (s, C-aromat.), 150.9 (s, C-aromat.), 140.1 (s, C-aromat.), 107.9 (d, C-aromat.), 106.5 (d, C-aromat.), 104.5 (d, C-aromat.), 40.2 (t, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.2 (t, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 22.5 (q, CH<sub>3</sub>) ppm; HRMS *m/z* für C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: berechnet 253.0647 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 253.0640 [M-H]<sup>-</sup>; Smp.: 119°C.

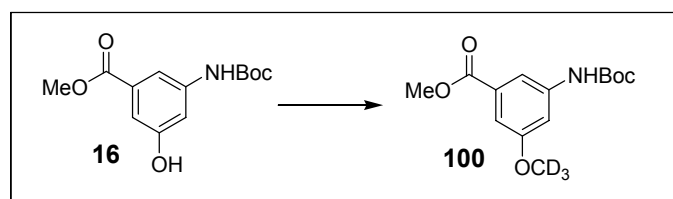
#### 3-Methoxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl)-aminobenzoessäure-methylester



600 mg des freien Phenols **16** (2.25 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 10 ml Aceton gelöst, 621 mg Kaliumcarbonat (4.5 mmol, 2.0 Äq.) und 420  $\mu$ l Methyljodid (6.75 mmol, 3.0 Äq.) zugegeben und die Reaktionsmischung für 24 Stunden auf 40°C erhitzt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Wasserstrahlvakuum wurde der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, eingeeignet und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch mit PE/EE = 10:1  $\rightarrow$  5:1 gereinigt. Es wurden 550 mg (1.95 mmol, 87%) des farblosen Feststoffes **94** erhalten.

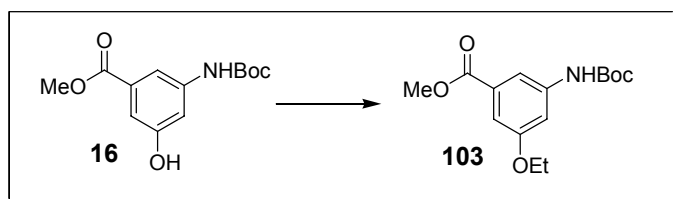
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.52 (dd, 1H,  $J$  = 1.9, 1.3 Hz, H-aromat.), 7.38 (bs, 1H, H-aromat.), 7.24 (dd, 1H,  $J$  = 2.4, 1.3 Hz, H-aromat.), 6.72 (bs, 1H, NH), 3.90 (s, 3H, COOMe), 3.83 (s, 3H, OMe), 1.52 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm):  $\delta$  166.7 (s, COOMe), 160.2 (s, C-aromat.), 152.5 (s, NHCOO), 139.7 (s, C-aromat.), 131.6 (s, C-aromat.), 111.9 (d, C-aromat.), 109.1 (d, C-aromat.), 108.9 (d, C-aromat.), 80.8 (s, *t*Bu), 55.5 (q, OMe), 52.2 (q, OMe), 28.3 (q, *t*Bu) ppm; **Smp.**: 110°C.

### 3-(D<sub>3</sub>)-Methoxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl)-aminobenzoessäure-methylester



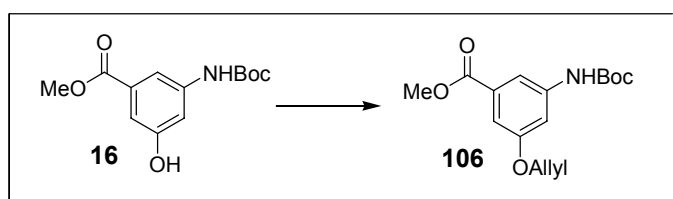
Analog zur Darstellung des Bausteins **94** wurden aus 600 mg des freien Phenols **16** (2.25 mmol, 1.0 Äq.), 621 mg Kaliumcarbonat (4.5 mmol, 2.0 Äq.) und 429  $\mu$ l (D<sub>3</sub>)-Methyljodid (6.75 mmol, 3.0 Äq.) 545 mg des dreifach deuterierten Methoxyphenols **100** (1.92 mmol, 85%) als hellgelber Feststoff erhalten. Die Reinigung erfolgte hierbei jedoch durch Umkristallisation in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/PE (1 :10).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.50 (dd, 1H,  $J$  = 1.9, 1.4 Hz, H-aromat.), 7.36 (bs, 1H, H-aromat.), 7.24 (dd, 1H,  $J$  = 2.4, 1.4 Hz, H-aromat.), 3.90 (s, 3H, COOMe), 1.52 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm):  $\delta$  166.7 (s, COOMe), 160.2, 152.5 (2x s, NHCOO*t*Bu, C-aromat.), 139.7 (s, C-aromat.), 131.7 (s, C-aromat.), 111.9 (d, C-aromat.), 109.1 (d, C-aromat.), 108.9 (d, C-aromat.), 80.9 (s, *t*Bu), 54.8 (sep,  $J_{C-D}$  = 21 Hz, OCD<sub>3</sub>), 52.2 (q, OMe), 28.3 (q, *t*Bu) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>D<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>: berechnet 283.1373 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 283.1377 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 110.5°C.

**3-Ethoxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl)-aminobenzoessäure-methylester**

Die Darstellung erfolgte analog zur Synthese der Verbindung **94**. Aus 534 mg der Startverbindung **16** (2.0 mmol, 1.0 Äq.), 552 mg Kaliumcarbonat (4.0 mmol, 2.0 Äq.) und 485  $\mu$ l Ethyliodid (6.0 mmol, 3.0 Äq.) wurden 451 mg (1.53 mmol, 76%) des entsprechenden Ethoxy-Aromaten **103** als farbloser Feststoff erhalten. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit PE/EE = 5 : 1 als Laufmittelgemisch.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.49 (dd, 1H,  $J$  = 1.9, 1.5 Hz, H-aromat.), 7.38 (bs, 1H, H-aromat.), 7.23 (dd, 1H,  $J$  = 2.4, 1.5 Hz, H-aromat.), 4.06 (q, 2H,  $J$  = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.89 (s, 3H, OMe), 1.52 (s, 9H, *t*Bu), 1.40 (t, 3H,  $J$  = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm):  $\delta$  166.8 (s, COOMe), 159.6 (s, C-aromat.), 152.5 (s, COO*t*Bu), 139.7 (s, C-aromat.), 131.6 (s, C-aromat.), 111.8 (d, C-aromat.), 109.7 (d, C-aromat.), 109.5 (d, C-aromat.), 80.8 (s, *t*Bu), 63.8 (t, CH<sub>2</sub>), 52.2 (q, OMe), 28.3 (q, *t*Bu), 14.7 (q, CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>: berechnet 294.1341 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 294.1341 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 109-111°C.

**3-Allyloxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl)-aminobenzoessäure-methylester**

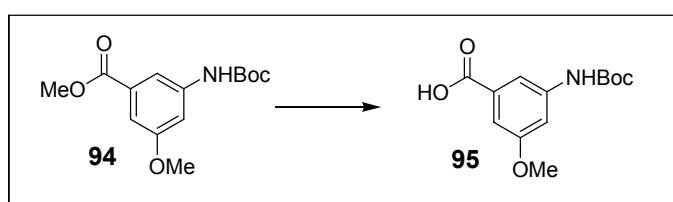
Analog der Prozedur zur Synthese von **94** erfolgte die Darstellung der entsprechend allylierten Verbindung **106**. Aus 534 mg Startsubstanz **16** (2.0 mmol, 1.0 Äq.), 552 mg Kaliumcarbonat (4.0 mmol, 2.0 Äq.) und 260  $\mu$ l Allylbromid (6.0 mmol, 3.0 Äq.) konnten 550 mg **106** (1.79 mmol, 90%) als farbloser Feststoff erhalten werden. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit PE/EE = 7 : 1 als Laufmittelgemisch.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  7.51 (dd, 1H,  $J$  = 1.7, 1.5 Hz, H-aromat.), 7.41 (bs, 1H, H-aromat.), 7.25 (dd, 1H,  $J$  = 2.4, 1.5 Hz, H-aromat.), 6.68 (bs, 1H, NH), 6.04 (ddt, 1H,  $J$  = 17.3, 10.5, 5.3 Hz, CH=CH<sub>2</sub>), 5.42 (ddt, 1H,  $J$  = 17.3, 1.5, 1.5 Hz, CH=CH<sub>2</sub>),



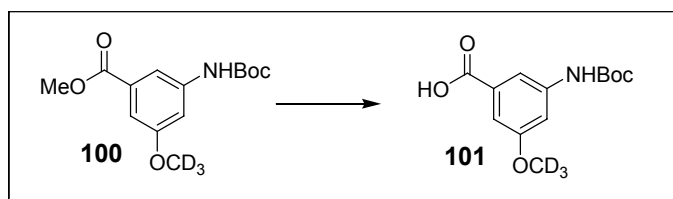
5.28 (ddt, 1H,  $J = 10.5, 1.5, 1.5$  Hz,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.56 (ddd, 2H,  $J = 5.3, 1.5, 1.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.89 (s, 3H, OMe), 1.52 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  166.7 (s, COOMe), 159.2 (s, C-aromat.), 152.5 (s, COOtBu), 139.7 (s, C-aromat.), 132.8 (d,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 131.6 (s, C-aromat.), 117.8 (t,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 112.1 (d, C-aromat.), 109.9 (d, C-aromat.), 109.7 (d, C-aromat.), 80.9 (s, *t*Bu), 69.0 (t,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 52.2 (q, OMe), 28.3 (q, *t*Bu) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ : berechnet 306.1341  $[\text{M-H}]^-$  gefunden 306.1353  $[\text{M-H}]^-$ ; **Smp.**: 88°C.

### 3-Methoxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl)-aminobenzoessäure



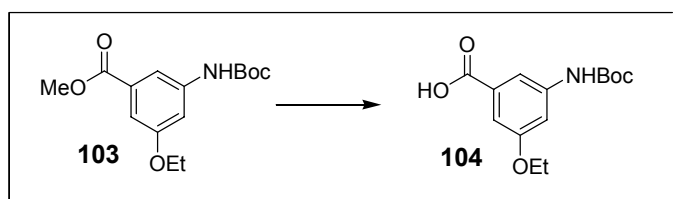
535 mg des Methylesters **94** (1.9 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 10 ml Methanol gelöst und mit 9.5 ml 1N LiOH aq. (9.5 mmol, 5.0 Äq.) versetzt. Die Lösung wurde für 3 Stunden auf 45°C erhitzt und anschließend der Großteil des Methanols im Vakuum entfernt. Es wurde mit 1N HCl aq. auf pH 5-6 angesäuert und mehrmals mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es wurden 500 mg **95** (1.87 mmol, 98%) als farbloser Feststoff erhalten. Alternativ konnte der Reaktionsansatz auch mit 1N Salzsäure auf pH = 1 angesäuert werden, wobei die freie Säure ausfiel. Nach dem Abfiltrieren wurde diese mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  9.51 (bs, 1H, NH), 7.72 (bs, 1H, H-aromat.), 7.30 (bs, 1H, H-aromat.), 7.06 (bs, 1H, H-aromat.), 3.75 (s, 3H, OMe), 1.47 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  167.5 (s, COOH), 159.6 (s, C-aromat.), 152.9 (s, NHCOO), 141.0 (s, C-aromat.), 132.9 (s, C-aromat.), 111.9 (d, C-aromat.), 108.3 (d, C-aromat.), 107.8 (d, C-aromat.), 79.6 (s, *t*Bu), 55.4 (q, OMe), 28.3 (q, *t*Bu) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ : berechnet 266.1028  $[\text{M-H}]^-$  gefunden 266.1015  $[\text{M-H}]^-$ ; **Smp.**: 173°C.

**3-(D<sub>3</sub>)-Methoxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl)-aminobenzoessäure**

Die Synthese der Benzoessäure **101** erfolgte analog zur Darstellung des Bausteins **95**. Aus 483 mg Startmaterial **100** (1.7 mmol, 1.0 Äq.) wurden 428 mg (1.58 mmol, 93%) eines farblosen Feststoffes erhalten. In diesem Fall wurde der Reaktionsansatz mit 1N Salzsäure auf pH = 1 angesäuert, der entstandene Niederschlag abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, DMSO-*d*<sub>5</sub> = 2.50 ppm): δ 12.93 (bs, 1H, COOH), 9.52 (s, 1H, NH), 7.72 (m, 1H, H-aromat.), 7.30 (m, 1H, H-aromat.), 7.06 (dd, 1H, *J* = 2.4, 1.3 Hz, H-aromat.), 1.47 (s, 9H, *t*Bu); **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, DMSO-*d*<sub>6</sub> = 39.52 ppm): δ 167.2 (s, COOH), 159.5 (s, C-aromat.), 152.7 (s, NHCOO*t*Bu), 140.9 (s, C-aromat.), 132.3 (s, C-aromat.), 111.6, (d, C-aromat.), 108.3 (d, C-aromat.), 107.6 (d, C-aromat.), 79.4 (s, *t*Bu), 54.3 (sep, *J*<sub>C-D</sub> = 22 Hz, OCD<sub>3</sub>), 28.1 (q, *t*Bu); **HRMS** *m/z* für C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>D<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>: berechnet 269.1217 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 269.1226 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 176°C.

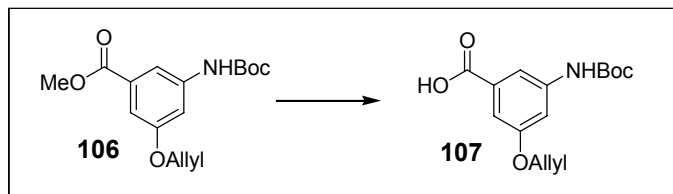
**3-Ethoxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl)-aminobenzoessäure**

Die Synthese erfolgte analog der Darstellung von **95**. Aus eingesetzten 421 mg (1.43 mmol, 1.0 Äq.) Methylester **103** wurden 383 mg der Benzoessäure **104** (1.36 mmol, 95%) als farbloser Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 7.59 (dd, 1H, *J* = 1.6, 1.4 Hz, H-aromat.), 7.31 (bs, 1H, H-aromat.), 7.18 (dd, 1H, *J* = 2.4, 1.4 Hz, H-aromat.), 4.04 (q, 2H, *J* = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 1.51 (s, 9H, *t*Bu), 1.38 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm): δ 170.8 (s, COOH), 160.7 (s, C-aromat.), 155.1 (s, COO*t*Bu), 141.8 (s, C-aromat.), 134.6 (s, C-aromat.), 113.4 (d, C-aromat.), 110.4 (d, C-aromat.), 110.1

(d, C-aromat.), 81.0 (s, *t*Bu), 64.7 (t, CH<sub>2</sub>), 28.7 (q, *t*Bu), 15.1 (q, CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>: berechnet 280.1185 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 280.1196 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 162°C.

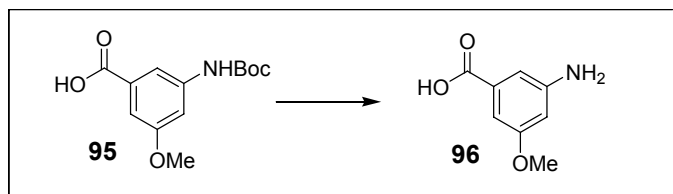
### 3-Allyloxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl)-aminobenzoessäure



Die Darstellung erfolgte unter gleicher Vorgehensweise wie bei Substanz **95**. Die Ansatzgröße betrug 520 mg vom Methylester **106** (1.69 mmol, 1.0 Äq.) und es konnten 490 mg der entsprechenden Benzoessäure **107** (1.67 mmol, 99%) als farbloser Feststoff erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, DMSO-d<sub>5</sub> = 2.50 ppm): δ 12.94 (bs, 1H, COOH), 9.53 (s, 1H, NH), 7.72 (m, 1H, H-aromat.), 7.32 (m, 1H, H-aromat.), 7.07 (dd, 1H, *J* = 2.4, 1.4 Hz, H-aromat.), 6.03 (ddt, 1H, *J* = 17.3, 10.4, 5.1 Hz, CH=CH<sub>2</sub>), 5.38 (ddt, 1H, *J* = 17.3, 1.5, 1.5 Hz, CH=CH<sub>2</sub>), 5.26 (ddt, 1H, *J* = 10.4, 1.5, 1.5 Hz, CH=CH<sub>2</sub>), 4.56 (ddd, 2H, *J* = 5.1, 1.5 Hz, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 1.47 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, DMSO-d<sub>6</sub> = 39.52 ppm): δ 167.3 (s, COOH), 158.4 (s, C-aromat.), 152.7 (s, COO*t*Bu), 140.8 (s, C-aromat.), 133.4 (d, CH=CH<sub>2</sub>), 132.7 (s, C-aromat.), 117.5 (t, CH=CH<sub>2</sub>), 111.8 (d, C-aromat.), 108.8 (d, C-aromat.), 108.4 (d, C-aromat.), 79.4 (s, *t*Bu), 68.3 (t, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 28.1 (q, *t*Bu) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>: berechnet 282.1185 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 282.1187 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 165°C.

### 3-Methoxy-5-aminobenzoessäure

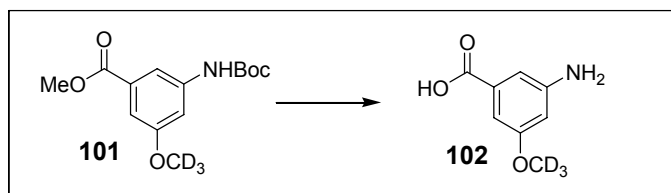


80 mg (0.3 mmol, 1.0 Äq.) des geschützten Anilins **95** wurden mit 5 ml Dichlormethan versetzt und zu der erhaltenen Suspension 918 µl Trifluoressigsäure (12.0 mmol, 40 Äq.) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 24h bei RT gerührt und anschließend mit NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und pH-7 Phosphatpuffer neutralisiert. Die Phasen wurden getrennt, die

wässrige Phase mit 1N Salzsäure angesäuert (pH = 5) anschließend noch dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Es wurden 34 mg der Aminosäure **96** (0.204 mmol, 68%) als hellgelber Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 7.15 (m, 1H, H-aromat.), 7.08 (s, 1H, H-aromat.), 6.67 (1H, H-aromat.), 3.79 (s, 3H, OMe) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm): δ 169.7 (s, COOH), 162.0 (s, C-aromat.), 145.9 (s, C-aromat.), 133.9 (s, C-aromat.), 112.2 (d, C-aromat.), 108.6 (d, C-aromat.), 108.1 (d, C-aromat.), 55.9 (q, OMe) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>: berechnet 166.0504 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 166.0501 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 175°C (Zers.).

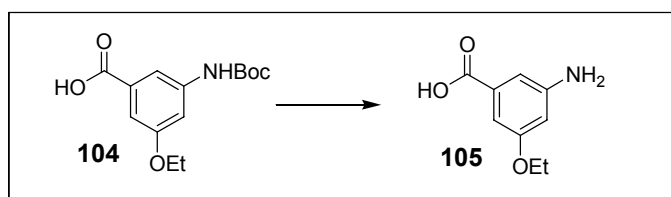
### 3-(D<sub>3</sub>)-Methoxy-5-aminobenzoessäure



Die Darstellung der Substanz erfolgte analog zur Synthese der nicht deuterierten Benzoessäure **96**. Aus 405 mg Startmaterial **101** (1.5 mmol, 1.0 Äq.) wurden 170 mg der Benzoessäure **102** (1.0 mmol, 67%) als farbloser Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 7.37 (m, 1H, H-aromat.), 7.35 (m, 1H, H-aromat.), 6.90 (m, 1H, H-aromat.) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm): δ 169.0 (s, COOH), 162.2 (s, C-aromat.), 141.9 (s, C-aromat.), 134.5 (s, C-aromat.), 113.8 (d, C-aromat.), 110.7 (d, C-aromat.), 110.5 (d, C-aromat.), 55.4 (sep, *J*<sub>C-D</sub> = 22 Hz, OCD<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>D<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>: berechnet 169.0692 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 169.0691 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 170°C (Zers.).

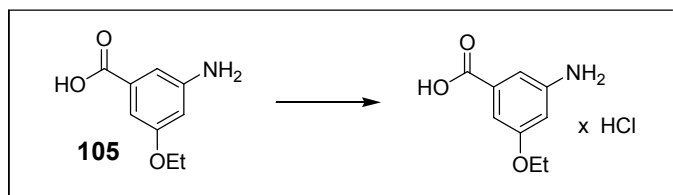
### 3-Ethoxy-5-aminobenzoessäure



Nach bekannter Vorgehensweise (siehe Substanz **96**) wurden 347 mg der Verbindung **104** (1.23 mmol, 1.0 Äq.) eingesetzt. Es wurden 210 mg (1.16 mmol, 94%) der Aminosäure **105** als hellgelber Feststoff erhalten. Das Produkt wurde in diesem Fall noch mit reinem Ethylacetat über eine Filtrationssäule gereinigt.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 7.00 (m, 1H, H-aromat.), 6.91 (m, 1H, H-aromat.), 6.51 (dd, 1H, *J* = 2.1, 2.1 Hz, H-aromat.), 4.00 (q, 2H, *J* = 7.0 Hz, OEt), 1.37 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, OEt) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>: berechnet 180.0661 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 180.0659 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 123°C.

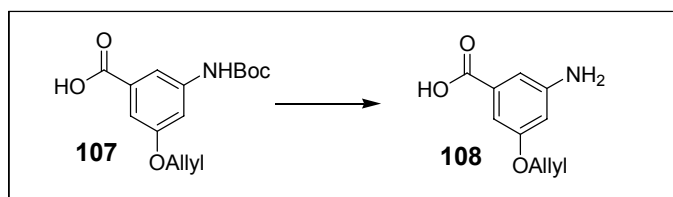
### 3-Ethoxy-5-aminobenzoessäure Hydrochlorid



210 mg der erhaltenen freien Aminosäure **105** (1.16 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 2 ml Dioxan gelöst und mit 0.5 ml HCl (4 M in Dioxan, 1.7 Äq.) versetzt. Nach dem Entfernen des Dioxans im Vakuum wurden 252 mg (1.16 mmol) der Aminosäure als Hydrochlorid erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 7.53 (m, 2H, H-aromat.), 7.09 (m, 1H, H-aromat.), 4.13 (q, 2H, *J* = 7.0 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.43 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm): δ 168.1 (s, COOH), 161.6 (s, C-aromat.), 153.3 (s, C-aromat.), 135.1 (s, C-aromat.), 116.2 (d, C-aromat.), 115.4 (d, C-aromat.), 114.0 (d, C-aromat.), 65.4 (t, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 14.9 (q, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>ClNO<sub>3</sub>: berechnet 180.0661 [M-HCl-H]<sup>-</sup> gefunden 180.0659 [M-HCl-H]<sup>-</sup>; **mp**: > 210°C (Zers.).

### 3-Allyloxy-5-aminobenzoessäure

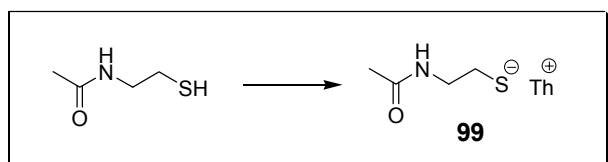


Analog der Umsetzung zur Verbindung **96**, wurden bei Einsatz von 210 mg des Boc-geschützten Allylethers **107** (0.716 mmol, 1.0 Äq.) 120 mg der Aminosäure **108** (0.62 mmol,

87%) als okerfarbener Feststoff erhalten. Auch in diesem Fall wurde das erhaltene Produkt mit reinem Ethylacetat über eine Fitrationsssäule gereinigt.

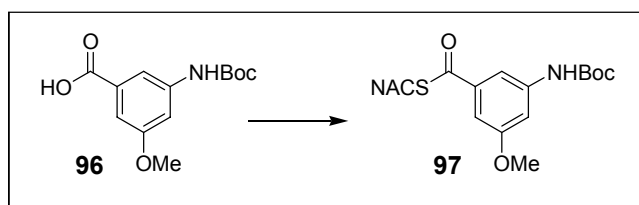
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ , DMSO- $d_5$  = 2.50 ppm):  $\delta$  12.62 (bs, COOH), 6.80 (dd, 1H,  $J$  = 1.9, 1.4 Hz, H-aromat.), 6.63 (dd, 1H,  $J$  = 2.4, 1.4 Hz, H-aromat.), 6.35 (dd, 1H,  $J$  = 2.4, 1.9 Hz, H-aromat.), 6.02 (ddt, 1H,  $J$  = 17.3, 10.5, 5.2 Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.36 (ddt, 1H,  $J$  = 17.3, 1.6, 1.6 Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.32 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 5.24 (ddt, 1H,  $J$  = 10.5, 1.6, 1.6 Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.49 (ddd, 2H,  $J$  = 5.2, 1.6, 1.6 Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ) ppm;  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, DMSO- $d_6$ , DMSO- $d_6$  = 39.52 ppm):  $\delta$  167.8 (s, COOH), 159.0 (s, C-aromat.), 150.1 (s, C-aromat.), 133.8 (d,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 132.3 (s, C-aromat.), 117.1 (t,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 108.2 (d, C-aromat.), 104.2 (d, C-aromat.), 102.5 (d, C-aromat.), 67.9 (t,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ : berechnet 192.0661  $[\text{M-H}]^-$  gefunden 192.0664  $[\text{M-H}]^-$ ; **Smp.**: 132°C.

### Thallium-2-acetylamino-ethanthiolat



1.65 g Thallium(I)-ethoxid (6.6 mmol, 1.0 Äq.) wurden unter Schutzgasatmosphäre in 66 ml trockenem THF gelöst, anschließend bei Raumtemperatur 827 mg (6.94 mmol, 1.05 Äq.) *N*-Acetylcysteamin zugetropft und die Mischung für 30 Minuten stark gerührt. Die entstandene gelbe Suspension **99** (0.1M Lösung) wurde unter Schutzgas im Kühlschrank gelagert.

### 3-Methoxy-5-(*tert*-butoxycarbonyl)-aminobenzoessäure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester

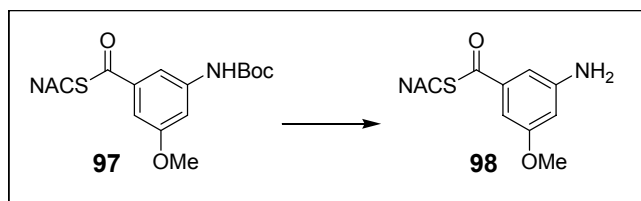


Von der freien Säure **96** wurden 225 mg (0.84 mmol, 1.0 Äq.) in 10 ml trockenem THF gelöst, 130  $\mu\text{l}$  Triethylamin (0.93 mmol, 1.1 Äq.) zugegeben und schließlich 135  $\mu\text{l}$  Diethylchlorophosphat (0.93 mmol, 1.1 Äq.) zugetropft. Die Mischung wurde für etwa 3 Stunden bei RT gerührt und der entstandene Niederschlag anschließend abfiltriert. Zu der klaren Lösung wurden nun 9.3 ml (0.93 mmol, 1.1 Äq.) der vorher präparierten 0.1M

Suspension TI-SNAC **99** zugetropft. Die entstandene gelbe Lösung verblasste mit der Zeit und nach Abschluss der Reaktion (etwa 3 Stunden) wurde der weiße Niederschlag abfiltriert. Die organische Phase wurde eingeeengt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat eingeeengt und säulenchromatographisch mit PE/EE = 1:1 → 1:2 gereinigt. Vom SNAC-Ester **97** konnten 226 mg (0.61 mmol, 73%) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.51 (m, 1H, H-aromat.), 7.36 (m, 1H, H-aromat.), 7.13 (m, 1H, H-aromat.), 6.92 (bs, 1H, NH), 6.13 (bs, 1H, NH), 3.84 (s, 3H, OMe), 3.52 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.21 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.99 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.53 (s, 9H, *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 191.9 (s, COS), 170.5 (s, COCH<sub>3</sub>), 160.4 (s, C-aromat.), 152.6 (s, NHCOO), 140.1 (s, C-aromat.), 138.2 (s, C-aromat.), 109.7 (d, C-aromat.), 109.3 (d, C-aromat.), 106.8 (d, C-aromat.), 81.0 (s, *t*Bu), 55.6 (q, OMe), 39.6 (t, CH<sub>2</sub>), 28.8 (t, CH<sub>2</sub>), 28.3 (q, *t*Bu), 23.2 (q, COCH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: berechnet 391.1304 [M+Na]<sup>+</sup> gefunden 391.1309 [M+Na]<sup>+</sup>; **Smp.**: 143°C.

### 3-Methoxy-5-aminobenzoessäure-S-(2-acetylamino-ethyl)-ester

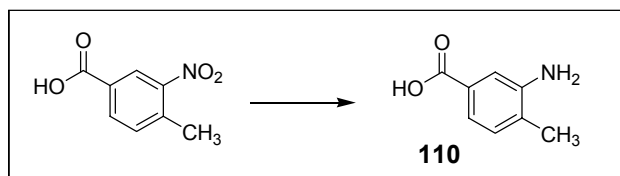


200 mg des Thioesters **97** (0.54 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 5 ml trockenem Dichlormethan gelöst und mit 1.8 ml TFA (21.6 mmol, 40 Äq.) versetzt. Die Mischung wurde für fünf Stunden gerührt, mit wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert, die Phasen getrennt und die wässrige Phase 5x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, eingeeengt und über eine kurze Filtrationssäule (Kieselgel) mit Ethylacetat gereinigt. Vom Aktivester **98** wurden 120 mg (0.45 mmol, 82%) als gelber, klebriger Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 6.87 (m, 2H, H-aromat.), 6.43 (m, 1H, H-aromat.), 6.09 (t, 1H, *J* = 6.1 Hz, NH), 3.80 (s, 3H, OMe), 3.68 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.51 (dt, 2H, *J* = 6.3, 6.1 Hz, NHCH<sub>2</sub>), 3.19 (t, 2H, *J* = 6.3 Hz, CH<sub>2</sub>S), 1.97 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 192.3 (s, COS), 170.4 (s, CONH), 160.8 (s, C-aromat.), 147.9 (s, C-aromat.), 138.7 (s, C-aromat.), 106.7 (d, C-aromat.), 106.0 (d, C-aromat.), 102.3 (d, C-aromat.), 55.4 (q, OMe), 39.6 (t, CH<sub>2</sub>NH), 28.6 (t, CH<sub>2</sub>S), 23.2 (q,

COCH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: berechnet 291.0779 [M+Na]<sup>+</sup> gefunden 291.0767 [M+Na]<sup>+</sup>; **Smp.**: 98°C.

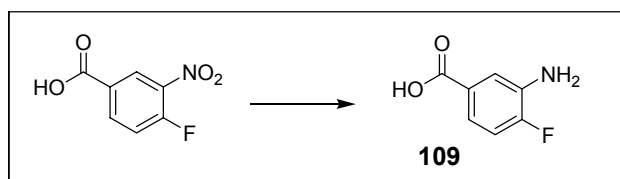
### 3-Amino-4-methylbenzoesäure



0.5 g 3-Nitro-4-methyl-benzoesäure (2.76 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 30 ml Methanol gelöst, mit 5% Pd/C versetzt und unter Wasserstoffatmosphäre für drei Stunden stark gerührt. Der Katalysator wurde anschließend über eine kurze Kieselgelsäule mit Ethylacetat abfiltriert und die organische Phase im Vakuum eingengt. Es wurden 400 mg der Aminosäure **110** (2.65 mmol, 96%) als hellgelber Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 7.62 (m, 1H, 2-H), 7.07 (ddd, 1H,  $J = 8.4, 2.2, 0.5$  Hz, 6-H), 6.66 (d, 1H,  $J = 8.4$  Hz, 5-H), 2.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm): δ 171.6 (s, COOH), 150.4 (s, C-3), 136.1, 132.2 (2x d, C-5, C-6), 125.9 (s, C-1 oder C-4), 118.1 (d, C-2), 111.9 (s, C-1 oder C-4), 20.3 (q, CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>: berechnet 150.0555 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 150.0560 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 164°C.

### 3-Amino-4-fluorobenzoessäure



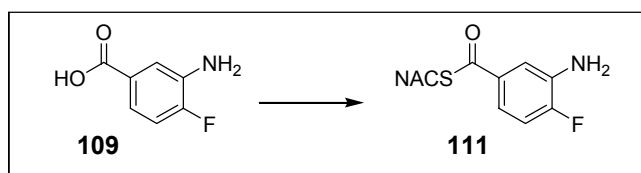
500 mg 3-Nitro-4-fluoro-benzoesäure (2.7 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 30 ml Methanol gelöst, mit 5% Pd/C versetzt und unter Wasserstoffatmosphäre für drei Stunden stark gerührt. Der Katalysator wurde über eine kurze Kieselgelsäule mit Ethylacetat abfiltriert und die organische Phase im Vakuum eingengt. Es wurden 415 mg der Aminosäure **109** (2.68 mmol, 99%) als weißer Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 7.50 (dd, 1H,  $J_{F-H} = 8.8$  Hz,  $J_{H-H} = 2.2$  Hz, 1-H), 7.32 (ddd, 1H,  $J_{F-H} = 4.6$  Hz,  $J_{H-H} = 8.5, 2.2$  Hz, 6-H), 6.99 (dd, 1H,  $J_{F-H} = 10.9$  Hz,  $J_{H-H} = 8.5$  Hz, 5-H) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm):



$\delta$  169.9 (s, COOH), 155.7 (s,  $J_{F-C} = 244.8$  Hz, C-4), 137.1 (s,  $J_{F-C} = 13.6$  Hz, C-3), 128.8 (s,  $J_{F-C} = 3.1$  Hz, C-1), 120.7 (d,  $J_{F-C} = 7.7$  Hz, C-6), 119.4 (d,  $J_{F-C} = 5.8$  Hz, C-2), 115.7 (d,  $J_{F-C} = 19.9$  Hz, C-5) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $C_7H_6FNO_2$ : berechnet 154.0304 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 154.0310 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 179°C.

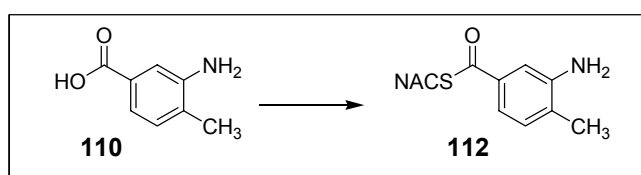
### 3-Amino-4-fluoro-thiobenzoessäure-S-(2-acetylamino-ethyl)-ester



125 mg der Benzoessäure **109** (0.806 mmol, 1.0 Äq.) wurden in Acetonitril gelöst und mit 103  $\mu$ l (1.05 mmol, 1.3 Äq.) *N*-Acetylcysteamin versetzt. Anschließend wurden 174 mg (0.85 mmol, 1.05 Äq.) DCC und eine katalytische Menge 4-DMAP (0.05 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde bis zum vollständigen Umsatz bei RT gerührt (circa 15h), der ausgefallene Harnstoff abfiltriert und die Lösung im Vakuum eingedunstet. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit PE/EE = 1:1  $\rightarrow$  EE gereinigt, wobei im oberen Teil der Säule etwa eine 0.5 cm dicke Schicht mit  $CuSO_4$  imprägniertes Kieselgel verwendet wurde. Es wurden 75 mg des Thioesters **111** (0.3 mmol, 37%) als farblose Kristalle erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CD_3OD$ ,  $CHD_2OD = 3.31$  ppm):  $\delta$  7.44 (dd, 1H,  $J_{F-H} = 8.5$  Hz,  $J_{H-H} = 2.3$  Hz, 2-H), 7.27 (ddd, 1H,  $J_{F-H} = 4.5$  Hz,  $J_{H-H} = 8.5, 2.3$  Hz, 6-H), 7.04 (dd, 1H,  $J_{F-H} = 10.9$  Hz,  $J_{H-H} = 8.5$  Hz, 5-H), 3.40 (t, 2H,  $J = 6.7$  Hz,  $NCH_2$ ), 3.16 (t, 2H,  $J = 6.7$  Hz,  $CH_2S$ ), 1.93 (s, 3H,  $CH_3$ ) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $CD_3OD$ ,  $CD_3OD = 49.0$  ppm):  $\delta$  191.9 (s,  $J_{F-C} = 0.4$  Hz, COS), 173.5 (s, CON), 156.0 (s,  $J_{F-C} = 246.9$  Hz, C-4) 137.6 (s,  $J_{F-C} = 13.6$  Hz, C-3), 134.9 (s,  $J_{F-C} = 3.1$  Hz, C-1), 118.1 (d,  $J_{F-C} = 7.9$  Hz, C-6), 116.4 (d,  $J_{F-C} = 6.1$  Hz, C-2), 116.1 (d,  $J_{F-C} = 20.1$  Hz, C-5), 40.2 (t,  $NCH_2$ ), 29.3 (t,  $CH_2S$ ), 22.5 (q,  $CH_3$ ) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $C_{11}H_{13}FN_2O_2S$ : berechnet 213.0498 [M- $C_2H_3O$ ]<sup>-</sup> gefunden 213.0507 [M- $C_2H_3O$ ]<sup>-</sup>; **Smp.**: 135°C.

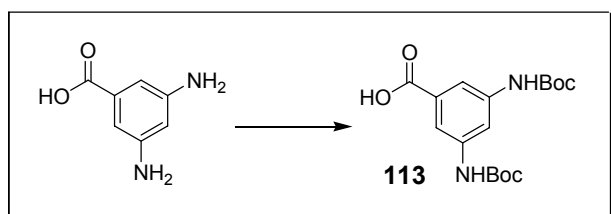
### 3-Amino-4-methyl-thiobenzoessäure-S-(2-acetylamino-ethyl)-ester



184 mg der Benzoesäure **110** (1.22 mmol, 1.0 Äq.) wurden in Acetonitril gelöst und mit 160  $\mu$ l (1.59 mmol, 1.3 Äq.) *N*-Acetylcysteamin versetzt. Anschließend wurden 276 mg (1.34 mmol, 1.1 Äq.) DCC und eine katalytische Menge 4-DMAP (0.05 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde bis zum vollständigen Umsatz bei RT gerührt (20h), der ausgefallene Harnstoff abfiltriert und die Lösung im Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit PE/EE = 1:1  $\rightarrow$  EE gereinigt, wobei auf den oberen Teil der Säule etwa eine 0.5 cm dicke Schicht mit CuSO<sub>4</sub> imprägniertes Kieselgel aufgetragen wurde. Es wurden 160 mg des Thioesters **112** (0.63 mmol, 52%) als hellgelbe Kristalle (Blättchen) erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm):  $\delta$  7.65 (s, 1H, H-aromat.), 7.10 (m, 1H, H-aromat.), 6.59 (d, 1H,  $J$  = 8.3 Hz, H-aromat.), 6.22 (bs, 1H, NH), 5.60 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.49 (dt, 2H,  $J$  = 6.2, 6.1 Hz, CH<sub>2</sub>NH), 3.16 (t, 2H,  $J$  = 6.2 Hz, SCH<sub>2</sub>), 2.25 (s, 3H, ArCH<sub>3</sub>), 1.97 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm):  $\delta$  192.5 (s, COS), 170.4 (s, COCH<sub>3</sub>), 146.0 (s, C-aromat.), 135.8 (d, C-aromat.), 129.6 (d, C-aromat.), 125.5 (s, C-aromat.), 117.7 (s, C-aromat.), 117.2 (d, C-aromat.), 39.7 (t, SCH<sub>2</sub>), 28.2 (t, CH<sub>2</sub>NH), 23.1 (q, COCH<sub>3</sub>), 20.2 (q, ArCH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS**  $m/z$  für C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: berechnet 275.0830 [M+H]<sup>+</sup> gefunden 275.0841 [M+H]<sup>+</sup>; **Smp.**: 108°C.

### 3,5-Bis-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-benzoesäure

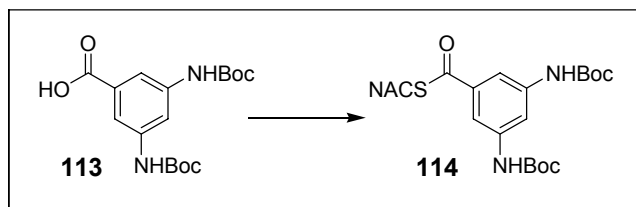


304 mg 3,5-Diaminobenzoessäure (2.0 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 10 ml einer 1:4 Mischung aus THF und gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gelöst. Anschließend wurden 546 mg (5.0 mmol, 2.5 Äq.) Boc<sub>2</sub>O und die Lösung für 36 Stunden bei RT gerührt. Das Tetrahydrofuran wurde im Vakuum entfernt und die wässrige Phase 3x mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingeeengt und säulenchromatographisch mit PE/EE = 2:1 gereinigt. Von der Säure **113** wurden 370 mg (1.05 mmol, 53%) als farbloser Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm):  $\delta$  7.82 (m, 1H, H-aromat.), 7.71 (m, 2H, H-aromat.), 1.52 (s, 18H, 2x *t*Bu) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm):  $\delta$  169.7 (s, COOH), 155.1 (s, NHCOO*t*Bu), 141.3 (s, 2x C-aromat.), 132.8 (s,

C-aromat.), 115.3 (d, C-aromat.), 114.3 (d, C-aromat.), 108.9 (d, C-aromat.), 81.0 (s, *t*Bu), 28.7 (q, *t*Bu) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $C_{17}H_{24}N_2O_6$ : berechnet 351.1556  $[M+H]^+$  gefunden 351.1563  $[M+H]^+$ ; **Smp.**: 180°C (Zers.).

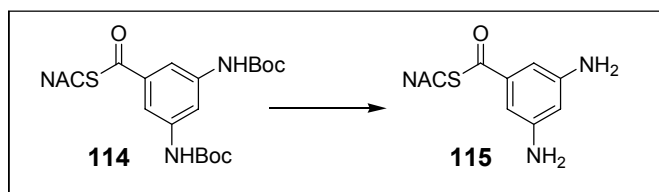
### 3,5-Bis-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)-thiobenzoessäure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester



Von der freien Säure **113** wurden 325 mg (0.92 mmol, 1.0 Äq.) in 5 ml trockenem THF gelöst, 142  $\mu$ l Triethylamin (1.01 mmol, 1.1 Äq.) zugegeben und schließlich 146  $\mu$ l Diethylchlorophosphat (1.01 mmol, 1.1 Äq.) zugetropft. Die Mischung wurde für etwa 3 Stunden bei RT gerührt und der entstandene Niederschlag anschließend abfiltriert. Zu der klaren Lösung wurden nun 10.1 ml (1.01 mmol, 1.1 Äq.) der vorher präparierten 0.1M Suspension TI-SNAC **99** zugetropft. Die entstandene gelbe Lösung verblasste mit der Zeit und nach Abschluss der Reaktion (etwa 3 Stunden) wurde der weiße Niederschlag abfiltriert. Die organische Phase wurde eingengt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat eingengt und säulenchromatographisch mit PE/EE = 1:1  $\rightarrow$  1:2 gereinigt. Vom SNAC-Ester **114** konnten 340 mg (0.75 mmol, 82%) erhalten werden.

**$^1$ H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ , TMS = 0.0 ppm):  $\delta$  7.81 (m, 1H, H-aromat.), 7.67 (m, 2H, H-aromat.), 7.04 (bs, 2H, NH), 6.33 (bs, 1H, NH), 3.49 (m, 2H,  $NHCH_2$ ), 3.19 (m, 2H,  $CH_2S$ ), 2.00 (s, 3H,  $COCH_3$ ), 1.51 (s, 18H, *t*Bu) ppm;  **$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ,  $CDCl_3$  = 77.0 ppm):  $\delta$  ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $C_{21}H_{31}N_3O_6S$ : berechnet 452.1855  $[M-H]^-$  gefunden 452.1859  $[M-H]^-$ .

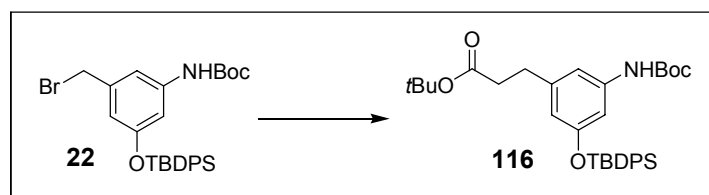
### 3,5-Diamino-thiobenzoessäure-*S*-(2-acetylamino-ethyl)-ester



270 mg des Thioesters **114** (0.6 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 5 ml trockenem Dichlormethan gelöst und mit 1.8 ml TFA (24 mmol, 40 Äq.) versetzt. Die Mischung wurde für 24 Stunden gerührt, mit wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert, die Phasen getrennt und die wässrige Phase 4x mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, eingeeengt und über eine kurze Filtrationssäule (Kieselgel) mit Ethylacetat gereinigt. Vom Diamin **115** wurden 91 mg (0.36 mmol, 60%) als gelber, klebriger Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 6.67 (d, 2H, *J* = 2.0 Hz, H-aromat.), 6.32 (t, 1H, *J* = 2.0 Hz, H-aromat.), 3.38 (t, 2H, *J* = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.12 (t, 2H, *J* = 6.7, CH<sub>2</sub>), 1.93 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm): δ 193.7 (s, COS), 173.5 (s, COCH<sub>3</sub>), 150.1 (2x s, 2x C-aromat.), 139.8 (s, C-aromat.), 107.8 (d, C-aromat.), 105.2 (2x d, 2x C-aromat.), 40.3 (t, CH<sub>2</sub>), 29.1 (t, CH<sub>2</sub>), 22.5 (q, CH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S: berechnet 276.0783 [M+Na]<sup>+</sup> gefunden 276.0796 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3-[(3-*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-propionsäure-*tert*-butylester

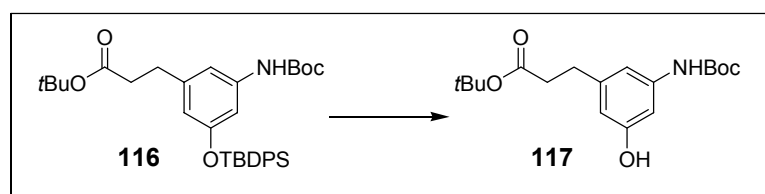


1.81 ml *tert*-Butylacetat (13.38 mmol, 3.0 Äq.) wurden in trockenem THF gelöst und auf -78°C gekühlt. Anschließend wurden 6.69 ml LDA [(2M in THF/*n*-Heptan) 13.38 mmol, 3.0 eq] zugegeben und die Lösung für eine Stunde bei -78°C gerührt. 2.41 g des Benzylbromids **22** (4.46 mmol, 1.0 Äq.) wurden in wasserfreiem THF gelöst und zur Reaktionsmischung zugetropft. Es wurde auf -35°C erwärmt und für eine Stunde gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde mit NH<sub>4</sub>Cl-Lösung hydrolysiert, auf Raumtemperatur erwärmt und die organische Phase abgetrennt. Die verbliebene wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (2x) extrahiert und die vereinten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde im Vakuum eingeeengt. Die anschließende chromatographische Reinigung erfolgte mit PE/EE = 30:1 → 20:1 und erbrachte 2.383 g des Esters **116** (4.14 mmol, 93%) als hochviskose, farblose Masse.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 7.72 – 7.68 (m, 4 H, H-aromat.), 7.44 – 7.34 (m, 6H, H-aromat.), 6.93 (bs, 1H, H-aromat.), 6.51 (t, 1H, *J* = 2.1 Hz, H-aromat.), 6.23

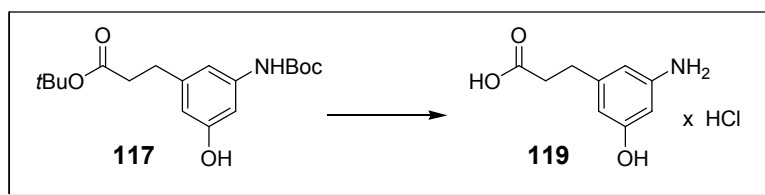
(bs, 1H, NH), 6.22 (m, 1H, H-aromat.), 2.64 (dd, 2H,  $J = 8.3, 7.8$  Hz, 3-H, 3-H'), 2.28 (dd, 2H,  $J = 8.3, 7.8$  Hz, 2-H, 2-H'), 1.46 (s, 9H, *t*Bu), 1.40 (s, 9H, *t*Bu), 1.08 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  172.2 (s,  $\text{COO}t\text{Bu}$ ), 155.9, 152.4 (2x s, NHCO, C-aromat.), 142.6 (s, C-aromat.), 139.0 (s, C-aromat.), 135.5 (d, C-aromat.), 132.8 (s, C-aromat.), 129.8 (d, C-aromat.), 127.7 (d, C-aromat.), 114.5 (d, C-aromat.), 111.2 (d, C-aromat.), 107.6 (d, C-aromat.), 82.0 (s, *t*Bu), 80.2 (s, *t*Bu), 36.8 (t, C-2), 31.0 (t, C-3), 28.3 (q, *t*Bu), 28.0 (q, *t*Bu), 26.4 (q, *t*Bu), 19.4 (s, *t*Bu) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{34}\text{H}_{45}\text{NO}_5\text{Si}$ : berechnet 574.2989  $[\text{M-H}]^-$  gefunden 574.2965  $[\text{M-H}]^-$ .

### 3-[3-Hydroxy-5-(*tert*-butoxycarbonylamino)-phenyl]-propionsäure-*tert*-butylester



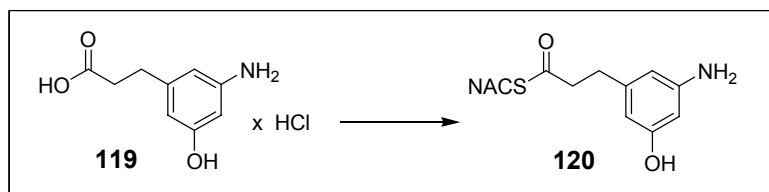
720 mg des Esters **116** (1.25 mmol, 1.0 Äq.) wurden in THF gelöst und bei 0°C mit 395 mg TBAF\*3H<sub>2</sub>O [1.25 mmol, 1.0 eq (als 1M Lösung in THF)] versetzt. Die Lösung wurde für etwa eine Stunde bei 0°C gerührt und anschließend mit gesättigter Ammoniumchloridlösung hydrolysiert. Nach dem Abtrennen der organischen Phase wurde die verbleibende wässrige Phase mehrmals (3x) mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingeeengt und säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgradienten PE/EE = 5:1 → 2:1 gereinigt. Es wurden 360 mg **117** (1.07 mmol, 86%) als farbloser Schaum erhalten.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS = 0.00 ppm):  $\delta$  6.87 (bs, 1H, OH), 6.67, 6.54, 6.38 (3x m, 3x 1H, 3x H-aromat.), 6.23 (s, 1H, NH), 2.78 (m, 2H, 2-H, 2-H'), 2.49 (m, 2H, 3-H, 3-H'), 1.50 (s, 9H, *t*Bu), 1.42 (s, 9H, *t*Bu) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CDCl}_3 = 77.0$  ppm):  $\delta$  172.7 (s, C-1), 156.6, 152.9 (2x s, NHCO, C-aromat.), 142.9, 139.3 (2x s, 2x C-aromat.), 110.6, 110.3, 103.9 (3x d, 3x C-aromat.), 80.7 (s, NHCOO), 36.8 (t, C-2), 31.1 (t, C-3), 28.3, 28.0 (2x q, 2x *t*Bu) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_5$ : berechnet 336.1811  $[\text{M-H}]^-$  gefunden 336.1812  $[\text{M-H}]^-$ .

**3-(3-Hydroxy-5-amino)-propionsäure**

330 mg des Esters **117** (0.98 mmol, 1.0 Äq.) wurden in wasserfreiem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und mit etwa 3.0 ml Trifluoressigsäure (39.2 mmol, 40 Äq.) versetzt. Die Lösung rührte für 24 h und wurde anschließend im Wasserstrahlvakuum eingengt. Der Rückstand wurde mit Wasser versetzt wurde nun über Ionentauscher (Amberlite<sup>®</sup> IRA-900) gereinigt. Dafür wurde der Ionentauscher zunächst mit 2N NaOH in die entsprechende Hydroxid-Form überführt und anschließend bis zur Neutralität mit Wasser gewaschen. Die in Wasser gelöste Aminosäure wurde auf das Polymer gegeben, für etwa 30 Minuten geschüttelt und dieses anschließend zweimal mit Methanol gewaschen. Mit 0.1N HCl wurde das Produkt wieder vom Polymer abgelöst und die erhaltene wässrige (saure) Phase am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt. Es wurden 160 mg **119** (0.74 mmol, 76%) als beigefarbener Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$  4:1):  $\delta$  6.74 (m, 1H, H<sup>2</sup>-aromat.), 6.73 (m, 1H, H<sup>6</sup>-aromat.), 6.65 (m, 1H, H<sup>4</sup>-aromat.), 2.79 (t, 2H,  $J = 7.3$  Hz, 3-H, 3-H'), 2.59 (t, 2H,  $J = 7.3$  Hz, 2-H, 2-H') ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz,  $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$  4:1):  $\delta$  177.9 (s, COOH), 157.3 (s, C-aromat.), 144.9 (s, C-aromat.), 131.6 (s, C-aromat.), 116.1 (d, C-aromat.), 114.8 (d, C-aromat.), 108.4 (d, C-aromat.), 35.2 (t, CH<sub>2</sub>), 30.2 (t, CH<sub>2</sub>) ppm; **HRMS**  $m/z$  für  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$ : berechnet 180.0661 [M-H]<sup>-</sup> gefunden 180.0662 [M-H]<sup>-</sup>; **Smp.**: 245°C (Zers.).

**3-(3-Hydroxy-5-amino)-thiopropionsäure-S-(2-acetylamino-ethyl)-ester**

58.2 mg (267  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äq.) der Aminosäure **119** (bzw. des entsprechenden Hydrochlorids), 56.9  $\mu\text{l}$  *N*-Acetylcysteamin (535  $\mu\text{mol}$ , 2.0 Äq.), 35.9 mg 4-DMAP (294  $\mu\text{mol}$ , 1.1 Äq.) und 60.7 mg (294  $\mu\text{mol}$ , 1.1 Äq.) DCC wurden in der angegebenen Reihenfolge nacheinander in Acetonitril gelöst. Die Suspension wurde daraufhin für zwei Stunden ins Ultraschallbad gestellt, der entstandene Harnstoff anschließend abfiltriert und die Lösung eingengt. Die

abschließende Reinigung erfolgt *via* präparativer HPLC (Gradient H<sub>2</sub>O/MeOH = 80:20 → 0:100 in 30 Minuten, 9.5 ml/min, Produkt bei 20.5 Minuten). Die Ausbeute des farblosen, viskosen SNAC-Esters **120** betrug 20 mg (71 μmol, 27%).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CHD<sub>2</sub>OD = 3.31 ppm): δ 6.09 (m, 1H, H-aromat.), 6.05 (m, 1H, H-aromat.), 6.01 (m, 1H, H-aromat.), 3.30 (t, 2H, *J* = 6.5 Hz, NHCH<sub>2</sub>), 2.99 (t, 2H, *J* = 6.5 Hz, CH<sub>2</sub>S), 2.79 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ar), 1.91 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD = 49.0 ppm): δ 199.9 (s, C-1), 173.5 (s, COCH<sub>3</sub>), 159.3 (s, C-aromat.), 150.0 (s, C-aromat.), 143.4 (s, C-aromat.), 108.5 (d, C-aromat.), 106.6 (d, C-aromat.), 101.8 (d, C-aromat.), 46.3 (t, C-2), 40.1 (t, NHCH<sub>2</sub>), 32.5 (t, C-3), 29.2 (t, CH<sub>2</sub>S), 22.5 (q, COCH<sub>3</sub>) ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: berechnet 305.0936 [M+Na]<sup>+</sup> gefunden 305.0932 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 5.5. Verbindungen und Vorgehensweisen zu Kapitel 3.4.

#### Allgemeine Hinweise zu den Fütterungsstudien

Bei den Fermentationen wurden verschiedene Nährmedien eingesetzt. Wie auch sämtliche Apparaturen und Gerätschaften wurden diese grundsätzlich vor Verwendung sterilisiert (autoklaviert). Die entsprechenden Zutaten sind in der folgenden Liste mit dem jeweiligen Hersteller in Klammern aufgeführt:

<b>YMG-Agar-Platten</b>	Yeast-Extract (BACTO)	0.8 g
	Malt-Extract (SIGMA)	2.0 g
	D-Glucose monohydrat (FLUKA)	0.8 g
	Agar (BACTO)	4.4 g
	Wasser (bidest.)	200 ml
-----		
<b>YMG-Lösung</b>	Yeast-Extract (BACTO)	1.6 g
	Malt-Extract (SIGMA)	4.0 g
	D-Glucose monohydrat (FLUKA)	1.6 g
	Wasser (bidest.)	400 ml
-----		
<b>K-Medium</b>	Dextrin (FLUKA)	60.00 g
	Cotton seed flow (PROFLO)	5.25 g
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (FLUKA)	0.30 g
	D-Maltose monohydrat (SIGMA)	30.00 g
	Yeast-Extract (BACTO)	4.50 g
	FeSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	2 mg
	CaCO <sub>3</sub>	5.00 g
	Wasser (bidest.)	1000 ml

Alle in der Arbeit aufgeführten Fermentationen, sowie Anzüchtungen der Stämme wurden in einem Inkubator bei 30°C durchgeführt. Die Medien wurden grundsätzlich in einem 250 ml Schikane-Erlenmeyerkolben mit zusätzlicher Stahlfeder bei 225 rpm geschüttelt.



Nicht autoklavierte Zusätze (z.B. Substanzen und L-Valin) wurden durch einen Sterilfilter in die Lösungen eingebracht. Es wurde ausschließlich mit bidest. Wasser gearbeitet. Die Verfütterungen neuer Substanzen erfolgte immer parallel zu einer Null-Probe (keinerlei Zufütterung), sowie bei Nutzung der *HGF073*-Mutante einer weiteren Referenz-Probe (Zufütterung von AHBA) um die Aktivität des Stammes zu gewährleisten.

### **Zu den Arbeiten mit *HGF073***

Eine auf Agar-Platte selektierte Kolonie *HGF073* wurde auf einer neuen Platte verstrichen und 48 Stunden angezüchtet. Mit etwas YMG-Medium (2-3 ml) wurde der Stamm (hauptsächlich Sporen) in 50 ml YMG-Medium überführt und für 48 Stunden geschüttelt. Daraufhin wurden 2 ml dieses Mediums in 25 ml K-Medium überführt und 3 ml L(+)-Valin Lösung (3%ig in Wasser, RIEDEL-DE HAËN [Biosynth<sup>®</sup>]) zugegeben. Nach weiteren 3, 4 und 5 Tagen erfolgte die Zufütterung von jeweils  $\frac{1}{3}$  der entsprechenden Startereinheit (insgesamt 37.5  $\mu\text{mol}$ ,<sup>219</sup> in 1 ml Wasser oder Wasser/DMSO<sup>220</sup> gelöst). Nach 7 Tagen wurde das jeweilige Medium mit Wasser auf etwa 100 ml verdünnt und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), im Vakuum eingengt und in 1 ml Methanol aufgenommen. Aus den erhaltenen Rohextrakten erfolgte die erste Analytik per ESI-HRMS.

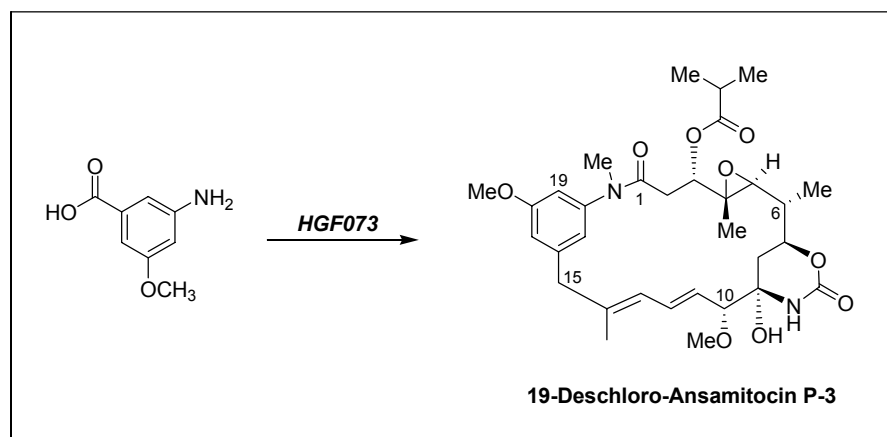
### **Zu den Arbeiten mit *HGF051***

Eine auf Agar-Platte selektierte Kolonie der Mutante *HGF051* wurde in 25 ml YMG-Medium überführt und für 24 Stunden geschüttelt. Nun wurden die entsprechenden Substanzen (0.5 mg **7**; 1.0 mg **AM413**) in 1 ml Ethanol oder Wasser/DMSO gelöst. Nach drei Tagen wurden die Ansätze dreimal mit Ethylacetat extrahiert, die vereinten organischen Phasen getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ) und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde in 0.5 ml Methanol aufgenommen und durch ESI-HRMS analysiert.

---

<sup>219</sup> 37.5  $\mu\text{mol}$  entsprechen 7.1 mg AHBA\*HCl

<sup>220</sup> DMSO wurde bezogen von FLUKA.

**19-Deschloro-Ansamitocin P-3**

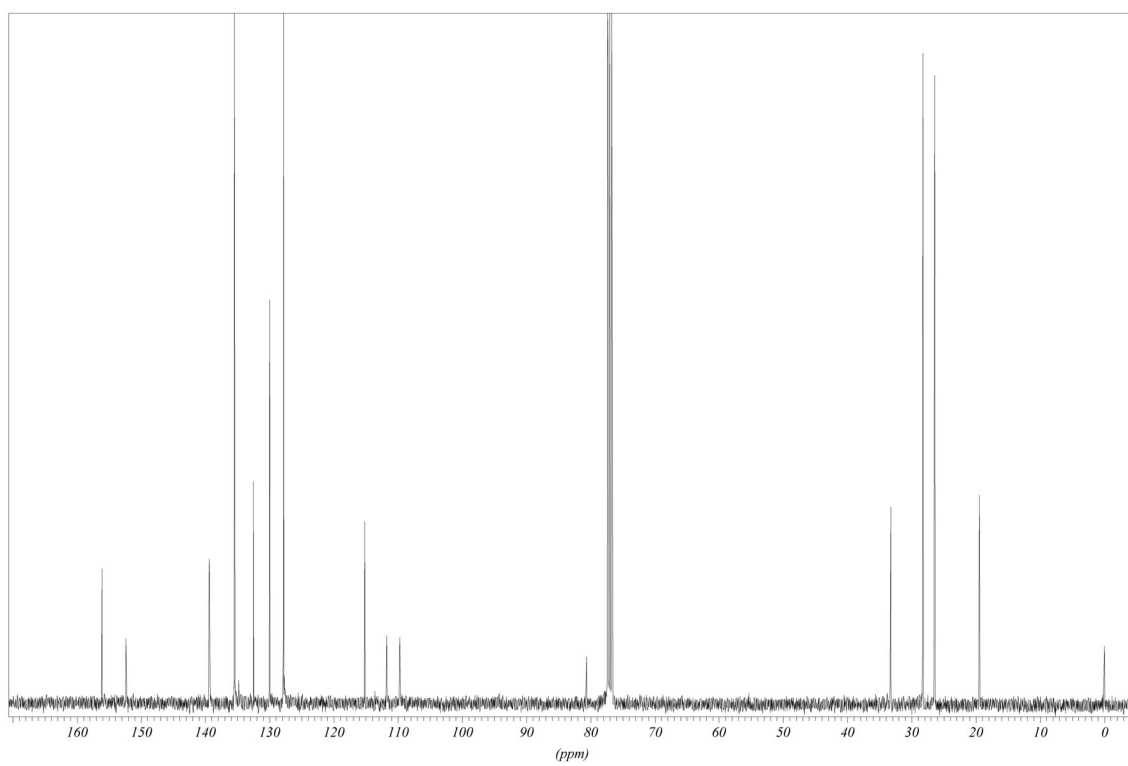
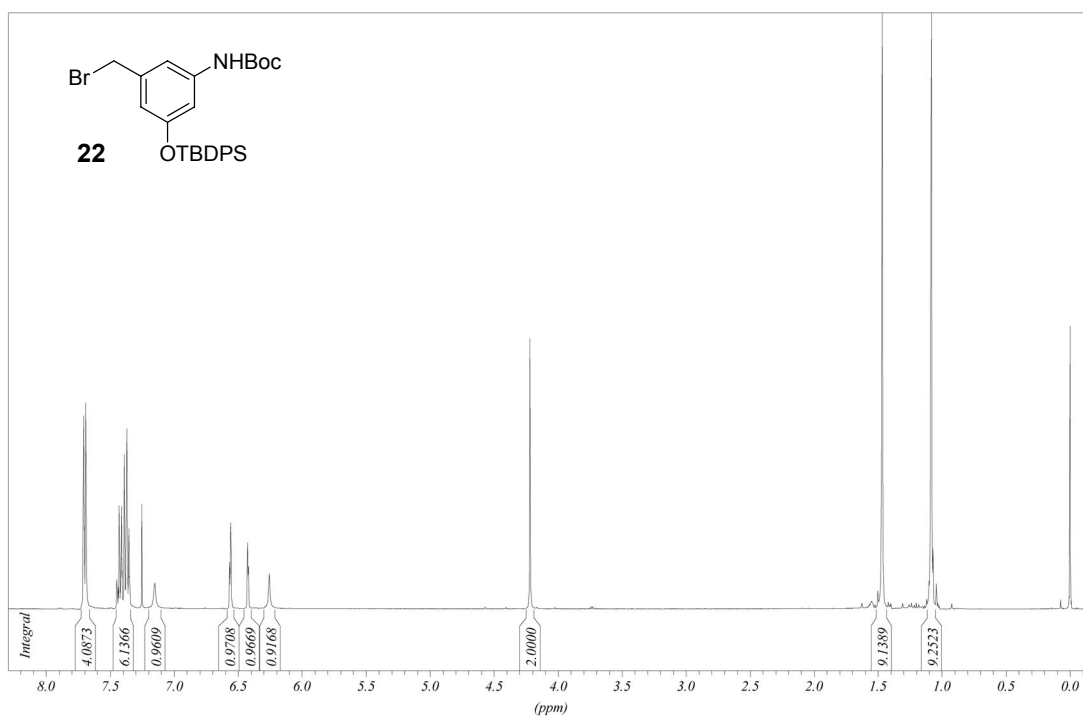
Die chemoenzymatische Synthese zum 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 erfolgte nach der bereits oben beschriebenen Methode mit der Blockmutante *HGF073*. Aus 250 ml K-Medium konnten hierbei 1.5 mg vom 19-Deschloro-Ansamitocin P-3 (**121**) nach Reinigung durch semipräparative HPLC erhalten werden (Gradient H<sub>2</sub>O/MeOH = 80:20 → 0:100 in 30 Minuten, dann 5 Minuten 100% MeOH, 6.0 ml/min, Produkt bei 30.6 Minuten).<sup>221</sup>

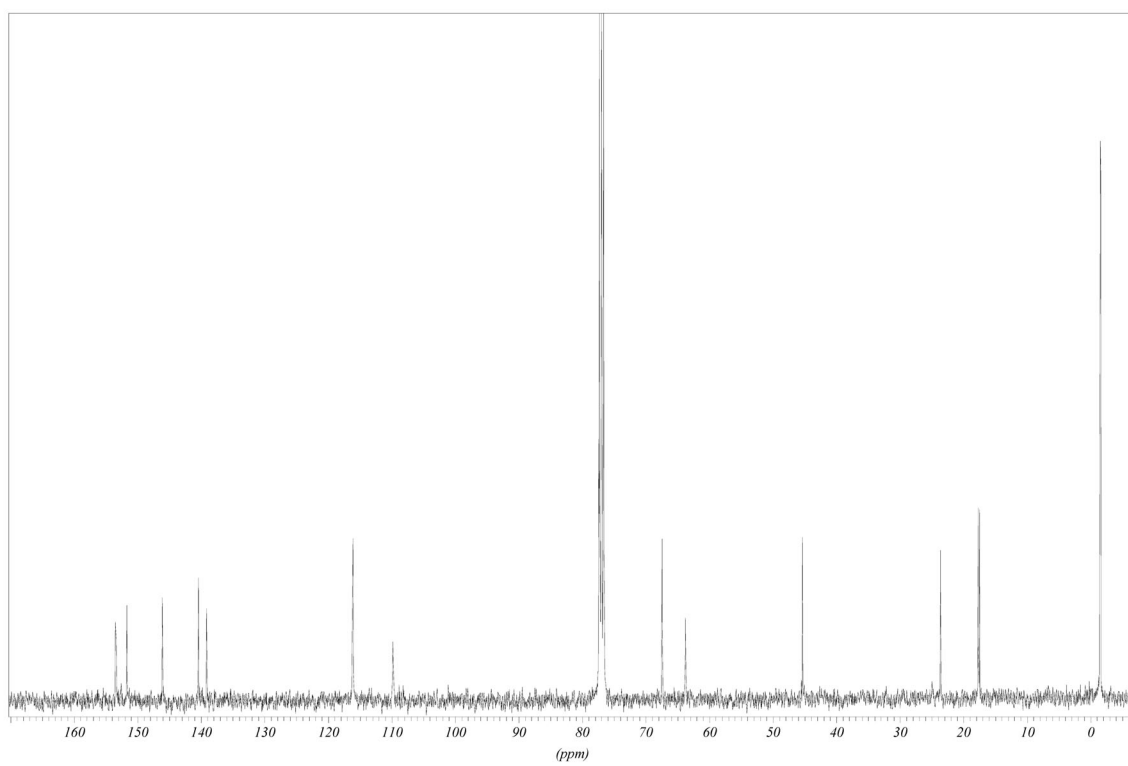
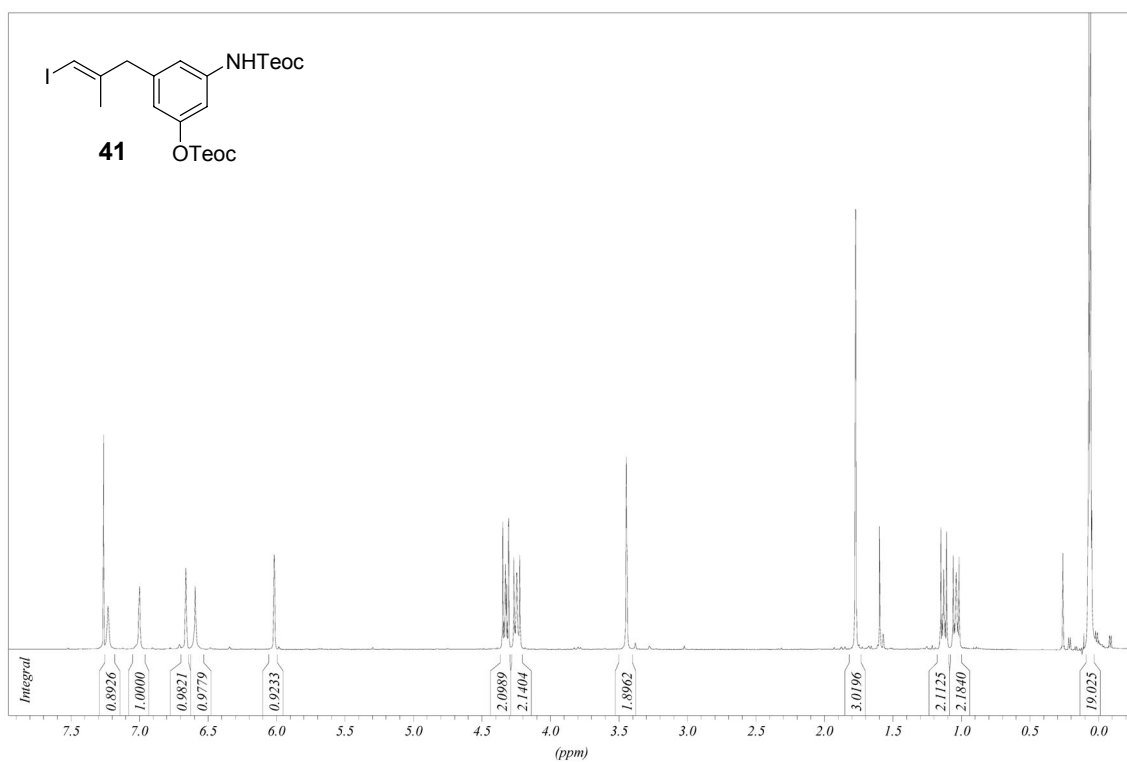
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS = 0.00 ppm): δ 6.79 (m, 2H, H-aromat.), 6.61 (dd, 1H, *J* = 2.1, 2.1 Hz, H-aromat.), 6.46 (dd, 1H, *J* = 15.4, 10.8 Hz, 12-H), 6.24 (bs, 1H, 9-NH), 6.17 (d, 1H, *J* = 10.8 Hz, 13-H), 5.46 (dd, 1H, *J* = 15.4, 9.0 Hz, 11-H), 4.85 (dd, 1H, *J* = 12.0, 2.8 Hz, 3-H), 4.28 (ddd, 1H, *J* = 12.2, 10.5, 1.8 Hz, 7-H), 3.86 (s, 3H, 20-OMe), 3.51 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz, 10-H), 3.50 (d, 1H, *J* = 13.5 Hz, 15-H), 3.36 (s, 3H, 10-OMe), 3.22 (s, 3H, NMe), 3.19 (d, 1H, *J* = 13.5 Hz, 15-H'), 3.08 (bs, 1H, 9-OH), 2.95 (d, 1H, *J* = 9.8 Hz, 5-H), 2.74 (dd, 1H, *J* = 13.9, 12.0 Hz, 2-H), 2.61 (sep, 1H, *J* = 7.0 Hz, 2'-H), 2.21 (dd, 1H, *J* = 13.9, 2.8 Hz, 2-H'), 1.70 (s, 3H, 14-Me), 1.67 (m, 1H, 6-H), 1.48 (m, 1H, 8-H), 1.29 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz, 6-Me), 1.26 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz, 3'-H), 1.25 (m, 1H, 8-H'), 1.20 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz, 4'-H), 0.85 (s, 3H, 4-Me) ppm; **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, CDCl<sub>3</sub> = 77.0 ppm): δ 175.9, 168.6, 160.6, 152.2, 145.3, 142.4, 140.6, 132.9, 127.3, 124.3, 120.5, 115.3, 110.1, 88.3, 80.9, 76.3, 74.3, 66.0, 60.5, 56.7, 55.5, 47.2, 38.8, 37.4, 35.8, 33.8, 33.3, 19.9, 17.9, 15.9, 14.6, 12.4 ppm; **HRMS** *m/z* für C<sub>34</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>5</sub>Si: berechnet 601.3125 [M+H]<sup>+</sup> gefunden 601.3138 [M+H]<sup>+</sup>.

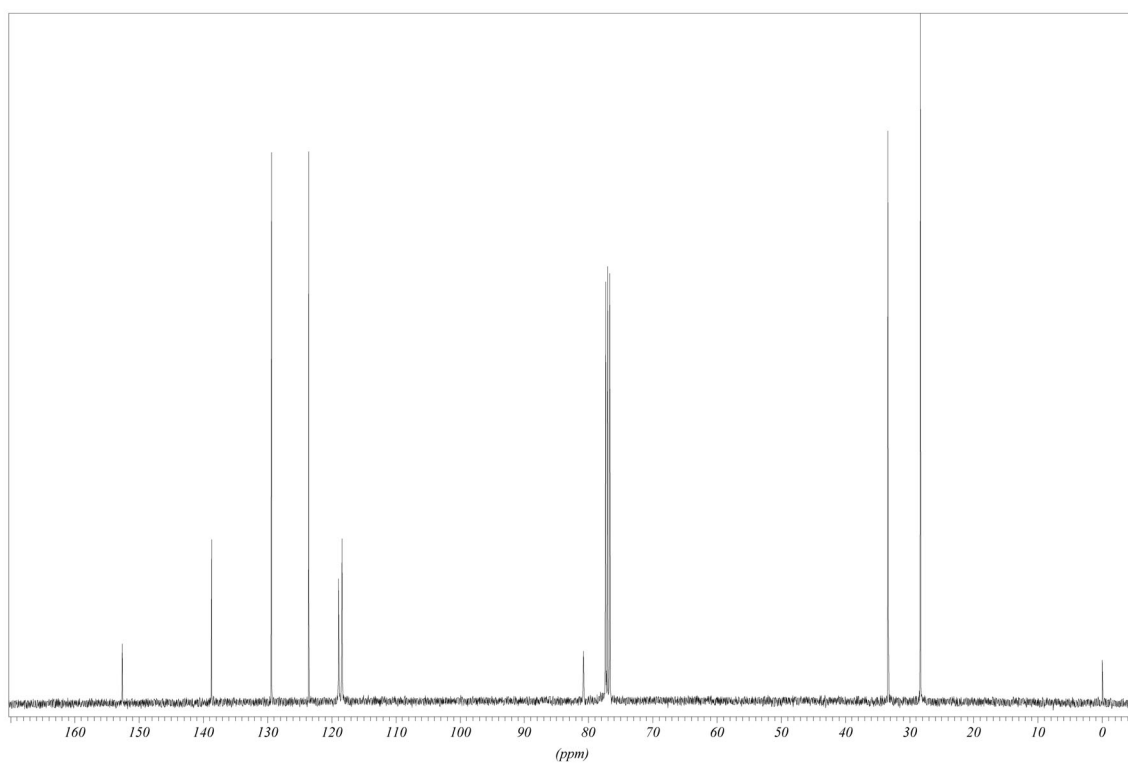
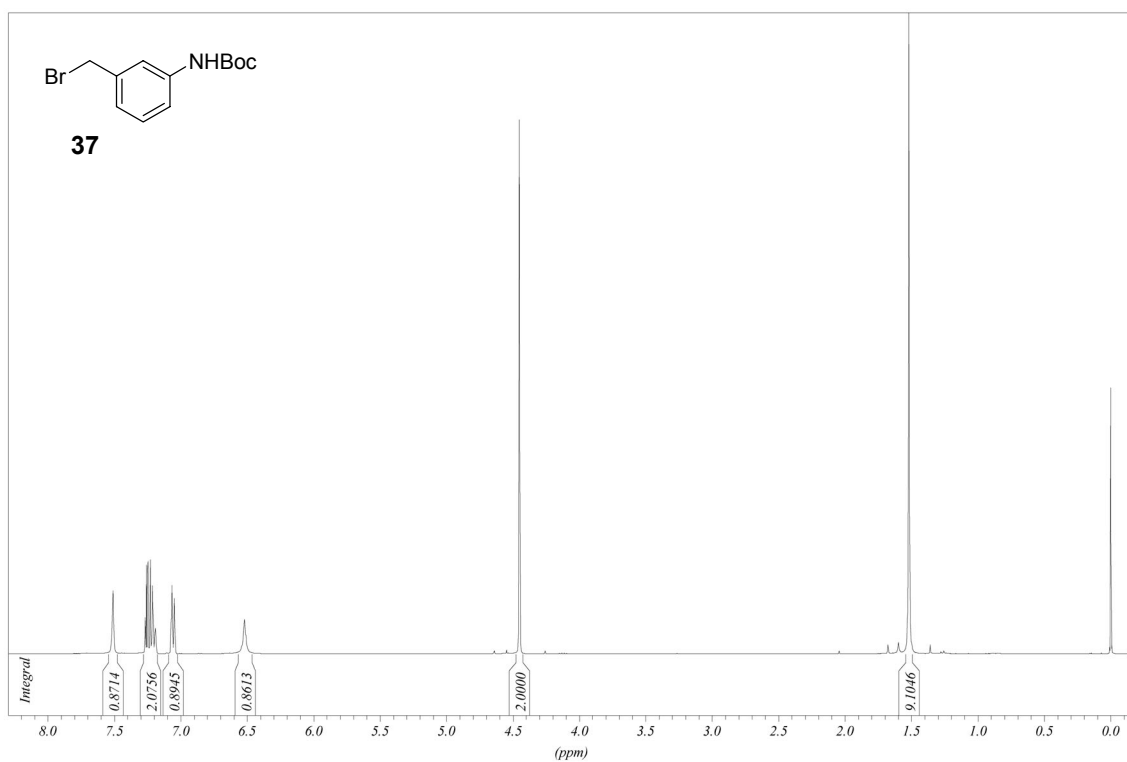
<sup>221</sup> Semipräparative HPLC (gleiches Programm) von Ansamitocin P-3: Produkt bei 29.3 Minuten.

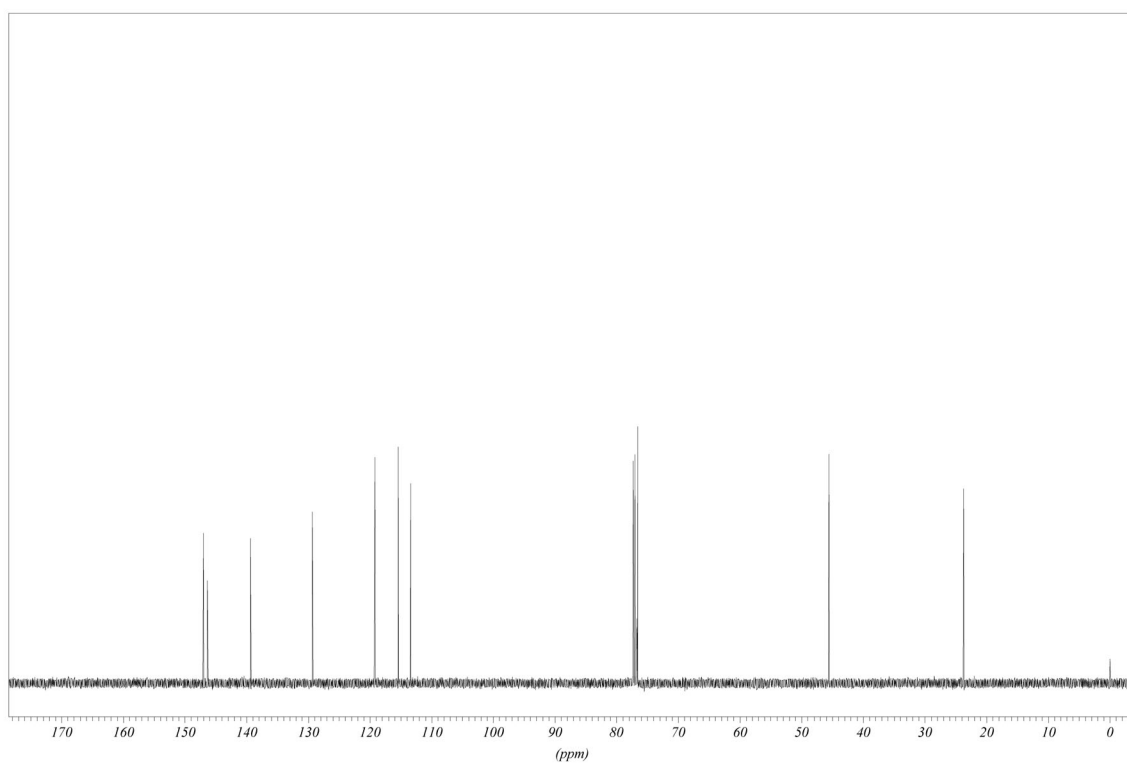
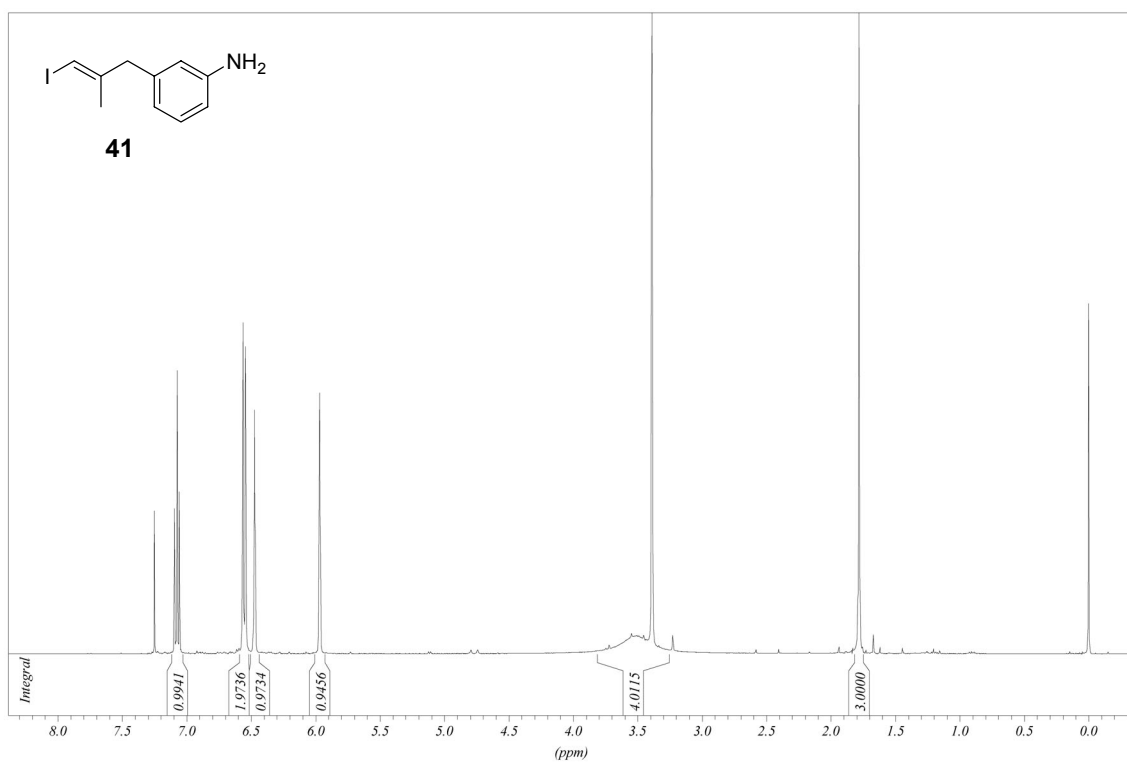
## ***6. Anhang***

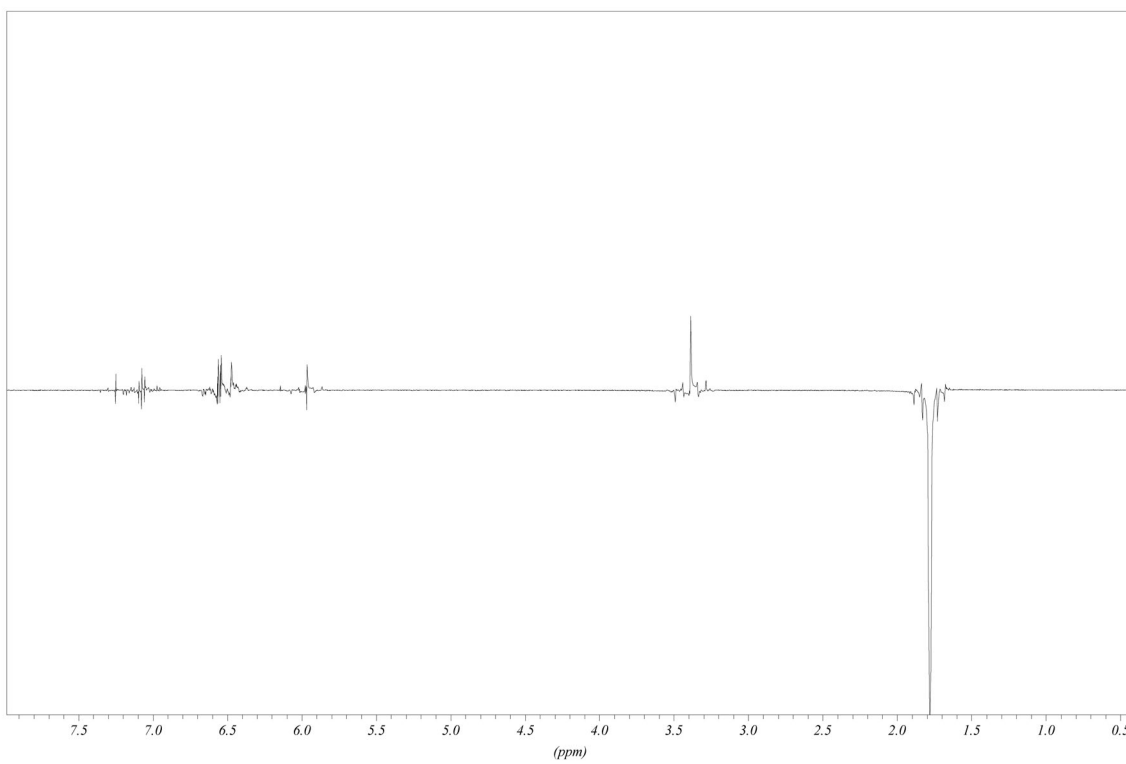
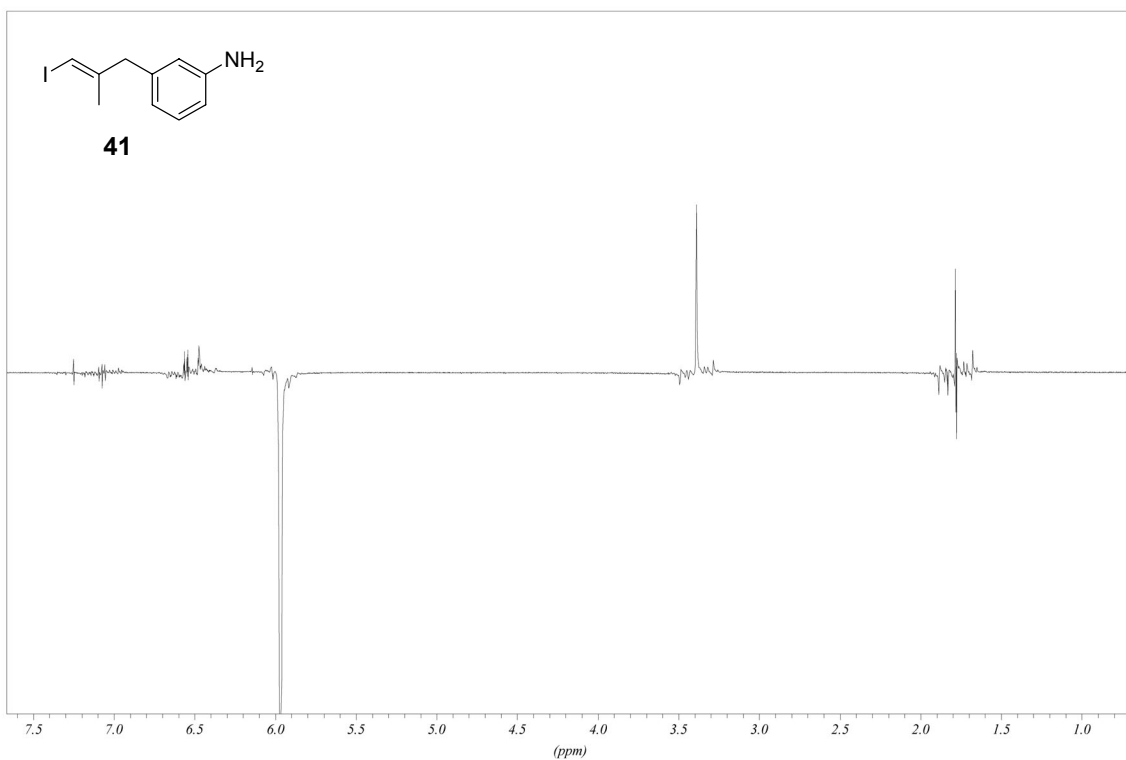
Auf den folgenden Seiten sind  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der wichtigsten Verbindungen aufgeführt. Für die durch Vorläufer-dirigierte Biosynthese dargestellten Substanzen sind darüber hinaus die ESI-MS und ESI-HRMS-Spektren, sowie die Chromatogramme der HPLC-Reinigung abgebildet.



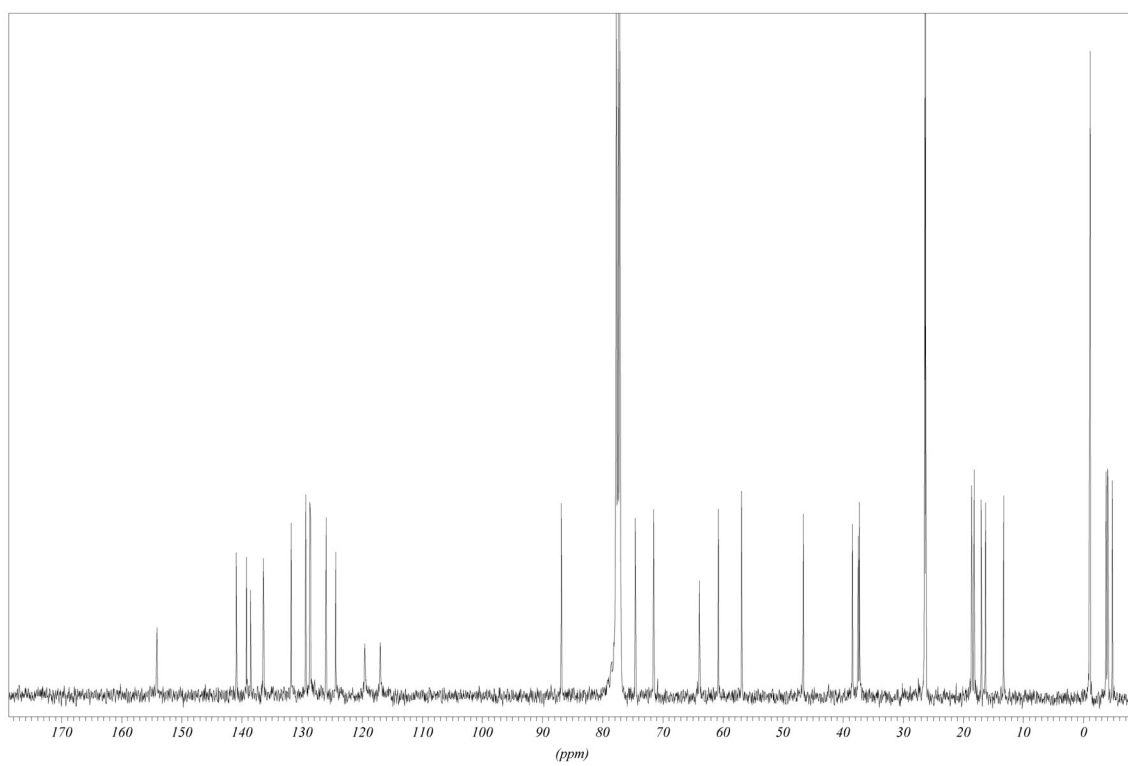
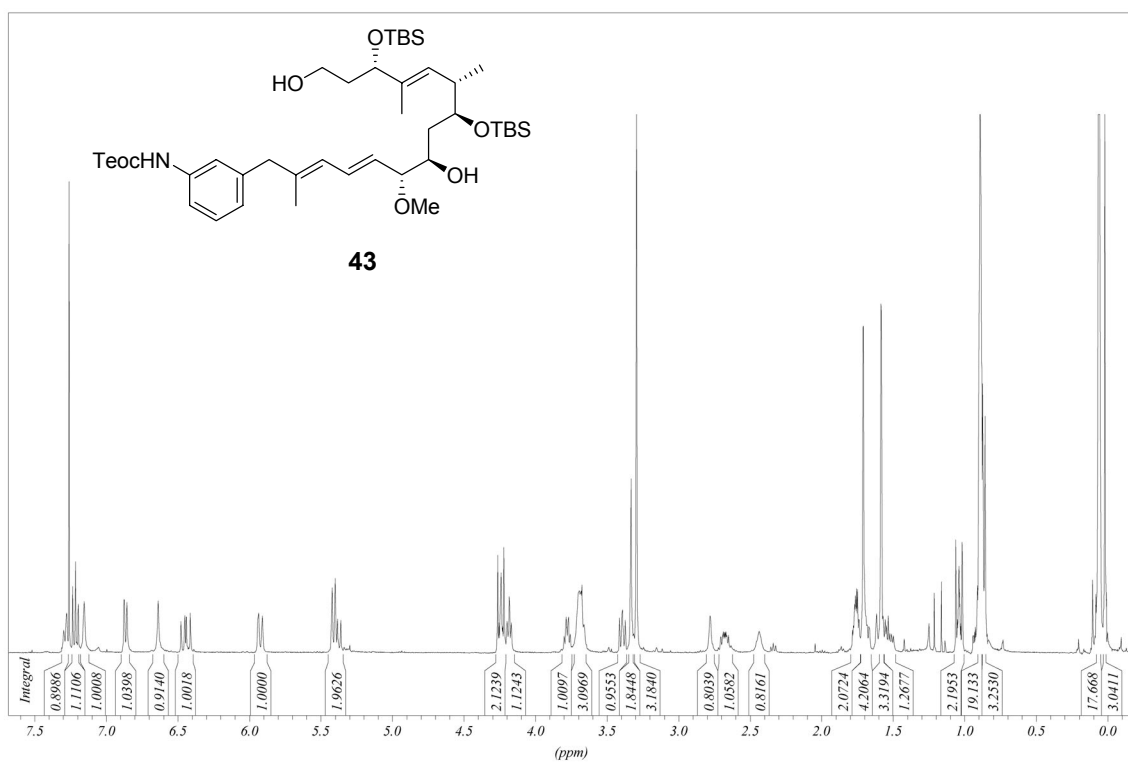


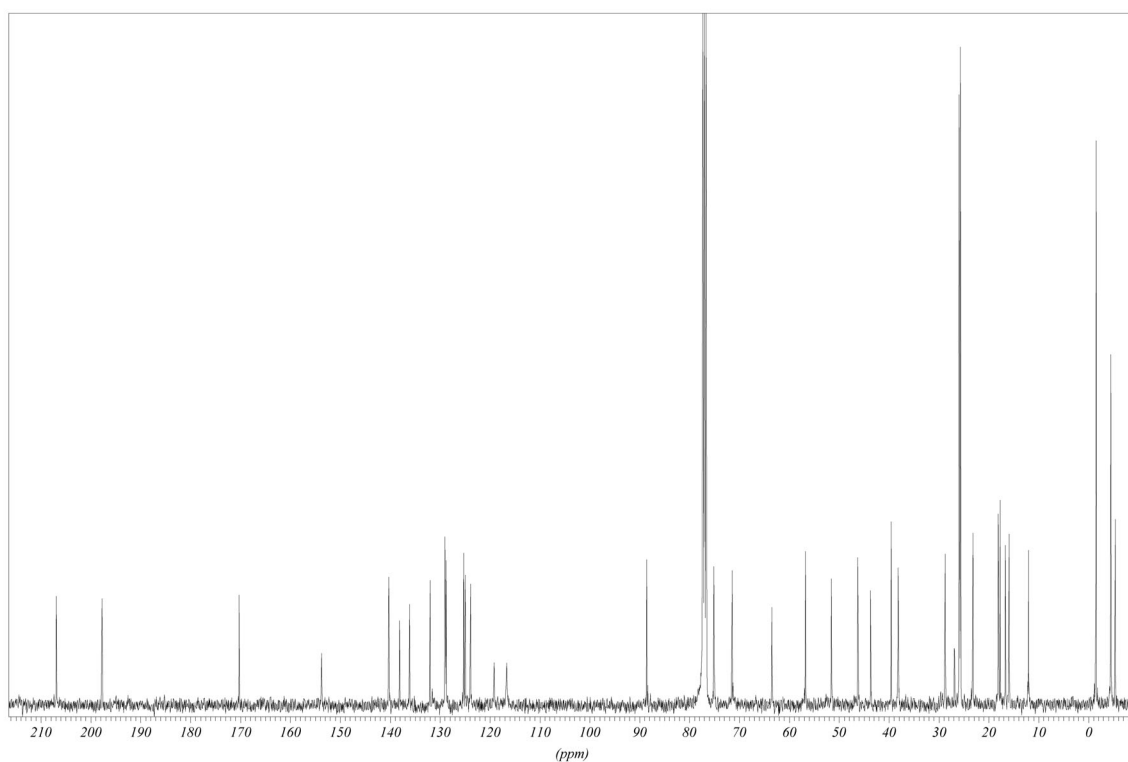
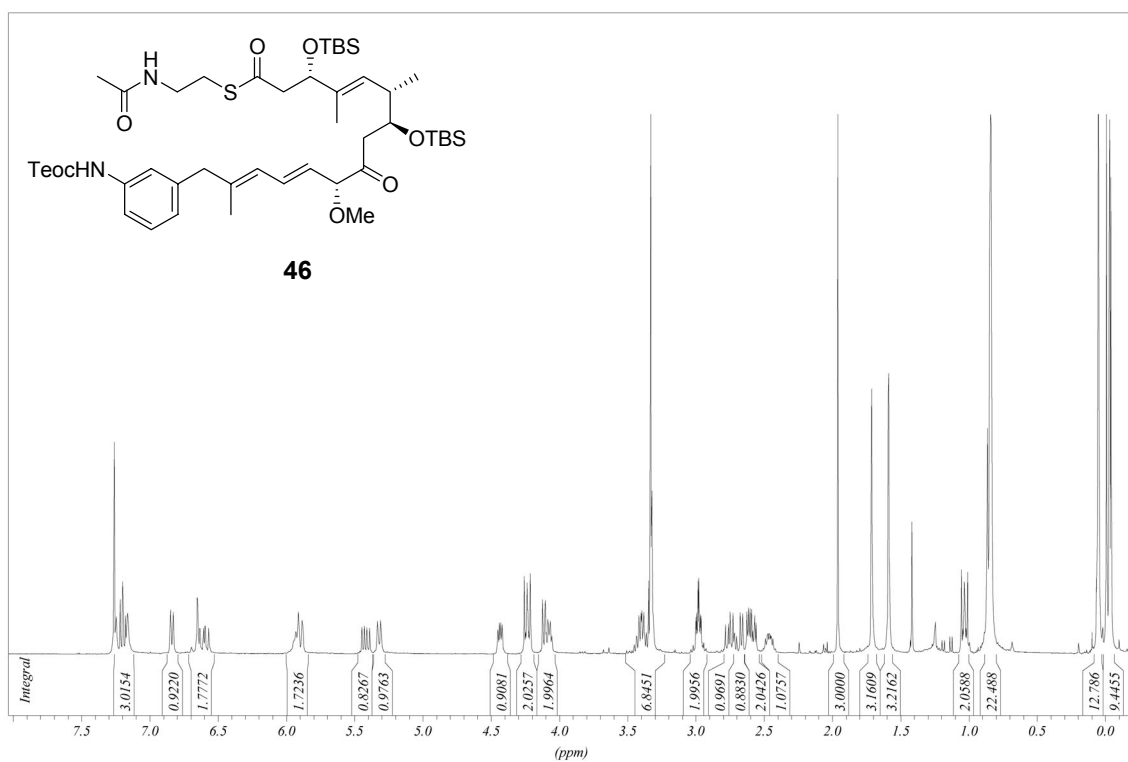


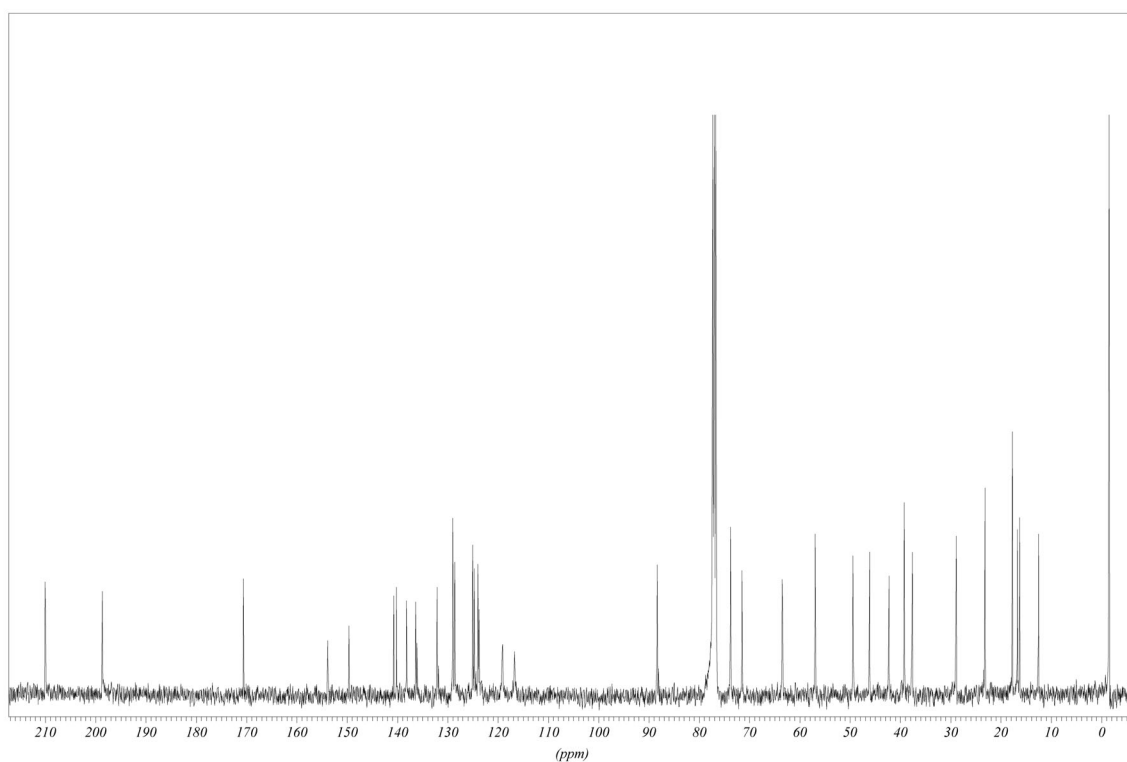
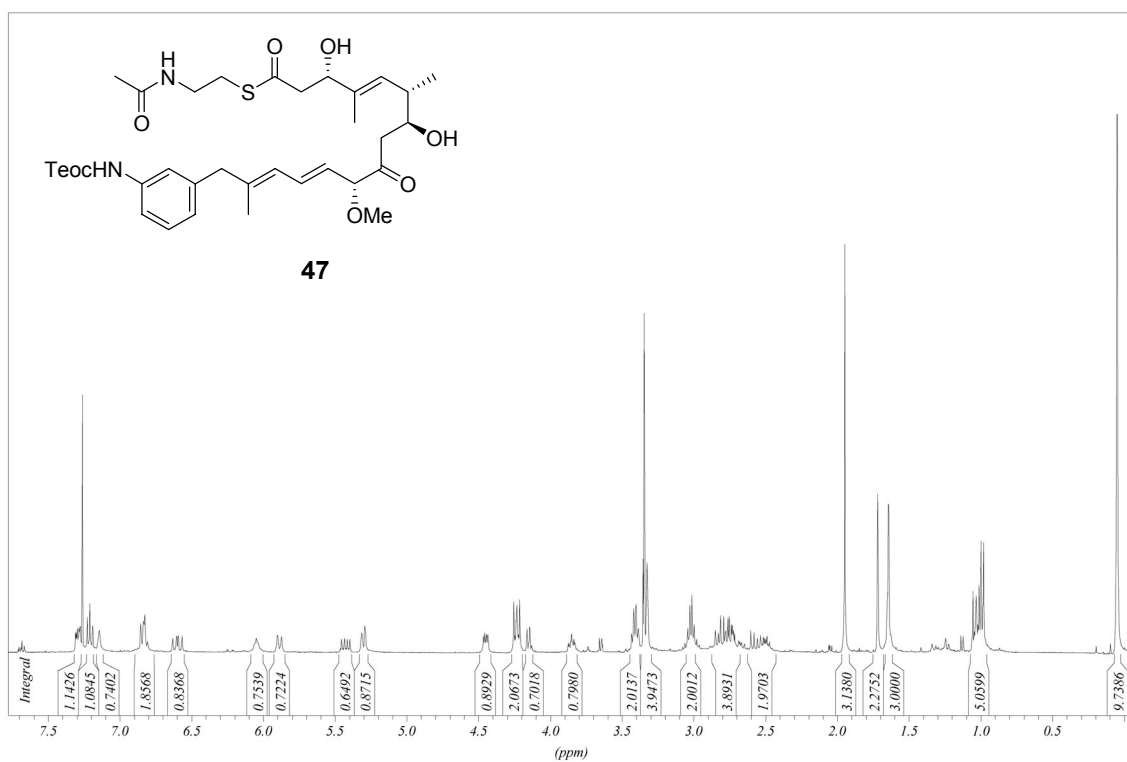


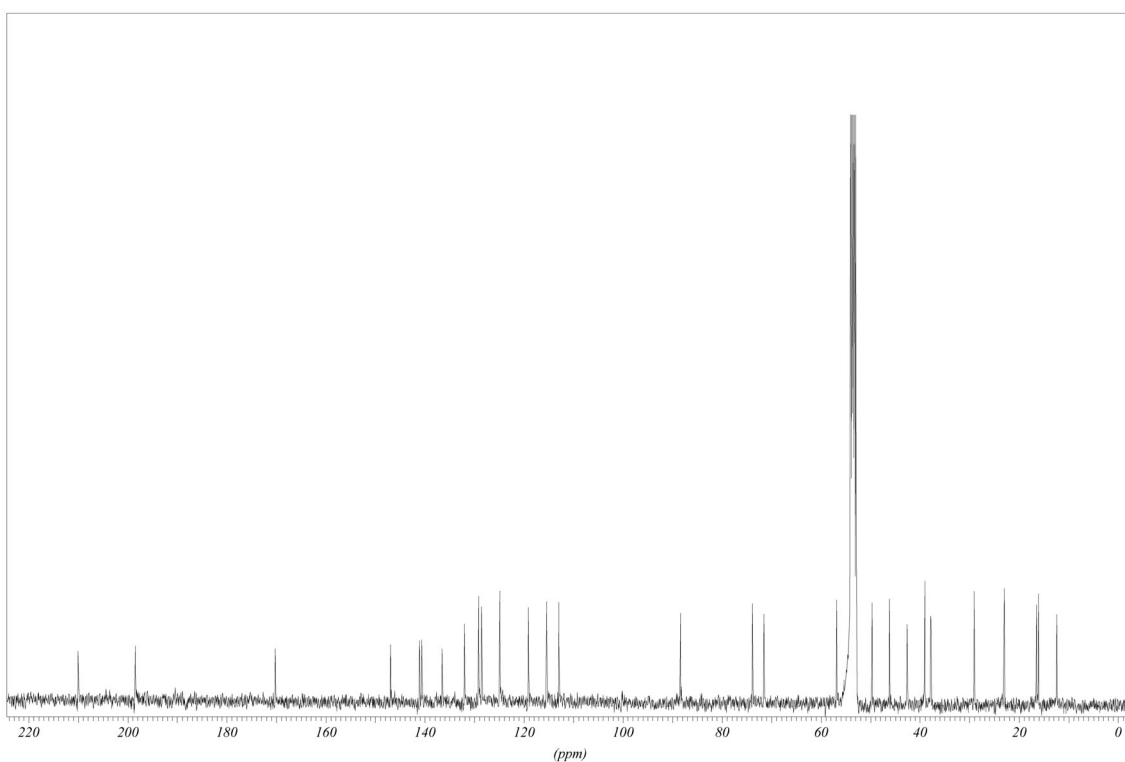
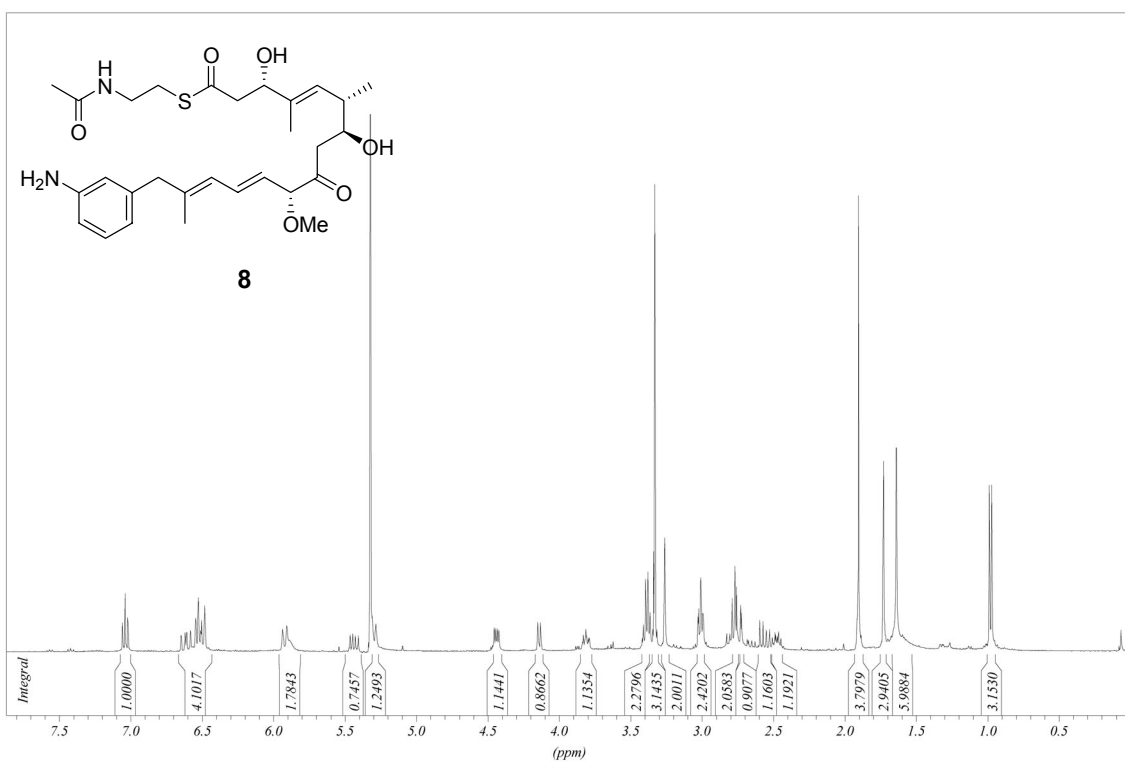


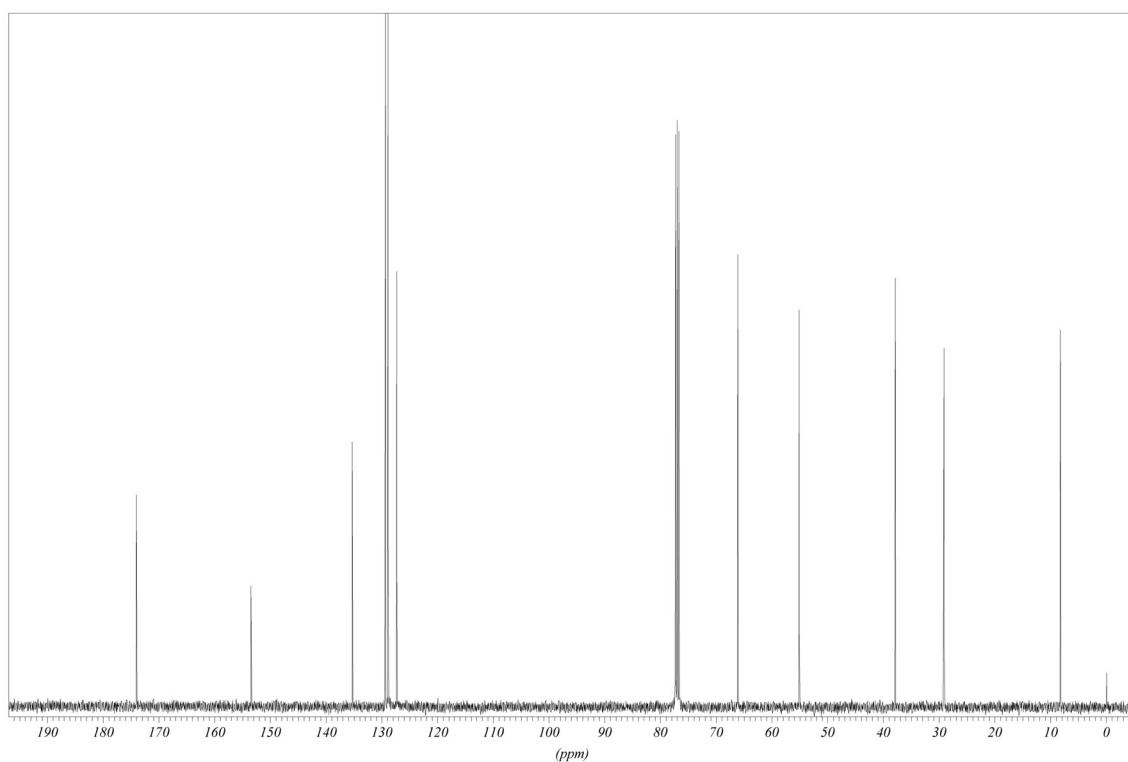
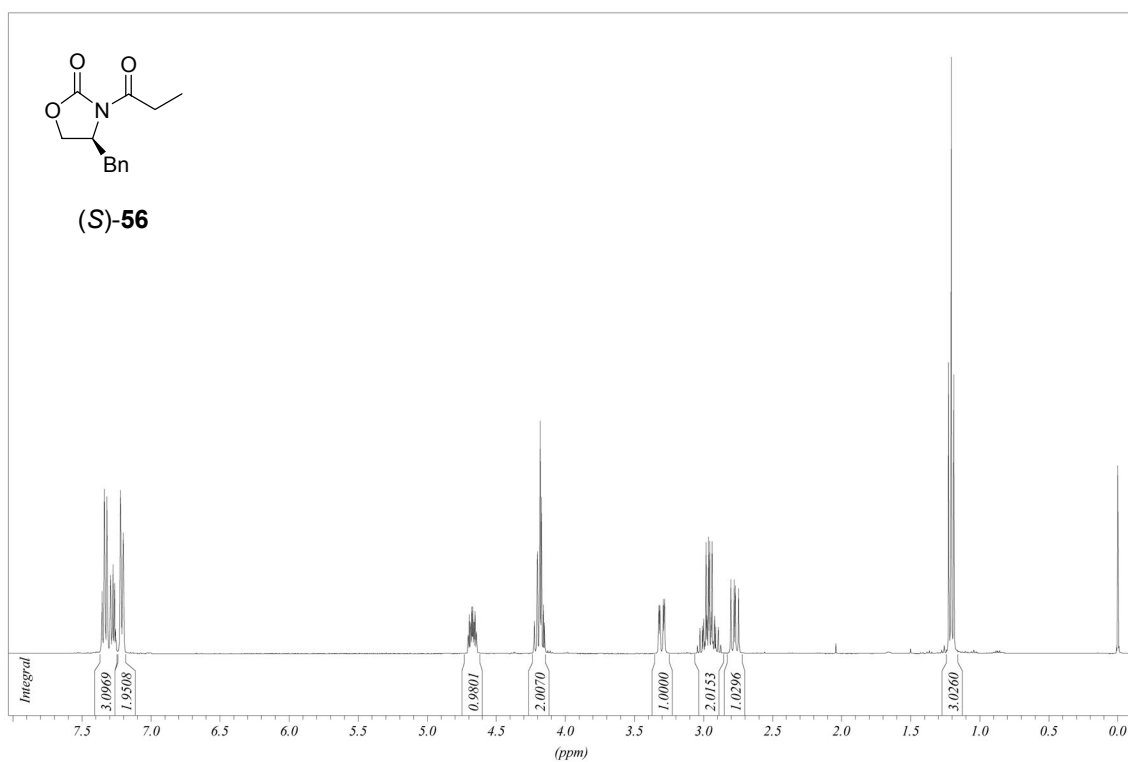


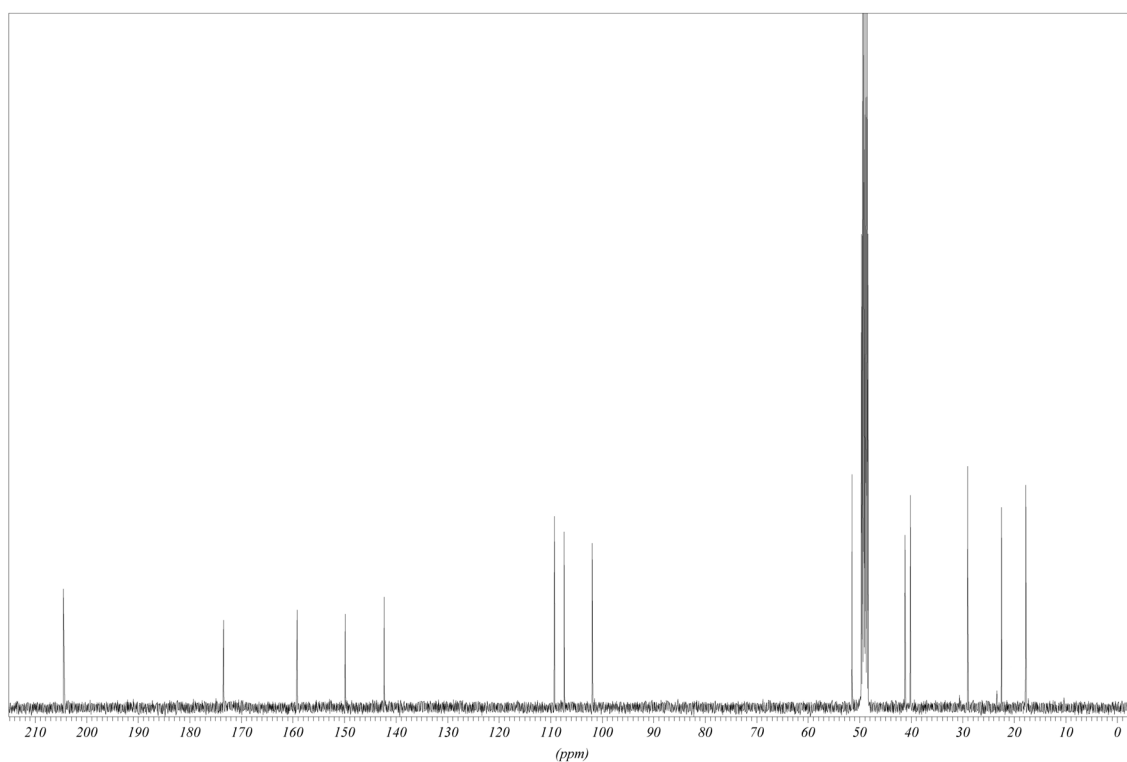
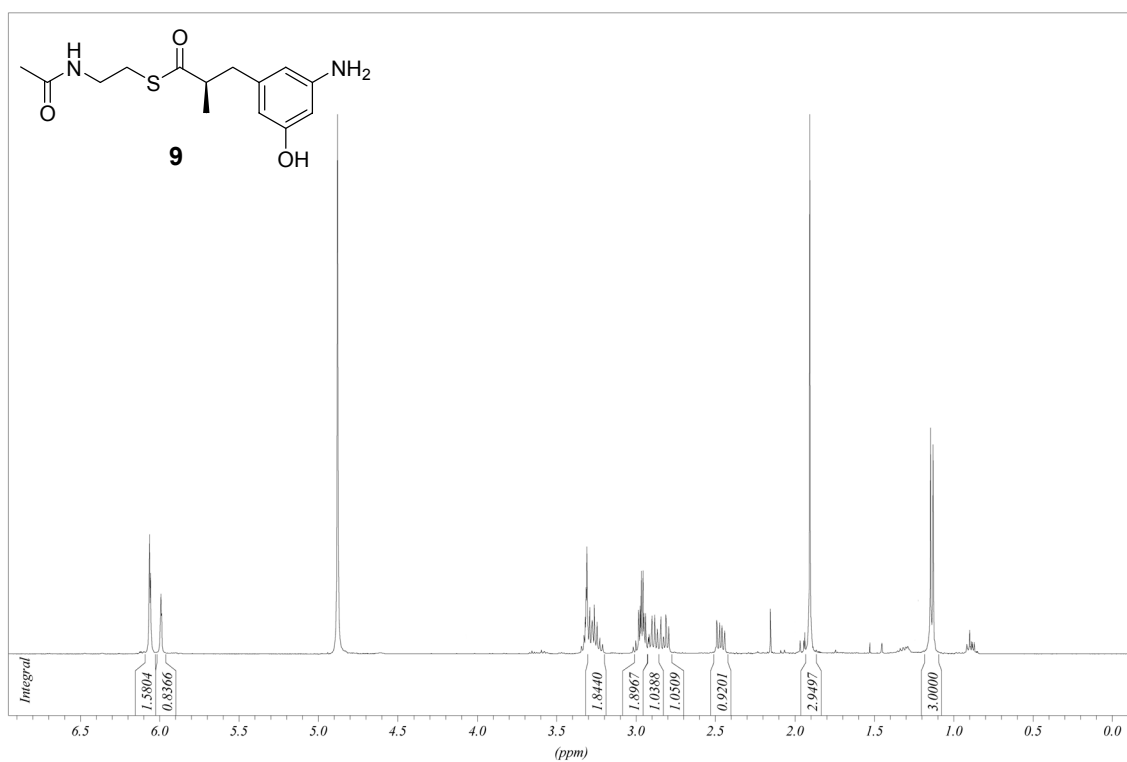


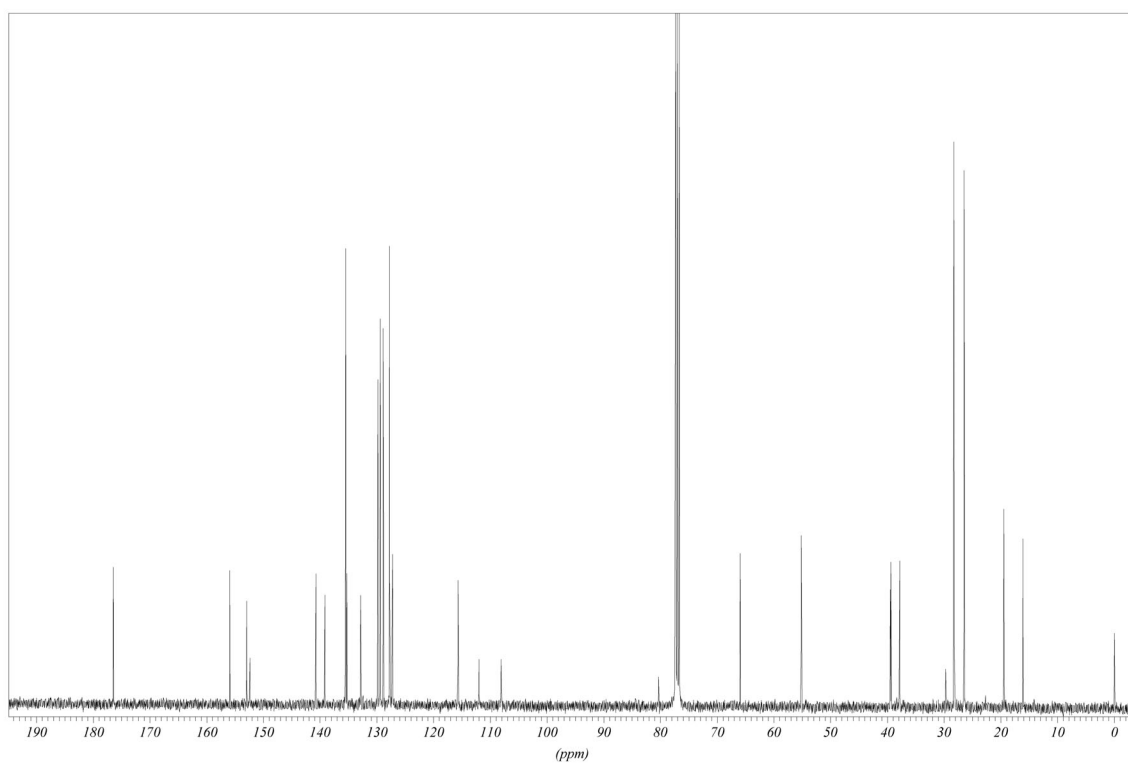
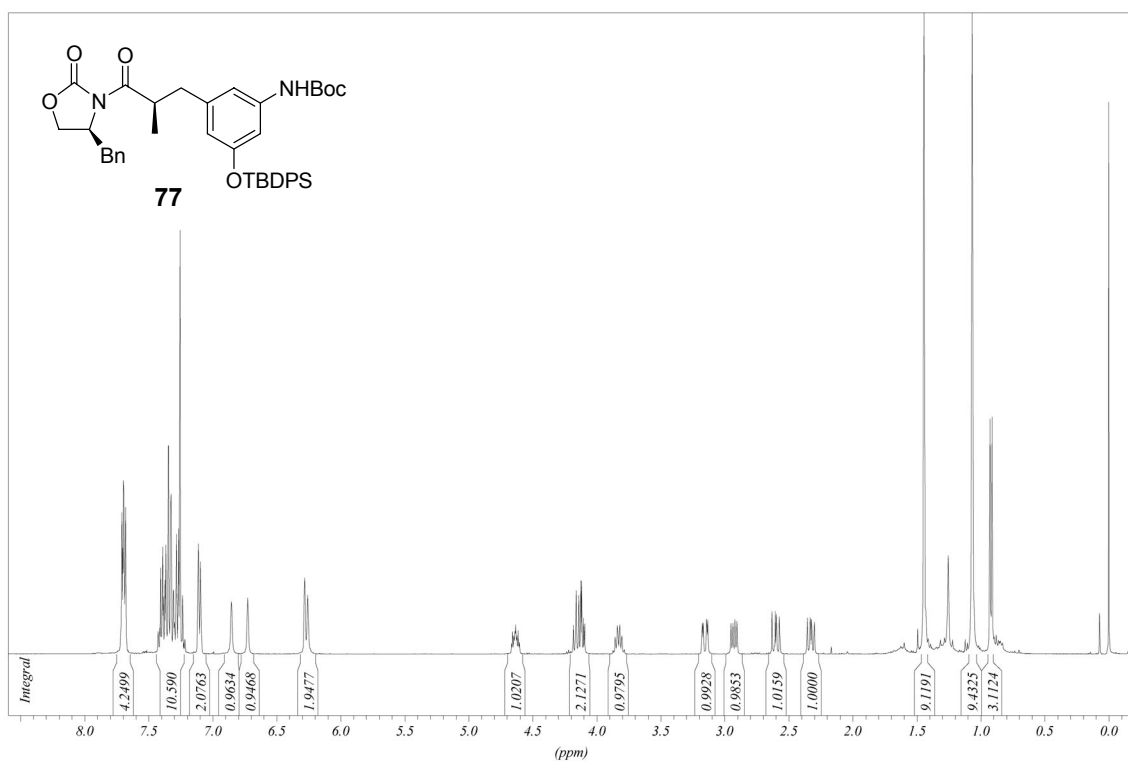


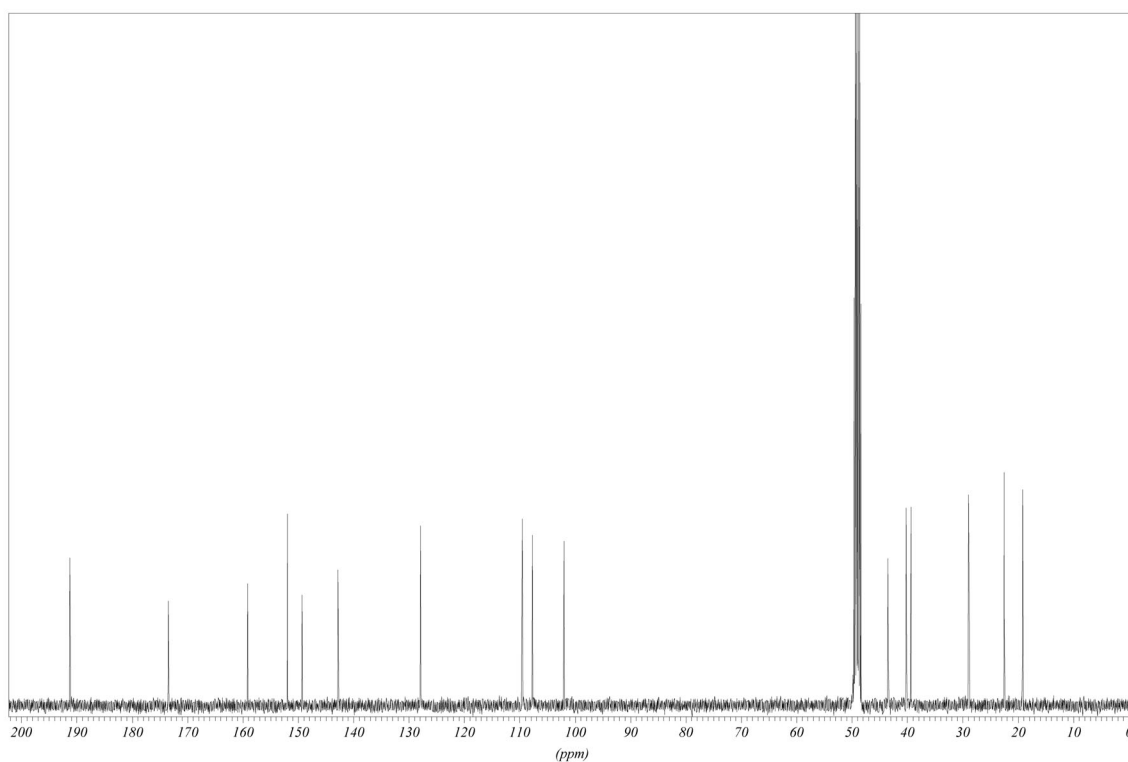
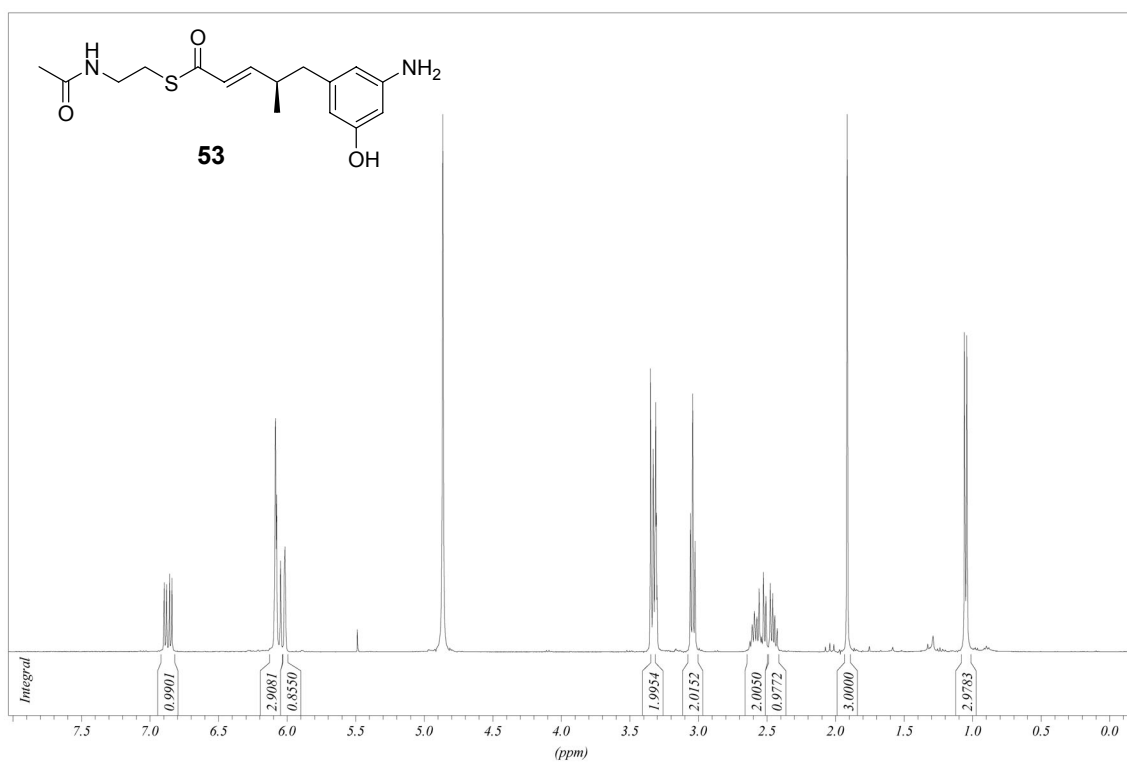




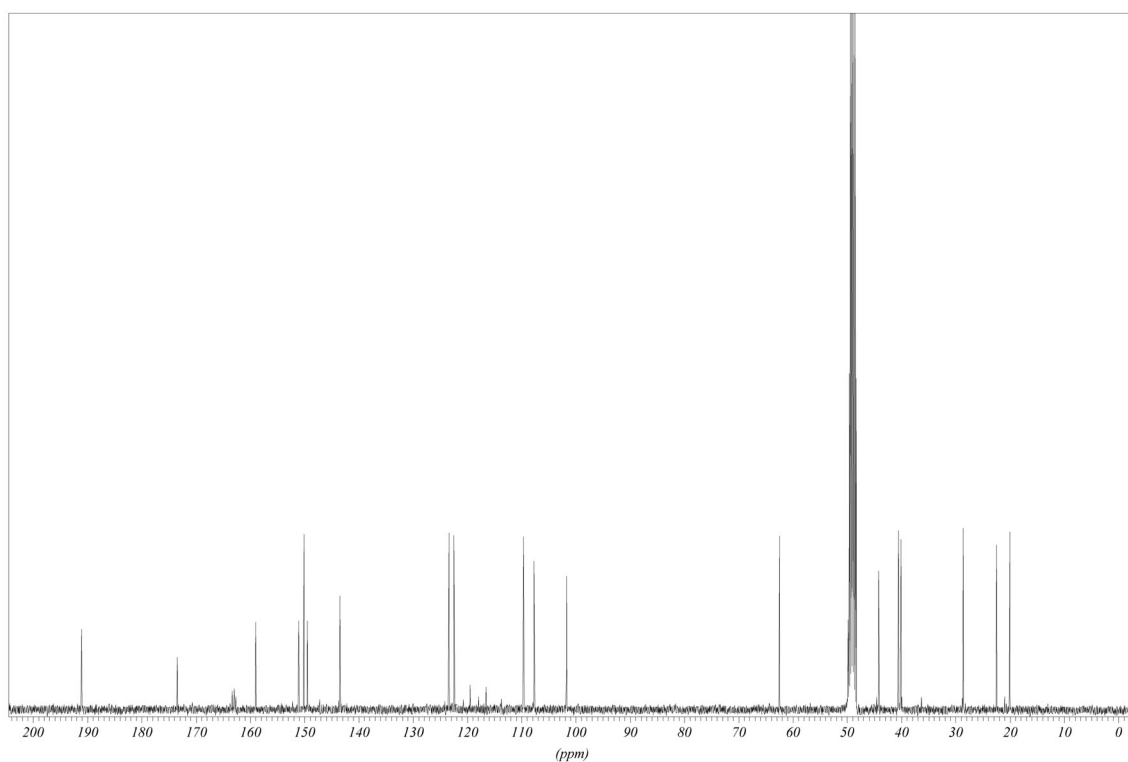
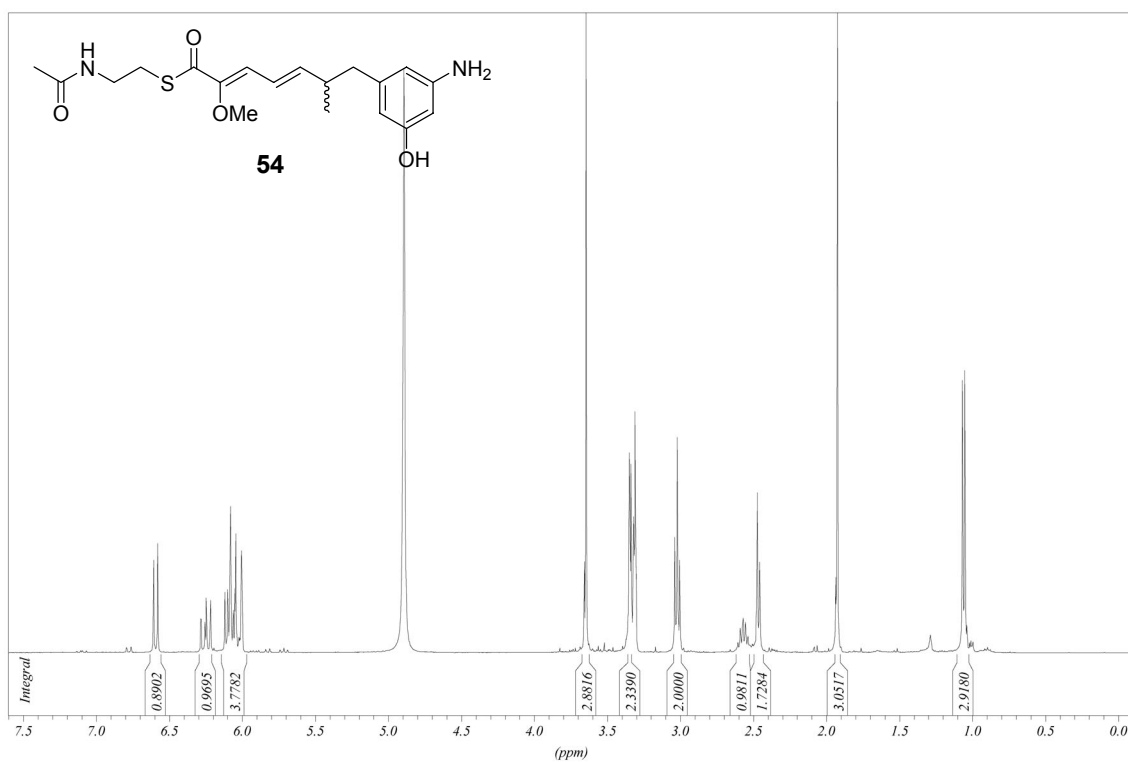


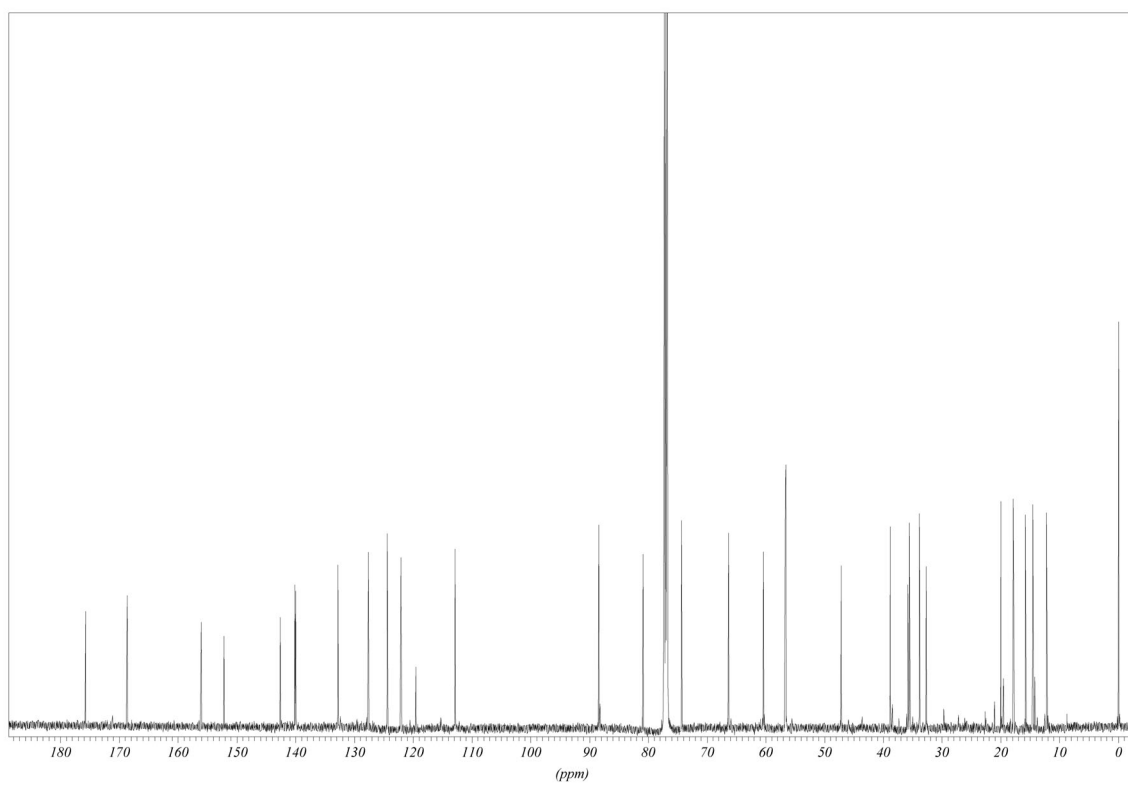
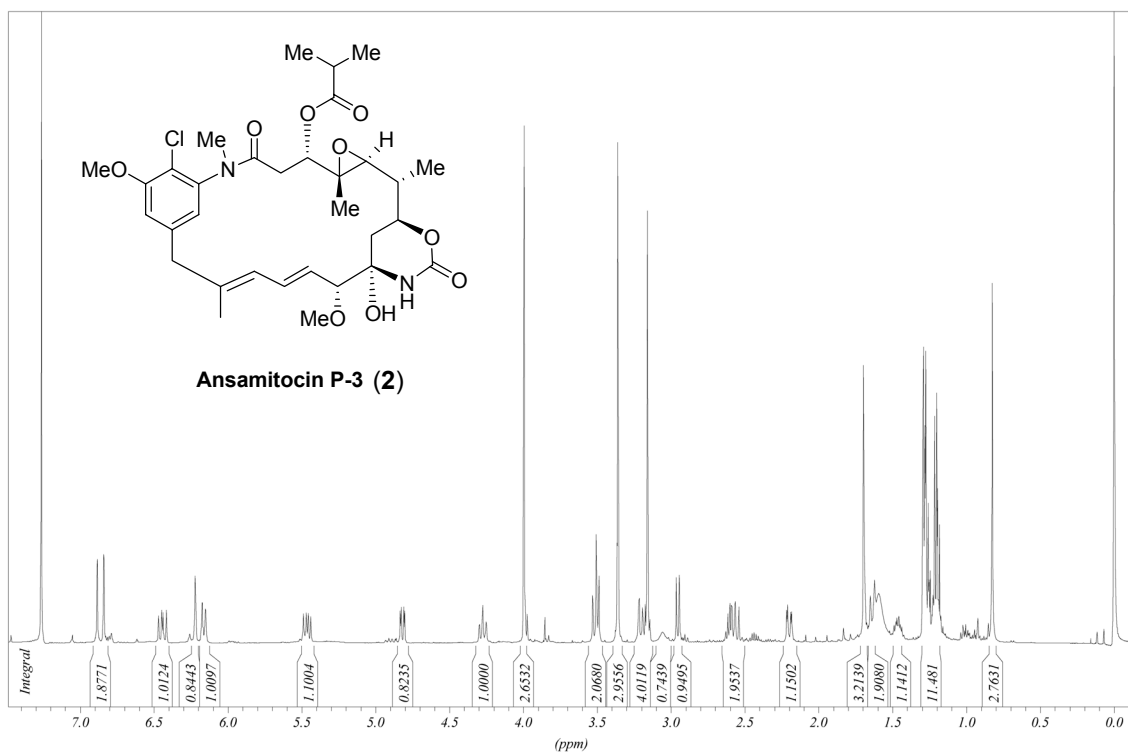


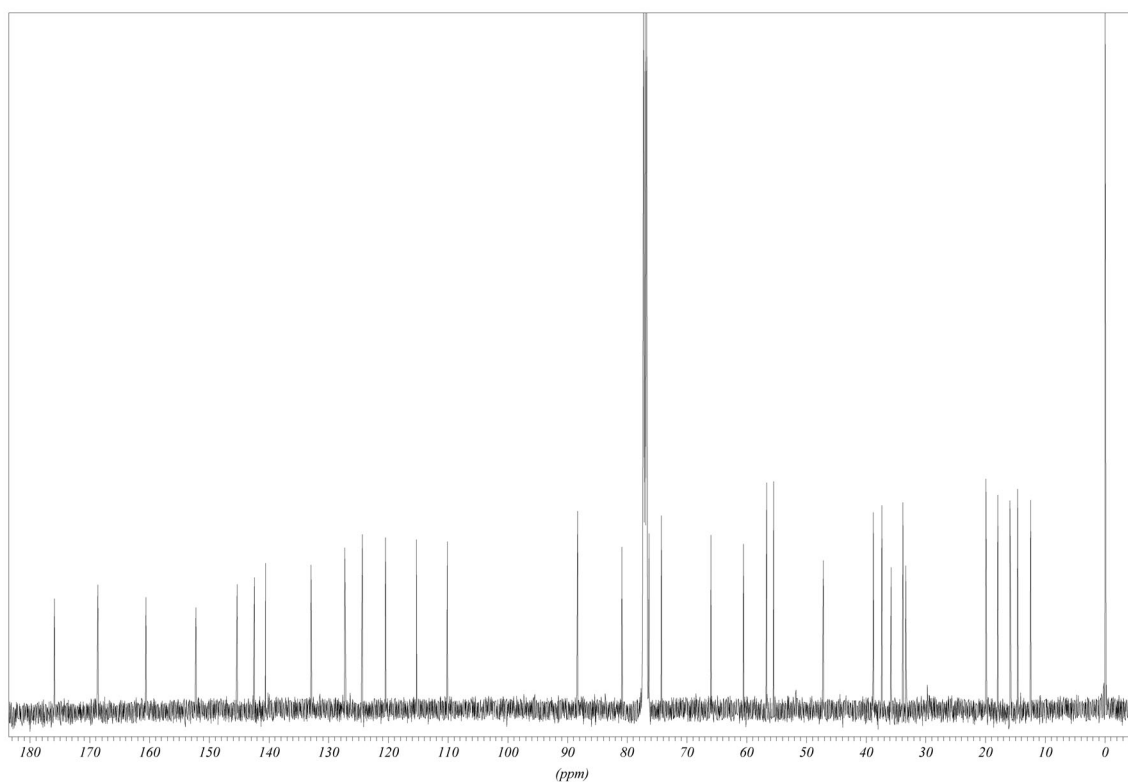
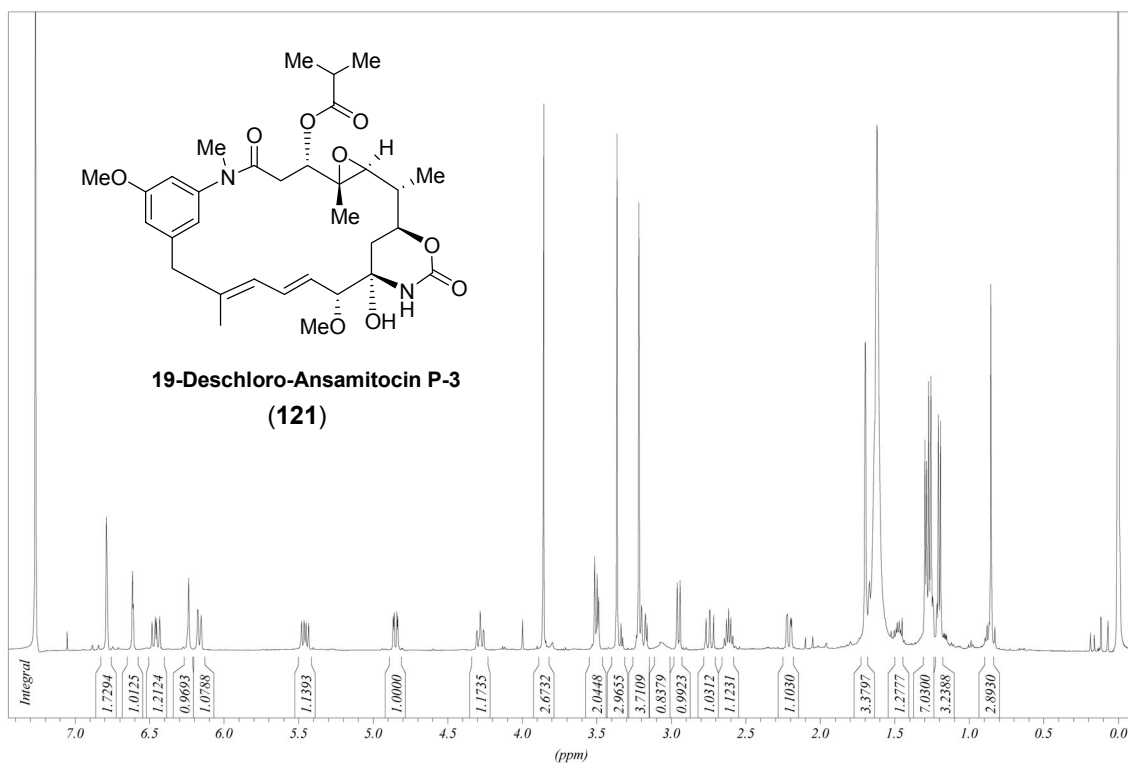




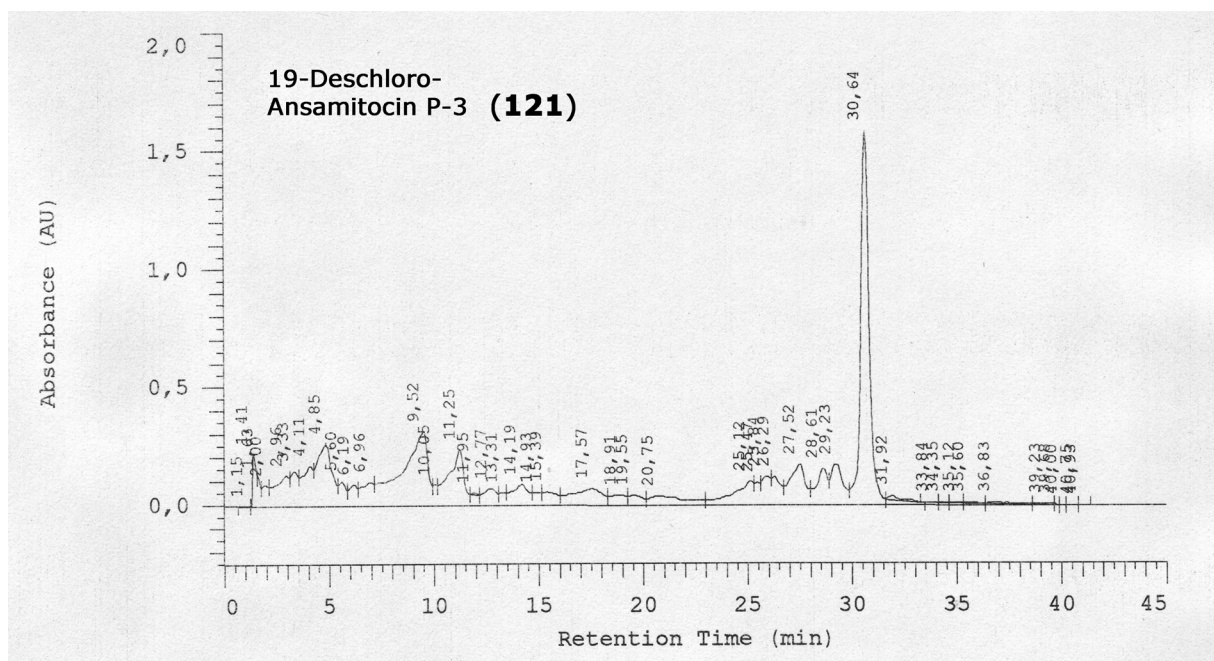
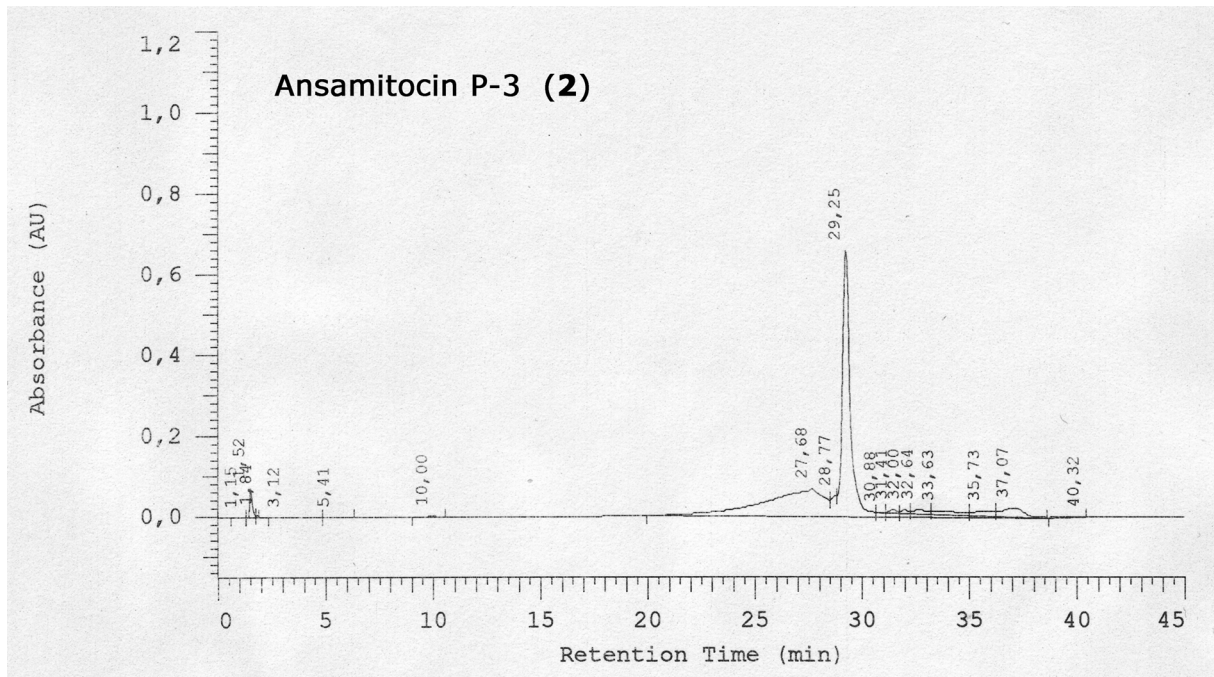


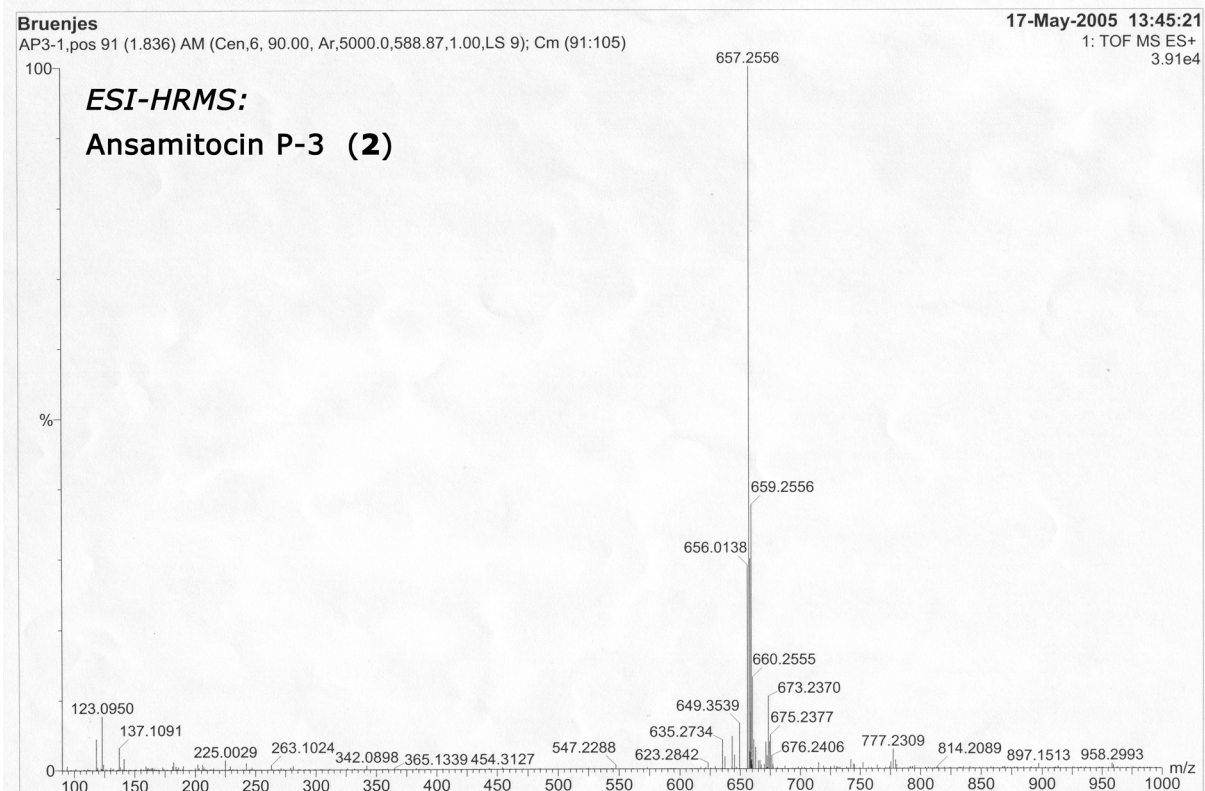
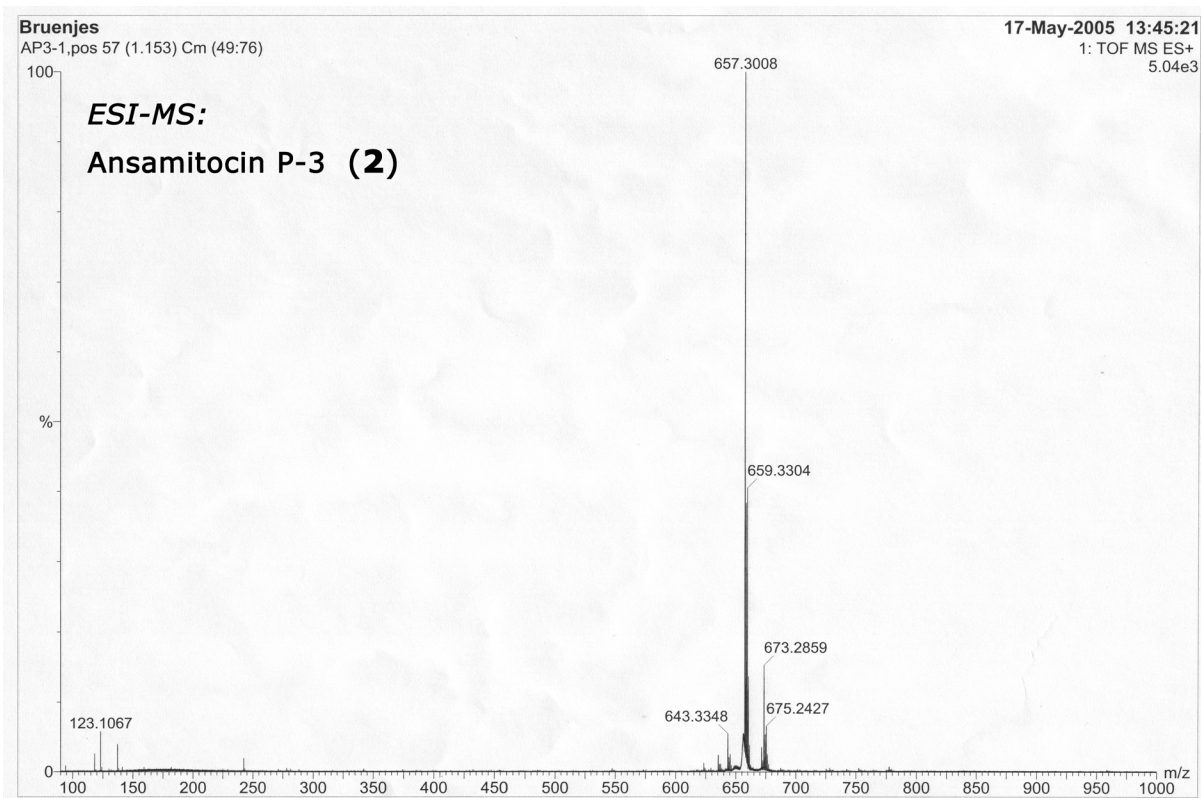


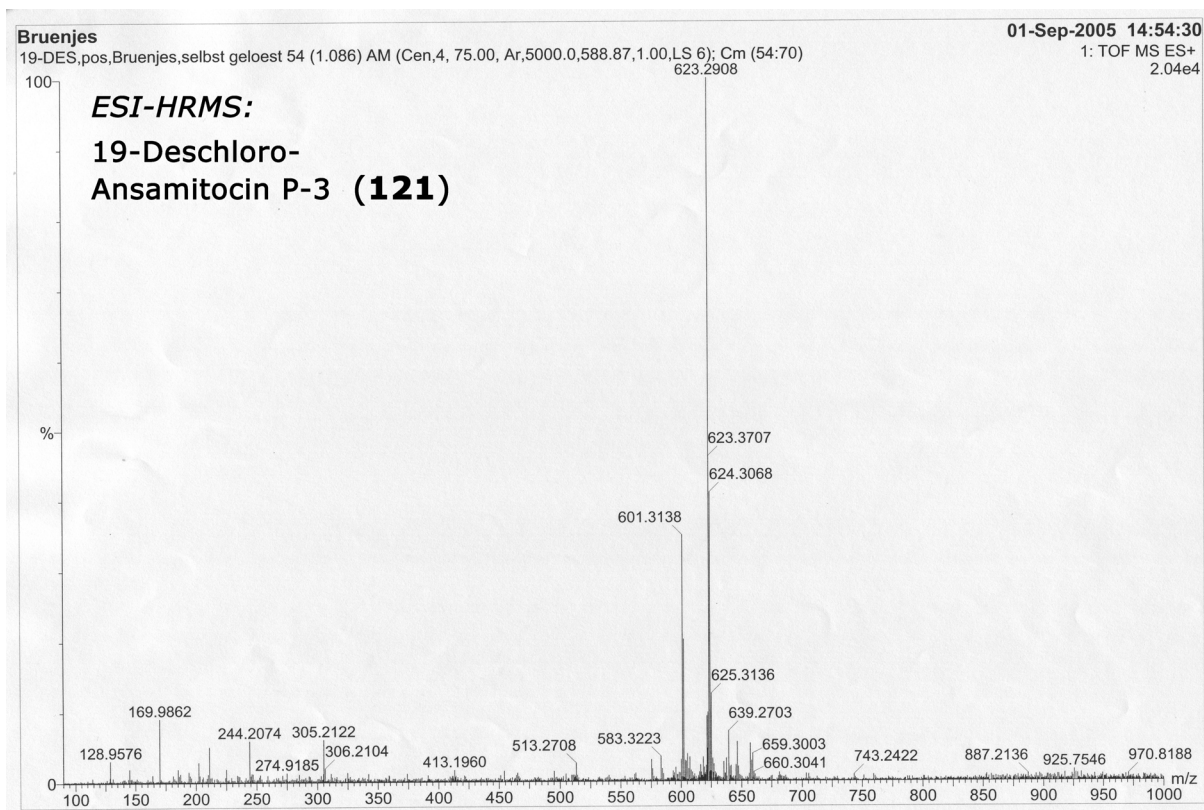
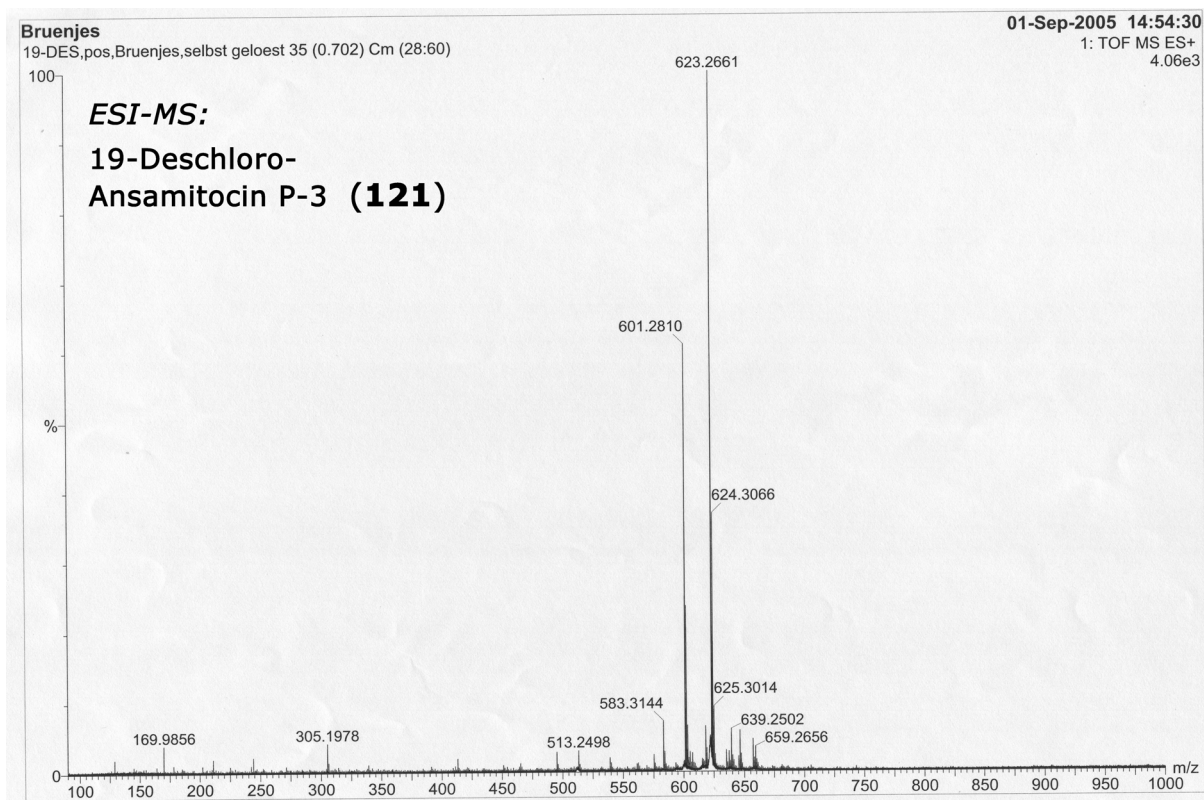


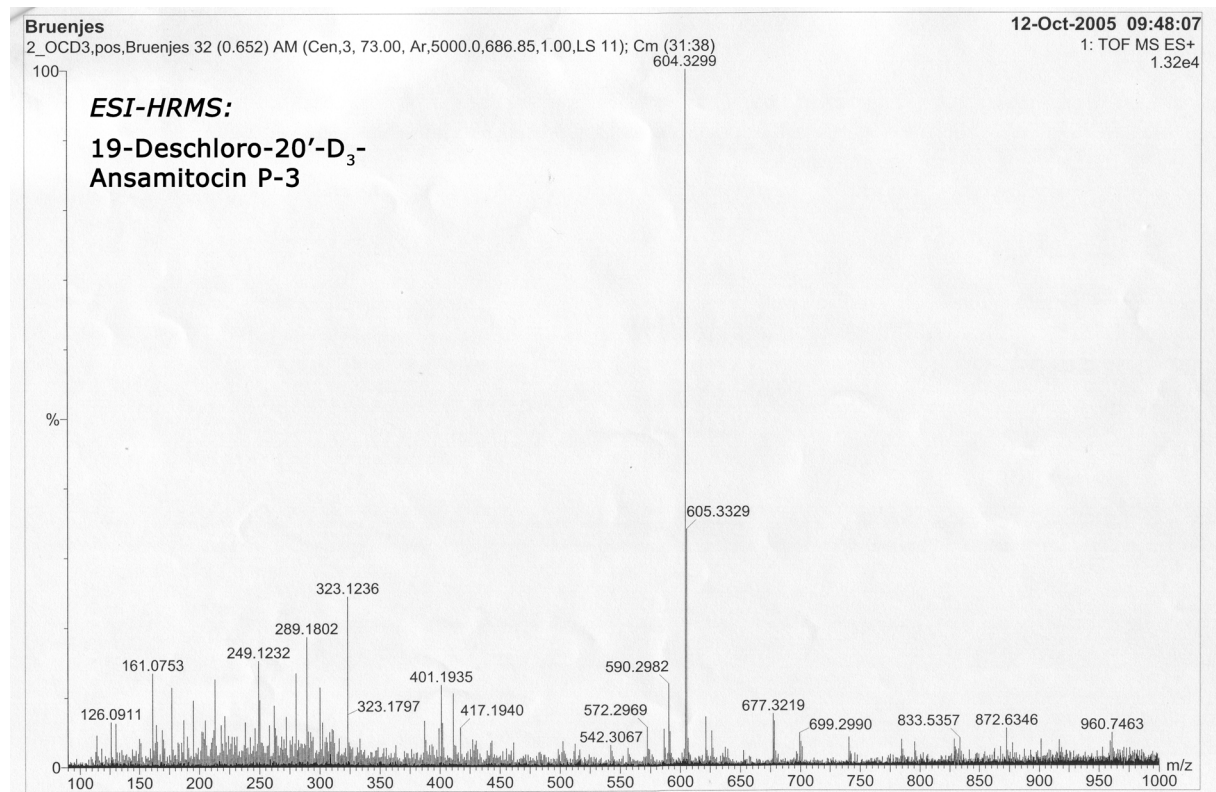
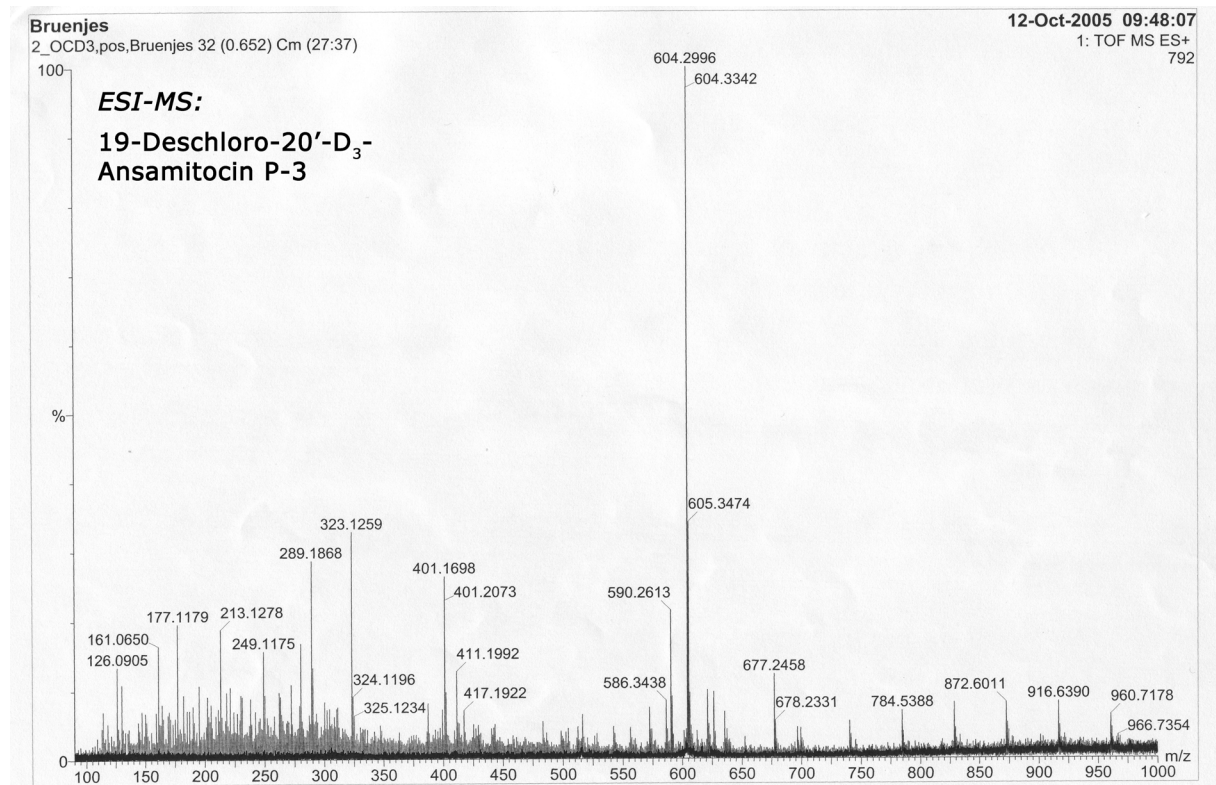


Chromatogramme, semipräparative HPLC (Programm siehe S. 154):













## Danksagung

Professor Dr. Andreas Kirschning danke ich für die sehr gute Betreuung und Förderung während der letzten viereinhalb ( $3\frac{1}{2} + 1$ ) Jahre. Mit der Schaffung des Maytansinoid-Projekts wurde eine komplexe Ausbildung, über den Bereich der Organischen Chemie hinaus, möglich.

Professor Dr. Markus Kalesse danke ich für fachlich wertvolle Ratschläge, in und außerhalb des gemeinsamen Seminars, für die Übernahme des Korreferats, sowie die Unterstützung meiner PostDoc-Bewerbung.

Auch Professor Heinz G. Floss danke ich für dieses hochinteressante Projekt, sowie die Unterstützung meiner weiteren wissenschaftlichen Vorhaben.

Allen Mitarbeiter des AK Kirschning danke ich für die tolle Zeit innerhalb und außerhalb dieses Instituts, sowie das gelegentliche Feierabend-Bier. Besondere Erwähnung soll hierbei Dr. Thomas „Patrick Star“ Frenzel finden, mit dem eine äußerst gute Zusammenarbeit auf dem gemeinsam begonnenen Projekt möglich war. Ihm und dem zweiten Mitglied der „Bikini-Bottom-Crew“, Benjamin „vor-dem-ersten-Kaffee-Thaddäus“ Oelze, danke ich für die interessanten Unterhaltungen während der gemeinsamen Kaffeepausen. Axel Meyer, Christof Kujat und Martin Bock danke ich außerdem für das Korrekturlesen des experimentellen Teils dieser Arbeit.

Ein großer Dank gilt Dr. Gerald Dräger, der mir die Grundlagen für die mikrobiologischen Arbeiten vermittelt und einen Großteil der vorliegenden Arbeit korrekturgelesen hat.

Den Mitarbeitern der spektroskopischen Abteilung, Dr. Dieter Albert, Dr. Edgar Hofer, Dagmar Körtje und Monika Rettstadt danke ich für die ständige Hilfsbereitschaft und die Aufnahmen der 400er und 500er NMR-Spektren. Einen herzlichen Dank auch an Rainer Nöthel für die HRMS-Messungen.

Meinen Eltern danke ich in jeglicher Hinsicht für die fortwährende Unterstützung in den letzten dreieinhalb Jahren.

Der größte Dank gebührt Silke Ostermeier, die mir mit ihrem Vertrauen und Verständnis immer zur Seite stand und somit ganz wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.



# Lebenslauf

## **Name**

Marco Brünjes

geboren am

21.10.1976 in Osterode am Harz

Staatsangehörigkeit

deutsch

## **Schulbildung**

1983 – 1987

Grundschule Röddenberg in Osterode am Harz

1987 – 1989

Orientierungsstufe Röddenberg in Osterode am Harz

1989 – 1996

Gymnasium in Osterode am Harz, Abschluss: Abitur

## **Hochschulausbildung**

1996 – 2002

Studium der Chemie an der Technischen Universität Clausthal, Abschluss als Diplom-Chemiker.

2002 - 2006

Promotion im Arbeitskreis von Professor A. Kirschning, Institut für Organische Chemie, Universität Hannover.

## **Auszeichnungen**

2003

Preis des Jungchemikerforums Hannover für die beste Diplomarbeit auf dem Gebiet der Naturstoffchemie.

## **Wissenschaftliche Publikationen**

1. H. Monenschein, M. Brünjes, A. Kirschning, *Synlett* **2002**, 3, 525-527.
2. M. Brünjes, G. Sourkouni-Argirusi, A. Kirschning, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 635-642.
3. M. Brünjes, C. Kujat, H. Monenschein, A. Kirschning, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1149-1160.
4. K. Kloth, M. Brünjes, E. Kunst, T. Jöge, F. Gallier, A. Adebekian, A. Kirschning, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, 347, 1423-1434.
5. T. Frenzel, M. Brünjes, M. Quitschalle, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2006**, 8, 135-138.
6. T. Kubota, M. Brünjes, T. Frenzel, J. Xu, A. Kirschning, H. G. Floss, *ChemBioChem*, in press.